# Návod k obsluze stroje Agilent 6530 Q-TOF LC/MS



Na stroji nesmí pracovat nikdo, kdo nebyl proškolen.

## Krok 1: Kontrola stroje a přihlášení

Před vlastní prací učiňte následující kroky:

- a) Zkontrolujte stav rozpouštědel v zásobních lahvích (deionizovaná voda, acetonitril). Pokud je stav rozpouštědel příliš nízký, informujete o tom Michala Urbana.
- b) Přihlášení do operačního systému. Příslušné údaje dostanete až po řádném proškolení.

## Krok 2: Spust'te software Data Acquisition

Na ploše uvidíte všechny ikony softwaru Agilent MassHunter. Pro spuštění programu Data Acquisition klikněte dvakrát na ikonu Data

Aquisition

Data Acquisition

#### Poznámka:

Když se otevře program Data Aquisition, softwarové stroje se automaticky spustí. Pokud jsou z jakéhokoliv důvodu zastaveny a je třeba je restartovat, pak dvakrát klikněte na ikonu Acq System Launcher, která je na ploše a klikněte na start.



## Okna, kde děláte většinu své práce.



Editor metody, Worklist a Sample run sdílejí spodní okno. Klepnutím na záložku se přepnete do příslušného okna.

#### Zobrazení nebo skrytí oken

Na obrazovce můžete zobrazit vždy jedno okno nebo všech sedm oken. Nikdy nemůžete skrýt všechna okna. Chcete-li zobrazit nebo skrýt okno, klepněte na dané příkazy ve *View menu*. Okno můžete také skrýt kliknutím na ikonu **X** (křížek) v pravém horním rohu okna.

Po klepnutí na okno dojde ke změně barvy názvu aktivního okna. Stisknutím klávesnice **F1** získáte nápovědu v aktivním okně. Dále můžete měnit velikosti oken. Pokud kliknete na název okna, tak ho odejmete z hlavního okna. Naopak dalším poklepáním na název ho zpět ukotvíte do hlavního okna. Také můžete okno ukotvit či odejmout z hlavního okna tím, že na název příslušného okna klepnete pravým tlačítkem myši a klinete na *Floating*.

#### **Instrument Status window**



V tomto okně si můžete prohlédnout stav každého jednotlivého zařízení. Vidíte, zda je zapnuto (*On*), vypnuto (*Off*) nebo v pohotovostním režimu (*Standby*). Dále se zde dají nastavovat parametry zařízení LC a hmotnostního spektrometru. Nic nastavovat nemusíte, vše už je nakonfigurováno. Můžete kliknout na ikonu ? v jakémkoli podokně příslušných součástí stroje a získat tak nápovědu pro jednotlivé zařízení.

Toto okno dále zobrazuje aktuální stav každého zařízení podle barevného kódování (Tabulka 1).

Tabulka 1: Barevné kodování v Instrument Status Window

| Barva         | Stav   |
|---------------|--|
| červená       | chyba (Error)  |
| žlutá         | zařízení není připraveno (Not ready)                                     |
| purpurová     | před spuštěním (Pre run)/po spuštění (Post run)                          |
| modrá         | běží experiment (Running), nástřik (Injecting)                           |
| zelená        | vše v pořádku, v nečinnosti (Idle)                                       |
| tmavě šedivá  | zařízení vypnuto, není připojeno (Offline)                               |
| světle šedivá | zařízení v pohotovostním režimu, například UV lampa je vypnutá (Standby) |

## Actuals window

V tomto okně se zobrazuje aktuální hodnota vybraných parametrů přístroje.

| Actuals                          |               | × |
|----------------------------------|---------------|---|
| Parameter                        | Value         |   |
| Q-TOF: TOF Vac                   | 1.65E-07 Torr |   |
| Q-TOF: Quad Vac                  | 2.40E-05 Torr |   |
| Q-TOF: Drying Gas                | 3.0 l/min     |   |
| Q-TOF: Error State               | _             |   |
| Q-TOF: Ready State               | False         |   |
| Q-TOF: Rough Vac                 | 2.83E+00 Torr |   |
| Q-TOF: Vaporizer/Sheath Gas Temp | 125 °C        |   |
| Q-TOF: Gas Temp                  | 300 °C        |   |

#### **Chromatogram Plot window**

V tomto okně můžete sledovat chromatogramy v aktuálním čase. Tyto chromatogramy zobrazují uživatelem definované signály nebo parametry přístroje.



#### **Spectrum Plot window**

V tomto okně sledujete spektrální grafy v aktuálním čase.

| Spectrum<br>Centroi | n Plot<br>id MS + MS1 Li                  | ne Spectrun    | n at 1.24 min. |      |                  |            |     |          |     | >       |
|---------------------|---|----------------|----------------|------|------------------|------------|-----|----------|-----|---------|
| 150K<br>100K<br>50K | m/z: 221.0588<br>Height: 97771<br>81.9374 | 221            | 0588<br>311.0  | 1801 | 513.             | 6051 596.3 | 153 | 769.4018 | g   | 22.0051 |
| ম ম                 | 100                                       | 200            | 300            | 400  | 500<br>m/z (amu) | 600        | 700 | 800      | 900 |         |
| Profile             | MS + MS1 Profi                            | ile at 1.24 mi | n.             |      |                  |            |     |          |     |         |
| 100K                | Area: 362667<br>m/z: 221.0588             | 221            | 0588           |      |                  |            |     | 769.4018 |     |         |
| <b>v v</b>          | 100                                       | 200            | 300            | 400  | 500<br>m/z (amu) | 600        | 700 | 800      | 900 | 1000    |

#### **Method Editor window**

Zde zadáváte jednotlivé parametry akvizice pro zvolenou metodu. Není třeba nic upravovat, vše je nastaveno pro obecnou metodu!

| Method E ditor  |   |
|---|---|
| 🗄 🗋   🎷 💾 🛃   🃝   calibrant.m                           | ▼ Apply 🔄   |
| Properties DA HiP Sampler HiP Sampler Pretreatment Bina | ry Pump Column Comp. DAD Q-TOF  |
| Ion Polarity Data Storage                               | General Source Acquisition Ref Mass Chromatogram  |
| Dual AJS ESI - Positive Centroid Waste                  | Ion Polarity (Seg)  |
| Stop Time Segment and Experiment #                      |   |
| C No Limit/As Pump Time (min) 4 Expt 4                  | C Negative C Both C Profile   |
|   | LC Stream (Seg) Plot and Centroid Data Storage Threshold                                  |
|   | C MS MS MS/MS   |
|   | Waste Abs. threshold 200 Abs. threshold 5   |
|   | Apply Now         Rel. threshold (%)         0.01         Rel. threshold (%)         0.01 |
|   |   |
| Cycle Time 1 s  | Do not wait for setpoints (e.g. temperature) to equilibrate                               |
|   |   |
|   |   |
|   |   |
| Worklist Method Editor Sample Run                       |   |

#### Sample Run window

V tomto okně zadáváte informace o vzorcích. Toto okno umožňuje spustit měření jednotlivých vzorků, ale lze spustit jen jedno měření, ne sekvenci měření více vzorků. Vyplňte označení vzorku, pozici vzorku v autosampleru.

| Sample Run                 |                       |                    |           |                    |                  |   |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|-----------|--------------------|------------------|---|
|                            |                       |                    |           |                    |                  |   |
| Sample                     |                       |                    | Additio   | nal Information    |                  |   |
| Name Canala 1              | Pasilian Na Islantian |                    |           | Parameter Name     | Parameter Value  | * |
| pampie i                   | Position No injection |                    |           | Rack Position      |                  |   |
| Injection Volume As Method | ΨμL                   |                    |           | Plate Code         | PlateOrVial      |   |
|                            |                       |                    |           | Plate Position     |                  | E |
| Comment                    |                       |                    |           | Sample Type        | Sample           |   |
| Into Ello                  |                       |                    |           | Method Type        | Acquisition Only |   |
|                            |                       |                    |           | Balance Override   | No Override      |   |
| Auto Increment             |                       |                    |           | Equilib Time (min) | 0                |   |
|                            |                       | Sample0016 d       | Manu Data | Dilution           | 1                |   |
| ane                        |                       | Salipeoro.d        | view Data | Wt/Vol             | 0                |   |
| Path                       |                       | C:\MassHunter\Data | ► *       | ReadyTimeOut       | 2                | - |

#### Worklist window

Ve worklistu zadáváte informace pro více vzorků. Při spuštění worklistu jsou vzorky automaticky měřeny v pořadí uvedeném ve worklistu.

| i w | Worklist X                                 |                            |                |                 |                  |             |             |            |         |              |       |
|-----|--|----------------------------|----------------|-----------------|------------------|-------------|-------------|------------|---------|--------------|-------|
| i 🗋 | 🖸 💕 🖬 🕼 🕨 🔲 II 🛛 🖻 🗍 SulfaWorklist.wkl 🗸 🗸 |                            |                |                 |                  |             |             |            |         |              |       |
|     | F  | Sam                        | ple Name       | Sample Position | Method           | Data File   | Sample Type | Level Name | Comment | Sample Group | Info. |
| 1   | 1  | ✓ Sulfa1                   |                | P1-A1           | AJSESI_default.m | sulfas001.d | Sample      |            |         |              |       |
| 2   | 1  | <ul> <li>Sulfa1</li> </ul> |                | P1-A2           | AJSESI_default.m | sulfas002.d | Sample      |            |         |              |       |
| 3   | 1  | v Sulfa1                   |                | P1-A3           | AJSESI_default.m | sulfas003.d | Sample      |            |         |              |       |
| 4   | 1  |                            |                |                 |                  |             |             |            |         |              | •     |
|     | Worklist                                   |                            |                |                 |                  |             |             |            |         |              |       |
| Wo  | rklist                                     | Method Ed                  | tor Sample Run | 1               |                  |             |             |            |         |              |       |

#### **Tune window**

V tomto okně vyladíte a kalibrujete hmotnostní spektrometr.



# Krok 3: Kalibrace TOF a Q-TOF

a) V hlavním panelu úvodního okna vlevo nahoře v sekci Context změňte mód Acquisition na mód Tune.

| File   | View                  | Sample        | Work | list |
|--------|-----------------------|---------------|------|------|
| Conte  | xt: Acq               | uisition      | -    | La   |
| For He | lp,F <mark>Acq</mark> | uisition<br>e |      |      |
| Instru | ment St               | atus          |      | 1    |

Objeví se okno *Tune*. Během kalibrace jsou otevřeny pouze následující okna: *Instrument status window*, *Actuals window* a *Tune window*. Všimněte si, že TOF vyladíte odděleně od kvadrupólu.

#### **Tune window**

| Tune File: TOFMassCalibration-3200mzRange.tun | Tune & Calibration Instrumen | t State                     |                          |                |
|---|------------------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------|
| Ion Polarity 🕟 Positive 🔿 Negative            | _Q-TOF: Standard (3200 m     | n/z) Extended Dynamic Range |                          |                |
| ⊢ Ion Source                                  | ✓ Positive                   | 🔿 Quadrupole                | Mass Calibration / Check |                |
|   | Negative                     | TOF                         | C Transmission Tune      |                |
| Gas Temp 325 297 °C                           |                              | C Both                      | C System Tune            | Fragile Ions   |
| Drying Gas 5.0 1/min                          |                              |                             |                          |                |
| Nebulizer 20 psi                              |                              |                             | A                        |                |
| VCap 4000 V 0.051 μA                          |                              |                             |                          | Start TOF Mass |
| Chamber 3.29 µA                               |                              |                             |                          | Calibration    |
| Nozzle Voltage 2000 V                         |                              |                             |                          |                |
| Sheath Gas Temp 295 186 °C                    |                              |                             |                          |                |
| Sheath Gas Flow 12 12.0 1/min                 |                              |                             |                          |                |
| Calibrant Bottle 📀 None 🔿 A 🔿 B               |                              |                             |                          | Tune Report    |
| LC Flow to 💿 Waste O MS                       | 1                            |                             | Ŧ                        | Apply          |
|   |                              |                             |                          |                |

- Instrument Status × Q-TOF Sampler **Binary Pump** Column Comp. VWD Idle Standb EMF 🕢 EMF 🕗 EMF⊘ EMF⊘ 95.0 B 5.0 8 ^∕₩ Dual AIS ESI Ш 1.00µL 0.000 mL/min rd (3200) 7 -à Iz. Ext Dvn Range 254 nm =00 0.00 bar 23.03 °C 24.88 °C ① On ⊖ Off 0.00 / 0.00 Instrument Not Ready 1
- b) Zapněte stoj, tedy všechny jeho součásti v Instrument window.

Dojde k zapnutí všech součástí stroje.

| File View Tools He<br>Context: Tune | File View Tools Help<br>Context: Tune   Layout: Default(sys).lyt   Image: Top Im |  |     |                   |  |  |                      |   |         |     |
|-------------------------------------|---|--|-----|-------------------|--|--|----------------------|---|---------|-----|
| Instrument Status                   |   |  |     |                   |  |  |                      |   |         | ×   |
| Sampler<br>Idle<br>EMF©<br>1.00µL   | Binary Pump<br>Idle<br>EMF⊙<br>95.0 5.0 0.400 mL/min<br>213.98 bar  | Column Comp.<br>Idle<br>EMF⊘<br>↓<br>29.72 °C 25.33 °C | VWD | Idle<br>EMF⊘<br>→ | Q-TOF<br>Not Ready<br>Dual AJS ESI<br>Control 2 GHz, Ext Dyn Range |  |                      |   |         |     |
| 0.00 / 0.00                         |   |  |     |                   |  |  | Instrument Not Ready | : | () On ( | Off |

- c) Následně kliknětě na Tune and Calibration
- d) Označte polaritu, kterou chcete použít při ladění TOF na záložce *Tune and Calibration*. Můžete označit pozitivní, negativní mód. Dále klikněte na *Mass Calibraton/Check*.
- e) Poté klikněte na *Start TOF Mass Calibration* a vyčkejte na report. Tato operace může trvat cca 5 minut. Pokud se zobrazí report, tak kalibrace stroje byla úspěšná.

| Tune File: TOFMassCalibration-3200mzRange.tun | Tune & Calibration Instrument State | 1                     |   |                |       |
|---|-------------------------------------|-----------------------|---|----------------|-------|
| Ion Polarity 💿 Positive 🔿 Negative            | _Q-TOF: Standard (3200 m/z) Ext     | ended Dynamic Range – |   |                |       |
| Ion Source                                    | Positive                            | O Quadrupole          | Mass Calibration / Check     Transmission Turns |                |       |
| Dual AJS ESI 📃                                |                                     | C D-th                |   |                |       |
| Gas Temp 325 297 °C                           |                                     | U Both                | O System Lune                                   | Fragile Ions   |       |
| Drying Gas 5 5.0 I/min                        |                                     |                       |   |                |       |
| Nebulizer 20 psi                              |                                     |                       | · ·   |                |       |
| VCap 4000 V 0.051 μA                          |                                     |                       |   | Short TOE Moon |       |
| Chamber 3.29 µA                               |                                     |                       |   | Calibration    |       |
| Nozzle Voltage 2000 V                         |                                     |                       |   |                |       |
| Sheath Gas Temp 295 186 °C                    |                                     |                       |   |                |       |
| Sheath Gas Flow 12 12.0 I/min                 |                                     |                       |   |                |       |
|   |                                     |                       |   | Tune Report    |       |
| Calibrant Bottle 💽 None 🔿 A 🔿 B               |                                     |                       | Ŧ   |                |       |
| LC Flow to 🕟 Waste 🔿 MS                       |                                     |                       |   |                | Apply |

f) Po skončení kalibrace se v oddílu hlavního okna v sekci Context přepnete zpět do módu Acquisition.



## Krok 3: Nastavení a spuštění metody pro změření vzorku

Před měřením vašeho vzorku je nutné zvolit vhodnou metodu měření.

a) Zvolení metody se proveď te v hlavním panelu hlavního okna v sekci *Method*.

| 🚟 Agilent MassHunter Workstatio | n Data Acquisition            |               |                     |  |   |                  |
|---------------------------------|-------------------------------|---------------|---------------------|--|---|------------------|
| File View Sample Workli         | ist Method Tools Help         |               |                     |  |   |                  |
| Context: Acquisition            | ▼ Layout: Deafault(sys).lyt ▼ | 🖪 ·   🔒 🍈 🍈 🍈 | Method: gen         | eral_short_posi 🔻 Vorklist:              | ▼ 106   |                  |
| Instrument Status               |                               |               |                     | ×  | Actuals   |                  |
| Sampler                         | Binary Pump                   | Column Comp.  | VWD                 | Q-TOF                                    | Parameter   | Value            |
| Idle<br>EMF(2)                  | Standby<br>EMF()              | Not Ready     | Not Ready<br>EMF(2) | Not Ready                                | Q-TOF: Quad Vac   | 2.43E-05 Torr    |
| EMF()                           |                               | 8 🔒 🖳         | Dual AJS ESI        | Q-TOF: Error State<br>Q-TOF: Ready State | - False   |                  |
| Ļ į                             |                               |               | 254 nm              | 2 GHz. Ext Dyn Range                     | Q-TOF: Rough vac<br>Q-TOF: Vaporizer/Sheath Gas Temp<br>Q-TOF: Gas Temp | 125 °C<br>300 °C |
| 0.00 / 0.00                     |                               |               | Instrum             | ent Not Ready 🗉 🕕 On 😑 Off               |   |                  |

Pro běžná měření jsou už vytvořeny metody, které můžete použít. Především jde o metodu: general\_short\_positive(400ul).1ul.m

Tato metoda umožnuje změřit většinu vzorků.

Poznámka: Pokud potřebujete vytvořit speciální metodu pro změření vaší látky, tak to nejprve diskutujte s Michalem Urbanem.

- b) V záložce vyberte metodu: general\_short\_positive(400ul).1ul.m
- c) Zapněte všechny komponenty stroje tlačítkem On. Dojde k spuštění všech komponent stroje do aktivního módu, což se projeví zelenou barvou v okně *Instrument Status*.



## Krok 4: Nastavení spuštění měření vzorků ve worklistu

- a) Klikněte na Worklist
- b) Klepnutím pravým tlačítkem myši do levého horního rohu worklistu zobrazíte následující nabídku.

| Worklist   |                   |  |   |                                 |            |         |     |
|--|-------------------|--|---|---------------------------------|------------|---------|-----|
| : 🗋 I 💕 🛄 💹 I 🕨 🔳 II I 📝 I                                 | SulfaWorklist.wkl |  | •                                       |                                 |            |         |     |
| Add <u>M</u> ultiple Samples<br>2 Add S <u>a</u> mple      | ample Position    | Method<br>AJSESI_default.m<br>AJSESI_default.m | Data File<br>sulfas001.d<br>sulfas002.d | Sample Type<br>Sample<br>Sample | Level Name | Comment | Sam |
| 3 Add Scrip <u>t</u>                                       | 43                | AJSESI default.m                               | sulfas003.d                             | Sample                          |            |         |     |
| <u>C</u> opy Row(s)<br>Add Copied Row <u>(</u> s)          |                   |  |   |                                 |            |         |     |
| Delete Row(s)  | -                 |  |   |                                 |            |         |     |
| Add Col <u>u</u> mn(s)<br><u>S</u> how/Hide/Order Columns  | -                 |  |   |                                 |            |         |     |
| Text Size ►<br>Add Wor <u>k</u> list                       |                   |  |   |                                 |            |         |     |
| Worklist <u>R</u> un Parameters<br><u>I</u> mport Worklist |                   |  |   |                                 |            |         |     |
| Wrap   |                   |  |   |                                 |            |         |     |
| ✓ Trac <u>k</u> Worklist Run                               |                   |  |   |                                 |            |         |     |
|  |                   |  | Worklist                                |                                 |            |         |     |

- c) Klikněte na Add Multiple Samples.
- d) Vložte informace do tabulky worklistu, jako je název vzorku, název datového souboru a cestu pro uložení souboru. První řádek worklistu je vždy měření vzorku *Blank* s pozicí vialky 1. Následuje měření vašeho vzorku či sekvence vzorků. Jako poslední je promytí s napíchnutím čistého acetonitrilu ve vialce v pozici 1. Každá akvizice (řádek) se měří cca 15 minut. Přidání řádku ve worklistu provedete klepnutím pravým tlačítkem myši do levého horního rohu worklistu zobrazíte nabídku a zvolíte *Add Sample*.

**Poznámka:** Doporučuji dát měřit *Blank* vzorek dvakrát. První měření blanku vypláchne zbytky po předchozím měření a druhé měření blanku ekvilibruje stroj.

e) Uveď te pozici vzorku v Sample Position (2-99).

| Work   | ist   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|--------|---|------------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------------|-------------|------------|--------------|---------|--------------|-------|
|        | î I   | 💹   🕨 🔳 🔢   💆                |                 |                             | T                                 |             |            |              |         |              |       |
|        |   | Sample Name                  | Sample Position | Method                      | Data File                         | Sample Type | Level Name | lnj Vol (μl) | Comment | Sample Group | Info. |
| 1>     | νk  | lank20.1.20 <mark>2</mark> 0 | Vial 1          | general_short_positive(400u | D:\MassHunter\Data\Jindrich\Kasal | Sample      |            | As Method    |         |              |       |
| 2      | νF  | PK1069                       | Vial 61         | general_short_positive(400u | D:\MassHunter\Data\Jindrich\Kasal | Sample      |            | As Method    |         |              |       |
| 3      | νv  | vashing                      | Vial 1          | general_short_positi∨e(400u | D:\MassHunter\Data\Jindrich\Kasal | Sample      |            | As Method    |         |              |       |
| 4      | 4 V Script SCP_PumpsAllOf(){MH_Acq_Scripts.exe} |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |
|        |   |                              |                 |                             |                                   |             |            | Worklist     |         |              |       |
| Methor | Edito   | Norklist Sample Run          |                 |                             |                                   |             |            |              |         |              |       |

- f) Do posledního řádku vložte požadavek na zastavení pumpy po změření worklistu z důvodu šetření rozpouštědel. Tento úkon provedete klepnutím pravým tlačítkem myši do levého horního rohu worklistu zobrazíte nabídku a zvolíte *Add Script*. A vyberete *SCP\_PumpsAllOff*.
- g) Vzorek musí být dokonale rozpuštěný ve vialkách od firmy Agilent (<u>https://www.agilent.com/store/productDetail.jsp?catalogId=5190-4034</u>) s víčkem mající septum (<u>https://www.agilent.com/store/productDetail.jsp?catalogId=5182-0717</u>). V žádném případě nepoužívejte jiná septa!!!



**Koncentrace vašeho vzorku se musí pohybovat v rozmezí 10-40 μg/ml.** Příprava vzorku:1 mg vaší látky rozpusťte v 1 ml acetonitrilu z toho vzít 0,01-0,04 ml a rozpustit v 1 ml.

- h) Spuštění měření vzorků ve worklistu provedete kliknutím na ikonu
- Následuje napíchnutí *Blanku* z vialky 1 a jeho měření. Fialová barva u *Sampleru*. Potom pokračuje měření vašich vzorků dle worklistu. Modrá barva u všech součástí stroje.

| Agilent MassHunter Workstation Data Acquisition  |   |  |  |
|--|---|--|--|
| File View Sample Worklist Method Tools Help  |   |  |  |
| Context: Acquisition V Layout: Deafault(sys).lyt V 🔒 🖓 🎧   | Method: general_short_posi - Worklist:  |  |  |
| Instrument Status  | ×   | Actuals  | ×  |
| Sampler Binary Pump Column Comp. VWI   | D Q-TOF F   | Parameter         Value           Q-TOF: TOF Vac         1.65E-07 Torr           Q-TOF: Quad Vac         2.34E-05 Torr |  |
| EMP<br>EMP<br>1.00µL<br>1.00µL<br>Vial 1<br>Vial 1<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1.00µL<br>1. | EM ()<br>Dual AIS ESI<br>()<br>C ()<br>C () | Q-TOF: Dyving Gas 8.0 //min<br>Q-TOF: Extror State   |  |
| 0.00 / 0.00  | Instrument Injecting 👔 🕕 On 😑 Off   |  |  |
| Chromatogram Plot  | ×   | Spectrum Pane  | ×  |
| TIC Binary Pump <sup>1</sup> Practice  | VWD: Signal A   | UVIUV  |  |
| 3.867<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.667<br>3.67<br>3.  | 4180 4190 min y   | x10-<br>1<br>0.9<br>0.8<br>0.7<br>0.6<br>0.6<br>0.6<br>0.6<br>0.6<br>0.6<br>0.6<br>0.6                                 | 40 45 50 56 60 65 70 75 80 86 90 95 100 105<br>nm  |
|  |   | WD artor   |  |
|  |   |  | ~  |
| Comple Name Comple Desition Mathem   | veto Filo Comple Tuno Louis Nome Ini V  | (a) (ui) Commont Comple Crown Infe   |  |
| P blank20.1 2020 Vial 1 general_short_positive(400u D\MassHunte     v PK1063 Vial 61 general_short_positive(400u D\MassHunte     v PK1063 Vial 1 general_short_positive(400u D\MassHunte     v Script SCP_PumpsAllOft()(MH_Acg_Scripts.exe)  | nData\Jindrich\KasahSample As Meth<br>nData\Jindrich\KasahSample As Meth<br>nData\Jindrich\KasahSample As Meth<br>As Meth   | od indiana   | Errors and warnings     Sipping overlapped injection because High throughput Optimization is not en. |
|  | Warklist  |  | throughput Optimization is not en  |
| Method Editor Worklist Sample Run  | WORKIST   |  | 5. Skipping overlapped injection because High<br>throughput Optimization is not en                   |

| Context:       Acquisition       Layout:       Dearault(sys).lyt       Image: Context:       Method:       general_shot_posi       Workist:         Instrument Status       Sampler       Binary Pump       Column Comp.       VWD       Q-TOF         Image: Context:       EMF@       Image: Context:       EMF@       Image: Context:       Image: Context:       Column Comp.       VWD       Q-TOF         Image: Context:       EMF@       Image: Context:       Imag  | File View Sample Wo | rklist Method Tools Help            |              |        | Arthodo warrand short and          | Warklint                                   |
|--|---------------------|-------------------------------------|--------------|--------|------------------------------------|--|
| Sampler Binary Pump Column Comp. VWD Q-TOF<br>Run EMF© EMF© EMF©<br>1.00µL 90.8 9.2 0.400 mL/min 90.8 9.2 0.400 mL |                     | Cayou: Dearault(sys).lyt            |              |        | general_snort_posi 👻               | WORKIISC                                   |
| Sampler     Binary Pump     Column Comp.     VWD     Q-IOF       Run     Run     Run       EMF     EMF     EMF     EMF       J.00 µL     90.8     9.2     0.400 mL/min   |                     |                                     |              |        |                                    |  |
| Run         Run         Run         Run         Run         Run         Run           EMF         EMF         EMF         EMF         EMF         EMF         Dual AJS ESI           1.00 μL         90.8         9.2         0.400 mL/min         EMF   | Sampler             | Binary Pump                         | Column Comp. | VWD    | Q-TOF                              |  |
| I.00μL         90.8         9.2         0.400 mL/min           Vial 1         Vial 1         Vial 1         Vial 1   | Run<br>EMF ()       | Run<br>EMF ()                       | EMF(         | n<br>D | EMF                                | Run  |
| 190.18 bar 190.18 bar 254 nm 254 nm  | 1.00 μL<br>Γ Vial 1 | 90.8 9.2 0.400 mL/min<br>190.18 bar |              | 254 nm | Dual<br>Dual<br>COP Stand<br>2 GH: | AJS ESI<br>lard (3200)<br>z, Ext Dyn Range |

j) Po skončení měření všech vašich vzorků a závěrečného promytí dojde k automaticky k vypnutí pump.

# Krok 5: Analýza změřených dat

Vaše naměřené vzorky můžete analyzovat a hledat příslušné hmoty v programu Qualitative Analysis. Tento program naleznete na ploše.

