

AGGIORNARE LE LIBRERIE DEI PESTICIDI PER IL SISTEMA GC AGILENT INTUVO 9000



Come aggiornare le librerie dei tempi
di ritenzione su Intuvo



Introduzione

Quando si applicano metodi a un nuovo sistema gascromatografico (GC), è consigliabile verificare i tempi di ritenzione degli analiti di importanza critica prima di avviare la produzione secondo il tipico flusso di lavoro. Spesso, a causa di differenze nella configurazione del sistema o della variabilità delle colonne, i tempi di ritenzione per due sistemi GC simili possono essere differenti. È possibile utilizzare la funzione di blocco del tempo di ritenzione (RTL) per assicurarsi tempi di ritenzione ripetibili in più sistemi.

Se si utilizza un database dei tempi di ritenzione, come nel presente caso di analisi dei pesticidi, con i tempi di ritenzione del database MRM per pesticidi e residui di inquinanti ambientali, è possibile effettuare ulteriori passaggi per garantire che i tempi di ritenzione corrispondano a quelli del database esistente oppure occorre aggiornare il metodo analitico per tenere conto dei tempi di ritenzione del nuovo sistema.

Questa nota tecnica fornisce le istruzioni su come effettuare il blocco del tempo di ritenzione in un metodo MRM per l'analisi dei pesticidi su un sistema GC Agilent Intuvo 9000 e successivamente aggiornare i tempi di ritenzione per sfruttare il database MRM per pesticidi e residui di inquinanti ambientali.

Il flusso di lavoro generale per l'estrattore o le sorgenti ioniche inerti prevede i seguenti passaggi:

1. generare un cromatogramma con blocco del tempo di ritenzione;
2. acquisire dati con il metodo dynamic MRM e finestre allargate di un delta del RT a sinistra e a destra;
3. aggiornare i tempi di ritenzione mediante l'analisi quantitativa;
4. importare i nuovi tempi di ritenzione nel metodo dynamic MRM;
5. validare il metodo.

Per maggiori informazioni visita il sito:

www.agilent.com



Agilent Technologies

Blocco del tempo di ritenzione

Nel configurare un nuovo sistema per duplicare un'analisi dei pesticidi, utilizzare il blocco del tempo di ritenzione (RTL) per garantire la corrispondenza tra i tempi di ritenzione dei due sistemi. Quando viene acquisita la calibrazione RTL, il sistema raccoglie cinque file di dati con vari valori di flusso e di pressione (Figura 1).

La massa o le masse del composto RTL e il numero di vial dello standard contenente il composto di riferimento erano stati inseriti prima della raccolta dei dati della calibrazione RTL. Il clorpirifos metile viene spesso utilizzato come composto bloccante per l'analisi dei pesticidi. Le masse scansionate per il blocco sul clorpirifos metile sono state scelte dallo spettro di massa e il blocco è normalmente effettuato a 9,143 per un metodo da 20 minuti. Per una tipica analisi dei pesticidi della durata di 20 minuti, questa procedura richiede circa 3 ore. Questo tempo include il ciclo di pulizia iniziale per garantire che non ci siano residui di analiti rimasti da cicli precedenti che possano interferire con le masse del composto RTL.

Una volta raccolti i dati per la calibrazione RTL, i tempi di ritenzione del composto di riferimento sono stati inseriti e i flussi sono stati regolati (a partire dai dati di calibrazione) in modo da ottenere i tempi di ritenzione desiderati (Figura 2).

Acquisire i dati in dynamic MRM

Dopo aver effettuato il blocco del tempo di ritenzione del nuovo sistema, sono stati verificati i tempi di ritenzione dei composti di rilevanza critica dell'intero cromatogramma per garantire che le finestre di MRM fossero ancora accurate. Il metodo MRM è stato convertito in un metodo dynamic MRM (Figura 3).

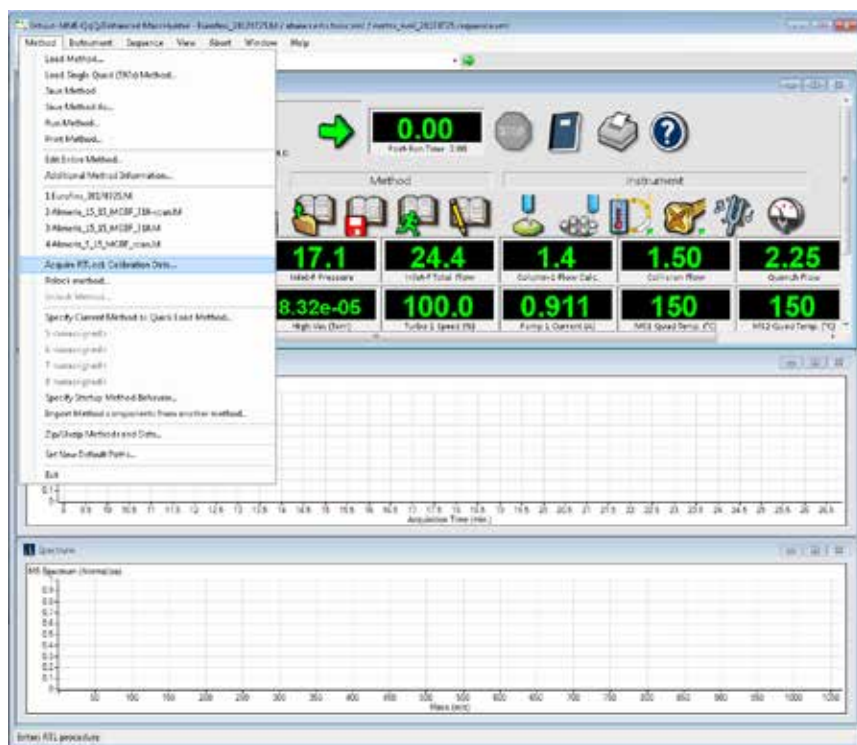


Figura 1. Il comando **Acquire RTL Calibration Data** (Acquisisci dati di calibrazione RTL), facilmente accessibile dall'elenco Method (Metodo), permette di raccogliere i dati della calibrazione RTL. Una volta completata la calibrazione iniziale, è possibile utilizzare **Relock Method** (Blocca nuovamente il metodo).

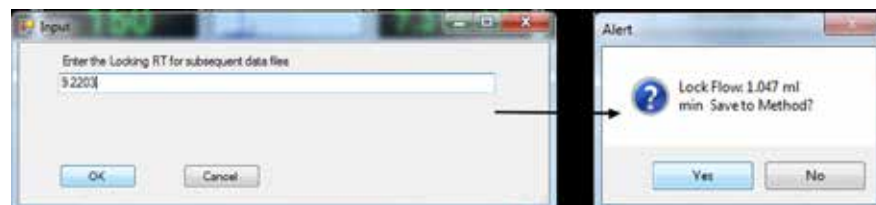


Figura 2. Viene inserito il tempo di ritenzione desiderato per il composto bloccante e il sistema regola il flusso per ottenere il tempo di ritenzione selezionato.

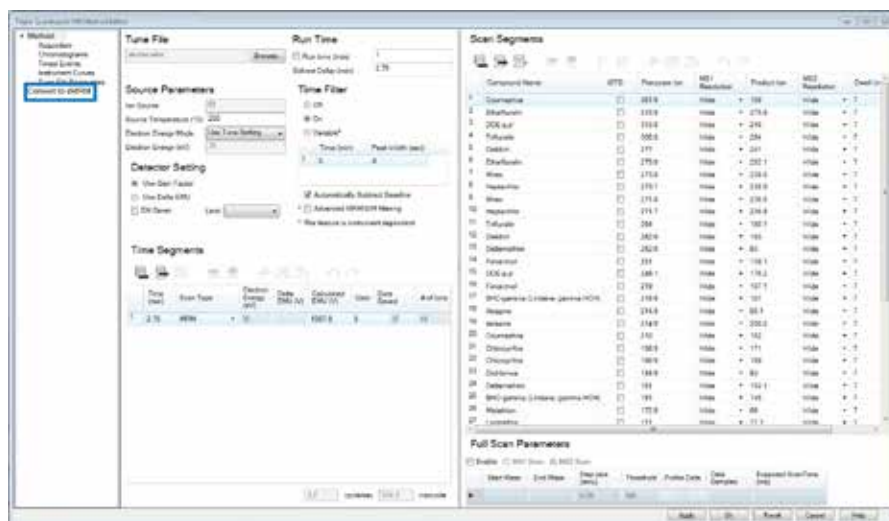


Figura 3. Un metodo MRM basato su segmenti temporali è stato facilmente convertito in un metodo dynamic MRM con le indicazioni del software di acquisizione MassHunter Acquisition.

Utilizzando gli MRM esistenti, il nuovo metodo dynamic MRM ha mantenuto le transizioni esistenti. Il software ha calcolato i tempi di ritenzione degli analiti effettuando la media dei tempi di inizio e di fine precedentemente specificati per ogni segmento (Figura 4).

Nel metodo dynamic MRM, i delta delle finestre a sinistra e a destra sono stati allargati globalmente a 2 minuti mediante la funzione **Overwrite RT Delta** (Sovrascrivi delta RT) (Figura 5).

A seconda del numero di composti e transizioni del metodo dynamic MRM, il numero massimo di MRM concomitanti (200) potrebbe essere superato (Figura 6).

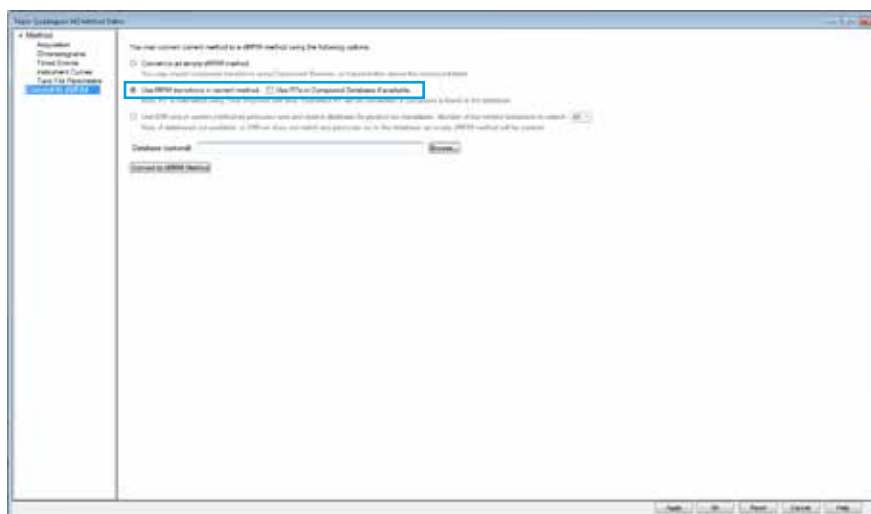


Figura 4. Le transizioni MRM del metodo attuale sono state utilizzate per la conversione del metodo al metodo dynamic MRM.

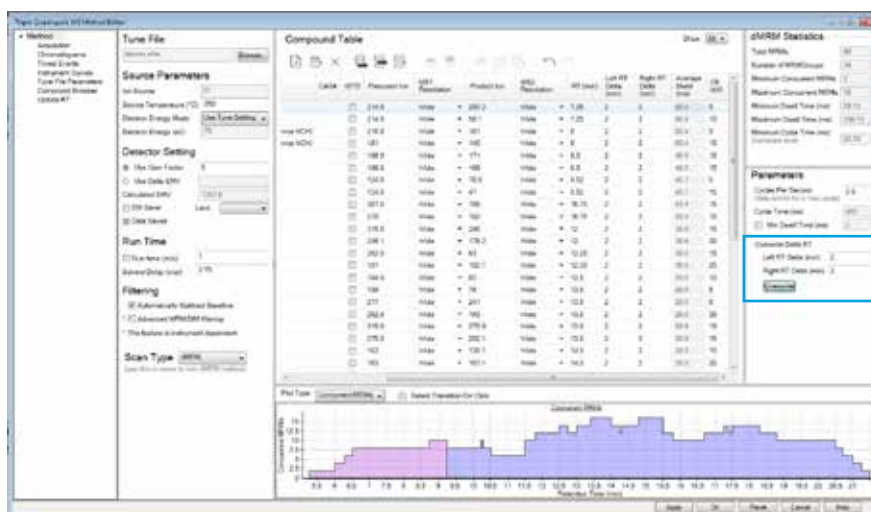


Figura 5. Sovrascrivendo globalmente i delta dei tempi di ritenzione a sinistra e a destra si allargano le finestre delle transizioni MRM per garantire che tutti gli analiti vengano acquisiti anche se il loro tempo di ritenzione ha subito un lieve spostamento.



Figura 6. Un metodo dynamic MRM contenente un grande numero di analiti e transizioni, con il delta del tempo di ritenzione a sinistra e a destra impostato su 2 minuti, ha superato il numero massimo di MRM concomitanti.

I delta delle finestre a sinistra e a destra sono stati ristretti a 1 minuto o 0,5 minuti per ridurre il numero di MRM concomitanti, mantenendo nel contempo una larghezza della finestra sufficiente per identificare gli analiti target. I tempi di ritenzione correnti sono stati salvati sotto forma di file CSV (Figura 7).

Aggiornare i tempi di ritenzione

È stato analizzato uno standard con le finestre più larghe utilizzando il software di analisi quantitativa Agilent MassHunter Quantitative Analysis e i tempi di ritenzione sono stati aggiornati in un metodo di analisi quantitativa esistente. Con il batch contenente il nuovo standard aperto e selezionato, è stato caricato un metodo quantitativo precedentemente salvato. Tra i comandi dell'editor del metodo, si è selezionato **Update Retention Times** (Aggiorna i tempi di ritenzione) dal menu **Update** (Aggiorna) (Figura 8). È stato utilizzato **Select All** (Seleziona tutti) per aggiornare tutti i tempi di ritenzione del metodo esistente, dopodiché il metodo è stato salvato, validato e applicato al batch (Figura 9).



Figura 7. La tavola dei composti di dynamic MRM è stata esportata facendo clic sull'icona **Save** (Salva) e salvando la tabella come file CSV in una cartella locale.

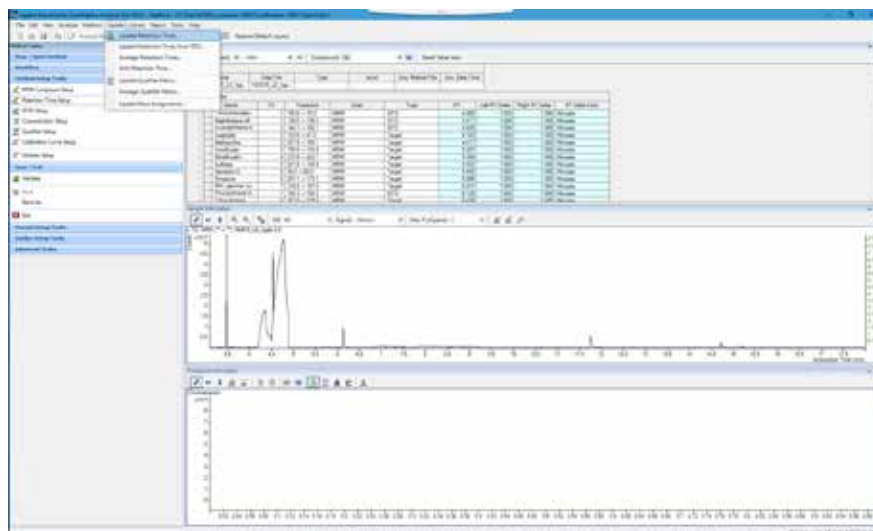


Figura 8. La funzione **Update Retention Times** (Aggiorna tempi di ritenzione) è stata selezionata nella vista dell'editor del metodo, dal menu **Update** (Aggiorna) del software di analisi quantitativa Agilent MassHunter Quantitative Analysis.

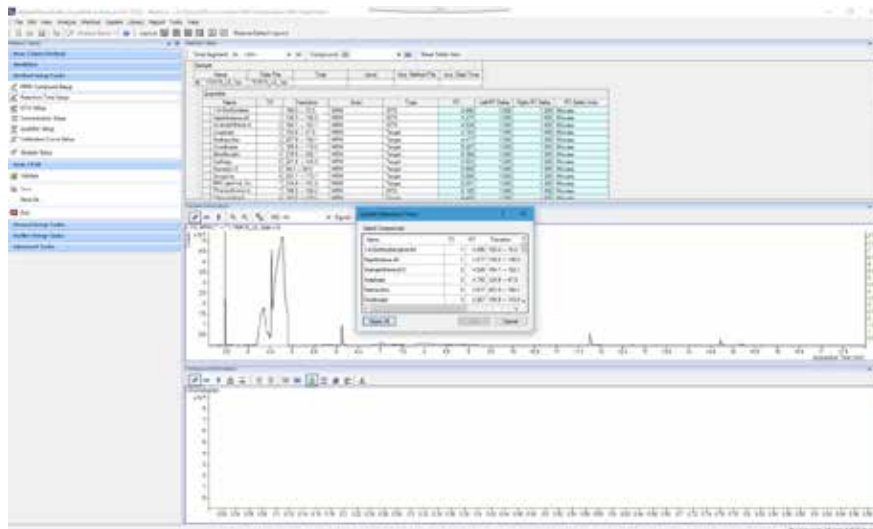


Figura 9. Ogni analita del metodo è stato aggiornato in un unico passaggio con un'unica analisi dello standard.

Importare i nuovi tempi di ritenzione nel metodo dynamic MRM

Con i tempi di ritenzione aggiornati nel metodo quantitativo, la tabella dei composti è stata esportata dal batch a un file CSV (Figura 10).

I tempi di ritenzione aggiornati dell'analisi dello standard e del nuovo metodo quantitativo sono stati aggiornati nel file CSV precedentemente esportato e salvato dal metodo dynamic MRM e salvati con un nuovo nome (Figura 11). Le informazioni fondamentali del file CSV sono quelle riportate nella colonna Compound e nella colonna RT.

I tempi di ritenzione del metodo dynamic MRM sono stati aggiornati mediante il file CSV (Figura 12), nell'editor del metodo del software di acquisizione MassHunter Acquisition.

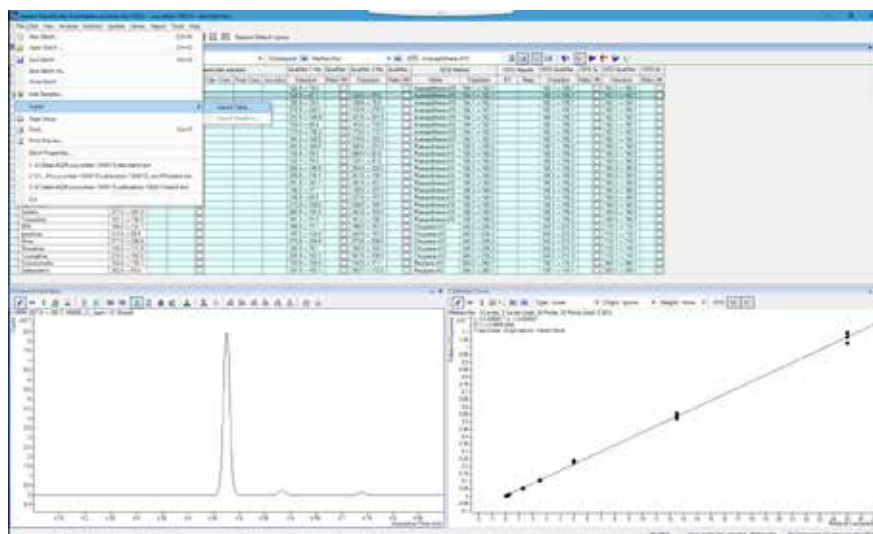


Figura 10. L'esportazione della tabella dei composti ha generato un file CSV che è stato salvato in una cartella locale.

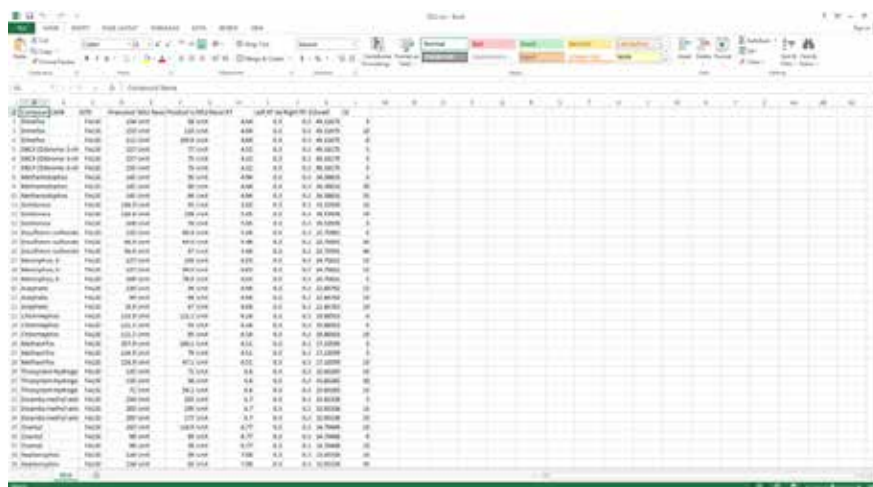


Figura 11. Il file CSV esportato dal metodo dynamic MRM conteneva il nome del composto in una colonna e il tempo di ritenzione in un'altra. In questo esempio, ogni transizione MRM è associata al tempo di ritenzione del rispettivo composto.

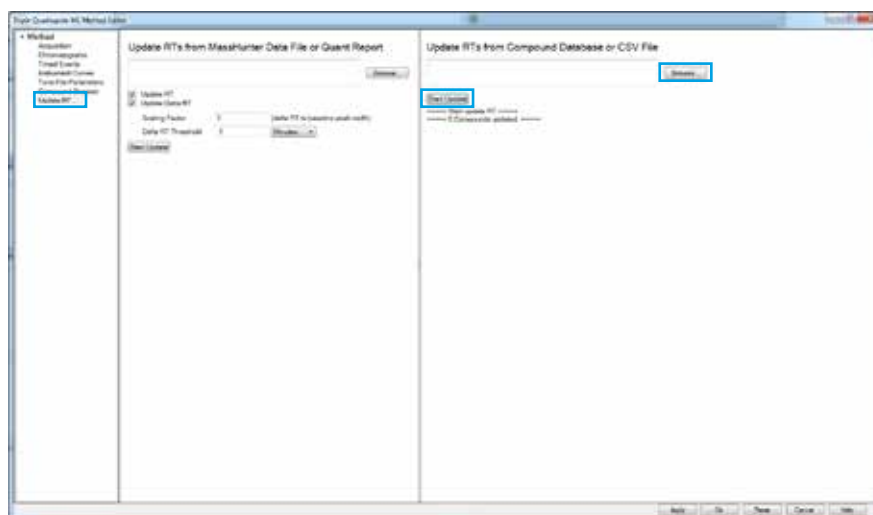


Figura 12. Il file CSV salvato contenente i tempi di ritenzione aggiornati è stato selezionato come file da utilizzare per la funzione **Update RT** (Aggiorna RT).

Mediante la funzione **Update RT** (Aggiorna RT), il file CSV salvato è stato selezionato prima di avviare l'aggiornamento. Dopo l'aggiornamento dei tempi di ritenzione, è stato visualizzato l'elenco dei composti con l'indicazione dei tempi di ritenzione modificati (Figura 13). I tempi di ritenzione precedenti sono elencati tra parentesi.

In alternativa, i tempi di ritenzione possono essere aggiornati a partire da un report quantitativo mediante una procedura simile. Un report è stato generato a partire dall'analisi quantitativa (Figura 14) e utilizzato per aggiornare i tempi di ritenzione nell'editor del metodo di acquisizione.

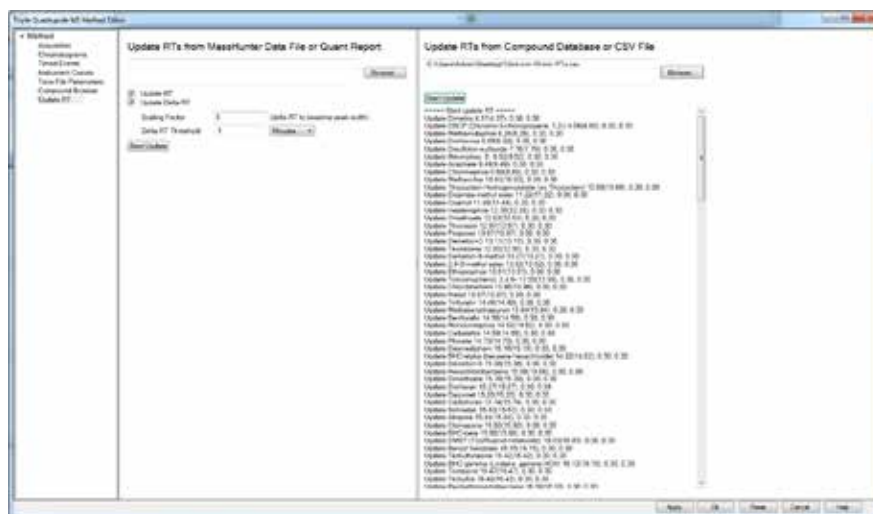


Figura 13. Dopo l'aggiornamento dei tempi di ritenzione, è stato visualizzato l'elenco dei composti con l'indicazione delle modifiche apportate.

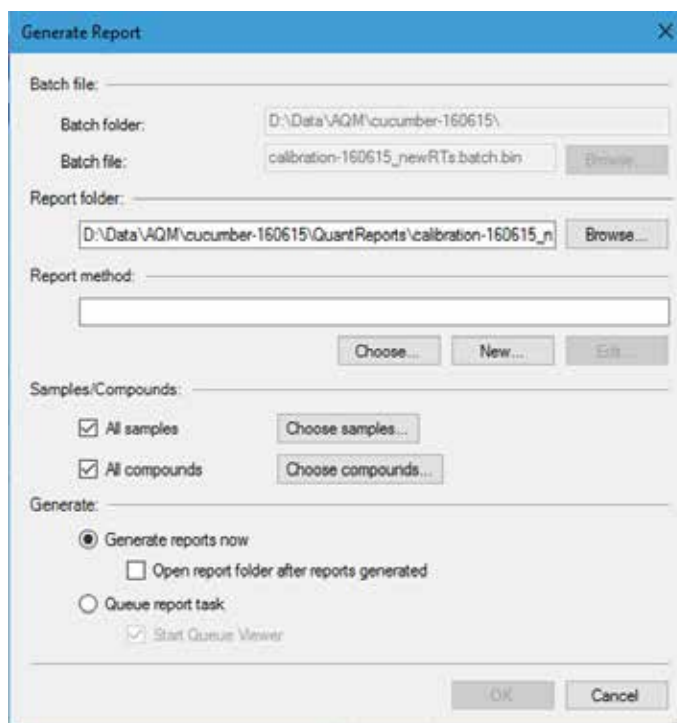


Figura 14. La generazione di un report nell'analisi quantitativa ha fornito un modo alternativo per aggiornare i tempi di ritenzione nel metodo di acquisizione.

Se per il metodo aggiornato finale si preferisce un metodo MRM basato su segmenti temporali, è possibile creare un file delle transizioni a partire dal metodo quantitativo aggiornato (Figura 15). Specificando uno schema per i segmenti temporali (Figura 16), il file risultante può essere importato nella tabella dei composti (Figura 17).

Validare il metodo

Dopo aver applicato le modifiche al metodo, lo standard è stato verificato prima di continuare con la calibrazione e l'analisi dei campioni.

Conclusioni

È stata mostrata una procedura passo per passo per il blocco del tempo di ritenzione ed è stato illustrato come aggiornare i tempi di ritenzione in un metodo che utilizza una libreria o un database. Il procedimento è risultato relativamente semplice e senza intoppi. È stato necessario effettuare un ciclo analitico ulteriore rispetto alla calibrazione con blocco del tempo di ritenzione. Affinché tale procedimento sia ottimale, è necessario uno standard o un campione contenente analiti target noti.

I risultati possono variare a seconda delle sorgenti ioniche installate nello spettrometro di massa. Se il metodo è ottimizzato per la sensibilità, i maggiori flussi che è probabile ottenere mediante questa procedura potrebbero comportare prestazioni non ottimali.

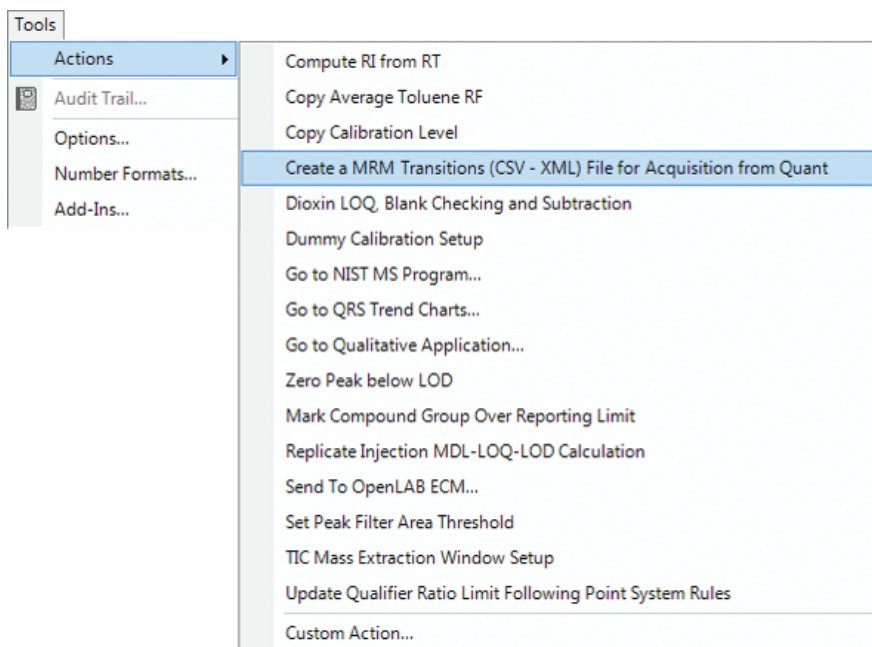


Figura 15. Un file CSV o XML contenente i tempi di ritenzione aggiornati e le transizioni MRM esistenti nel nuovo metodo quantitativo.

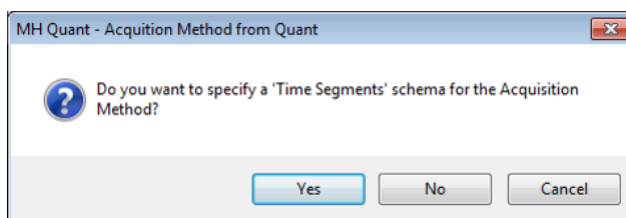


Figura 16. Selezionando **Yes (Sì)** per specificare uno schema per i segmenti temporali (**specify a 'Time Segments' schema**) è possibile importare il file CSV nella tabella dei composti di un metodo MRM basato su segmenti temporali.

Figura 17. Il file CSV contenente i tempi di ritenzione aggiornati a partire dall'analisi quantitativa può essere importato nel metodo di acquisizione con MRM basati su segmenti temporali.

www.agilent.com
Le informazioni, le descrizioni e le specifiche fornite
possono variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
Pubblicato negli Stati Uniti, 29 settembre 2017
5991-8446ITE



Agilent Technologies