

---

# Software Analyst MD

Esercitazione sull'algoritmo *Scheduled* MRM



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).

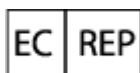
**Rx only.**

**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>Esercitazione sull'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM</b>	<b>5</b>
Obiettivi	5
Informazioni sull'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM	5
Documentazione correlata	6
Prerequisiti	7
Creazione di un file csv o txt	7
Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM	7
Creazione di un metodo di acquisizione mediante due esperimenti con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM	14
Generazione di un cromatogramma ioni estratti	15
Visualizzazione di transizioni MRM	17
Creazione di metodi di quantificazione	18
Revisione della Results Table	20
Informazioni sull'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro	22
Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro	23
Effetto dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro in IDA	27
Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo IDA <i>Scheduled</i> MRM Pro	27
Visualizzazione dei parametri dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro nelle informazioni sul file	28
Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Basic o Pro con <i>Scheduled</i> Ionization	29
<b>Contatti</b>	<b>31</b>
Formazione dei clienti	31
Centro di istruzione online	31
Assistenza SCIEX	31
Sicurezza informatica	31
Documentazione	31

# Esercitazione sull'algoritmo *Scheduled* MRM

---

## Obiettivi

In questa esercitazione si apprenderà come:

- Creare un metodo per monitorare le transizioni con algoritmo *Scheduled* MRM.
- Visualizzare le transizioni con algoritmo *Scheduled* MRM in un cromatogramma ioni estratti.
- Analizzare i dati quantitativi creando il metodo di quantificazione e rivedendo la Results Table.
- Creare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM Pro.
- Creare un metodo di un metodo di acquisizione con algoritmo IDA *Scheduled* MRM Pro.

## Informazioni sull'algoritmo *Scheduled* MRM

La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM aiuta nell'acquisizione di centinaia di composti sulla base di un elenco di transizioni MRM (monitoraggio di reazioni multiple), tempi di ritenzione e ID di composti forniti al momento della creazione del metodo di acquisizione. La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM riduce il requisito per gli esperimenti multi-periodo. È anche possibile utilizzarlo come scansione di indagine in un metodo acquisizione dipendente dalle informazioni (IDA).

L'algoritmo massimizza i punti in tutto il picco cromatografico per offrire un migliore rilevamento dei picchi e una migliore riproducibilità. Grazie a questa funzionalità, l'utente può anche visualizzare file di dati con numerose transizioni MRM mostrando l'ID del composto, le colonne indice Analyte Integration Quality e indice IS (standard interno) Integration Quality nella Results Table. Per i sistemi SCIEX 3200MD, è supportato un massimo di 1000 transizioni dall'algoritmo *Scheduled* MRM. Per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine, è supportato un massimo di 4000 transizioni dall'algoritmo *Scheduled* MRM.

---

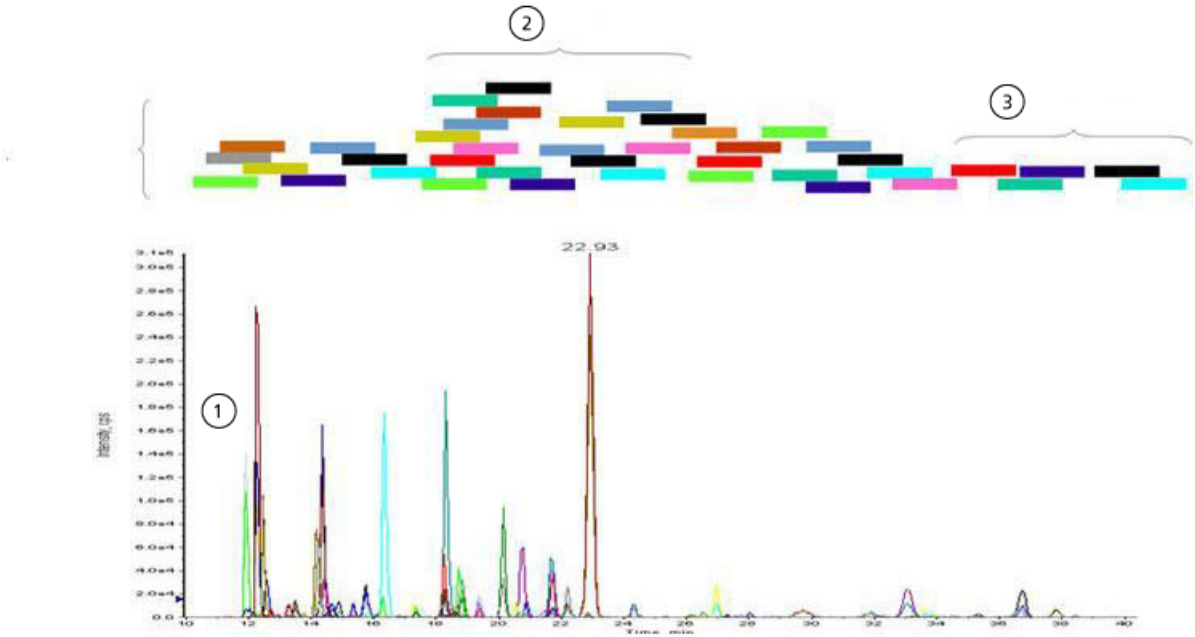
**Nota:** Per i dati MRM nella Results Table sono anche disponibili le colonne **Analyte Integration Quality Index** e **IS Integration Quality Index**.

---

La figura seguente mostra un esempio di esecuzione LC con l'algoritmo *Scheduled* MRM. Il numero delle transizioni MRM monitorate simultaneamente varia durante l'analisi LC, ma rimane costante tra le iniezioni.

Figura 1: Esempio tipico di esecuzione LC con algoritmo *Scheduled* MRM

*Scheduled* MRM Algorithm



Elemento	Descrizione
1	Transizioni MRM monitorate.
2	Elevato numero di transizioni MRM monitorate.
3	Basso numero di transizioni MRM monitorate.

Per elaborare un numero elevato di transizioni con l'algorithmo *Scheduled* MRM, utilizzare il software MultiQuant MD per l'elaborazione dei dati. Per maggiori informazioni, contattare un rappresentante di vendita SCIEX.

Documentazione correlata

- Guida per l'utente del sistema per lo spettrometro di massa
- Guida avanzata per l'utente
- Guida sugli script per l'utente (per ulteriori informazioni sullo script Create Quan Methods From Text Files e sullo script Create Text File from Quan Method)
- Esercitazione per l'acquisizione dipendente dalle informazioni (per ulteriori informazioni sui metodi di creazione mediante IDA)
- Analyst

## Prerequisiti

### Prerequisiti

Gli utenti devono essere in grado di:

- Creare un metodo di acquisizione
- Inviare un batch
- Creare un metodo di quantificazione e creare e rivedere una Results Table.

Le seguenti periferiche devono essere incluse nel profilo hardware:

- Pompa LC
- Autosampler

## Creazione di un file csv o txt

Opzionalmente, è possibile creare e memorizzare in un file csv o txt le informazioni sulla transizione per un metodo *Scheduled* MRM ed è possibile importarle nella tabella degli intervalli di massa di un metodo con algoritmo *Scheduled* MRM. Per creare il file csv o txt, utilizzare i seguenti criteri:

- Il file non deve contenere intestazioni, titoli di colonne o di riga.
- L'ordine e il numero di colonne del file devono corrispondere all'ordine e al numero di colonne nella tabella dei range di massa.
- Per i metodi con algoritmo MRM e *Scheduled* MRM, non devono essere presenti celle vuote. Per i metodi con algoritmo *Scheduled* MRM Pro, le colonne **Window** e **Threshold** possono essere lasciate vuote per utilizzare i valori predefiniti. Anche la colonna **Group** può essere lasciata vuota.

Assicurarsi che il file sia salvato con estensione csv o txt.

## Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM

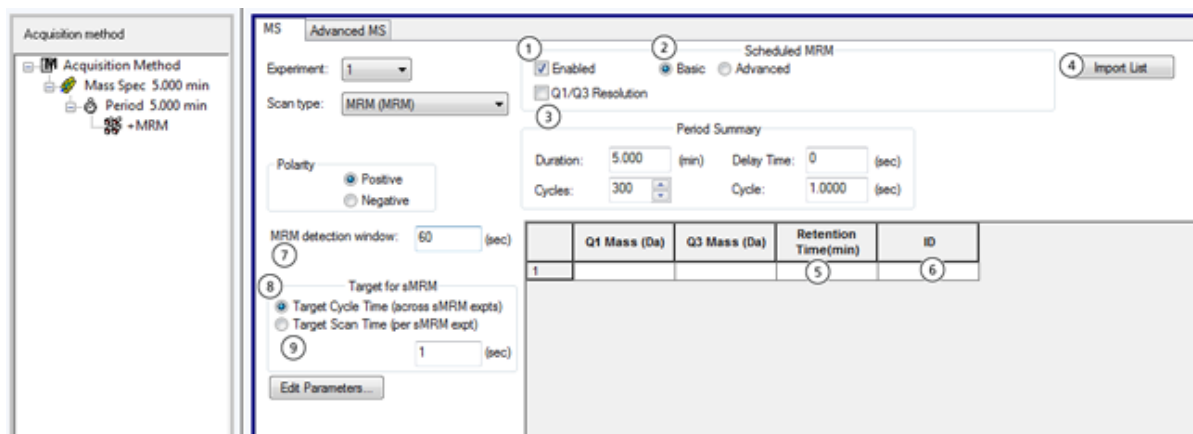
**Nota:** Per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine, è possibile acquisire un massimo di 1.250 transizioni MRM non programmate e 4.000 transizioni MRM con l'algoritmo *Scheduled* MRM. Per i sistemi SCIEX 3200MD, è possibile acquisire un massimo di 300 transizioni MRM non programmate e 1.000 transizioni MRM con l'algoritmo *Scheduled* MRM.

1. Sulla barra di navigazione, in **Acquire**, fare doppio clic su **Build Acquisition Method**, quindi nel riquadro Acquisition Method fare clic sull'icona **Mass Spec**.
2. Assicurarsi che per **Scan Type** sia selezionato **MRM**, quindi selezionare la casella di controllo **Enabled** nel gruppo **Scheduled MRM**. Per creare un metodo per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine, fare riferimento alle funzioni riportate nella figura: [Figura](#)

## Esercitazione sull'algoritmo *Scheduled MRM*

2. Per creare un metodo per i sistemi SCIEX 3200MD, fare riferimento alle funzioni riportate nella figura: [Figura 3](#).

**Figura 2: Funzioni software dell'algoritmo *Scheduled MRM* per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine**

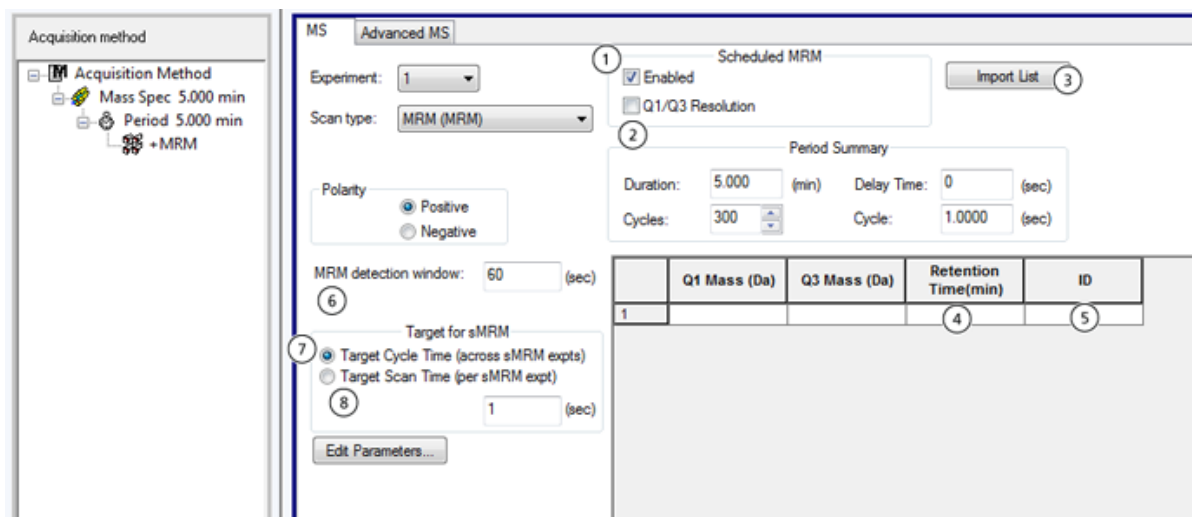


Elemento	Descrizione
1	Casella di controllo <b>Enabled</b> nel gruppo <b>Scheduled MRM</b> : selezionarla per abilitare le funzioni base e avanzate dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> .
2	Opzione <b>Basic</b> : selezionarla per abilitare la funzione dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> . Basic è l'opzione preimpostata.
3	Casella di controllo <b>Q1/Q3 Resolution</b> : selezionarla per applicare diverse impostazioni di risoluzione Q1 e Q3 a ciascuna transizione. Quando questa opzione è selezionata, le colonne <b>Q1 Resolution</b> e <b>Q3 Resolution</b> vengono aggiunte alla tabella degli intervalli di massa.
4	Pulsante <b>Import List</b> : fare clic per importare transizioni MRM, tempo, ID e parametri dipendenti dal composto da un file txt o csv.
5	Colonna <b>Retention Time (min)</b> : digitare il tempo di ritenzione previsto in minuti per la transizione MRM corrispondente. Questa colonna mostra il tempo di sosta in msec per i metodi MRM.
6	Colonna <b>ID</b> : (opzionale) digitare un ID composto per la transizione di interesse.
7	Campo <b>MRM detection window (sec)</b> : digitare la quantità di tempo per il rilevamento che circonda il tempo di ritenzione per ogni transizione.



Elemento	Descrizione
8	Opzione <b>Target Cycle Time (across sMRM experiments)</b> : selezionarla per specificare e utilizzare il tempo di ciclo target per tutti gli esperimenti dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> nell'intero periodo o nel metodo. Selezionando o cancellando l'opzione in un esperimento dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> si applica automaticamente la stessa impostazione all'altro esperimento dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> se nel metodo sono presenti due esperimenti dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> . In un periodo o un metodo sono consentiti al massimo due esperimenti dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> . Il tempo di ciclo target è regolabile in modo da poter definire un tempo di ciclo target specifico per tutti i cicli, per ottenere i punti dati distribuiti in modo più uniforme attraverso un picco, indipendentemente dall'inversione di polarità tra transizioni simultanee. <b>Target Cycle Time</b> è l'impostazione preimpostata.
9	Campo <b>Target Scan Time (per sMRM experiment) (sec)</b> : selezionarlo per specificare la quantità di tempo target da utilizzare per l'esperimento in ciascun ciclo. Il software manterrà il tempo di scansione totale per questo esperimento vicino al tempo target in ciascun ciclo, a meno che il tempo di sosta minimo o massimo non venga applicato ad alcune transizioni simultanee. Il tempo di scansione target è regolabile in modo da potere definire un numero specifico di punti nei picchi LC.

**Figura 3: Funzioni software dell'algoritmo *Scheduled MRM* per i sistemi SCIEX 3200MD**



Elemento	Descrizione
1	Casella di controllo <b>Enabled</b> nel gruppo <b>Scheduled MRM</b> : selezionarla per abilitare la funzione dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> .

Elemento	Descrizione
2	Casella di controllo <b>Q1/Q3 Resolution</b> : selezionarla per applicare diverse impostazioni di risoluzione Q1 e Q3 a ciascuna transizione. Quando questa opzione è selezionata, le colonne <b>Q1 Resolution</b> e <b>Q3 Resolution</b> vengono aggiunte alla tabella degli intervalli di massa.
3	Pulsante <b>Import List</b> : fare clic per importare transizioni MRM, tempo, ID e parametri dipendenti dal composto da un file txt o csv.
4	Colonna <b>Retention Time (min)</b> : digitare il tempo di ritenzione previsto in minuti per la transizione MRM corrispondente. Questa colonna mostra il tempo di sosta in msec per i metodi MRM.
5	Colonna <b>ID</b> : (opzionale) digitare un ID composto per la transizione di interesse.
6	Campo <b>MRM detection window (sec)</b> : digitare la quantità di tempo per il rilevamento che circonda il tempo di ritenzione per ogni transizione.
7	Opzione <b>Target Cycle Time (across sMRM experiments)</b> : selezionarla per specificare e utilizzare il tempo di ciclo target per tutti gli esperimenti dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM nell'intero periodo o nel metodo. Selezionando o cancellando l'opzione in un esperimento dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM si applica automaticamente la stessa impostazione all'altro esperimento dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM se nel metodo sono presenti due esperimenti dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM. In un periodo o un metodo sono consentiti al massimo due esperimenti dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM. Il tempo di ciclo target è regolabile in modo da poter definire un tempo di ciclo target specifico per tutti i cicli, per ottenere i punti dati distribuiti in modo più uniforme attraverso un picco, indipendentemente dall'inversione di polarità tra transizioni simultanee. <b>Target Cycle Time</b> è l'impostazione preimpostata.
8	Campo <b>Target Scan Time (per sMRM experiment) (sec)</b> : selezionarlo per specificare la quantità di tempo target da utilizzare per l'esperimento in ciascun ciclo. Il software manterrà il tempo di scansione totale per questo esperimento vicino al tempo target in ciascun ciclo, a meno che il tempo di sosta minimo o massimo non venga applicato ad alcune transizioni simultanee. Il tempo di scansione target è regolabile in modo da potere definire un numero specifico di punti nei picchi LC.

- Per utilizzare differenti impostazioni di risoluzione e per ciascuna transizione, fare clic su **Q1/Q3 Resolution** nel gruppo *Scheduled* MRM.

Nella tabella dei range di massa vengono aggiunte due nuove colonne: Q1 Resolution e Q3 Resolution.

**Figura 4: Opzione Q1/Q3 Resolution selezionata per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine Systems**

Acquisition method

Mass Spec 5.000 min

Period 5.000 min

MRM

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: Positive

MRM detection window: 60 (sec)

Target for sMRM

Target Cycle Time (across sMRM expts)

Target Scan Time (per sMRM expt)

1 (sec)

Period Summary

Duration: 5.000 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 300 Cycle: 1.0000 (sec)

Q1 Mass (Da) Q3 Mass (Da) Retention Time(min) ID Q1 Resolution Q3 Resolution

1 Unit Unit

Elemento	Descrizione
1	Colonna <b>Q1 Resolution</b> : modalità in cui la scansione Q1 separa i componenti molto vicini. È la capacità di risoluzione del primo quadrupolo. Le opzioni possibili sono High, Unit, Low oppure Open.
2	Colonna <b>Q3 Resolution</b> : modalità in cui la scansione Q3 separa i componenti molto vicini. È la capacità di risoluzione del terzo quadrupolo. Le opzioni possibili sono High, Unit, Low oppure Open.

L'opzione **Resolution Q1** e l'opzione **Resolution Q3** nella scheda Advanced MS non sono disponibili per l'utilizzo.

Se la casella di controllo **Q1/Q3 Resolution** è selezionata in Tune Method Editor, le opzioni **Q1 Resolution** e **Q3 Resolution** nella scheda Resolution non sono disponibili per l'uso.

4. Completare la tabella dei range di massa per ciascuna transizione MRM di interesse, utilizzando uno dei seguenti metodi:
  - Immettere le transizioni MRM manualmente: immettere la massa Q1, la massa Q3, il tempo di ritenzione e l'ID del composto per ciascuna transizione di interesse. Per ciascuna transizione, selezionare i valori nelle colonne **Q1 Resolution** e **Q3 Resolution**. Fare clic con il pulsante destro per aggiungere i parametri dipendenti dal composto, come richiesto. È possibile aggiungere fino a quattro parametri dipendenti dal composto alla tabella dei range di massa.
  - Importare le transizioni MRM: fare clic su **Import List** e, nella finestra di dialogo Open, selezionare un file con valori separati da virgole (csv) o con valori separati da tabulazioni (txt) che contenga le informazioni sulle transizioni MRM. Dopo aver selezionato il file, fare clic su **Open**. Il contenuto del file è mostrato nella tabella dei range di massa. Per ulteriori informazioni sulla creazione dei file, fare riferimento alla sezione: [Creazione di un file csv o txt](#).

- Copiare e incollare le transizioni MRM: selezionare le celle che contengono le informazioni richieste da un file csv o txt, quindi premere **Ctrl+C**. Per incollare le righe di informazione, selezionare la prima cella **Q1 Mass (Da)** nella tabella degli intervalli di massa, quindi premere **Ctrl+V**.

---

**Nota:** Prima di importare o copiare e incollare, assicurarsi che le colonne dei dati nel file csv o txt corrispondano a quelle della tabella dei range di massa nel software. Il numero e l'ordine delle colonne nel file di origine e nella tabella di destinazione devono essere uguali. Aggiungere, rimuovere o riordinare le colonne nel file di origine, come richiesto. Per aggiungere una colonna nella tabella dei range di massa, fare clic con il pulsante destro nella tabella, quindi selezionare un parametro dipendente dal composto. Per i parametri dipendenti dal composto, i valori devono trovarsi nella gamma consentita per la polarità selezionata.

---

5. Nel campo **MRM detection window (sec)**, immettere la quantità di tempo per il rilevamento che circonda il tempo di ritenzione per ogni transizione. Questa finestra deve riflettere la larghezza prevista del picco cromatografico e la variabilità del tempo di ritenzione cromatografica dell'analita, in modo che l'intero picco MRM sia sempre nella finestra.

Utilizzare la cromatografia LC come guida per selezionare i migliori parametri dell'algoritmo *Scheduled* MRM. Determinare la larghezza di un tipico picco alla base, quindi fare riferimento alla tabella seguente per le impostazioni consigliate. Assicurarsi di considerare la stabilità del tempo di ritenzione nella definizione della finestra di rilevamento MRM.

**Tabella 1: Impostazioni consigliate per i parametri dell'algoritmo *Scheduled* MRMs**

Larghezza picco alla base	Finestra di rilevamento MRM	Target Scan Time o Target Cycle Time
30 secondi	90 secondi	2 secondi
15 secondi	60 secondi	1 secondo
10 secondi	30 secondi	0,5 secondi

Per l'algoritmo *Scheduled* MRM, il numero di analiti monitorati per ciclo viene regolato sulla base della finestra di tempo di ritenzione degli analiti. Per massimizzare il tempo di sosta utilizzato per ciascun analita e il suo rapporto segnale/rumore, si consiglia di utilizzare una finestra di tempo di ritenzione più piccola, ma ragionevole, che consenta l'acquisizione del picco di interesse. Un valore di 60 secondi è un buon punto di partenza. Questo valore è sufficiente per la cromatografia che produce una larghezza di picco di 15 secondi e un potenziale spostamento del tempo di ritenzione di 20 secondi sia a sinistra che a destra del picco.

Ad esempio, se il tempo di ritenzione previsto è di 4,5 minuti, immettendo 60 secondi si imposta una finestra di rilevamento da 4 a 5 minuti.

---

**Nota:** Se **Retention Time** è impostato a 0, il software monitorerà la transizione per il tempo di esecuzione completo.

---

6. Effettuare una delle seguenti operazioni, come opportuno:

- Se necessario, lasciare selezionata l'opzione **Target Cycle Time (across sMRM expts)**, quindi digitare un tempo di ciclo target, in secondi, come mostrato nella seguente figura. Se l'opzione **Target Cycle Time** è selezionata, il software tenta di applicare lo stesso tempo a ogni ciclo. Tuttavia, il tempo di ciclo effettivo utilizzato per ogni ciclo varia principalmente in base alla somma dei tempi di sosta di tutte le transizioni nel ciclo.

Il software utilizza il tempo di ciclo target, i tempi di inversione di polarità, eventuali, e tutti i tempi di pausa per calcolare il tempo di sosta per ogni transizione all'interno di un ciclo. Il tempo di sosta allocato a una transizione dipende dal tempo di sosta calcolato per ogni ciclo nella finestra di rilevamento, a prescindere dal fatto che il tempo di sosta calcolato sia minore del tempo di sosta minimo o maggiore del tempo di sosta massimo per alcuni cicli e da quanto si sovrapponga a ognuna delle altre transizioni nella finestra di rilevamento. Se il tempo di sosta calcolato è minore del tempo di sosta minimo data l'elevata simultaneità o maggiore del tempo di sosta massimo data la bassa simultaneità, il tempo di sosta minimo o il tempo di sosta massimo verrà usato per la transizione in quel ciclo per il passaggio successivo del calcolo. La media dei tempi di sosta di tutti i cicli per questa transizione è il tempo di sosta finale allocato per questa transizione.

**Figura 5: Target Cycle Time (across sMRM expts)**

The screenshot shows the 'Advanced MS' configuration window. Under the 'Scheduled MRM' section, the 'Enabled' checkbox is checked, and the 'Basic' radio button is selected. The 'Q1/Q3 Resolution' checkbox is also checked. In the 'Period Summary' section, 'Duration' is 5.000 (min), 'Cycles' is 300, 'Delay Time' is 0 (sec), and 'Cycle' is 1.0000 (sec). The 'Target for sMRM' section has two radio buttons: 'Target Cycle Time (across sMRM expts)' (selected and highlighted with a red box) and 'Target Scan Time (per sMRM expt)'. The value '1 (sec)' is entered in the field next to the selected option. A table at the bottom shows columns for Q1 Mass (Da), Q3 Mass (Da), Retention Time (min), ID, Q1 Resolution, and Q3 Resolution. The first row has '1' in the ID column and 'Unit' in the resolution columns.

- Se necessario, fare clic su **Target Scan Time (per sMRM expt)**, quindi digitare, in secondi, la durata target per l'esperimento per ogni ciclo, come mostrato nella seguente figura. Questo parametro consente di definire il numero di punti nell'intero picco cromatografico.

**Figura 6: Target Scan Time (per sMRM expt)**

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

MRM detection window: 60 (sec)

Target for sMRM

☒ Target Cycle Time (across sMRM expts)

☐ Target Scan Time (per sMRM expt)

1 (sec)

Edit Parameters...

Scheduled MRM

☒ Enabled ☒ Basic ☐ Advanced

☒ Q1/Q3 Resolution

Import List

Period Summary

Duration: 5.000 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 300 Cycle: 1.0000 (sec)

Scheduled Ionization

Start Time: 0 (min) Stop Time: 0 (min)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time (min)	ID	Q1 Resolution	Q3 Resolution
1					Unit	Unit

Utilizzare la larghezza dei picchi cromatografici come guida per l'impostazione di questo valore. Un valore di 1 secondo è un buon punto di partenza per la cromatografia che produce una larghezza di picco di 15 secondi. In questo caso, un tempo di scansione target di 1 secondo genererà approssimativamente 15 punti dati in un picco di 15 secondi quando non viene applicato alcun tempo di sosta minimo o massimo a nessuna delle transizioni concorrenti all'interno di questa finestra di rilevamento.

7. Fornire i valori richiesti nei rimanenti campi del metodo di acquisizione.
8. Salvare il metodo di acquisizione nel progetto dal quale verrà eseguita l'acquisizione.

**Nota:** I campi dell'algoritmo *Scheduled* MRM sono anche disponibili in Tune Method Editor.

## Creazione di un metodo di acquisizione mediante due esperimenti con algoritmo *Scheduled* MRM

Utilizzare questa procedura per creare un metodo di acquisizione che supporta la commutazione di polarità.

1. Creare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM utilizzando i passaggi elencati nella sezione: [Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo \*Scheduled\* MRM](#).
2. Nel riquadro Acquisition method, fare clic con il pulsante destro del mouse su **Period** e quindi fare clic su **Add experiment**. Viene creato un secondo esperimento di scansione MRM.
3. Nella scheda MS, selezionare una delle seguenti opzioni in base allo spettrometro di massa in uso:

- Per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine, selezionare la casella di controllo **Enabled** nel gruppo **Scheduled MRM**. Per creare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM, verificare che l'opzione **Basic** sia selezionata nel gruppo **Scheduled MRM**. Per creare il metodo, fare riferimento alle funzioni riportate nella figura: [Figura 2](#). Per creare un metodo con algoritmo *Scheduled* MRM Pro, verificare che l'opzione **Advanced** sia selezionata. Per creare questo metodo, fare riferimento alla sezione: [Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo \*Scheduled\* MRM Pro](#).
  - Per i sistemi SCIEX 3200MD systems, selezionare la casella di controllo **Enabled** nel gruppo **Scheduled MRM**. Per creare il metodo, fare riferimento alle funzioni riportate nella figura: [Figura 3](#).
4. Completare il metodo di acquisizione come descritto nella sezione: [Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo \*Scheduled\* MRM](#).
  5. Salvare il metodo di acquisizione nel progetto dal quale verrà eseguita l'acquisizione.

---

**Nota:** Per i sistemi SCIEX 3200MD e SCIEX 4500MD, viene applicato il tempo di assestamento predefinito quando vi è un'inversione di polarità nel ciclo. Per gli strumenti della serie Citrine, viene applicato il tempo di assestamento impostato dall'utente quando c'è un'inversione di polarità in quel ciclo.

---

## Generazione di un cromatogramma ioni estratti

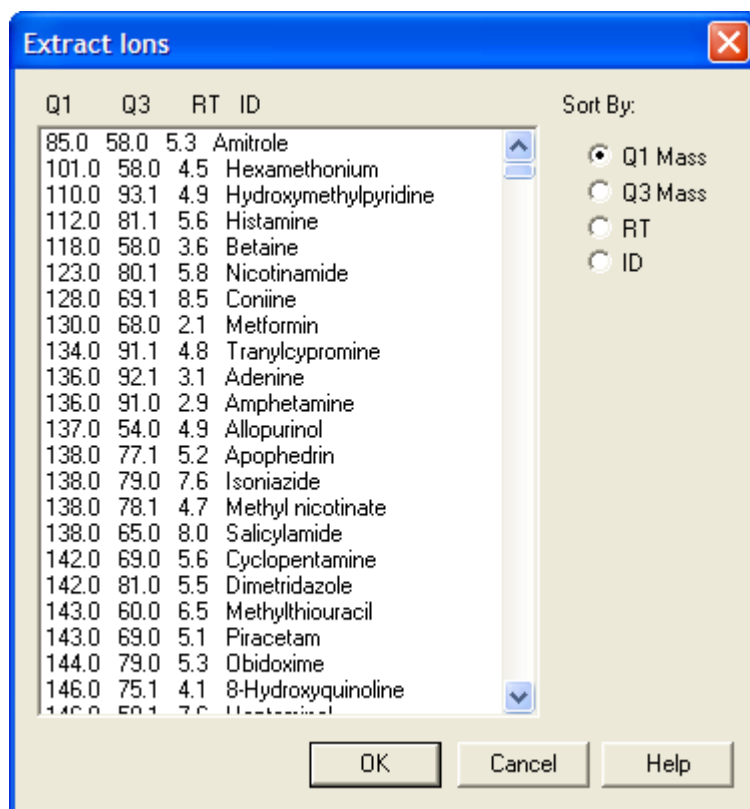
---

**Nota:** Se viene aperto un file wiff dell'algoritmo *Scheduled* MRM che contiene più di 2.500 transizioni, è visualizzato un TIC invece di uno XIC.

---

1. Dopo aver generato i dati con l'algoritmo *Scheduled* MRM utilizzando il metodo di acquisizione creato nella procedura precedente, nella barra di navigazione sotto **Explore**, fare doppio clic su **Open Data File**, quindi selezionare il file di dati e il campione.  
I dati dell'algoritmo MRM e *Scheduled* MRM sono preimpostati per essere mostrati come un XIC sovrapposto.
2. Fare clic su **Explore > Extract Ions > Use Dialog**.  
La finestra di dialogo Extract Ions si apre, mostrando ciascuna transizione MRM nel file di dati selezionato, assieme al tempo di ritenzione previsto corrispondente e all'ID del composto, se inserito.

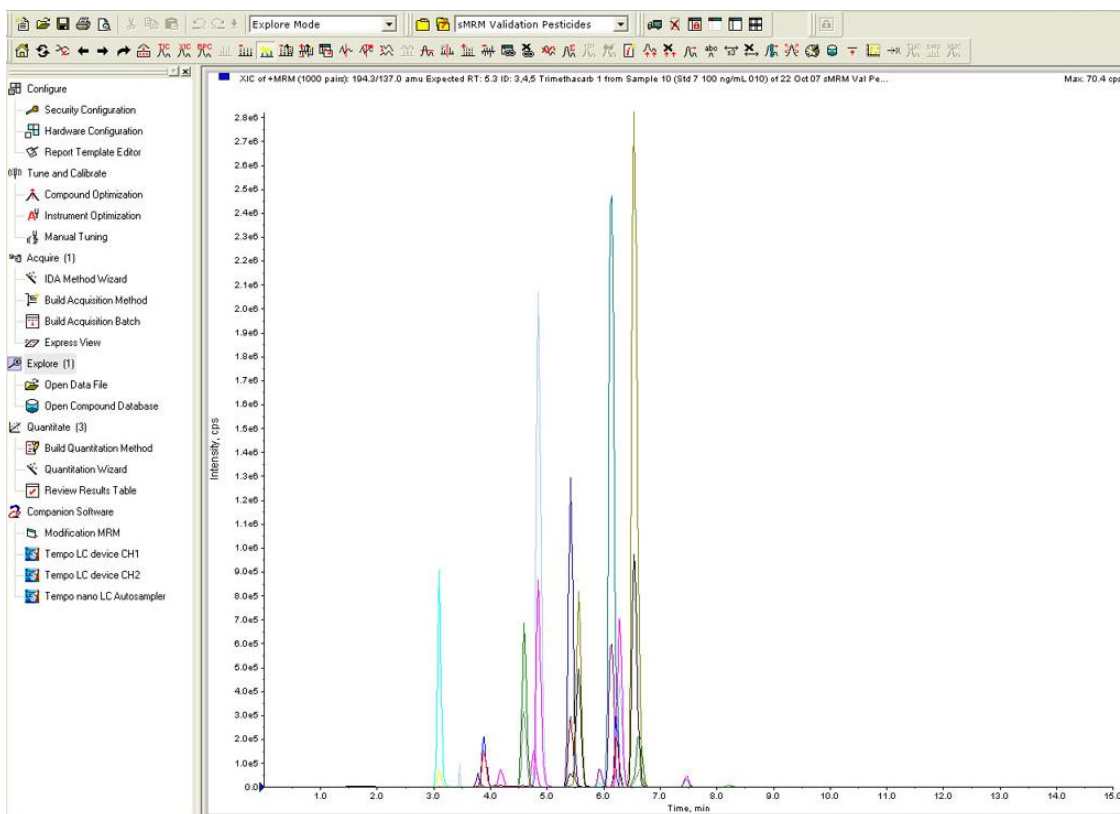
Figura 7: Finestra di dialogo Extract Ions



3. Selezionare per ordinare l'elenco per Q1 Mass, Q3 Mass, RT (tempo di ritenzione) o ID del composto.
4. Selezionare una o più transizioni.
5. Fare clic su **OK**.  
L'XIC è mostrato sotto il cromatogramma e l'ID del composto della prima transizione selezionata è mostrato nel titolo.



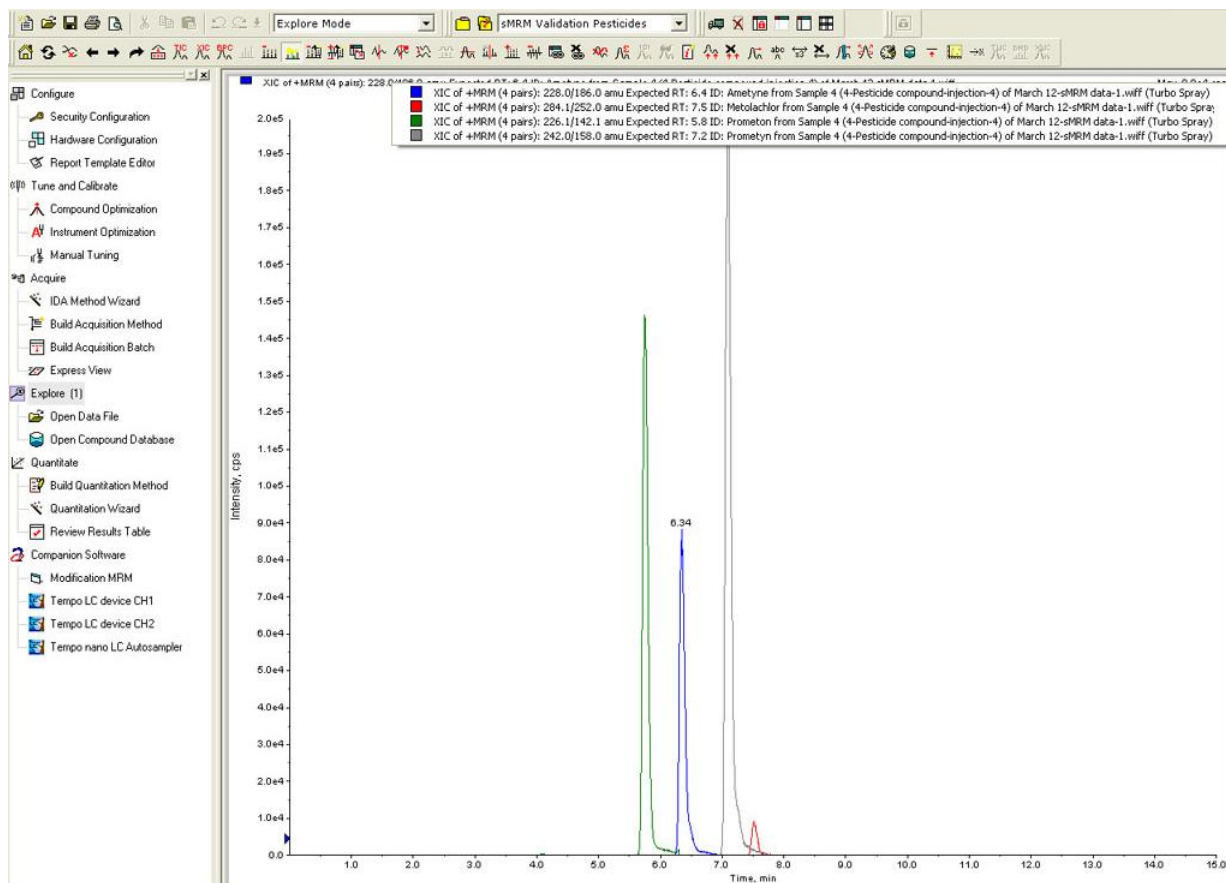
**Figura 8: Esempio di XIC sovrapposto che viene aperto quando vengono estratti ioni multipli.**



## Visualizzazione di transizioni MRM

1. Generare un XIC.
2. Fare clic con il pulsante destro sul titolo del XIC per mostrare le transizioni MRM attive nella regione. Selezionare la transizione MRM di interesse per mostrare un'etichetta del tempo di ritenzione nel cromatogramma.

**Figura 9: Transizioni MRM attive**



3. Trascinare il cursore lungo l'asse X per ingrandire una regione temporale specifica. L'XIC ridimensiona al picco più alto nei dati visualizzati.
4. Fare nuovamente clic con il pulsante destro sul titolo dell'XIC per mostrare le transizioni MRM attive nella regione temporale specifica. Vengono mostrate tutte le transizioni sopra la soglia e all'interno della regione ingrandita. Il titolo sarà ridotto al numero di transizioni nella sezione ingrandita.

## Creazione di metodi di quantificazione

**Nota:** Nel software Analyst MD, è necessario utilizzare Build Quantitation Method per creare un metodo di quantificazione per un file di dati contenente più di 94 transizioni. Quantitation Wizard consente solo di creare metodi di quantificazione per file di dati con un massimo di 94 transizioni.

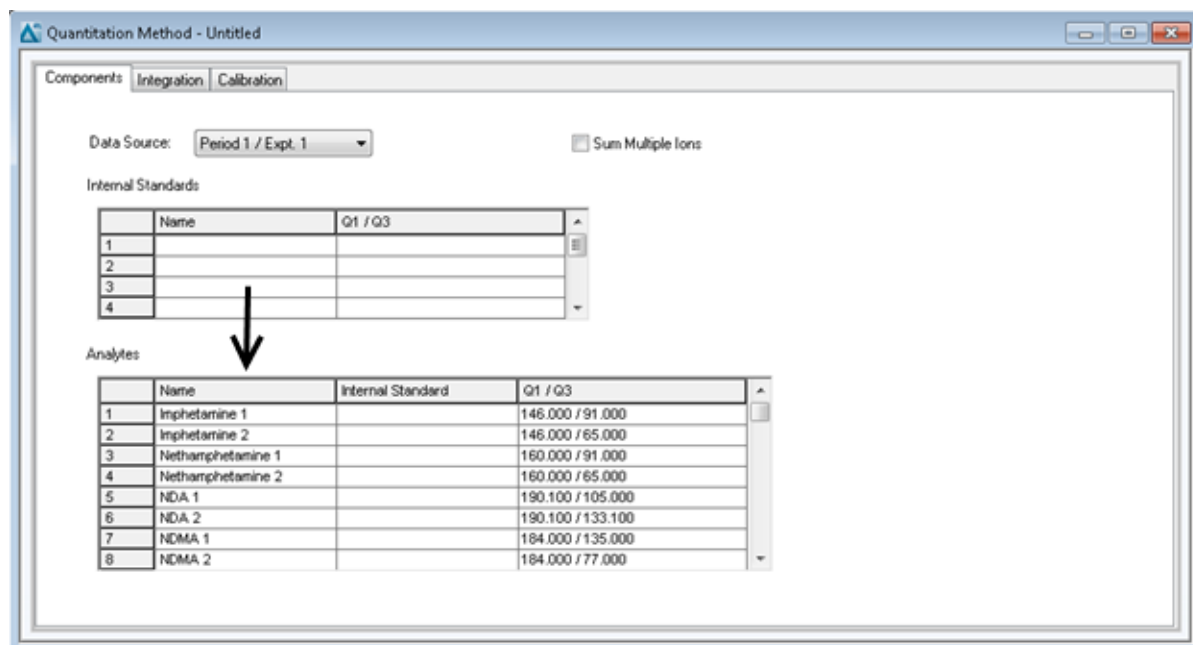
Prima di iniziare, assicurarsi che venga utilizzato l'algoritmo IntelliQuan-MQ III consigliato. Per ulteriori informazioni sulla selezione degli algoritmi, fare riferimento al documento: *Guida in linea*.

1. Nella barra **Navigation**, in **Quantitate**, fare doppio clic su **Build Quantitation Method**.

**Nota:** È possibile utilizzare il Quantitation Wizard per creare un metodo di quantificazione per analizzare dati che contengono meno di 94 transizioni.

2. Selezionare il file di dati e il campione appena acquisito e fare clic su **OK**. Nella tabella Analytes è presente una colonna **Name**. Poiché le transizioni sono state selezionate durante l'acquisizione, questa colonna è compilata con l'ID del composto ricavato da un metodo di acquisizione.

**Figura 10: Metodo di quantificazione: scheda Components**



**Nota:** Se nel metodo sono inclusi più esperimenti, rivedere ciascun esperimento selezionandolo nell'elenco **Data Source** per consentire l'uso degli analiti dell'esperimento nel metodo di quantificazione. Nel caso di molti analiti, potrebbe essere necessario un certo tempo per compilare l'elenco **Data Source**.

3. Impostare i valori richiesti nei campi rimanenti del metodo di quantificazione, quindi salvare il metodo di quantificazione.
4. Utilizzare il Quantitation Wizard per creare la Results Table. Assicurarsi di selezionare il metodo di quantificazione appena creato.

**Suggerimento!** Se il file di dati contiene un numero elevato di transizioni MRM, utilizzare lo script Create Quan Methods From Text Files, quindi lo script Create Text File from Quan Method per creare o modificare un metodo di quantificazione. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla *Guida sugli script per l'utente*.

## Revisione della Results Table

1. Per visualizzare i risultati di una transizione specifica, fare clic con il pulsante destro del mouse nella Results Table, selezionare **Analyte**, quindi selezionare la transizione dall'elenco degli ID dei composti.

Figura 11: Results Table: selezione analiti

	Sample Name	Sample ID		Analyte Peak Name (counts)	Analyte Peak Height (cps)	Conc
1	SYS suit001					
2	SYS suit001					
3	SYS suit001					
4	SYS suit001					
5	SYS suit001					
6	SYS suit001					
7	SYS suit001					
8	SYS suit001					
9	SYS suit001					
10	SYS suit001					
11	SYS suit001					
12	SYS suit001					
13	SYS suit001					
14	SYS suit001					
15	SYS suit001					
16	SYS suit001					
17	SYS suit001					
18	SYS suit001					
19	SYS suit001					
20	SYS suit001					
21	SYS suit001					
22	SYS suit001					
23	SYS suit001					
24	SYS suit001					

2. Fare clic con il pulsante destro del mouse nella Results Table, quindi fare clic su **Table Settings > Edit** per aprire la finestra di dialogo Table Settings.
3. Fare doppio clic su **Columns**, quindi selezionare **Analyte** dall'elenco.
4. Accanto a **Analyte Peak Name**, selezionare la casella di controllo **Shown**.
5. Fare clic su **OK**, quindi su **Done**.  
La colonna **Analyte Peak Name** viene aggiunta alla Results Table e l'ID del composto di ciascuna transizione è mostrato in tale colonna.

Figura 12: Results Table: colonna Analyte Peak Name

	Sample Name	Sample Type	File Name	Analyte Peak Name
1	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	3,4-Methylenedioxyamphetamine
2	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	3,4-Methylenedioxyethylamphetamine
3	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	3,4-Methylenedioxymethamphetamine
4	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	6-O-Monoacetylmorphine
5	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	7-Aminoclonazepam
6	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	7-Aminoflunitrazepam
7	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	9-Hydroxynisiperidone
8	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Aceclidine
9	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Aceprometazine
10	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Aciclovir
11	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Ajmaline
12	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	alpha-Hydroxyalprazolam
13	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	alpha-Hydroxytriazolam
14	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Alprazolam
15	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Alprenolol
16	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Amantadine
17	SYS suit001	Unknown	Triple Quad\23 Aug	Amiloride

- Fare clic con il pulsante destro del mouse nella Results Table, quindi fare clic su **Table Settings > Edit** per mostrare le colonne **Analyte Integration Quality** e **IS Integration Quality** nella tabella.
- Fare doppio clic su **Columns**, quindi selezionare **Analyte** dall'elenco.
- Accanto a **Analyte Integration Quality**, selezionare la casella di controllo **Shown**, quindi fare clic su **OK**.
- Selezionare **Internal Standard** dall'elenco .
- Accanto a **IS Integration Quality**, selezionare la casella di controllo **Shown**.
- Fare clic su **OK**, quindi su **Done**.

Le due colonne vengono aggiunte alla Results Table. Integration quality indica la qualità dell'integrazione del picco. I valori più vicini a 1 indicano i picchi ben integrati. Valori più piccoli possono indicare che il picco non è ben integrato, che esiste un elevato background oppure che potrebbe essere presente un altro picco nella regione.

Queste colonne facilitano la revisione dei picchi poiché l'utente può facilmente vedere i picchi con un basso valore dell'indice di **Integration Quality** dell'analita per la revisione manuale. Inoltre, l'utente può interrogare i dati per ottenere i valori dell'indice di **Integration Quality** dell'analita inferiori al valore che considera accettabile per mostrare e rivedere manualmente un sottogruppo dei dati.

Figura 13: Colonne della Results Table

	Sample Name	Record Modified	Calculated Concentration (ng/mL)	Accuracy (%)	Analyte Integration Quality	IS Integration Quality	Time
1	STD 1	<input type="checkbox"/>	3.22	161.	1.00 <sup>1</sup>	1.00 <sup>2</sup>	0.000000
2	STD 1	<input type="checkbox"/>	3.29	165.	0.874	1.00	N/A
3	STD 1	<input type="checkbox"/>	2.74	137.	1.00	1.00	N/A
4	STD 1	<input type="checkbox"/>	3.20	160.	1.00	1.00	0.000000
5	STD 1	<input type="checkbox"/>	2.86	143.	0.731	1.00	N/A
6	STD 1	<input type="checkbox"/>	2.54	127.	1.00	1.00	N/A
7	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.92	123.	1.00	1.00	0.000000
8	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.79	120.	0.852	1.00	N/A
9	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.37	109.	1.00	1.00	N/A
10	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.24	106.	1.00	1.00	0.000000
11	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.50	112.	0.942	1.00	N/A
12	STD 2	<input type="checkbox"/>	4.50	9	1.00	1.00	N/A

Elemento	Descrizione
1	Colonna indice Analyte Integration Quality
2	Colonna indice IS Integration Quality

## Informazioni sull'algoritmo *Scheduled* MRM Pro

La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro è supportata nei sistemi SCIEX 4500MD e Citrine.

La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro introduce funzionalità avanzate nell'algoritmo *Scheduled* MRM. Migliora la solidità del tempo di ritenzione degli esperimenti permettendo di impostare finestre di acquisizione per ogni transizione nel metodo di acquisizione. Gli utenti possono regolare le singole finestre per composti con picchi LC ampi o grandi variazioni nei loro tempi di ritenzione.

Inoltre, la funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro include la seguente funzionalità:

- La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro supporta inoltre l'estensione automatica della finestra durante l'acquisizione. Gli utenti hanno l'opzione di attivare o disattivare la Dynamic Window Extension (DWE). Gli utenti possono inoltre impostare una soglia di attivazione e una soglia DWE diverse per ogni singola transizione. Ad esempio, con una soglia di attivazione bassa e una soglia DWE alta è più probabile che venga attivata una transizione secondaria ma che venga evitata un'estensione della finestra dinamica non necessaria. Quando l'opzione DWE è abilitata, se un composto è passato a un tempo di ritenzione superiore e l'intensità non è scesa sotto la sua soglia di estensione oltre il suo tempo di ritenzione, la funzione Pro Algorithm *Scheduled* MRM estende automaticamente la finestra di rilevamento finché la sua intensità non scende sotto la soglia. La transizione viene monitorata per un'altra metà della finestra di rilevamento specificato dal metodo. La finestra di rilevamento dopo l'estensione è il doppio della durata della finestra di acquisizione specificata. Questa funzionalità permette di utilizzare finestre più piccole e nel contempo assicurare che ogni picco sia acquisito nella sua interezza. Inoltre aumenta la solidità del metodo per la maggior parte degli scostamenti del tempo di ritenzione.

- L'utente può etichettare più transizioni per un analita come primarie o secondarie. Le transizioni primarie sono monitorate in tutta la finestra di acquisizione, mentre le transizioni secondarie sono monitorate solo dopo che le transizioni primarie associate hanno raggiunto le loro soglie di attivazione. In questo modo si riduce al minimo il tempo di ciclo diminuendo il numero di transizioni MRM monitorate. Il tempo di acquisizione è focalizzato sulla raccolta dei dati per gli analiti presenti in un campione, e non sugli analiti non presenti nel campione.
- L'algoritmo supporta anche l'utilizzo del dwell weight. Il Dwell Weight consente di esprimere il tempo di sosta richiesto in maniera relativa. Ai composti più abbondanti è possibile assegnare un valore di dwell weight basso, mentre ai composti meno abbondanti se ne può assegnare uno alto. Durante l'analisi, il tempo di sosta disponibile viene assegnato in base al peso.
- L'algoritmo supporta Dynamic Background Subtraction (DBS) per l'attivazione di transizioni secondarie. L'opzione DBS è disponibile solo per esperimenti e metodi non IDA che utilizzano l'algoritmo *Scheduled* MRM. Per questi metodi o esperimenti, quando DBS è abilitata, viene applicata alle transizioni primarie per attivare le transizioni secondarie nell'esperimento.

Per i metodi IDA che utilizzano l'algoritmo *Scheduled* MRM per le scansioni di indagine, se DBS è abilitata nei criteri IDA, viene applicata alle transizioni primarie per attivare sia le transizioni secondarie sia le scansioni dipendenti.

Quando DWE e DBS sono entrambi abilitati per l'esperimento dell'algoritmo *Scheduled* MRM, l'attivazione DWE dipende dai dati non elaborati senza DBS delle transizioni primarie.

Quando DBS è abilitata per un esperimento che utilizza l'algoritmo *Scheduled* MRM, le transizioni secondarie, dopo essere state attivate, continueranno con l'acquisizione finché quest'ultima non verrà interrotta dalle transizioni primarie.

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

La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro è supportata solo nei sistemi SCIEX 4500MD e Citrine.

Utilizzare questa procedura per creare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM Pro nella finestra Method Editor. Questo tipo di metodo può essere creato anche nella finestra Manual Tune.

1. Attivare un profilo hardware per lo spettrometro di massa supportato. Per i sistemi Citrine, se necessario, selezionare una modalità di massa differente nel profilo hardware e quindi attivare il profilo hardware.
2. Aprire un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM, oppure crearne uno utilizzando la procedura riportata nella sezione: [Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo \*Scheduled\* MRM](#).



Esercitazione sull'algoritmo *Scheduled MRM*

3. Selezionare l'opzione **Advanced** nella sezione **Scheduled MRM** della scheda MS in Acquisition Method Editor. Vengono così abilitate la funzione dell'algoritmo *Scheduled MRM Pro*.

Alla tabella degli intervalli di massa vengono aggiunte cinque nuove colonne e nella sezione **Scheduled MRM** vengono visualizzate due caselle di controllo: **Dynamic Window Extension** e **Dynamic Background Subtraction**.

Figura 14: Parametri algoritmo *Scheduled MRM Pro*

Elemento	Descrizione
1	<b>Group column:</b> utilizzare questa colonna per raggruppare le transizioni di un composto. Assegnare lo stesso nome a tutte le transizioni che sono parte di uno stesso gruppo.
2	Campo <b>MRM Window (sec)</b> : specificare la durata, centrata attorno al tempo di ritenzione, del monitoraggio della transizione. I valori per le transizioni in questo campo sostituiscono il valore nella finestra predefinita del metodo nel campo <b>MRM detection window</b> . La colonna <b>MRM Window</b> è simile al campo della finestra di rilevamento MRM, ma il valore immesso si applica solo a quella transizione specifica. Se lasciato vuoto, il valore viene recuperato dal campo <b>MRM detection window</b> .
3	<b>Primary/Secondary:</b> utilizzare questa colonna per specificare se una transizione è primaria o secondaria. Le transizioni primarie vengono monitorate per l'intera finestra di acquisizione. Le transizioni secondarie vengono monitorate all'interno della finestra di acquisizione finché tutte le transizioni primarie non sono sopra la loro soglia specifica.  Assegnare il numero 1 alle transizioni primarie e il numero 2 alle transizioni secondarie in un gruppo. In un gruppo possono coesistere più transizioni primarie e secondarie.



Elemento	Descrizione
4	<p><b>Trigger Threshold:</b> specificare l'intensità che attiva le transizioni secondarie. Nei metodi IDA, l'opzione <b>Trigger Threshold</b> viene usata anche per attivare le scansioni dipendenti.</p> <p>Questo valore può essere maggiore o uguale a zero.</p>
5	<p><b>Dwell Weight:</b> utilizzare questa colonna per specificare se una transizione specifica deve avere un tempo di scansione (tempo di sosta) più lungo rispetto alle altre transizioni. Il valore predefinito è 1.</p> <p>Dwell Weight consente di esprimere il tempo di sosta richiesto in maniera relativa. Ai composti più abbondanti è possibile assegnare un valore di dwell weight basso (<math>&lt;1</math>), ai composti meno abbondanti se ne può assegnare uno alto (<math>&gt;1</math>). L'intervallo per dwell weight è da 0,1 a 10. Durante l'analisi, il tempo di sosta disponibile viene assegnato in base al peso.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> Il peso di sosta totale corrisponde alla somma dei pesi di sosta di tutte le transizioni primarie più metà della somma dei pesi di sosta di tutte le transizioni secondarie di quel ciclo. Tuttavia, l'assegnazione del tempo di sosta continua a utilizzare ciascun peso di sosta individuale diviso per il peso di sosta totale. Ad esempio, il peso di sosta è 1 sia per le transizioni primarie sia per quelle secondarie per un metodo che contiene solo due transizioni con lo stesso tempo di ritenzione. Il peso di sosta totale è <math>1 + 0,5 = 1,5</math>. Il tempo di sosta per entrambe le transizioni sarà il tempo di sosta totale che può essere assegnato a tutte le transizioni simultanee moltiplicato per <math>1/1,5</math>. Il tempo di sosta totale che può essere assegnato viene quindi calcolato dopo aver sottratto i tempi di pausa, i tempi di commutazione polarità, se applicabili, e poi corretto per un fattore di 1,2. Tutti i valori vuoti per il peso di sosta utilizzano il valore predefinito 1.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> Se il tempo di sosta calcolato non è lo stesso per tutti i cicli per una transizione durante la sua finestra del tempo di ritenzione, il tempo di sosta medio di tutti i cicli sarà usato per l'acquisizione.</p> <hr/>

## Esercitazione sull'algoritmo *Scheduled MRM*

Elemento	Descrizione
6	<b>Dynamic Window Extension:</b> selezionare per abilitare l'estensione della finestra dinamica nel metodo di acquisizione <i>Scheduled MRM</i> Pro. Se l'estensione della finestra dinamica (DWE) non viene utilizzata, deselezionare la casella di controllo <b>Dynamic Window Extension</b> . Se l'estensione della finestra dinamica è selezionata, viene aggiunta una nuova colonna <b>Extension Threshold</b> alla tabella dei range di massa. Se l'estensione della finestra dinamica è selezionata e se l'intensità del picco di una transizione supera la soglia di estensione dopo che è stato superato il tempo di ritenzione, l'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> Pro estende automaticamente la finestra di rilevamento finché l'intensità non scende al di sotto della soglia di estensione e la transizione verrà monitorata per un'altra metà della finestra di rilevamento specificata dal metodo. La finestra di acquisizione dopo l'estensione può essere fino al doppio della durata della finestra di rilevamento del metodo specificato.
7	<b>Dynamic Background Subtraction:</b> selezionare per utilizzare la sottrazione dinamica del fondo nel metodo di acquisizione <i>Scheduled MRM</i> Pro. In un metodo IDA attivato dall'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> Pro, la casella di controllo <b>Dynamic Background Subtraction</b> non è disponibile nell'esperimento dell'algoritmo <i>Scheduled MRM</i> Pro se abilitato nei criteri IDA. La casella di controllo <b>Dynamic Background Subtraction</b> nei criteri IDA, se selezionata, è utilizzata per attivare sia le transizioni secondarie sia le scansioni dipendenti.
8	<b>Extension Threshold:</b> specifica il valore di soglia per l'estensione dinamica della finestra nel metodo di acquisizione <i>Scheduled MRM</i> Pro. Questo valore può essere maggiore o uguale a zero. Fare riferimento alla figura: <a href="#">Figura 15</a> .

**Figura 15: Opzione Dynamic Window Extension selezionata - Colonna Extension Threshold**

The screenshot shows the 'Advanced MS' configuration window. Under 'Scheduled MRM', the 'Enabled' checkbox is checked, and 'Dynamic Window Extension' is also checked. The 'Extension Threshold' column is visible in the table below.

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time(min)	ID	Group	MRM Window (sec)	Primary / Secondary	Trigger Threshold	Extension Threshold	Dwell Weight
1									8	

4. Completare la tabella dei range di massa per ciascuna transizione MRM fornendo i valori appropriati nelle cinque colonne dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro. Utilizzare le regole seguenti e le informazioni riportate nella figura: [Figura 14](#).
  - Tutte le transizioni nello stesso gruppo devono essere elencate consecutivamente nella tabella degli intervalli di massa.
  - Tutte le transizioni nello stesso gruppo devono presentare lo stesso tempo di ritenzione nella colonna **Retention Time (min)**.
  - Tutte le transizioni nello stesso gruppo devono presentare lo stesso tempo nella colonna **MRM Window (sec)**.
  - Tutte le transizioni primarie nello stesso gruppo devono essere immesse prima delle transizioni secondarie nel gruppo. Se un gruppo contiene una sola transizione, tale transizione deve essere la transizione primaria.
5. Salvare il metodo di acquisizione.

La funzione dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro può contenere solamente un periodo e fino a due esperimenti con algoritmo *Scheduled* MRM.

## 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 utilizzando la procedura riportata nella sezione: [Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo \*Scheduled\* MRM Pro](#).
2. Se necessario, per aggiungere un esperimento con tipo di scansione ER, aggiungerlo prima di aggiungere i criteri IDA.
3. Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'icona **Period**, quindi fare clic su **Add IDA Criteria Level**.
4. Specificare i parametri IDA Criteria. Fare riferimento al documento: *Esercitazione per l'acquisizione dipendente dalle informazioni*.
5. Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'icona **Period**, 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. Se necessario, copiare o aggiungere altri esperimenti dipendenti.  
Dipende dai criteri IDA, ovvero dagli ioni più intensi da X a Y.
8. Specificare i parametri dell'esperimento.
9. Salvare il metodo di acquisizione nel progetto dal quale verrà eseguita l'acquisizione.

---

**Nota:** Durante l'acquisizione dei dati mediante il metodo dell'algoritmo IDA *Scheduled* MRM Pro, la soglia di attivazione per ogni transizione MRM nel metodo viene usata per attivare scansioni dipendenti anziché la soglia IDA.

---

---

**Nota:** Per ottimizzare un metodo con algoritmo *Scheduled* MRM per l'allocazione del tempo di attesa, la simultaneità e i tempi di ciclo previsto, installare e utilizzare lo script sMRM Calculator. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla *Guida sugli script per l'utente*.


---

## Visualizzazione dei parametri dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro nelle informazioni sul file

Una volta completata l'acquisizione di un campione, le informazioni sul file di dati acquisito mediante il metodo con algoritmo *Scheduled* MRM Pro mostrano tutti i parametri definiti dall'utente per ogni transizione. Questi parametri includono quanto segue:

- **MRM** (Scheduled o meno)
- **Q1**
- **Q3**
- **Retention Time**
- **ID**
- **Group**
- **MRM Window (sec)**
- **Primary/Secondary**
- **Trigger Threshold**
- **Extension Threshold** (se la casella di controllo **Dynamic Window Extension** è selezionata)
- **Dwell Weight**
- **Q1 Resolution**
- **Q3 Resolution** (se la casella di controllo **Q1/Q3 Resolution** è selezionata)

Sono inoltre riportati i parametri **Dynamic Background Subtraction**, **Dynamic Window Extension**, **Dwell Time**, **Target Scan Time** o **Target Cycle Time**.

1. Nella barra **Navigation**, in **Explore**, fare doppio clic su **Open Data File**.  
Si aprirà la finestra di dialogo Select Sample.
2. Nel riquadro Data Files, selezionare il file wiff.
3. Nel riquadro Samples, selezionare il campione.
4. Fare clic su **OK**.  
Vengono mostrati i dati acquisiti dal campione.
5. Per visualizzare le informazioni del file, fare clic su **Show File Info**  nella barra degli strumenti.  
Sotto il grafico appare il riquadro File Information (Informazioni file).
6. Espandere il periodo richiesto nella sezione sinistra del riquadro File Information.
7. Fare clic sul link all'esperimento del periodo richiesto.  
I parametri dell'algoritmo *Scheduled MRM Pro* relativi a ogni transizione vengono registrati nella sezione Period Experiment selezionata nel riquadro destro.

**Figura 16: Parametri dell'algoritmo *Scheduled MRM Pro* nelle informazioni sul file**

File Info

Log Info

Acquisition Info

Quant. Info

Period 1

Period 1 Experiment 1

Parameter Table

Resolution tables

Calibration tables

Instrument Parameters

Keyed Text

Period 1:

Scans in Period: 120

Min. Dwell Time: 3 ms

Max. Dwell Time: 250 ms

Relative Start Time: 0.00 msec

Experiments in Period: 1

Use target Cycle Time: No

Target Cycle Time: N/A

Period 1 Experiment 1:

Scan Type: MRM (MRM)

Scheduled MRM: Yes

Polarity: Positive

Scan Mode: N/A

Ion Source: Turbo Spray

Dynamic Window Extension: Yes

Dynamic Background Subtraction: Yes

sMRM Q1/Q3 Resolution: Yes

MRM detection window: 60 sec

Target Scan Time: 1.0000 sec

Resolution Q1: N/A

Resolution Q3: N/A

Intensity Thres.: 0.00 cps

Settling Time: 0.0000 msec

MR Pause: 5.0070 msec

MCA: No

Step Size: 0.00 Da

Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	sMRM Dwell (msec)	Param	Start	Stop	ID
609.200	195.000	1.00	250.000				

Window (sec)	Primary / Secondary	Trigger Threshold	Extension Threshold	Dwell Weight	Group	Q1 Resolution	Q3 Resolution
0.5	1	1	10000000	1.0	A	High	Unit

## Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled MRM Basic* o *Pro* con *Scheduled Ionization*

1. Creare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled MRM Basic* o *Pro*.
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**. Se è selezionato anche **Dynamic Window Extension**, assicurarsi che il **Stop Time** sia successivo all'ultimo tempo di ritenzione nella tabella di massa più una volta

## Esercitazione sull'algoritmo *Scheduled* MRM

e mezza la finestra di rilevamento per questa transizione. Assicurarsi inoltre che la **Synchronization Mode** del metodo di acquisizione e il metodo LC siano impostati come quando non è utilizzata la funzione **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 7 minuti. Tutti i picchi di interesse vengono eluiti dopo 0,5 minuti e prima di 5,0 minuti. Poiché la finestra di acquisizione dell'ultimo picco eluito potrebbe essere estesa da una finestra di rilevamento completa, vengono utilizzati 5,5 minuti per il **Stop Time**. Quando viene utilizzata la funzione **Scheduled Ionization**, viene applicata una tensione **IonSpray** di 0 prima del **Start Time** e dopo il **Stop Time**. La tensione **IonSpray** impostata nel metodo MS è l'unica applicata tra il **Start Time** e il **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 17: Algoritmo *Scheduled* MRM Pro con Scheduled Ionization**

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Retention Time (min)	ID	Group	MRM Window (sec)
1	301.100	165.000	1.79	6-MAM-d3 IS		
2	141.100	93.000	1.70	Amphetamine-d5		
3	293.100	171.200	2.17	Benzoylcegonine		
4	472.300	400.200	2.77	Buprenorphine-d		
5	267.100	180.000	2.99	Carisoprodol-d7 I		
6	306.200	152.200	1.60	Codeine-d6		
7	342.300	105.100	2.59	Fentanyl-d5		
8	306.200	202.100	1.85	Hydrocodone-d6		
9	292.100	185.100	1.20	Hydrocodone-d6		
10	363.100	155.100	4.44	JMH Q18 4-OH p		
11	377.200	155.100	4.42	JMH Q18 6-OH h		
12	284.100	134.100	2.28	MDPV-d8 IS		
13	252.200	224.100	2.26	Mepredione-d4		
14	161.100	148.100	1.98	Mephedrone-D3 I		
15	226.100	165.100	2.33	Meprobamate-d7		

4. Salvare il metodo di acquisizione.

# 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.

## Contatti

---

---

**Nota:** per richiedere una versione stampata gratuita del presente documento, contattare [sciex.com/contact-us](https://sciex.com/contact-us).

---