



Rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity

Manuale per l'utente



Agilent Technologies

Informazioni legali

© Agilent Technologies, Inc. 2010-2012, 2013

Nessuna parte di questo manuale può essere riprodotta in alcun formato o con alcun mezzo (inclusa l'archiviazione e la scansione elettroniche o la traduzione in una lingua straniera) senza previo consenso scritto di Agilent Technologies, Inc. secondo le disposizioni di legge sul diritto d'autore degli Stati Uniti, internazionali e locali applicabili.

Codice del manuale

G1321-94014

Edizione

05/2013

Stampato in Germania

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Questo prodotto può essere utilizzato come componente di un dispositivo diagnostico in vitro qualora sia stato registrato presso le autorità competenti e sia conforme alle disposizioni di legge vigenti. In caso contrario è destinato esclusivamente ad usi generici di laboratorio.

Garanzia

Le informazioni contenute in questo documento sono fornite allo stato corrente e sono soggette a modifiche senza preavviso nelle edizioni future. Agilent non rilascia alcuna altra garanzia, esplicita o implicita, comprese le garanzie implicite di commerciabilità ed idoneità ad uno specifico, relativamente al presente manuale e alle informazioni in esso contenute. Salvo il caso di dolo o colpa grave, Agilent non sarà responsabile di errori o danni diretti o indiretti relativi alla fornitura o all'uso di questo documento o delle informazioni in esso contenute. In caso di separato accordo scritto tra Agilent e l'utente con diverse condizioni di garanzia relativamente al contenuto di questo documento in conflitto con le condizioni qui riportate prevarranno le condizioni dell'accordo separato.

Licenze tecnologia

I componenti hardware e o software descritti in questo documento vengono forniti con licenza e possono essere utilizzati o copiati solo in conformità ai termini di tale licenza.

Indicazioni di sicurezza

AVVERTENZA

L'indicazione **AVVERTENZA** segnala un rischio. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analoga operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare danni al prodotto o la perdita di dati importanti. Non eseguite mai alcuna operazione ignorando l'**AVVERTENZA**, fatelo solo dopo aver compreso e applicato completamente le indicazioni di Agilent.

ATTENZIONE

L'indicazione **ATTENZIONE** segnala un rischio serio. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analoga operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare lesioni personali o morte. Non eseguite mai alcuna operazione ignorando l'indicazione **ATTENZIONE**, fatelo solo dopo aver compreso e applicato completamente le indicazioni di Agilent.

In questo manuale

Il presente manuale contiene informazioni su:

- rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321B SPECTRA)
- rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321C)
- rivelatore a fluorescenza Agilent serie 1200 (G1321A) (obsoleto).

1 Introduzione al rivelatore a fluorescenza

Nel presente capitolo sono riportate un'introduzione al rivelatore e una panoramica sullo strumento.

2 Requisiti del luogo di installazione e specifiche

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sui requisiti ambientali nonché sulle specifiche fisiche e delle prestazioni.

3 Installazione del modulo

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sulla configurazione di stack preferita per il sistema e sull'installazione del modulo.

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Nel presente capitolo viene descritto come iniziare a utilizzare il rivelatore.

5 Ottimizzazione del rivelatore

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sull'ottimizzazione del rivelatore.

6 Risoluzione dei problemi e diagnostica

Nel presente capitolo è fornita una panoramica sulle funzioni di risoluzione dei problemi e di diagnostica nonché sulle varie interfacce utente.

7 Informazioni sugli errori

Nel presente capitolo è descritto il significato dei messaggi di errore e sono fornite informazioni sulle cause possibili e sugli interventi consigliati per eliminare le condizioni che hanno causato l'errore.

8 Funzioni di test

Nel presente capitolo vengono descritte le funzioni di test integrate nel rivelatore.

9 Manutenzione

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni generali sulla manutenzione del rivelatore.

10 Parti per la manutenzione

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sulle parti per la manutenzione.

11 Identificazione dei cavi

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sui cavi utilizzati con i moduli Agilent serie 1200 Infinity.

12 Informazioni sull'hardware

Nel presente capitolo vengono descritti in maggior dettaglio i componenti elettronici e l'hardware del rivelatore.

13 Appendice

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sulla sicurezza e altre informazioni generali.

Sommario

1	Introduzione al rivelatore a fluorescenza	9
	Introduzione al rivelatore	10
	Funzionamento del rivelatore	12
	Effetto Raman	15
	Unità ottica	16
	Informazioni analitiche dai dati primari	24
	Panoramica del sistema	29
	Materiali bioinerti	32
2	Requisiti del luogo di installazione e specifiche	35
	Requisiti del luogo di installazione	36
	Specifiche fisiche	39
	Specifiche delle prestazioni	40
3	Installazione del modulo	49
	Disimballaggio del modulo	50
	Ottimizzazione della configurazione dello stack	52
	Informazioni sull'installazione relative alla gestione di perdite e scarichi	57
	Installazione del modulo	61
	Collegamenti di flusso al modulo	64
4	Utilizzo del rivelatore a fluorescenza	69
	Gestione di perdite e scarichi	70
	Prima di iniziare	72
	Avvio e verifica	73
	Sviluppo di metodi	77
	Esempio: ottimizzazione per più composti	96
	Raccolta di spettri con le modalità SPECTRA ALL IN PEAK e APEX SPECTRA ONLY	106
	Informazioni sui solventi	111

5 Ottimizzazione del rivelatore 115

- Panoramica sull'ottimizzazione 116
- Funzioni progettate per ottimizzare le prestazioni 118
- Ricerca delle migliori lunghezze d'onda 119
- Ricerca della migliore amplificazione del segnale 121
- Modifica della frequenza della lampada flash allo xeno 127
- Selezione del miglior tempo di risposta 129
- Riduzione della luce parassita 132

6 Risoluzione dei problemi e diagnostica 135

- Panoramica degli indicatori e delle funzioni di test del modulo 136
- Indicatori di stato 137
- Interfacce utente 139
- Software Agilent Lab Advisor 140

7 Informazioni sugli errori 141

- Cosa sono i messaggi di errore? 142
- Messaggi di errore generici 143
- Messaggi di errore del rivelatore 152

8 Funzioni di test 161

- Introduzione 162
- Diagramma del cammino ottico 163
- Test dell'intensità della lampada 164
- Test del rapporto segnale-rumore ASTM Raman 166
- Utilizzo del cromatogramma di prova integrato 170
- Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda 172
- Test di accuratezza della lunghezza d'onda 176
- Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda 183

9 Manutenzione 189

Introduzione alla manutenzione	190
Avvertenze e precauzioni	191
Panoramica sulla manutenzione	193
Pulizia del modulo	194
Sostituzione di una cella di flusso	195
Come utilizzare la cuvetta	199
Lavaggio della cella di flusso	200
Eliminazione delle perdite	201
Sostituzione delle parti del sistema di gestione delle perdite	202
Sostituzione della scheda di interfacciamento	203
Sostituzione del firmware del modulo	204
Test e calibrazioni	205

10 Parti per la manutenzione 207

Panoramica sulle parti per la manutenzione	208
Kit di cuvette	210
Kit di accessori	211

11 Identificazione dei cavi 213

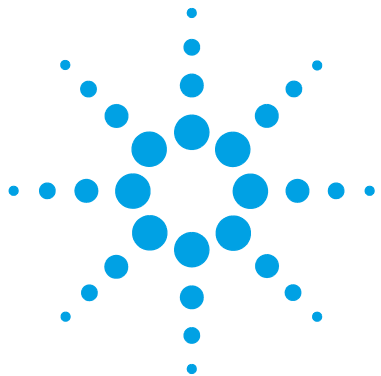
Descrizione generale dei cavi	214
Cavi analogici	216
Cavi remoti	218
Cavi BCD	221
Cavi CAN/LAN	223
Cavo di contatto esterno	224
Da modulo Agilent a PC	225

12 Informazioni sull'hardware 227

Descrizione del firmware	228
Schede di interfacciamento opzionali	231
Collegamenti elettrici	235
Interfacce	238
Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata)	245
Avviso di manutenzione preventiva	250
Configurazione dello strumento	251

13 Appendice 253

Informazioni generali sulla sicurezza	254
Direttiva RAEE (rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche) (2002/96/CE)	257
Informazioni sulle batterie al litio	258
Interferenze radio	259
Emissioni sonore	260
Radiazione UV (solo lampade UV)	261
Informazioni sui solventi	262
Agilent Technologies su Internet	264



1

Introduzione al rivelatore a fluorescenza

Introduzione al rivelatore	10
Funzionamento del rivelatore	12
Effetto Raman	15
Unità ottica	16
Sistema di riferimento	23
Informazioni analitiche dai dati primari	24
Rivelazione della fluorescenza	24
Rivelazione della fosforescenza	25
Elaborazione dei dati grezzi	25
Panoramica del sistema	29
Gestione di perdite e scarichi	29
Materiali bioinerti	32

Nel presente capitolo sono riportate un'introduzione al rivelatore e una panoramica sullo strumento.



Introduzione al rivelatore

Versioni del rivelatore

Tabella 1 Versioni del rivelatore

Versione	Descrizione
G1321C	Introdotta come rivelatore FLD 1260 Infinity senza funzionalità spettrali e multi-segnale nel mese di giugno 2013. La velocità di campionamento massima è pari a 74 Hz. Lo strumento è dotato di firmware A.06.54. Controllato da Instant Pilot con firmware B.02.16, Driver A.02.08, Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition C.01.05, OpenLAB EZChromEdition EE A.04.05, ICF A.02.01 e Lab Advisor B.02.04. Il modello G1321C non può essere convertito nei modelli G1321A/B.
G1321B SPECTRA	Introdotta come rivelatore FLD 1260 Infinity con funzionalità spettrali e multi-segnale nel mese di giugno 2010. La velocità di campionamento massima è pari a 74 Hz. Il modello G1321B può essere convertito nel modello G1321A (modalità di emulazione). In seguito all'introduzione del modello G1321C, la velocità di campionamento è stata aumentata al valore massimo di 144,9 Hz (firmware dello strumento A.06.54).
G1321A	Introdotta come rivelatore FLD serie 1100 con funzionalità spettrali e multi-segnale nel mese di agosto 1998. La velocità di campionamento massima è pari a 18 Hz. Divenuto obsoleto in seguito all'introduzione del rivelatore FLD G1321B.

Il rivelatore è progettato per garantire le massime prestazioni ottiche, la conformità alle normative GLP e una semplice manutenzione. Presenta le seguenti caratteristiche:

- Lampada flash per la massima intensità e i limiti di rivelazione più bassi
- Modalità a lunghezza d'onda multipla per spettri in linea (G1321B SPECTRA)
- Acquisizione di spettri e rivelazione multi-segnale simultanea (G1321B SPECTRA)
- Sono disponibili cuvette opzionali utilizzabili per misurazioni non in linea
- Facile accesso dal lato anteriore alla cella di flusso per rapidi interventi di sostituzione

- Verifica integrata dell'accuratezza della lunghezza d'onda.

Per ottenere le specifiche, vedere “[Specifiche delle prestazioni](#)”, pagina 40.

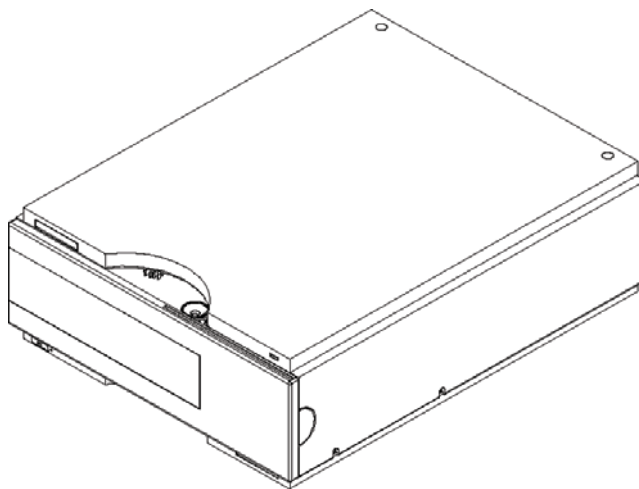


Figura 1 Il rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity

Funzionamento del rivelatore

Rivelazione della luminescenza

La *luminescenza*, l'emissione di luce, avviene quando le molecole passano da uno stato eccitato allo stato fondamentale. Le molecole possono essere eccitate da differenti forme di energia, ciascuna con un proprio processo di eccitazione. Ad esempio, quando l'energia di eccitazione è la luce, il processo è noto con il nome di *fotoluminescenza*.

Nei casi più semplici, l'emissione di luce è il fenomeno opposto all'assorbimento; vedere la [Figura 2](#), pagina 12. Nel caso dei vapori di sodio, per esempio, gli spettri di assorbimento e di emissione sono costituiti da un'unica linea alla stessa lunghezza d'onda. Gli spettri di assorbimento e di emissione di molecole organiche in soluzione producono bande anziché linee.

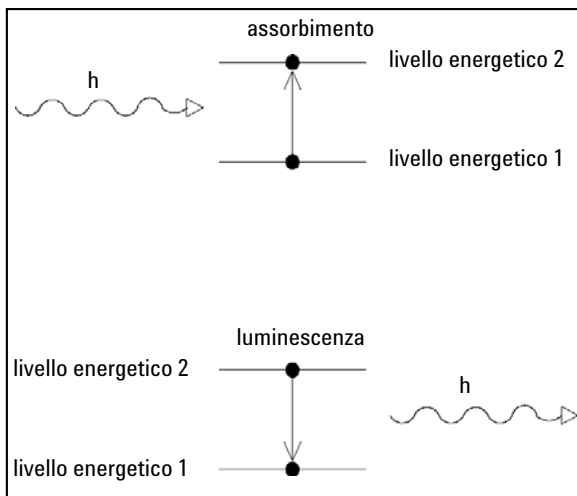


Figura 2 Confronto tra assorbimento di luce ed emissione di luce

Quando una molecola più complessa passa dallo stato energetico fondamentale a uno stato eccitato, l'energia assorbita viene distribuita tra vari sottolivelli vibrazionali e rotazionali. Quando questa stessa molecola ritorna allo stato fondamentale, l'energia vibrazionale e rotazionale viene innanzitutto persa per rilassamento senza radiazione. Quindi la molecola passa dal livello

energetico eccitato a uno dei sottolivelli vibrazionali e rotazionali del suo stato fondamentale, con emissione di luce; vedere la [Figura 3](#), pagina 13. Il massimo di assorbimento caratteristico per una sostanza è λ_{EX} mentre quello di emissione è λ_{EM} .

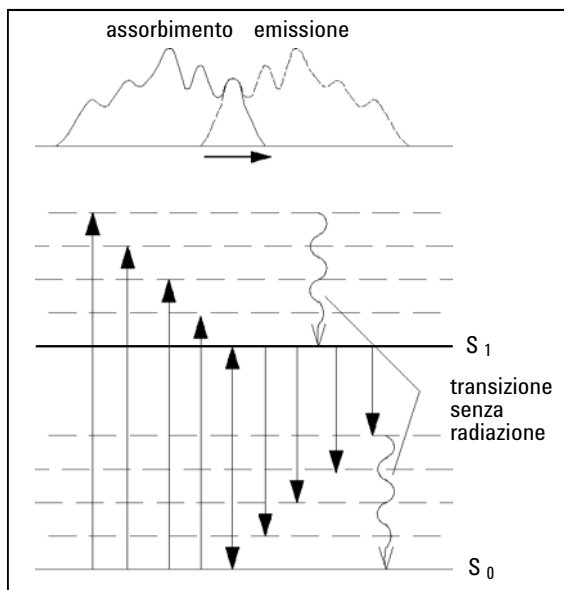


Figura 3 Relazione tra lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione

Con il termine fotoluminescenza si indicano due fenomeni, *fluorescenza* e *fosforescenza*, che differiscono tra loro per una caratteristica: il ritardo dell'emissione dopo l'eccitazione. Se una molecola emette luce tra 10^{-9} e 10^{-5} secondi dopo che è stata illuminata, il processo è noto come fluorescenza. Se una molecola emette luce una volta trascorsi più di 10^{-3} secondi da quando è stata illuminata, il processo è noto come fosforescenza.

La fosforescenza è un processo che richiede tempi maggiori poiché uno degli elettroni coinvolti nell'eccitazione cambia stato di spin, per esempio durante una collisione con una molecola di solvente. In seguito alla collisione, la molecola eccitata si trova nel cosiddetto stato di tripletto indicato dalla lettera T; vedere la [Figura 4](#), pagina 14.

1 Introduzione al rivelatore a fluorescenza

Funzionamento del rivelatore

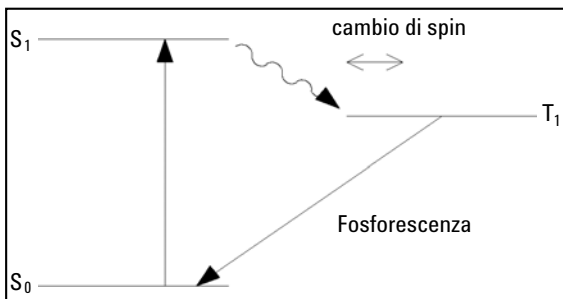


Figura 4 Transizioni energetiche della fosforescenza

La molecola deve modificare nuovamente lo stato di spin prima di poter tornare allo stato energetico fondamentale. Poiché la probabilità di collisione con un'altra molecola che si trovi a sua volta nello stato di spin necessario è bassa, la molecola rimane nello stato di tripletto per un certo periodo. Durante il secondo cambio di spin la molecola rilascia altra energia per rilassamento senza radiazione. La luce emessa durante la fosforescenza, quindi, ha un'energia inferiore e una lunghezza d'onda superiore rispetto alla fluorescenza.

Formula: $E = h \times \lambda^{-1}$

In questa equazione:

E è l'energia

h è la costante di Planck

λ è la lunghezza d'onda

Effetto Raman

L'effetto Raman si verifica quando la luce incidente eccita le molecole nel campione, che in seguito disperdono la luce. Mentre la maggior parte della luce viene dispersa alla stessa lunghezza d'onda della luce incidente, una frazione viene dispersa a una diversa lunghezza d'onda. Questo fenomeno di dispersione anelastica della luce è noto come dispersione Raman. È una conseguenza della modifica del moto della molecola.

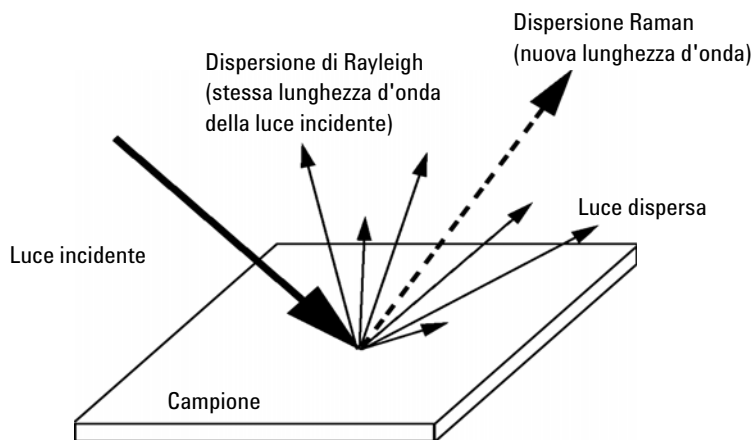


Figura 5 Raman

La differenza di energia tra la luce incidente (E_i) e la luce dispersa Raman (E_s) è uguale all'energia necessaria per la modifica dello stato vibrazionale della molecola (ossia l'energia E_v necessaria per far vibrare la molecola). Tale differenza di energia è denominata spostamento Raman.

$$E_v = E_i - E_s$$

Si possono spesso osservare diversi segnali di spostamento Raman, ciascuno associato a differenti moti rotazionali o vibrazionali delle molecole nel campione. La specifica molecola e il suo ambiente determinano quali segnali Raman saranno osservati (se presenti).

Il grafico dell'intensità Raman in funzione dello spostamento Raman è uno spettro Raman.

Unità ottica

Tutti gli elementi del sistema ottico mostrati in [Figura 6](#), pagina 17, inclusa la lampada flash allo xeno, la lente condensatrice di eccitazione, la fenditura di eccitazione, lo specchio, il reticolo di eccitazione, la cella di flusso, la lente condensatrice di emissione, il filtro di cut-off, la fenditura di emissione, il reticolo di emissione e il tubo fotomoltiplicatore, sono situati nella struttura in metallo all'interno del comparto del rivelatore. Il rivelatore a fluorescenza è dotato di reticoli/componenti ottici dei reticoli che consentono di selezionare la lunghezza d'onda sia di eccitazione che di emissione. La cella di flusso è accessibile dal lato anteriore del rivelatore a fluorescenza.

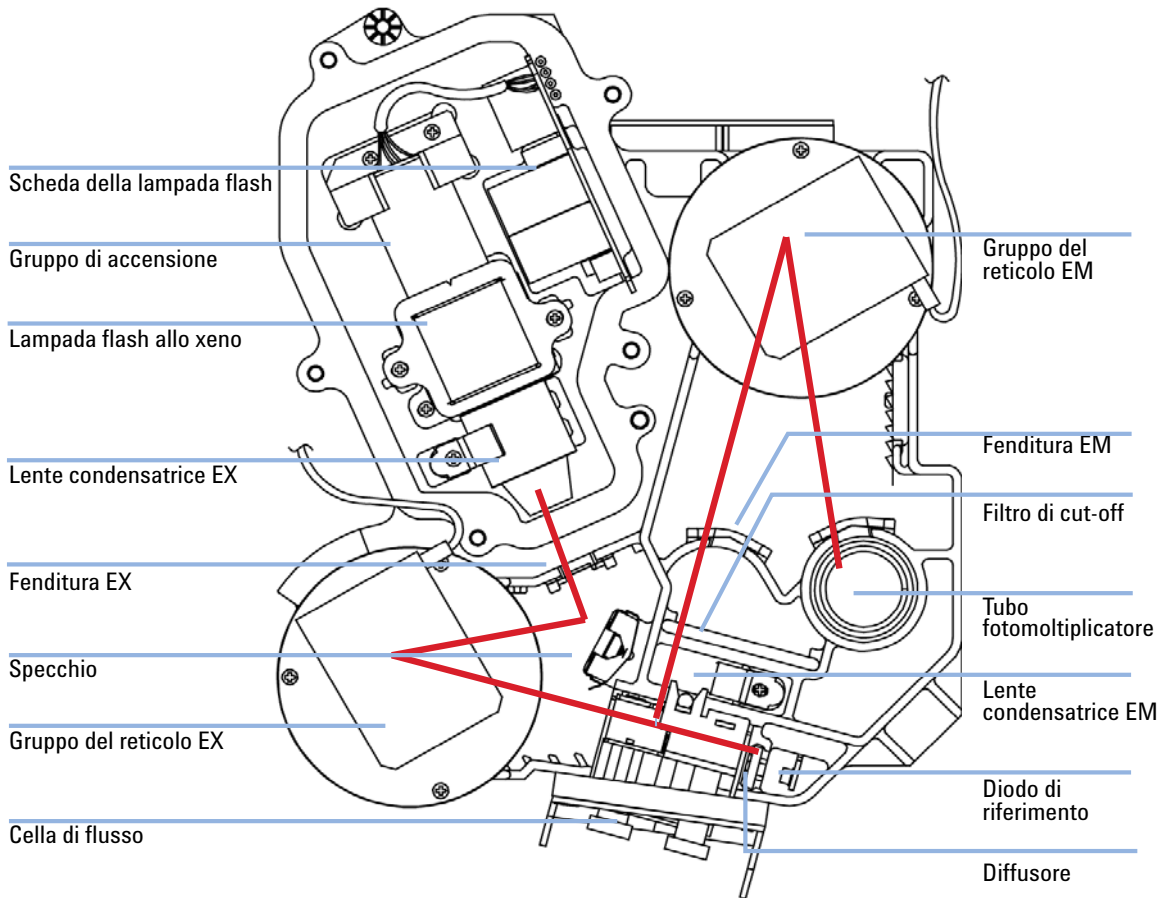


Figura 6 Unità ottica

La sorgente di radiazione è una lampada flash allo xeno. Il flash di durata pari a 3 μ s produce uno spettro continuo di luce da 200 nm a 900 nm. La distribuzione dell'emissione luminosa può essere espressa in termini percentuali in intervalli di 100 nm; vedere la [Figura 7](#), pagina 18. La lampada può essere utilizzata per circa 1000 ore, a seconda dei requisiti di sensibilità. È possibile prolungare la durata della lampada impostando valori di regolazione da tastiera durante il funzionamento automatico in modo che la lampada emetta i flash solo durante l'analisi. Anche se la lampada può essere utilizzata fino ad esaurimento (finché non si accende più), il livello di rumore può aumentare con l'uso.

La degradazione UV, in particolare a lunghezze d'onda inferiori a 250 nm, è significativamente più elevata rispetto alla degradazione nella regione del visibile. In genere, l'impostazione "LAMP ON during run" (Lampada accesa durante l'analisi) o l'utilizzo della modalità "economy" consentono di incrementare di un ordine di grandezza la durata della lampada.

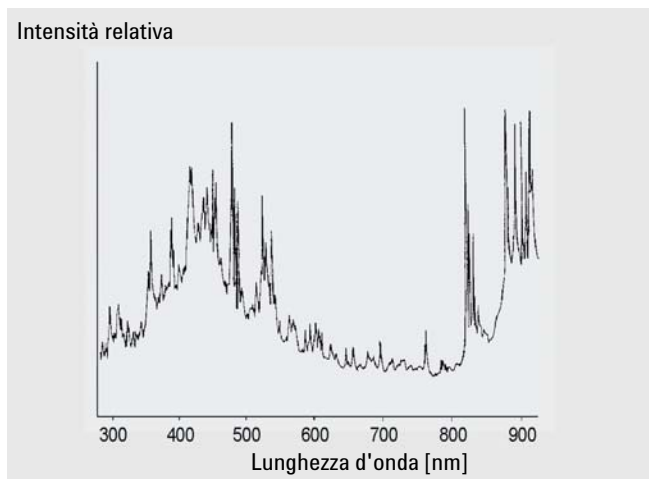


Figura 7 Distribuzione dell'energia della lampada (dati del fornitore)

La radiazione emessa dalla lampada è dispersa e riflessa dal reticolo del monocromatore di eccitazione sulla fenditura d'ingresso della cella.

Il reticolo olografico concavo, ossia il componente principale del monocromatore, disperde e riflette la luce incidente. La superficie è percorsa da minute scanalature, in numero pari a 1200 per millimetro. L'angolo di blaze del reticolo ne migliora le prestazioni nella regione del visibile.

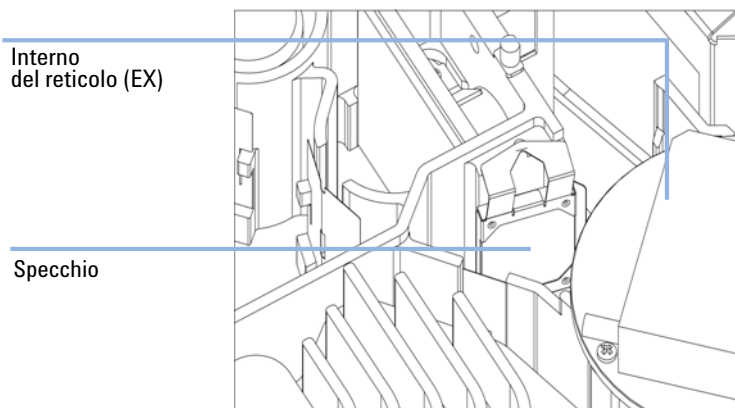


Figura 8 Gruppo dello specchio

La geometria delle scanalature è ottimizzata per riflettere pressoché tutta la luce incidente, al 1° ordine, e disperderla con un'efficienza pari a circa 70 % nella regione dell'ultravioletto. La maggior parte del restante 30 % di luce è soggetta a riflessione di ordine zero, senza dispersione. In [Figura 9](#), pagina 20 è illustrato il cammino ottico in corrispondenza della superficie del reticolo.

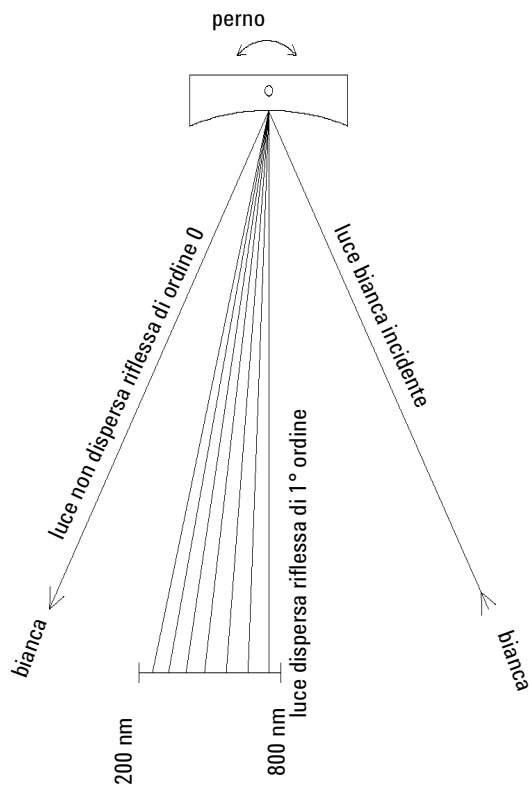


Figura 9 Dispersione della luce da un reticolo

Il reticolo viene ruotato utilizzando un motore a tre fasi senza spazzole in corrente continua; la posizione del reticolo determina la lunghezza d'onda o l'intervallo di lunghezza d'onda della luce che colpisce la cella di flusso. Il reticolo può essere programmato in modo da modificarne la posizione e, di conseguenza, la lunghezza d'onda durante un'analisi.

Per l'acquisizione degli spettri e la rivelazione a lunghezza d'onda multipla, il reticolo ruota a 4000 rpm.

I reticoli di eccitazione e di emissione sono caratterizzati da un design simile, ma possiedono lunghezze d'onda di blaze distinte. Il reticolo di eccitazione riflette la maggior parte della luce di 1° ordine nella regione dell'ultravioletto intorno a 250 nm, mentre il reticolo di emissione riflette meglio nella regione del visibile intorno a 400 nm.

La cella di flusso possiede una struttura in silice fusa in grado di tollerare una contropressione massima di 20 bar. Una contropressione eccessiva provoca la rottura della cella. Si consiglia di utilizzare il rivelatore in prossimità dello scarico e in presenza di bassi valori di contropressione. Nel corpo della cella è integrata una fenditura.

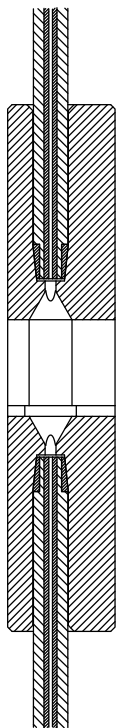


Figura 10 Sezione trasversale della cella di flusso

La luminescenza emessa dal campione nella cella di flusso viene raccolta ad angoli retti rispetto alla luce incidente da una seconda lente e attraversa una seconda fenditura. Prima che la luminescenza raggiunga il monocromatore di emissione, un filtro di cut-off elimina la luce al di sotto di una determinata lunghezza d'onda per ridurre il rumore dovuto alla dispersione di 1° ordine e alla luce parassita di 2° ordine; vedere la [Figura 9](#), pagina 20.

La lunghezza d'onda selezionata della luce viene riflessa sulla fenditura nella parete del comparto del fotomoltiplicatore dell'unità ottica. La larghezza di banda della luce emessa è pari a 20 nm.

I fotoni incidenti sul fotocatodo (Figura 11, pagina 22) generano elettroni. Questi elettroni vengono accelerati da un campo elettrico tra una serie di dinodi ad arco. A seconda della differenza di tensione tra ciascuna coppia di dinodi, un elettrone incidente può generare altri elettroni che vengono accelerati verso il dinodo successivo. Il risultato è un effetto valanga finché il numero di elettroni generati è tale da consentire di misurare una corrente. L'amplificazione è una funzione della tensione ai dinodi ed è controllata tramite microprocessore. È possibile impostare l'amplificazione tramite la funzione PMTGAIN.

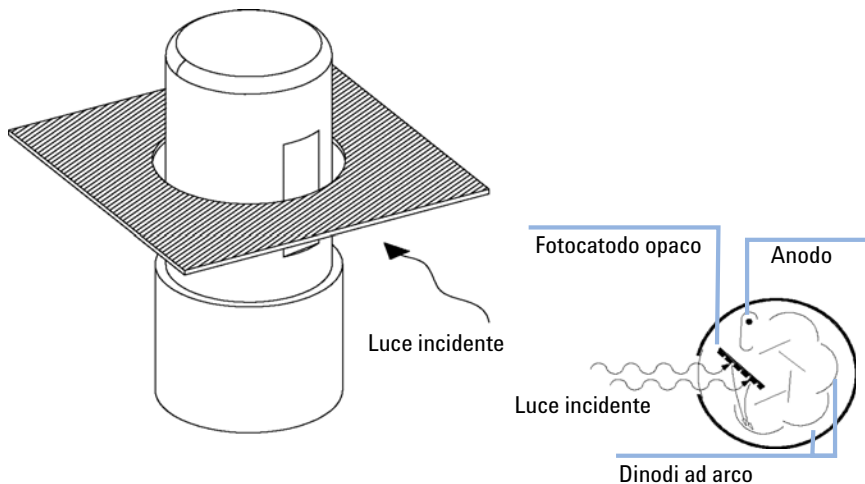


Figura 11 Tubo fotomoltiplicatore

Questo tipo di fotomoltiplicatore, denominato "side-on", è sufficientemente compatto da assicurare una risposta veloce e preservare i vantaggi associati alla ridotta lunghezza del cammino ottico mostrato in Figura 6, pagina 17.

I fotomoltiplicatori sono progettati per intervalli specifici di lunghezza d'onda. Il fotomoltiplicatore standard offre una sensibilità ottimale da 200 a 600 nm. Nell'intervallo di lunghezze d'onda più alte, l'utilizzo di un fotomoltiplicatore sensibile al rosso può migliorare le prestazioni.

Sistema di riferimento

Un diodo di riferimento, collocato dietro la cella di flusso, misura la luce di eccitazione (EX) trasmessa dalla cella di flusso e corregge le fluttuazioni della lampada flash e la deriva dell'intensità a lungo termine. Poiché l'uscita del diodo non è lineare (variabile a seconda della lunghezza d'onda EX), i dati misurati vengono normalizzati.

Di fronte al diodo di riferimento è collocato un diffusore (vedere la [Figura 6](#), pagina 17). Tale diffusore in quarzo riduce la luce e ne consente la misurazione integrale.

Informazioni analitiche dai dati primari

Sappiamo come i dati primari del campione sono acquisiti nell'unità ottica. Ma come possono essere utilizzate tali informazioni per l'analisi chimica? A seconda dell'applicazione, la luminescenza misurata con il rivelatore a fluorescenza può presentare caratteristiche diverse. È necessario decidere, usando la propria conoscenza del campione, quale modalità di rivelazione utilizzare.

Rivelazione della fluorescenza

Quando la lampada emette un flash, i composti fluorescenti presenti nel campione diventano luminescenti pressoché simultaneamente; vedere la [Figura 12](#), pagina 24. La luminescenza è di breve durata e, pertanto, il rivelatore a fluorescenza deve eseguire la misurazione solo per un breve periodo successivo al flash della lampada.

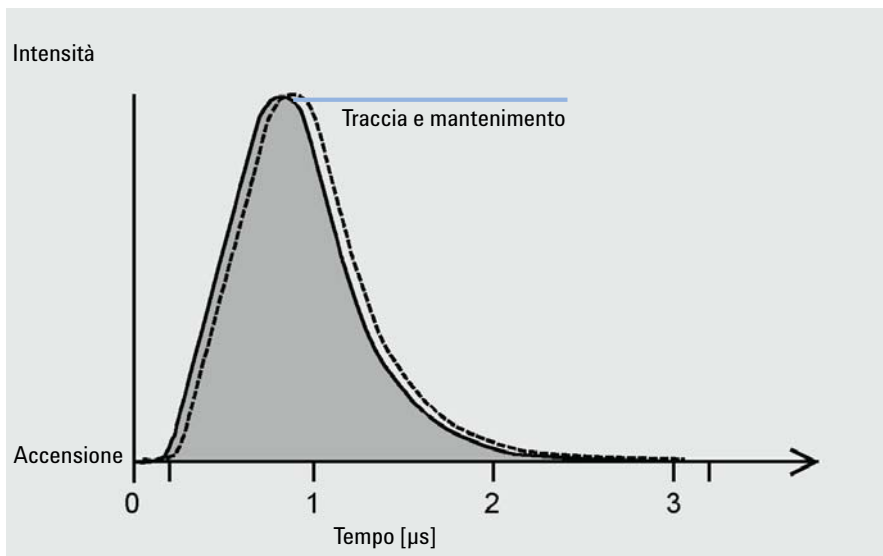


Figura 12 Misurazione della fluorescenza

Rivelazione della fosforescenza

Un set di parametri adeguati viene specificato non appena si sceglie la modalità di rivelazione di fosforescenza (valori di regolazione speciali nelle impostazioni del rivelatore FLD).

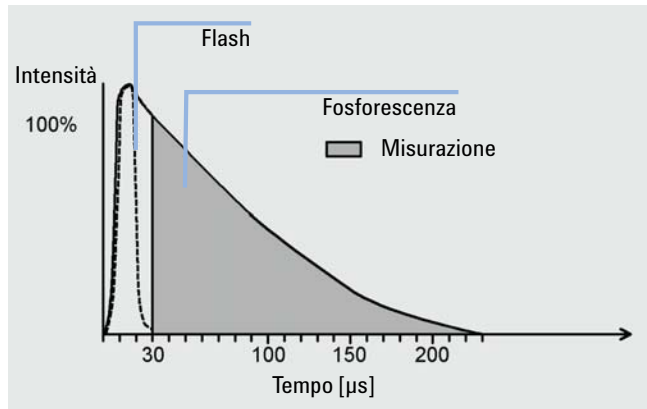


Figura 13 Misurazione della fosforescenza

Elaborazione dei dati grezzi

Se la lampada emette flash a una singola lunghezza d'onda e ad alta intensità, la velocità di campionamento in fluorescenza è pari a 296 Hz. Ciò significa che il campione viene illuminato 296 volte al secondo e che la luminescenza generata dai componenti eluiti dalla colonna viene misurata 296 volte al secondo.

Se è impostata la modalità "economy" o a lunghezza d'onda multipla, la frequenza dei flash è pari a 74 Hz.

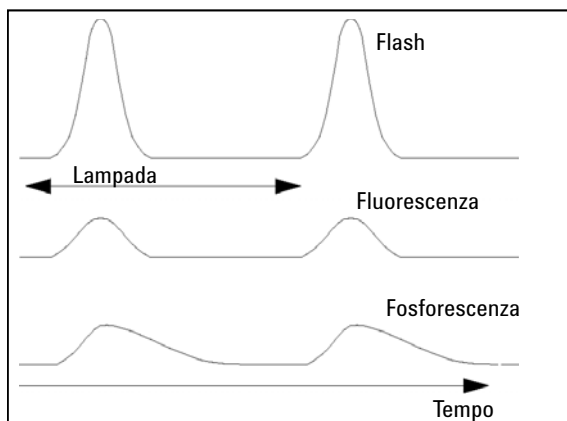


Figura 14 Funzione LAMP: frequenza di flash, fluorescenza e fosforescenza

È possibile migliorare le caratteristiche del rapporto segnale-rumore disattivando la modalità "economy".

NOTA

Tenere presente, tuttavia, che la disattivazione della modalità "economy" riduce in modo significativo la durata della lampada. Tenere in considerazione la possibilità di prolungare la durata della lampada spegnendola al termine dell'analisi.

La risoluzione dei dati è di 20 bit con un tempo di risposta di 4 s (impostazione predefinita, equivalente a una costante temporale di 1,8 s e adatta per condizioni cromatografiche standard). Segnali deboli possono causare errori di quantificazione a causa della risoluzione insufficiente. Verificare il valore proposto per PMTGAIN. Se differisce in misura significativa dal valore impostato, cambiare metodo o verificare la purezza del solvente. Vedere anche ["Ricerca della migliore amplificazione del segnale"](#), pagina 121.

È possibile amplificare il segnale utilizzando la funzione PMTGAIN. A seconda del valore impostato per PMTGAIN, viene generato un certo numero di elettroni per ciascun fotone che colpisce il fotomoltiplicatore. È possibile quantificare picchi di grandi e piccole dimensioni nello stesso cromatogramma impostando in una tabella di programmazione modifiche opportune del parametro PMTGAIN durante l'analisi.

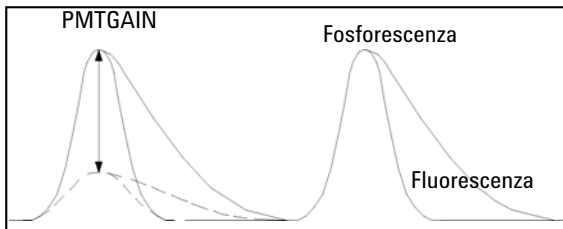


Figura 15 Funzione PMTGAIN: amplificazione del segnale

Verificare il valore proposto per PMTGAIN. Deviazioni superiori a 2 volte il guadagno del fotomoltiplicatore devono essere corrette nel metodo.

Ciascun incremento di PMTGAIN corrisponde a un aumento di un fattore circa pari a 2 (intervallo da 0 a 18). Per ottimizzare l'amplificazione per il picco con l'emissione più alta, aumentare l'impostazione PMTGAIN fino a raggiungere il miglior rapporto segnale-rumore.

Dopo che i fotoni sono stati convertiti e moltiplicati in un segnale elettronico, il segnale (ancora analogico) viene seguito e mantenuto oltre il fotomoltiplicatore. Dopo essere stato mantenuto, il segnale viene convertito da un convertitore analogico-digitale in un punto di dati grezzi (digitale). Undici di questi punti dati vengono raggruppati nella prima fase dell'elaborazione dei dati. Il raggruppamento migliora il rapporto segnale-rumore.

I dati raggruppati, mostrati sotto forma di punti neri più grandi in [Figura 16](#), pagina 28, vengono quindi filtrati utilizzando un filtro boxcar. I dati vengono sottoposti a smoothing, senza essere ridotti, prendendo la media di un determinato numero di punti. Viene calcolata la media di questi stessi punti meno il primo e più il successivo, e così via, in modo che il numero di punti raggruppati e filtrati rimanga lo stesso rispetto ai punti raggruppati originali. È possibile definire la lunghezza dell'elemento del filtro boxcar utilizzando la funzione RESPONSETIME: quanto maggiore è il valore RESPONSETIME, tanto maggiore è il numero di punti dati per il calcolo della media. Un incremento di un fattore pari a 4 per RESPONSETIME (ad esempio da 1 s a 4 s) raddoppia il rapporto segnale-rumore.

1 Introduzione al rivelatore a fluorescenza

Informazioni analitiche dai dati primari

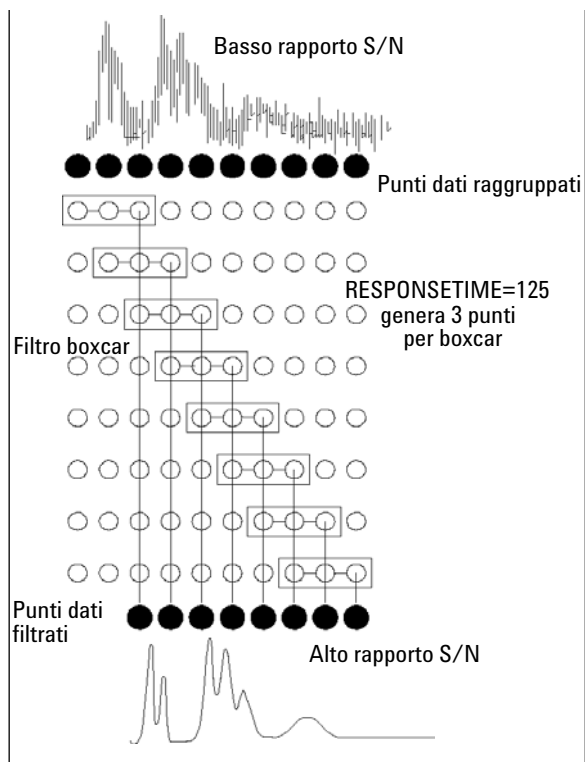


Figura 16 Funzione **RESPONSETIME**: rapporto segnale-rumore

Panoramica del sistema

Gestione di perdite e scarichi

La serie 1200 Infinity è stata progettata per consentire la gestione in sicurezza di perdite e scarichi. È importante comprendere tutti i principi del design alla base della sicurezza e seguire attentamente le istruzioni.

Panoramica del sistema

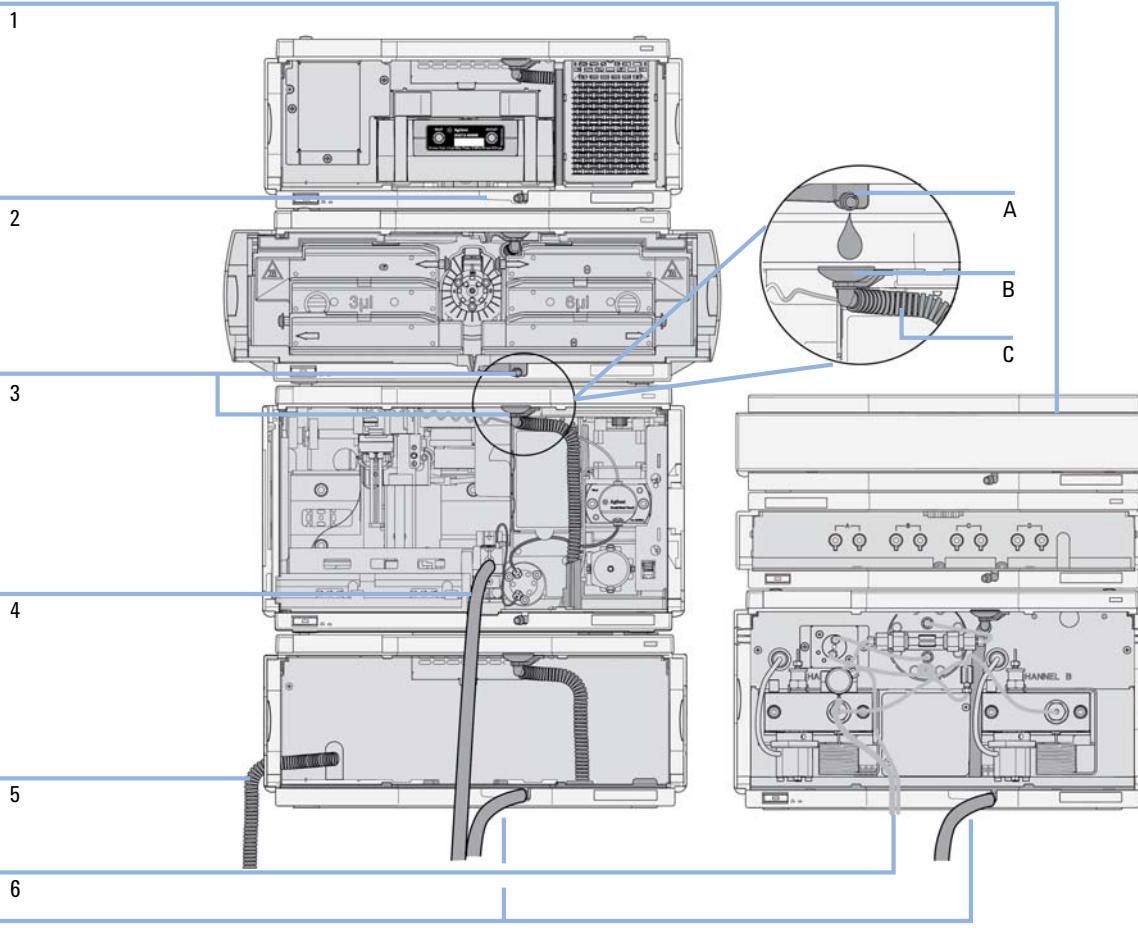


Figura 17 Design del sistema di gestione di perdite e scarichi (panoramica - esempio con una configurazione tipica dello stack)

Il comparto solventi (1) è progettato per alloggiare un volume massimo di 6 L di solvente. Il volume massimo di una singola bottiglia all'interno del comparto solventi non deve essere superiore a 2,5 L. Per informazioni dettagliate fare riferimento alle linee guida sull'utilizzo dei comparti per solventi Agilent serie 1200 Infinity (una copia cartacea delle linee guida è spedita insieme al comparto solventi; copie elettroniche sono disponibili su Internet).

Il pannello di raccolta delle perdite (2) (progettato separatamente per ciascun modulo) convoglia i solventi sul lato anteriore del modulo. Il design consente di raccogliere anche le perdite dai componenti interni (per esempio la cella di flusso del rivelatore). Il sensore di perdita nel pannello di raccolta delle perdite arresta il funzionamento del sistema non appena viene raggiunto il livello limite di rivelazione delle perdite.

La porta di uscita del pannello di raccolta delle perdite (3, A) convoglia il liquido in eccesso da un modulo al successivo, facendo fluire il solvente nell'imbuto di raccolta perdite del modulo successivo (3, B) e nel tubo di scarico corrugato a esso collegato (3, C). Il tubo di scarico corrugato convoglia il solvente nel vassoio di raccolta perdite con sensore del modulo sottostante successivo.

Il tubo di scarico della porta di lavaggio dell'ago del campionatore (4) convoglia i solventi nello scarico.

L'uscita di drenaggio della condensa del dispositivo di raffreddamento dell'autocampionatore (5) convoglia la condensa nello scarico.

Il tubo di scarico della valvola di spurgo (6) convoglia i solventi nello scarico.

Il tubo di scarico collegato all'uscita del pannello di raccolta delle perdite su ciascuno degli strumenti alla base dello stack (7) convoglia il solvente in un contenitore di scarico adatto.

Materiali bioinerti

Per il circuito idraulico (componenti bagnati) del sistema LC bioinerte Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies utilizza materiali di altissima qualità, comunemente impiegati dai ricercatori nel campo delle scienze biologiche in quanto presentano un'inerzia ottimale nei confronti dei campioni biologici e offrono la migliore compatibilità con i campioni e solventi di uso comune su un ampio intervallo di pH. In particolare, l'intero circuito idraulico è privo di acciaio inossidabile e di altre leghe contenenti metalli quali ferro, nichel, cobalto, cromo, molibdeno o rame, che possono interferire con i campioni biologici. I componenti del circuito idraulico a valle del sistema di introduzione del campione sono completamente privi di metalli.

Tabella 2 Materiali bioinerti utilizzati nei sistemi Agilent 1260 Infinity

Modulo	Materiali
Pompa quaternaria bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5611A)	Titanio, oro, platino-iridio, ceramica, rubino, PTFE, PEEK
Autocampionatore ad alte prestazioni bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5667A)	A monte del sistema di introduzione del campione: • Titanio, oro, PTFE, PEEK, ceramica A valle del sistema di introduzione del campione: • PEEK, ceramica
Iniettore manuale bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5628A)	PEEK, ceramica
Collettore di frazioni analitiche bioinerte Agilent 1260 Infinity (G5664A)	PEEK, ceramica, PTFE
Celle di flusso bioinerti:	
Cella di flusso standard bioinerte, 10 mm, 13 µL, 120 bar (12 MPa) per MWD/DAD, include kit di capillari per celle di flusso BIO (codice G5615-68755) (G5615-60022) <i>(per rivelatori a serie di diodi Agilent 1260 Infinity DAD G1315C/D)</i>	PEEK, ceramica, zaffiro, PTFE

Tabella 2 Materiali bioinerti utilizzati nei sistemi Agilent 1260 Infinity

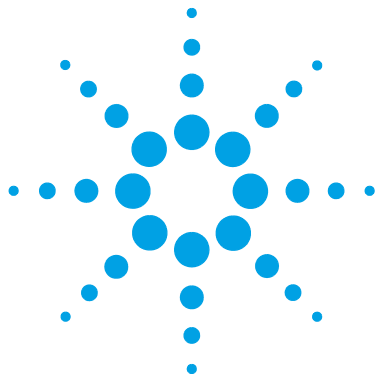
Modulo	Materiali
Cella a cartuccia Max-Light bioinerte (10 mm, V(s) 1.0 µL) (G5615-60018) e Cella a cartuccia Max-Light bioinerte (60 mm, V(s) 4.0 µL) (G5615-60017) (per rivelatori a serie di diodi Agilent serie 1200 Infinity DAD G4212A/B)	PEEK, silice fusa
Cella di flusso bioinerte, 8 µL, 20 bar (pH 1–12) include kit di capillari per celle di flusso BIO (codice G5615-68755) (G5615-60005) (per il rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity FLD G1321B)	PEEK, silice fusa, PTFE
Scambiatore di calore bioinerte G5616-60050 (per comparto colonne termostato Agilent 1290 Infinity G1316C)	PEEK (placcato acciaio)
Teste delle valvole bioinerti	G4235A, G5631A, G5639A: PEEK, ceramica (basata su Al ₂ O ₃)
Capillari di collegamento bioinerti:	A monte del sistema di introduzione del campione: • Titanio A valle del sistema di introduzione del campione: • Agilent utilizza capillari in PEEK placcati in acciaio inossidabile, che evitano la presenza di acciaio nel circuito idraulico e assicurano la stabilità della pressione a oltre 600 bar.

NOTA

Per ottenere una biocompatibilità ottimale del sistema LC bioinerte Agilent 1260 Infinity, non includere nel circuito idraulico moduli o parti standard non inerti. Non utilizzare parti non contrassegnate dall'etichetta Agilent "Bio-inert". Per informazioni sulla compatibilità tra questi materiali e i solventi, vedere ["Informazioni sui solventi per le parti del sistema LC bioinerte 1260 Infinity"](#), pagina 111.

1 **Introduzione al rivelatore a fluorescenza**

Materiali bioinerti



2 Requisiti del luogo di installazione e specifiche

Requisiti del luogo di installazione 36

Specifiche fisiche 39

Specifiche delle prestazioni 40

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sui requisiti ambientali nonché sulle specifiche fisiche e delle prestazioni.



Requisiti del luogo di installazione

Un ambiente adatto è importante per garantire prestazioni ottimali dello strumento.

Considerazioni sull'alimentazione

L'alimentatore del modulo è compatibile con un ampio intervallo di tensione. È in grado di accettare qualsiasi tensione di linea compresa nell'intervallo indicato in [Tabella 3](#), pagina 39. Pertanto, sul retro del modulo non è presente alcun selettore di tensione. Inoltre, non sono presenti fusibili accessibili dall'esterno poiché l'alimentatore è dotato di fusibili elettronici automatici.

ATTENZIONE

Sussiste il rischio di scosse elettriche o di danni allo strumento

se i dispositivi vengono collegati a una tensione di linea superiore a quella indicata.

→ Collegare lo strumento solo alla tensione di linea specificata.

ATTENZIONE

Il modulo è parzialmente alimentato quando è spento, purché il cavo di alimentazione sia collegato.

Gli interventi di riparazione del modulo possono provocare lesioni personali, come scosse elettriche, nel caso in cui il coperchio sia aperto e il modulo sia collegato all'alimentazione.

→ Scollegare sempre il cavo di alimentazione prima di aprire il coperchio.

→ Non collegare il cavo di alimentazione allo strumento se i coperchi non sono presenti.

AVVERTENZA

Connettore di alimentazione non accessibile.

In caso di emergenza, deve essere possibile scollegare lo strumento dalla rete elettrica in qualsiasi momento.

- Assicurarsi che il connettore di alimentazione dello strumento sia facilmente accessibile e scollegabile.
- Assicurarsi che dietro alla presa di alimentazione vi sia lo spazio sufficiente per riuscire a scollegare il cavo.

Cavi di alimentazione

Insieme al modulo vengono offerti, come opzione, diversi tipi di cavi di alimentazione. L'estremità femmina è sempre uguale, e deve essere introdotta nell'apposita presa di alimentazione che si trova nella parte posteriore. L'estremità maschio di ciascun cavo di alimentazione è diversa ed è progettata per adattarsi alle prese utilizzate nei vari paesi.

ATTENZIONE

Assenza di messa a terra o utilizzo di cavi di alimentazione non appropriati

L'assenza di messa a terra o l'utilizzo di cavi di alimentazione non appropriati può provocare scosse elettriche o corto circuito.

- Non utilizzare mai lo strumento con prese prive di messa a terra.
- Non utilizzare cavi di alimentazione diversi da quelli predisposti da Agilent Technologies per i singoli paesi.

ATTENZIONE

Uso di cavi non forniti

L'uso di cavi non forniti da Agilent Technologies può provocare danni ai componenti elettronici o lesioni personali.

- Per un funzionamento ottimale e per la conformità alle normative EMC, è indispensabile utilizzare sempre i cavi forniti da Agilent Technologies.
-

ATTENZIONE

Uso non previsto dei cavi di alimentazione forniti

L'utilizzo dei cavi di alimentazione per fini non previsti può provocare lesioni personali o danni alle apparecchiature elettroniche.

- Non utilizzare con altre apparecchiature cavi di alimentazione forniti da Agilent Technologies per questo strumento.
-

Spazio su banco

Le dimensioni e il peso del modulo (vedere la [Tabella 3](#), pagina 39) consentono di collocarlo sulla maggior parte dei banchi o dei tavoli di laboratorio. Il modulo richiede uno spazio ulteriore di 2,5 cm su entrambi i lati e di circa 8 cm sul retro per la circolazione dell'aria e per i collegamenti elettrici.

Se sul banco deve essere collocato un intero sistema HPLC, assicurarsi che il banco sia in grado di sostenere il peso complessivo dei moduli.

Il modulo deve essere usato in posizione orizzontale.

Condensa

AVVERTENZA

Condensa all'interno del modulo

La condensa danneggia i componenti elettronici del sistema.

- Non immagazzinare, trasportare o utilizzare il modulo in condizioni in cui eventuali variazioni di temperatura possono causare la formazione di condensa al suo interno.
 - Se il modulo è stato spedito in condizioni di bassa temperatura, lasciarlo nel contenitore di imballaggio per consentirgli di raggiungere lentamente la temperatura ambiente ed evitare la formazione di condensa.
-

Specifiche fisiche

Tabella 3 Specifiche fisiche

Tipo	Specifica	Commenti
Peso	11,5 kg	
Dimensioni (altezza × larghezza × profondità)	140 x 345 x 435 mm	
Tensione di rete	100 – 240 VAC, ± 10 %	Sono accettati valori di tensione ampiamente diversi
Frequenza di rete	50 o 60 Hz, ± 5 %	
Consumo elettrico	180 VA / 70 W / 239 BTU	Massimo
Temperatura ambiente operativa	0 - 40 °C (32 - 104 °F)	
Temperatura ambiente non operativa	-40 – 70 °C	
Umidità	< 95 % di umidità relativa a 40 °C	Senza condensa
Altitudine operativa	Fino a 2000 m	
Altitudine non operativa	Fino a 4600 m	Per l'immagazzinaggio del modulo
Standard di sicurezza: IEC, CSA, UL	Categoria di installazione II, grado di inquinamento 2	Solo per uso all'interno.

Specifiche delle prestazioni

Tabella 4 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Specifica	Commenti
Tipo di rivelazione	Rivelatore a fluorescenza multi-segnale con funzionalità di scansione in linea rapida e analisi di dati spettrali	
Specifiche delle prestazioni	Funzionamento a lunghezza d'onda singola: • RAMAN (H₂O) > 500 (riferimento del rumore misurato in corrispondenza del segnale) Ex=350 nm, Em=397 nm, valore di buio 450 nm, cella di flusso standard • RAMAN (H₂O) > 3000 (riferimento del rumore misurato in corrispondenza del valore di buio) Ex=350 nm, Em=397 nm, valore di buio 450 nm, cella di flusso standard Funzionamento a lunghezza d'onda doppia: RAMAN (H ₂ O) > 300 Ex 350 nm, Em 397 nm ed Ex 350 nm, Em 450 nm, cella di flusso standard.	vedere la nota alla fine di questa tabella vedere il manuale di manutenzione per informazioni dettagliate
Sorgente luminosa	Lampada flash allo xeno, modalità normale 20 W, modalità economy 5 W, durata utile 4000 h	
Frequenza degli impulsi	296 Hz per la modalità a segnale singolo 74 Hz per la modalità economy	
Velocità di campionamento massima	74 Hz, 145 Hz	145 Hz con firmware A.06.54 e versioni successive

Tabella 4 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Specifica	Commenti
Monocromatore di eccitazione	Intervallo: impostabile 200 nm - 1200 nm e ordine zero Larghezza di banda: 20 nm (fissa) Monocromatore: reticolo olografico concavo, F/1,6, blaze: 300 nm	
Monocromatore di emissione	Intervallo: impostabile 200 nm - 1200 nm e ordine zero Larghezza di banda: 20 nm (fissa) Monocromatore: reticolo olografico concavo, F/1,6, blaze: 400 nm	
Sistema di riferimento	Misurazione in linea dell'eccitazione	
Programmazione temporale	fino a 4 segnali di lunghezza d'onda, tempo di risposta, PMT Gain, comportamento della linea di base (append, free, zero), parametri spettrali	
Acquisizione degli spettri	Spettri di eccitazione o di emissione Velocità di scansione: 28 ms per punto dati (per esempio 0,6 s/spettro 200 – 400 nm, passo di 10 nm) Passo: 1 – 20 nm Memorizzazione di spettri: All (Tutto)	
Caratteristiche della lunghezza d'onda	Ripetibilità +/- 0,2 nm Accuratezza +/- 3 nm	
Celle di flusso	Standard: volume pari a 8 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa), blocco in silice fusa Opzionale: - Cuvetta per fluorescenza per misurazioni spettroscopiche non in linea con siringa da 1 mL, volume pari a 8 µL - Bioinerte: volume pari a 8 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa), pH 1–12 - Micro: volume pari a 4 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa)	

2 Requisiti del luogo di installazione e specifiche

Specifiche delle prestazioni

Tabella 4 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Specifica	Commenti
Controllo e valutazione dei dati	ChemStation Agilent per LC, Agilent Instant Pilot G4208A con analisi limitata dei dati spettrali e stampa degli spettri	
Uscite analogiche	Registratore/integratore: 100 mV o 1 V, intervallo di uscita > 100 LU, due uscite	100 LU è l'intervallo consigliato; vedere <i>"Intervallo di scala del rivelatore FLD e condizioni operative"</i>
Comunicazioni	CAN (rete area controllore), RS-232C, LAN, APG Remoto: segnali di pronto, avvio, interruzione e arresto	
Sicurezza e manutenzione	Ampio supporto per la risoluzione dei problemi e la manutenzione tramite Instant Pilot, Agilent Lab Advisor e Chromatography Data System. Le funzioni correlate alla sicurezza includono rivelazione delle perdite, gestione delle perdite in sicurezza, segnale di perdita in uscita per lo spegnimento del sistema di pompaggio e bassa tensione nelle principali aree soggette a manutenzione.	
Funzioni GLP	Avviso di manutenzione preventiva (EMF) per il controllo continuo dell'utilizzo dello strumento in termini di tempo di accensione della lampada con limiti impostabili dall'utente e messaggi di avviso. Registri elettronici delle attività di manutenzione e degli errori. Verifica dell'accuratezza della lunghezza d'onda tramite la banda Raman dell'acqua.	
Involucri	Tutti i materiali sono riciclabili.	
Ambiente	Temperatura costante 0 – 40 °C con umidità < 95% (assenza di condensa)	

Tabella 4 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321B)

Tipo	Specifica	Commenti
Dimensioni	140 mm x 345 mm x 435 mm (altezza x larghezza x profondità)	
Peso	11,5 kg (25,5 lbs)	

Tabella 5 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Specifica	Commenti
Tipo di rivelazione	Un'unica lunghezza d'onda del segnale (eccitazione ed emissione)	Rivelatore a fluorescenza a lunghezza d'onda singola (eccitazione ed emissione) programmabile
Specifiche delle prestazioni	Funzionamento a lunghezza d'onda singola: - RAMAN (H₂O) > 500 (riferimento del rumore misurato in corrispondenza del segnale) Ex=350 nm, Em=397 nm, valore di buio 450 nm, cella di flusso standard - RAMAN (H₂O) > 3000 (riferimento del rumore misurato in corrispondenza del valore di buio) Ex=350 nm, Em=397 nm, valore di buio 450 nm, cella di flusso standard	vedere la nota alla fine di questa tabella vedere il manuale di manutenzione per informazioni dettagliate
Sorgente luminosa	Lampada flash allo xeno, modalità normale 20 W, modalità economy 5 W, durata utile 4000 h	
Frequenza degli impulsi	296 Hz per la modalità a segnale singolo 74 Hz per la modalità economy	
Velocità di campionamento massima	74 Hz	

2 Requisiti del luogo di installazione e specifiche

Specifiche delle prestazioni

Tabella 5 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Specifica	Commenti
Monocromatore di eccitazione	Intervallo: impostabile 200 nm - 1200 nm e ordine zero Larghezza di banda: 20 nm (fissa) Monocromatore: reticolo olografico concavo, F/1,6, blaze: 300 nm	
Monocromatore di emissione	Intervallo: impostabile 200 nm - 1200 nm e ordine zero Larghezza di banda: 20 nm (fissa) Monocromatore: reticolo olografico concavo, F/1,6, blaze: 400 nm	
Sistema di riferimento	Misurazione in linea dell'eccitazione	
Programmazione temporale	fino a 4 segnali di lunghezza d'onda, tempo di risposta, PMT Gain, comportamento della linea di base (append, free, zero), parametri spettrali	
Caratteristiche della lunghezza d'onda	Ripetibilità +/- 0,2 nm Accuratezza +/- 3 nm	
Celle di flusso	Standard: volume pari a 8 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa), blocco in silice fusa Opzionale: - Cuvetta per fluorescenza per misurazioni spettroscopiche non in linea con siringa da 1 mL, volume pari a 8 µL - Bioinerte: volume pari a 8 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa), pH 1–12 - Micro: volume pari a 4 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa)	
Controllo e valutazione dei dati	ChemStation Agilent per LC, Agilent Instant Pilot G4208A con analisi limitata dei dati spettrali e stampa degli spettri	

Tabella 5 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321C)

Tipo	Specifica	Commenti
Uscite analogiche	Registratore/integratore: 100 mV o 1 V, intervallo di uscita > 100 LU, due uscite	100 LU è l'intervallo consigliato; vedere <i>"Intervallo di scala del rivelatore FLD e condizioni operative"</i>
Comunicazioni	CAN (rete area controllore), RS-232C, LAN, APG Remoto: segnali di pronto, avvio, interruzione e arresto	
Sicurezza e manutenzione	Ampio supporto per la risoluzione dei problemi e la manutenzione tramite Instant Pilot, Agilent Lab Advisor e Chromatography Data System. Le funzioni correlate alla sicurezza includono rivelazione delle perdite, gestione delle perdite in sicurezza, segnale di perdita in uscita per lo spegnimento del sistema di pompaggio e bassa tensione nelle principali aree soggette a manutenzione.	
Funzioni GLP	Avviso di manutenzione preventiva (EMF) per il controllo continuo dell'utilizzo dello strumento in termini di tempo di accensione della lampada con limiti impostabili dall'utente e messaggi di avviso. Registri elettronici delle attività di manutenzione e degli errori. Verifica dell'accuratezza della lunghezza d'onda tramite la banda Raman dell'acqua.	
Involucri	Tutti i materiali sono riciclabili.	
Ambiente	Temperatura costante 0 – 40 °C con umidità < 95% (assenza di condensa)	
Dimensioni	140 mm x 345 mm x 435 mm (altezza x larghezza x profondità)	
Peso	11,5 kg (25,5 lbs)	

2 Requisiti del luogo di installazione e specifiche

Specifiche delle prestazioni

Tabella 6 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent serie 1200 (G1321A)

Tipo	Specifica	Commenti
Tipo di rivelazione	Rivelatore a fluorescenza multi-segnale con funzionalità di scansione in linea rapida e analisi di dati spettrali	
Specifiche delle prestazioni	Funzionamento a lunghezza d'onda singola: RAMAN (H_2O) > 500 (riferimento del rumore misurato in corrispondenza del segnale) Ex=350 nm, Em=397 nm, valore di buio 450 nm, cella di flusso standard Funzionamento a lunghezza d'onda doppia: RAMAN (H_2O) > 300 Ex 350 nm, Em 397 nm ed Ex 350 nm, Em 450 nm, cella di flusso standard.	vedere la nota alla fine di questa tabella vedere il manuale di manutenzione per informazioni dettagliate
Sorgente luminosa	Lampada flash allo xeno, modalità normale 20 W, modalità economy 5 W, durata utile 4000 h	
Frequenza degli impulsi	296 Hz per la modalità a segnale singolo 74 Hz per la modalità economy	
Velocità di campionamento massima	37 Hz	
Monocromatore di eccitazione	Intervallo: impostabile 200 nm - 1200 nm e ordine zero Larghezza di banda: 20 nm (fissa) Monocromatore: reticolo olografico concavo, F/1,6, blaze: 300 nm	
Monocromatore di emissione	Intervallo: impostabile 200 nm - 1200 nm e ordine zero Larghezza di banda: 20 nm (fissa) Monocromatore: reticolo olografico concavo, F/1,6, blaze: 400 nm	
Sistema di riferimento	Misurazione in linea dell'eccitazione	

Tabella 6 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent serie 1200 (G1321A)

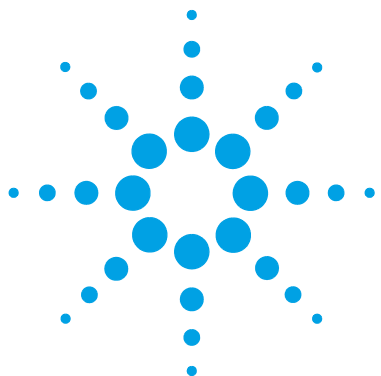
Tipo	Specifica	Commenti
Programmazione temporale	fino a 4 segnali di lunghezza d'onda, tempo di risposta, PMT Gain, comportamento della linea di base (append, free, zero), parametri spettrali	
Acquisizione degli spettri	Spettri di eccitazione o di emissione Velocità di scansione: 28 ms per punto dati (per esempio 0,6 s/spettro 200 – 400 nm, passo di 10 nm) Passo: 1 – 20 nm Memorizzazione di spettri: All (Tutto)	
Caratteristiche della lunghezza d'onda	Ripetibilità +/- 0,2 nm Accuratezza +/- 3 nm	
Celle di flusso	Standard: volume pari a 8 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa), blocco in silice fusa Opzionale: • Cuvetta per fluorescenza per misurazioni spettroscopiche non in linea con siringa da 1 mL, volume pari a 8 µL • Bioinerte: volume pari a 8 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa), pH 1–12 • Micro: volume pari a 4 µL e pressione massima pari a 20 bar (2 MPa)	
Controllo e valutazione dei dati	ChemStation Agilent per LC, Agilent Instant Pilot G4208A con analisi limitata dei dati spettrali e stampa degli spettri	
Uscite analogiche	Registratore/integratore: 100 mV o 1 V, intervallo di uscita > 100 LU, due uscite	100 LU è l'intervallo consigliato; vedere <i>"Intervallo di scala del rivelatore FLD e condizioni operative"</i>

2 Requisiti del luogo di installazione e specifiche

Specifiche delle prestazioni

Tabella 6 Specifiche delle prestazioni del rivelatore a fluorescenza Agilent serie 1200 (G1321A)

Tipo	Specifica	Commenti
Comunicazioni	CAN (rete area controllore), RS-232C, LAN, APG Remoto: segnali di pronto, avvio, interruzione e arresto	
Sicurezza e manutenzione	Diagnostica estesa, rivelazione e visualizzazione degli errori (tramite Instant Pilot G4208A e ChemStation), rivelazione delle perdite, gestione delle perdite in sicurezza, segnale di perdita in uscita per lo spegnimento del sistema di pompaggio. Bassa tensione nelle principali aree in cui si deve effettuare la manutenzione.	
Funzioni GLP	Avviso di manutenzione preventiva (EMF) per il controllo continuo dell'utilizzo dello strumento in termini di tempo di accensione della lampada con limiti impostabili dall'utente e messaggi di avviso. Registri elettronici delle attività di manutenzione e degli errori. Verifica dell'accuratezza della lunghezza d'onda tramite la banda Raman dell'acqua.	
Involucro	Tutti i materiali sono riciclabili.	
Ambiente	Temperatura costante 0 – 40 °C con umidità < 95% (assenza di condensa)	
Dimensioni	140 mm x 345 mm x 435 mm (altezza x larghezza x profondità)	
Peso	11,5 kg (25,5 lbs)	



3

Installazione del modulo

Disimballaggio del modulo [50](#)

Ottimizzazione della configurazione dello stack [52](#)

 Configurazione in stack unico [53](#)

 Configurazione in due stack [55](#)

Informazioni sull'installazione relative alla gestione di perdite e scarichi [57](#)

Installazione del modulo [61](#)

Collegamenti di flusso al modulo [64](#)

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sulla configurazione di stack preferita per il sistema e sull'installazione del modulo.



Disimballaggio del modulo

Imballaggio danneggiato

Se l'imballo di consegna mostra segni di danni esterni, contattare immediatamente l'ufficio commerciale Agilent Technologies di zona. Informare il responsabile Agilent che lo strumento potrebbe essersi danneggiato durante la spedizione.

AVVERTENZA

Problemi di "difetti alla consegna"

Se sono presenti danni evidenti, non installare il modulo e farlo ispezionare da Agilent per verificare se è in buone condizioni o danneggiato.

- Segnalare il danno all'ufficio commerciale Agilent.
 - Un tecnico Agilent ispezionerà lo strumento presso la sede del cliente e prenderà le misure opportune.
-

Elenco di verifica della consegna

Assicurarsi che tutte le parti e i materiali siano stati consegnati insieme al modulo. L'elenco di verifica della consegna è riportato di seguito.

Per l'identificazione delle parti, controllare l'illustrazione delle parti in dettaglio nella sezione [“Parti per la manutenzione”](#), pagina 207.

Segnalare eventuali parti mancanti o danneggiate all'ufficio commerciale Agilent Technologies di zona.

Tabella 7 Elenco di verifica del rivelatore

Descrizione	Quantità
Rivelatore	1
Cavo di alimentazione	1
Cavo CAN	1
Cella di flusso	Come da ordine
Cella di flusso/cuvetta opzionale	Come da ordine
<i>Manuale per l'utente</i>	sul CD della documentazione (parte della spedizione - non specifico per il modulo)
Kit di accessori (vedere “Kit di accessori standard” , pagina 211)	1

Ottimizzazione della configurazione dello stack

Se il modulo fa parte di un cromatografo liquido Agilent 1260 Infinity completo, è possibile ottenere prestazioni ottimali installando le configurazioni descritte di seguito. Queste configurazioni ottimizzano il circuito idraulico del sistema, assicurando un volume di ritardo minimo.

Configurazione in stack unico

Per ottenere prestazioni ottimali, installare i moduli del sistema LC Agilent 1260 Infinity nella configurazione descritta di seguito (vedere la [Figura 18](#), pagina 53 e la [Figura 19](#), pagina 54). Questa configurazione ottimizza il circuito idraulico, assicurando un volume di ritardo minimo e riducendo lo spazio necessario sul banco.

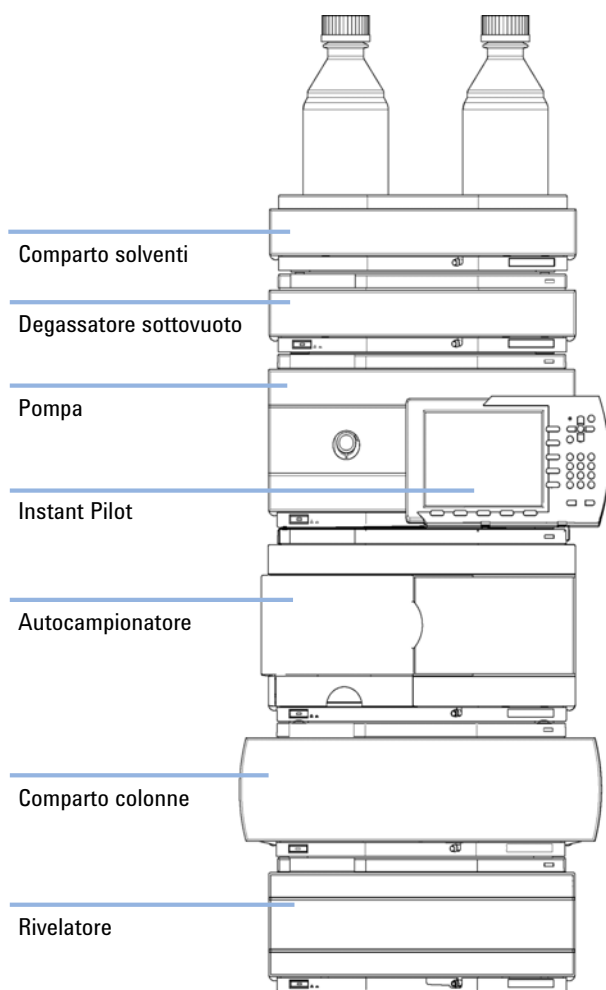


Figura 18 Configurazione dello stack consigliata per 1260 Infinity (vista anteriore)

3 Installazione del modulo

Ottimizzazione della configurazione dello stack

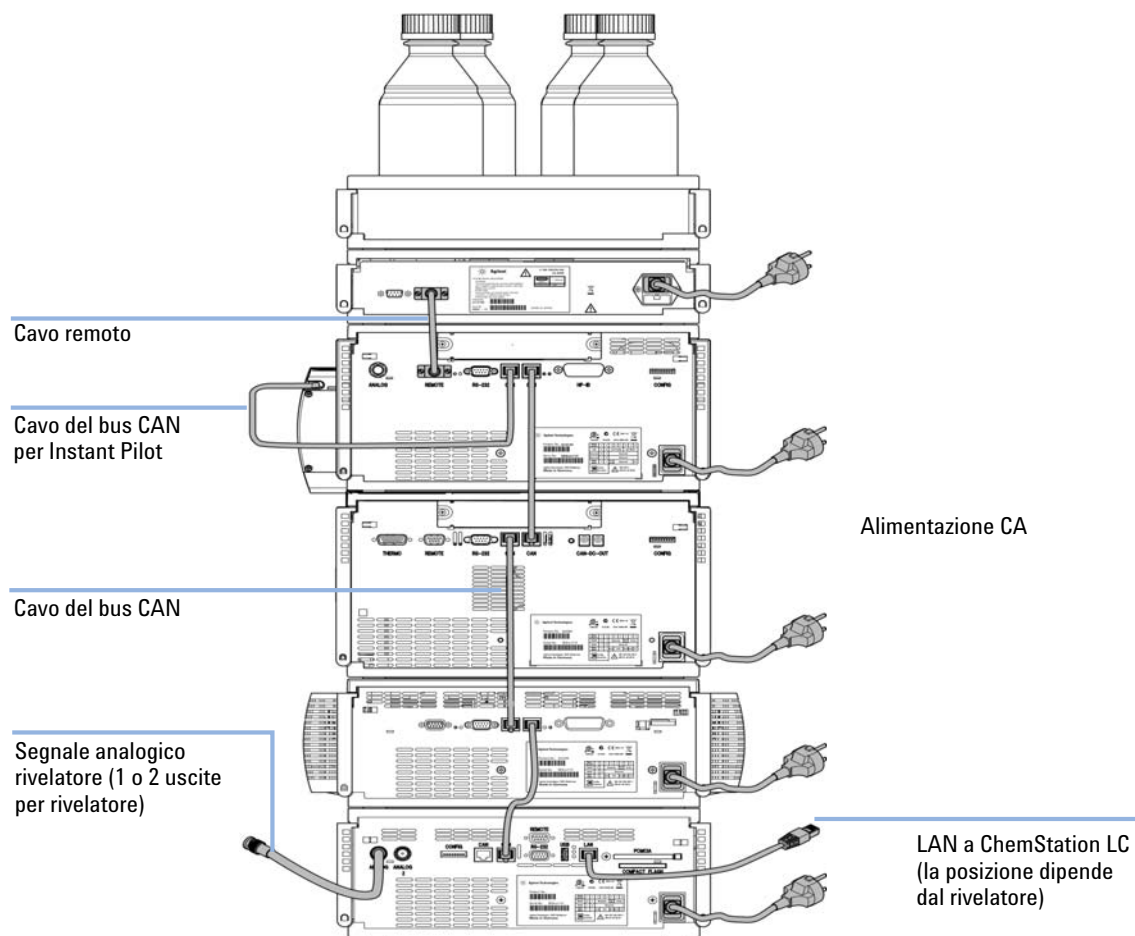


Figura 19 Configurazione dello stack consigliata per 1260 Infinity (vista posteriore)

Configurazione in due stack

Per evitare un'altezza eccessiva dello stack quando al sistema si aggiunge il termostato dell'autocampionatore, è consigliabile creare due stack. Alcuni utenti preferiscono questa disposizione con altezza inferiore anche in assenza del termostato dell'autocampionatore. Tra la pompa e l'autocampionatore è necessario un capillare di lunghezza leggermente superiore. Vedere [Figura 20](#), pagina 55 e [Figura 21](#), pagina 56.

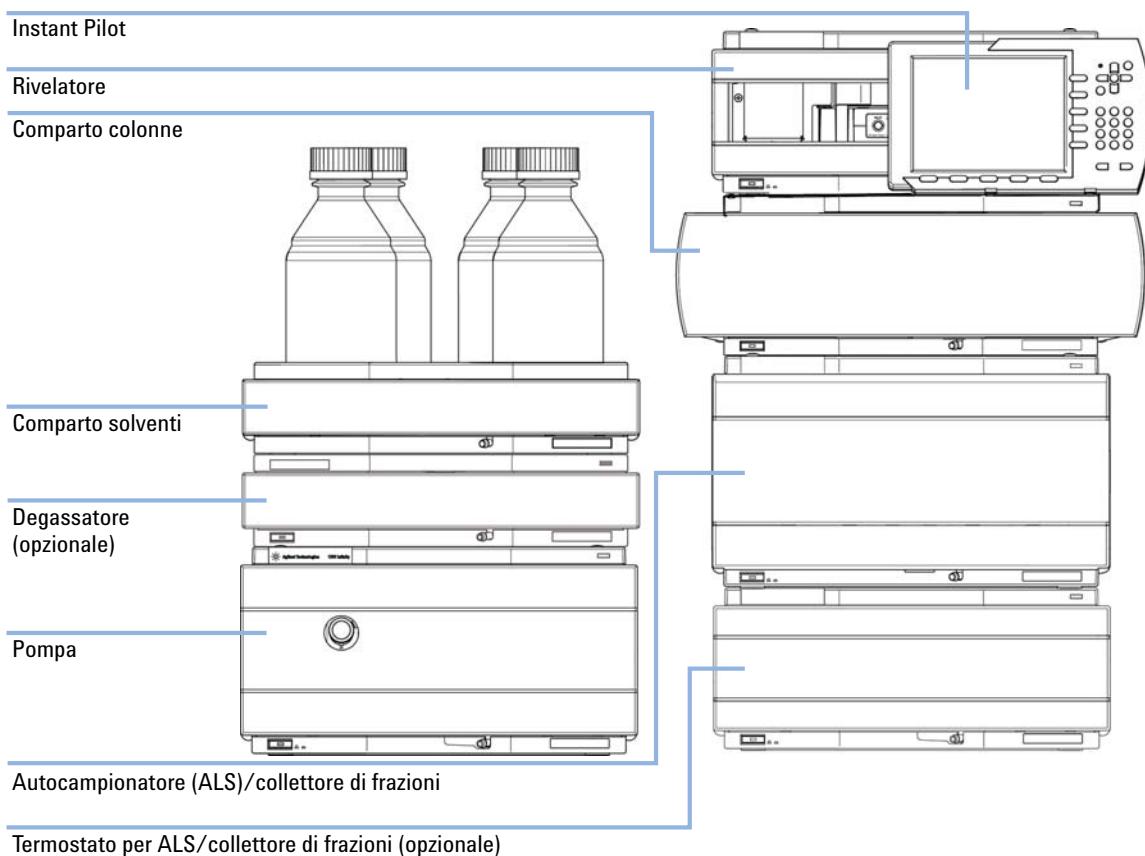


Figura 20 Configurazione in due stack consigliata per 1260 Infinity (vista anteriore)

3 Installazione del modulo

Ottimizzazione della configurazione dello stack

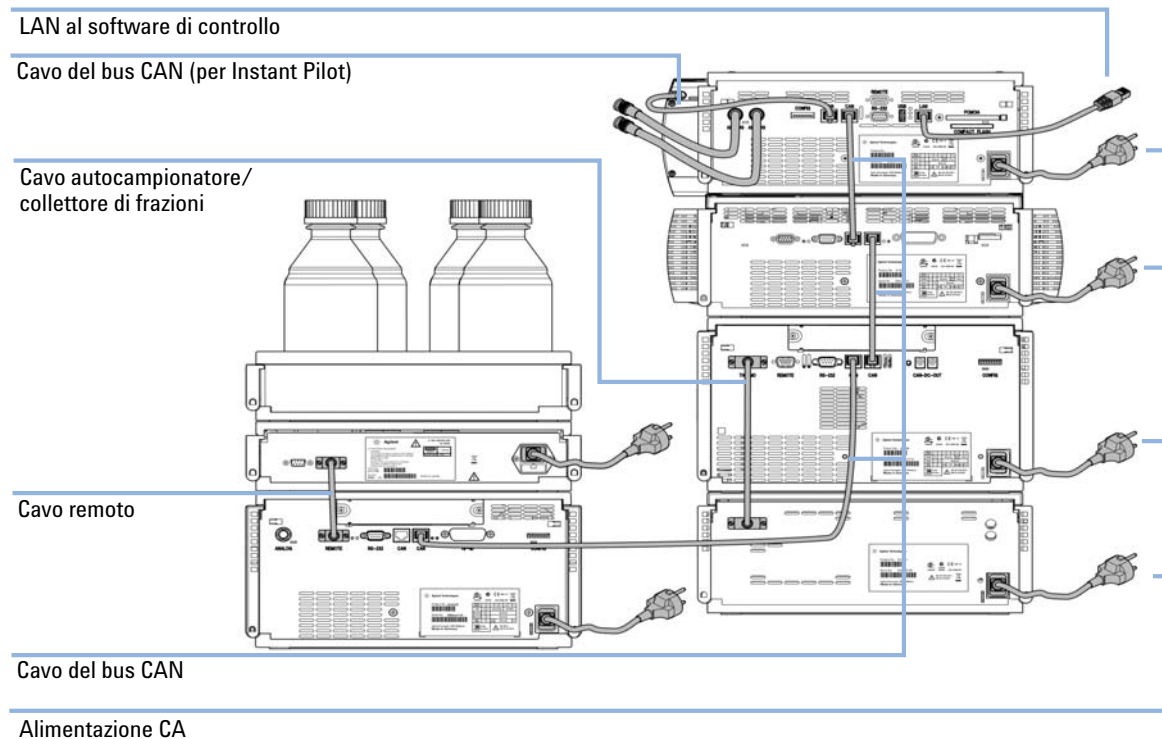


Figura 21 Configurazione in due stack consigliata per 1260 Infinity (vista posteriore)

Informazioni sull'installazione relative alla gestione di perdite e scarichi

La serie 1200 Infinity di Agilent è stata progettata per consentire la gestione in sicurezza di perdite e scarichi. È importante comprendere tutti i principi del design alla base della sicurezza e seguire attentamente le istruzioni.

ATTENZIONE

Solventi, campioni e reagenti tossici, infiammabili e pericolosi

La manipolazione di solventi, campioni e reagenti può comportare rischi per la salute e la sicurezza.

- Durante l'utilizzo di queste sostanze rispettare le procedure di sicurezza opportune (ad esempio indossare occhiali protettivi, guanti di sicurezza e indumenti di protezione) descritte nelle schede sulla manipolazione e sicurezza dei materiali redatte dal fornitore e attenersi sempre alle buone pratiche di laboratorio.
- Il volume delle sostanze deve essere ridotto al minimo necessario per condurre l'analisi.
- Non superare in alcuna circostanza il volume massimo consentito per i solventi (6 L) nel comparto solventi.
- Non utilizzare bottiglie di capacità superiore al volume massimo consentito specificato nelle linee guida sull'utilizzo dei comparti per solventi Agilent serie 1200 Infinity.
- Disporre le bottiglie come specificato nelle linee guida sull'utilizzo del comparto solventi.
- Una copia cartacea delle linee guida è spedita insieme al comparto solventi; copie elettroniche sono disponibili su Internet.

NOTA

Raccomandazioni per il comparto solventi

Per informazioni dettagliate fare riferimento alle linee guida sull'utilizzo dei comparti per solventi Agilent serie 1200 Infinity.

3 Installazione del modulo

Informazioni sull'installazione relative alla gestione di perdite e scarichi

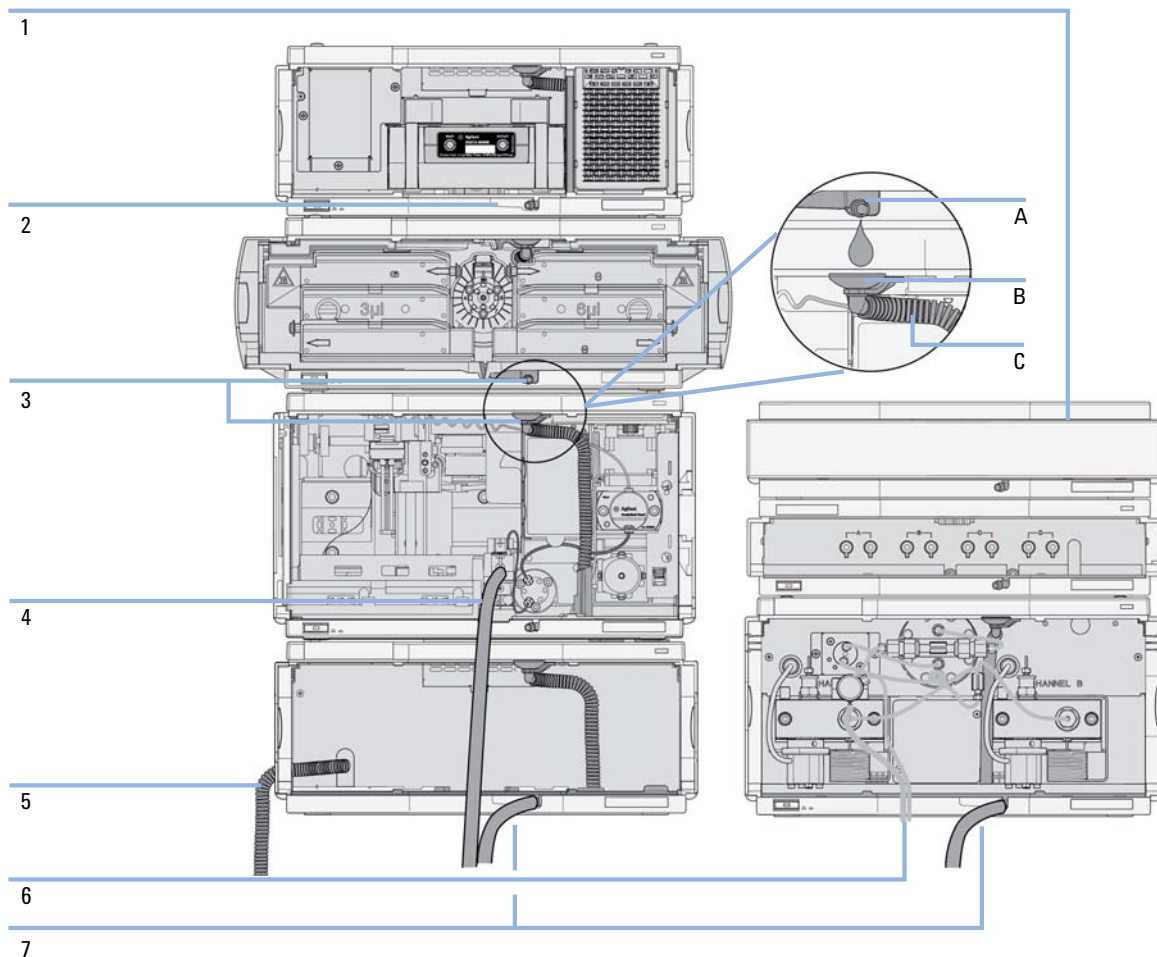


Figura 22 Gestione di perdite e scarichi (panoramica - esempio con una configurazione tipica dello stack)

1	Comparto solventi
2	Pannello di raccolta delle perdite
3	Porta di uscita del pannello di raccolta delle perdite (A), imbuto di raccolta perdite (B) e tubo di scarico corrugato (C)
4	Tubo di scarico del lavaggio dell'ago del campionatore
5	Uscita di drenaggio della condensa del dispositivo di raffreddamento dell'autocampionatore
6	Tubo di scarico della valvola di spurgo
7	Tubo di scarico

- 1 Impilare i moduli in base alla configurazione di stack adatta.
L'uscita del pannello di raccolta delle perdite del modulo più in alto deve essere collocata verticalmente sopra il vassoio di raccolta perdite del modulo sottostante; vedere [Figura 22](#), pagina 58.
- 2 Collegare i cavi dei dati e di alimentazione ai moduli; vedere la sezione *Installazione del modulo* riportata di seguito.
- 3 Collegare capillari e tubi ai moduli; vedere la sezione *Collegamenti di flusso al modulo* riportata di seguito o il manuale del sistema pertinente.

ATTENZIONE

Solventi, campioni e reagenti tossici, infiammabili e pericolosi

- Assicurarsi che il circuito del solvente sia privo di ostruzioni.
- Tenere chiuso il circuito idraulico (qualora la pompa del sistema sia dotata di valvola d'ingresso passiva, il solvente può fuoriuscire a causa della pressione idrostatica, anche se lo strumento è spento).
- Assicurarsi che i tubi non siano attorcigliati.
- Assicurarsi che i tubi siano ben tesi.
- Non curvare i tubi.
- Non immergere l'estremità dei tubi nel liquido di scarico.
- Non intubare i tubi in altri tubi.
- Per posizionare correttamente i tubi, seguire le istruzioni riportate sull'etichetta affissa al modulo.

3 Installazione del modulo

Informazioni sull'installazione relative alla gestione di perdite e scarichi



Figura 23 Etichetta di avvertenza (illustrazione per il posizionamento corretto del tubo di scarico)

Installazione del modulo

Parti richieste	Descrizione
	Cavo di alimentazione
	Per gli altri cavi vedere “ Descrizione generale dei cavi ”, pagina 214.
Software richiesto	Sistema di dati Agilent e/o Instant Pilot G4208A.
Preparazioni	Individuare lo spazio sul banco
	Preparare i collegamenti elettrici
	Rimuovere il rivelatore dall'imballaggio.

ATTENZIONE

Il modulo riceve parzialmente energia quando è spento, purché il cavo di alimentazione sia collegato.

Gli interventi di riparazione del modulo possono provocare lesioni personali, come scosse elettriche, nel caso in cui il coperchio sia aperto e il modulo sia collegato all'alimentazione.

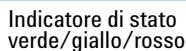
- Verificare che sia sempre possibile accedere alla presa di alimentazione.
- Scollegare il cavo di alimentazione dallo strumento prima di aprire il coperchio.
- Non collegare il cavo di alimentazione allo strumento se il coperchio non è presente.

- 1 Installare la scheda di interfacciamento LAN sul rivelatore (se richiesto), vedere “[Sostituzione della scheda di interfacciamento](#)”, pagina 203.
- 2 Collocare il rivelatore nello stack dei moduli o sul banco del laboratorio in posizione orizzontale.

3

Installazione del modulo

- 3



Fi

- 4

NOTA

11

- 7**

- 9 Accendere lo strumento premendo il pulsante sul lato inferiore sinistro del rivelatore. Il LED di stato deve assumere un colore verde.

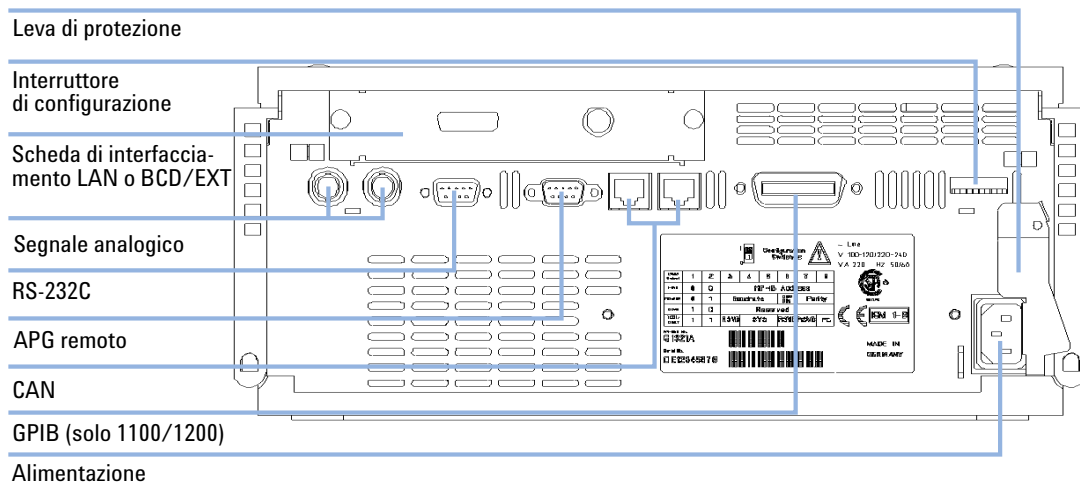


Figura 25 Vista posteriore del rivelatore

NOTA

Il rivelatore è **ACCESO** quando l'interruttore di alimentazione è premuto e l'indicatore verde è illuminato. Il rivelatore è **SPENTO** quando l'interruttore di alimentazione è in posizione sporgente e la luce verde è spenta.

NOTA

Il rivelatore viene fornito con impostazioni di configurazione predefinite.

NOTA

In seguito all'introduzione dei moduli 1260 Infinity l'interfaccia GPIO è stata eliminata.

Collegamenti di flusso al modulo



Con i moduli bioinerti utilizzare esclusivamente parti bioinerti!

Strumenti richiesti	Descrizione	
	Chiave, 1/4 – 5/16 inch (per collegamenti capillari)	
Parti richieste	Codice	Descrizione
	G1321-68755	Kit degli accessori
Preparazioni	Il rivelatore deve essere installato nel sistema per HPLC.	

ATTENZIONE

Solventi, campioni e reagenti tossici, infiammabili e pericolosi

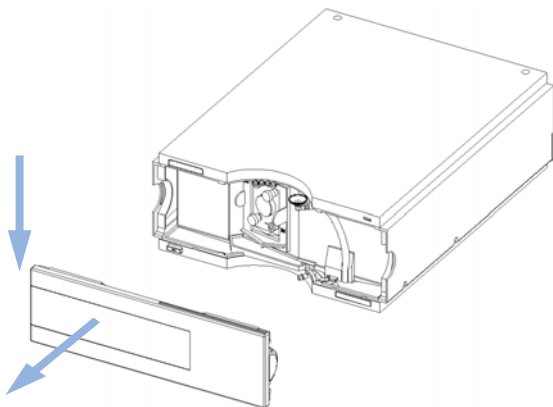
La manipolazione di solventi, campioni e reagenti può condurre a rischi per la salute e la sicurezza.

- Durante l'uso di queste sostanze attenersi alle procedure di sicurezza adeguate (ad esempio, indossare occhiali, guanti e indumenti protettivi) come descritto nella scheda sull'uso e sulla sicurezza dei materiali fornita dal produttore e attenersi sempre alla buona pratica di laboratorio.
- Il volume delle sostanze deve essere ridotto al minimo necessario per condurre l'analisi.
- Non usare lo strumento in ambienti in cui siano presenti gas esplosivi.

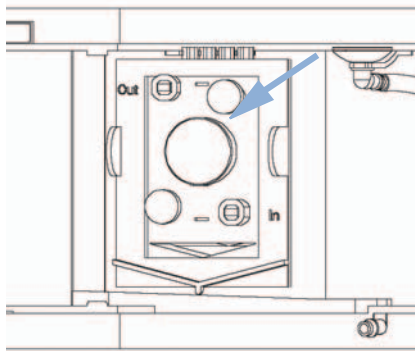
NOTA

La cella di flusso viene spedita riempita di isopropanolo (consigliato anche quando lo strumento e/o la cella di flusso vengono trasferiti a un'altra sede). Ciò consente di evitarne la rottura in presenza di temperature inferiori alla temperatura ambiente.

- 1** Premere i pulsanti di rilascio e togliere il coperchio anteriore per accedere all'area della cella di flusso.



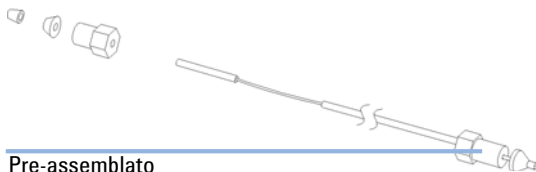
- 2** Individuare la cella di flusso.



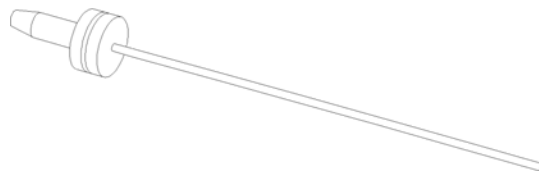
3 Installazione del modulo

Collegamenti di flusso al modulo

- 3** Assemblare il capillare colonna-rivelatore disponibile nel kit degli accessori. Un'estremità è già stata assemblata in fabbrica.



- 4** Assemblare il tubo di scarico disponibile nel kit degli accessori.



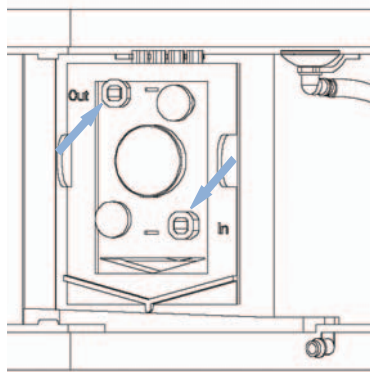
NOTA

Il rivelatore a fluorescenza deve essere l'ultimo modulo nel sistema di flusso. Un rivelatore aggiuntivo va installato a monte del rivelatore a fluorescenza per evitare l'eventuale sovrappressione sulla cella (massimo 20 bar).

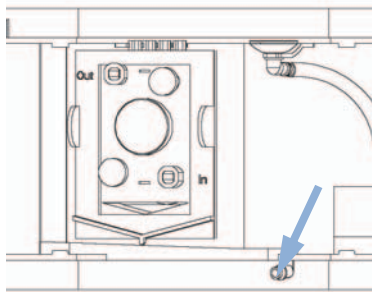
Quando si opera con un rivelatore a valle del rivelatore FLD (a rischio dell'utente), determinare innanzitutto la contropressione del rivelatore a valle eseguendo le seguenti operazioni:

- rimuovere la colonna e l'ultimo rivelatore e misurare la pressione del sistema alla velocità di flusso necessaria per l'applicazione.
- collegare l'ultimo rivelatore (senza colonna e FLD) e misurare la pressione del sistema in presenza di flusso.
- la differenza tra le due pressioni così misurate è dovuta alla contropressione generata dall'ultimo rivelatore e avvertita dal rivelatore FLD.

- 5** Inserire la cella di flusso e installare i capillari di collegamento alla cella di flusso (uscita in alto, ingresso in basso).

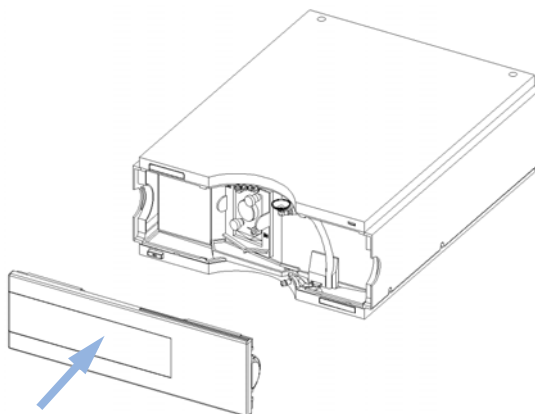


- 6** Collegare il tubo di scarico al raccordo di scarico inferiore.



- 7** Far fluire il liquido e verificare che non ci siano perdite.

- 8** Rimontare il coperchio anteriore.



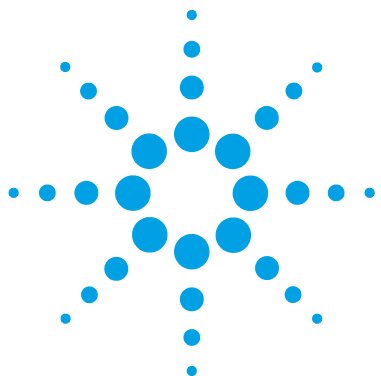
A questo punto l'installazione del rivelatore è completata.

NOTA

Il rivelatore deve essere utilizzato con il coperchio anteriore installato per proteggere l'area della cella di flusso da forti correnti d'aria esterne.

3 **Installazione del modulo**

Collegamenti di flusso al modulo



4

Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Gestione di perdite e scarichi	70
Prima di iniziare	72
Avvio e verifica	73
Avvio del rivelatore	73
Impostazione delle condizioni cromatografiche	74
Osservazione dei massimi nel grafico di isoassorbanza	76
Sviluppo di metodi	77
Passaggio 1: verifica dell'assenza di impurità nel sistema LC	78
Passaggio 2: ottimizzazione dei limiti di rivelazione e della selettività	80
Passaggio 3: impostazione di metodi di routine	91
Esempio: ottimizzazione per più composti	96
Raccolta di spettri con le modalità SPECTRA ALL IN PEAK e APEX SPECTRA ONLY	106
Informazioni sui solventi	111

Nel presente capitolo viene descritto come iniziare a utilizzare il rivelatore.



Gestione di perdite e scarichi

ATTENZIONE

Solventi, campioni e reagenti tossici, infiammabili e pericolosi

La manipolazione di solventi, campioni e reagenti può comportare rischi per la salute e la sicurezza.

- Durante l'utilizzo di queste sostanze rispettare le procedure di sicurezza opportune (ad esempio indossare occhiali protettivi, guanti di sicurezza e indumenti di protezione) descritte nelle schede sulla manipolazione e sicurezza dei materiali redatte dal fornitore e attenersi sempre alle buone pratiche di laboratorio.
 - Il volume delle sostanze deve essere ridotto al minimo necessario per condurre l'analisi.
 - Non mettere in funzione lo strumento in ambienti in cui siano presenti gas esplosivi.
 - Non superare in alcuna circostanza il volume massimo consentito per i solventi (6 L) nel comparto solventi.
 - Non utilizzare bottiglie di capacità superiore al volume massimo consentito specificato nelle linee guida sull'utilizzo dei comparti per solventi Agilent serie 1200 Infinity.
 - Disporre le bottiglie come specificato nelle linee guida sull'utilizzo del comparto solventi.
 - Una copia cartacea delle linee guida è spedita insieme al comparto solventi; copie elettroniche sono disponibili su Internet.
 - La capacità residua disponibile del contenitore di scarico adatto deve essere sufficiente a raccogliere il liquido di scarico.
 - Controllare con regolarità il livello di riempimento del contenitore di scarico.
 - Per garantire la massima sicurezza, controllare con regolarità la correttezza dell'installazione.
-

NOTA

Raccomandazioni per il comparto solventi

Per informazioni dettagliate fare riferimento alle linee guida sull'utilizzo dei comparti per solventi Agilent serie 1200 Infinity.

Per informazioni dettagliate sull'installazione corretta vedere [“Informazioni sull'installazione relative alla gestione di perdite e scarichi”](#), pagina 57.

Prima di iniziare

In genere, i normali solventi di grado LC offrono buoni risultati. Tuttavia, l'esperienza dimostra che il rumore della linea di base può essere più alto (rapporto segnale-rumore più basso) quando nel solvente sono presenti impurità.

Lavare il sistema di erogazione del solvente per almeno 15 minuti prima di verificare la sensibilità. Se la pompa possiede più di un canale, è necessario lavare anche i canali non in uso.

Per risultati ottimali fare riferimento a [“Ottimizzazione del rivelatore”](#), pagina 115.

NOTA

Alcune funzioni (per esempio acquisizione di spettri, rivelazione a più lunghezze d'onda) descritte in questo capitolo non sono disponibili con il rivelatore FLD G1321C.

Avvio e verifica

Nel presente capitolo viene descritta la procedura di verifica del rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity mediante il campione di verifica isocratico Agilent.

Avvio del rivelatore

Quando Se si desidera controllare il rivelatore

Parti richieste	Quantità	Codice	Descrizione
	1	5063-6528	Kit di avvio, include
	1		Colonna LC e parti descritte di seguito
	1	01080-68704	Campione di verifica isocratica Agilent Questa ampolla da 0,5 mL contiene 0,15 wt.% di ftalato di dimetile, 0,15 wt.% di dietilftalato, 0,01 wt.% di bifenile e 0,03 wt.% di o-trifenile in metanolo.
	1	0100-1516	Raccordi
	1	5021-1817	Capillare ST da 0,17 mm x 150 mm

Hardware richiesto Sistema LC con rivelatore FLD

1 Accendere il rivelatore.

2 Accendere la lampada.

Quando si accende la lampada per la prima volta, lo strumento effettua alcune verifiche interne e calibrazioni, che durano circa 5 minuti.

3 Ora si possono modificare le impostazioni dello strumento.

Impostazione delle condizioni cromatografiche

- 1 Impostare le seguenti condizioni cromatografiche per il sistema e attendere finché la linea di base risulta stabile.

Tabella 8 Condizioni cromatografiche

Fasi mobili	A = acqua = 35 % B = acetonitrile = 65 %
Colonna	Hypersil OSD, 125 mm x 4 mm d.i. con particelle da 5 µm
Campione	Campione standard isocratico, diluito in metanolo 1:10
Flusso	1,5 ml/min
Compressibilità A (acqua)	46
Compressibilità B (acetonitrile)	115
Corsa di A e B	auto
Tempo di arresto	4 min
Volume di iniezione	5 µl
Temperatura forno (1200)	30 °C
Lunghezze d'onda di eccitazione/emissione FLD	EX = 246 nm, EM = 317 nm
Guadagno PMT FLD	PMT = 10
Tempo di risposta FLD	4 secondi

- 2 Impostare i valori di regolazione del rivelatore FLD secondo quanto indicato in [Figura 26](#), pagina 75.

In questo esempio vengono utilizzate lunghezze d'onda di eccitazione aggiuntive (B, C, D). Ciò aumenta il tempo di scansione e può ridurre le prestazioni.

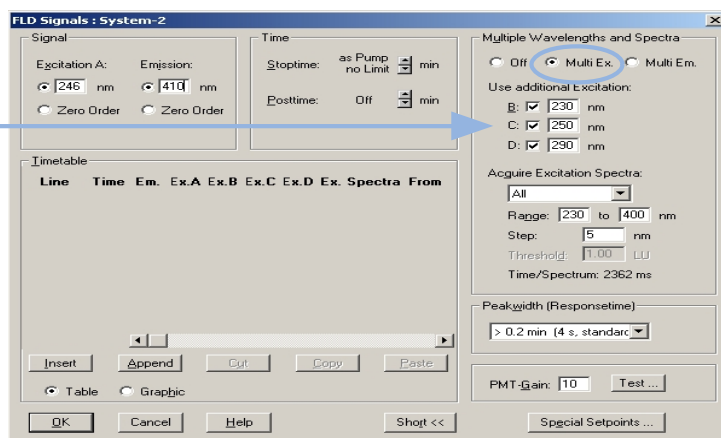


Figura 26 Parametri del rivelatore FLD

3 Avviare l'analisi.

I cromatogrammi risultanti sono mostrati di seguito:

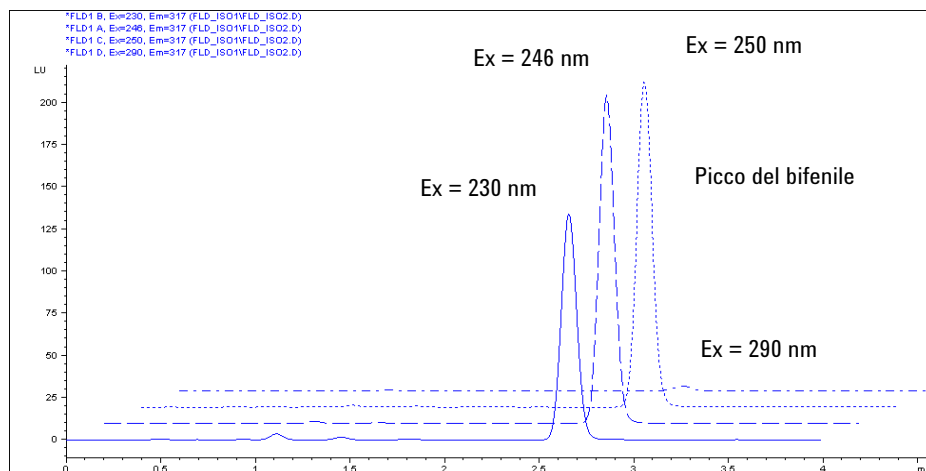


Figura 27 Picco del bifenile a diverse lunghezze d'onda di eccitazione

I massimi di eccitazione sono a circa 250 nm.

Osservazione dei massimi nel grafico di isoassorbanza

- 1 Caricare il file di dati ($\lambda_{EX} = 246$ nm, $\lambda_{EM} = 317$ nm) e aprire il grafico di isoassorbanza.
- 2 Il massimo λ_{EX} si trova a circa 250 nm.

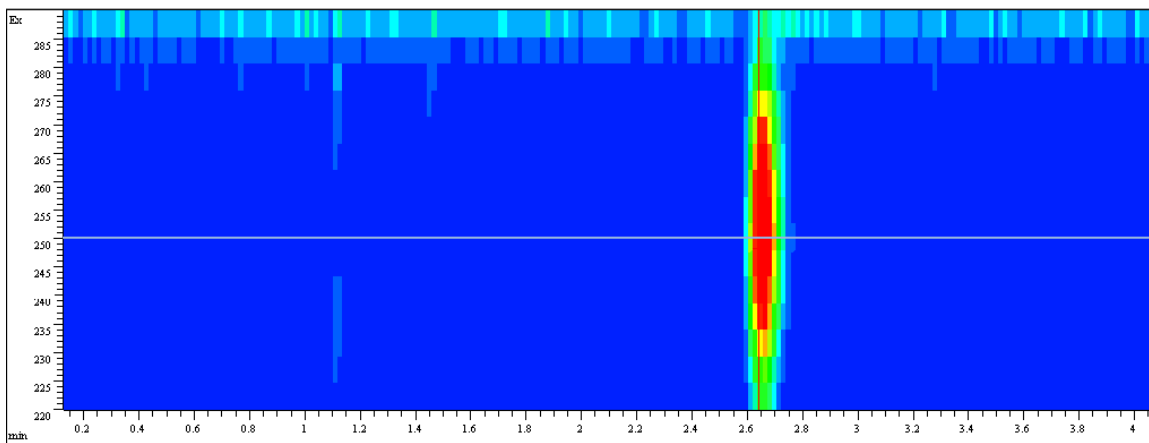


Figura 28 Grafico di isoassorbanza

Sviluppo di metodi

I rivelatori a fluorescenza vengono utilizzati nella cromatografia liquida quando è necessario migliorare la selettività e i limiti di rivelazione. Lo sviluppo accurato dei metodi, inclusa l'acquisizione degli spettri, è fondamentale per ottenere buoni risultati. In questo capitolo vengono descritti tre diversi passaggi che possono essere effettuati con il rivelatore a fluorescenza Agilent. In [Tabella 9](#), pagina 77 è fornita una panoramica sui vantaggi delle diverse modalità operative nel corso di tali passaggi.

Tabella 9 Passaggi per lo sviluppo del metodo

	Passaggio 1: controllo del sistema	Passaggio 2: ottimizzazione dei limiti di rivelazione e della selettività	Passaggio 3: impostazione dei metodi di routine
Scansione a fluorescenza	Ricerca le impurità (ad esempio, in solventi e reagenti)	Determinare simultaneamente gli spettri di eccitazione e di emissione di un composto puro	
Modalità del segnale		Effettuare la commutazione della lunghezza d'onda	Utilizzare i più ridotti limiti di rivelazione
Rivelazione in modalità acquisizione spettro/lunghezza d'onda multipla		Determinare gli spettri Ex/Em per tutti i composti separati in una singola analisi	Raccogliere gli spettri on-line, effettuare la ricerca in biblioteca, determinare la purezza del picco
		Attivare fino a 4 lunghezze d'onda simultaneamente	Disattivare la commutazione della lunghezza d'onda

Passaggio 1: verifica dell'assenza di impurità nel sistema LC

Un fattore critico nella rivelazione per fluorescenza di composti in tracce consiste nel disporre di un sistema LC privo di specie contaminanti fluorescenti. La maggior parte dei contaminanti proviene da solventi impuri. Un metodo pratico per controllare in pochi minuti la qualità del solvente è quello di effettuare una scansione in fluorescenza. Questa operazione può essere eseguita, per esempio, riempiendo la cuvetta del rivelatore FLD direttamente con il solvente per una misura non in linea anche prima di avviare un'analisi cromatografica. Il risultato può essere visualizzato come grafico di isofluorescenza o come grafico tridimensionale. Colori diversi rappresentano intensità diverse.

In [Figura 29](#), pagina 78 è mostrato un campione di acqua leggermente impura che si intendeva utilizzare come fase mobile. L'area in cui è visibile la fluorescenza del campione di acqua contaminata è situata fra le aree di luce parassita: la luce parassita Rayleigh di primo e secondo ordine e la luce parassita Raman.

Un campione di acqua pura è stato introdotto nella cella di flusso. Gli spettri sono stati registrati con passi di 5 nm.

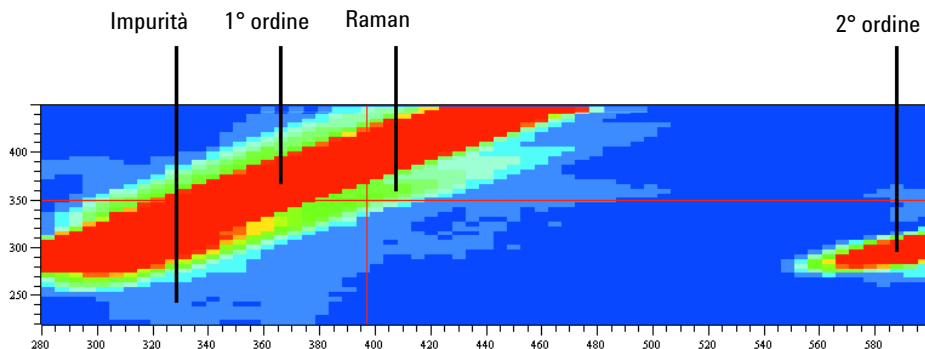


Figura 29 Grafico di isofluorescenza di una fase mobile

Poiché le lunghezze d'onda di "eccitazione" e di "emissione" sono le stesse per la luce parassita Rayleigh, l'area della luce parassita Rayleigh di primo ordine è visibile nella regione in alto a sinistra del diagramma. Le bande Raman dell'acqua sono visibili sotto la luce parassita Rayleigh di primo ordine. Poiché il filtro di cut-off elimina la luce di lunghezza d'onda inferiore a 280 nm, la luce parassita Rayleigh di secondo ordine inizia a lunghezze d'onda superiori a 560 nm.

La luce parassita agisce nello stesso modo delle impurità, ossia simula la presenza di rumore di fondo. In entrambi i casi il risultato è un livello di rumore più alto e, di conseguenza, un limite di rivelazione più alto. Ciò indica che le misurazioni ad alta sensibilità devono essere effettuate a valori di lunghezza d'onda lontani da quelli che presentano un alto livello di fondo per la luce parassita.

Passaggio 2: ottimizzazione dei limiti di rivelazione e della selettività

Per ottenere i limiti ottimali di rivelazione e la massima selettività, è necessario conoscere le proprietà di fluorescenza dei composti di interesse. È possibile selezionare le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione in modo da ottimizzare i limiti di rivelazione e la selettività. In genere, gli spettri di fluorescenza ottenuti con strumenti diversi possono presentare differenze significative a seconda dell'hardware e del software utilizzati.

L'approccio tradizionale consiste nell'estrarre un valore adeguato per la lunghezza d'onda di eccitazione dallo spettro UV che è simile allo spettro di eccitazione in fluorescenza (vedere la [Figura 30](#), pagina 80) e quindi registrare lo spettro di emissione. Dopo aver così determinato la lunghezza d'onda di emissione ottimale, si acquisisce lo spettro di eccitazione.

Spettro di
eccitazione con
emissione a 440 nm,
spettro di emissione
con eccitazione a
250 nm di chinidina
1 µg/ml.
Impostazioni del
rivelatore:
passo 5 nm, PMT 12,
tempo di risposta 4 s.

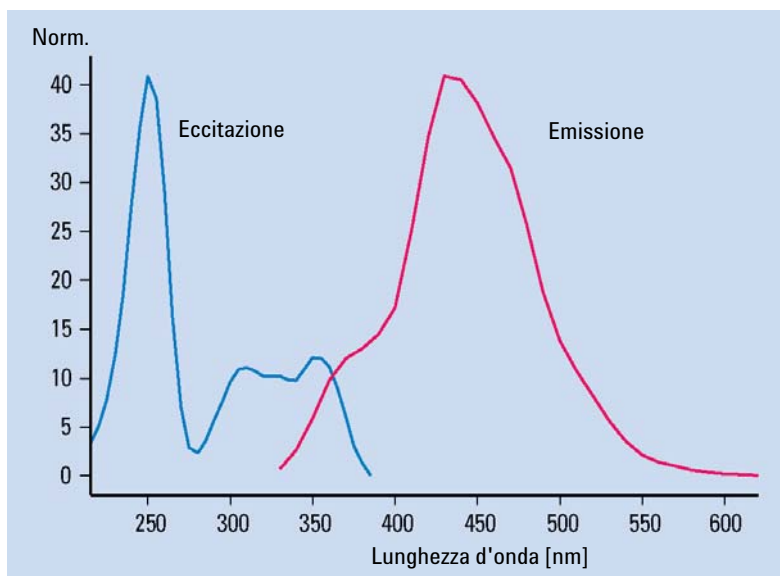


Figura 30 Spettri di eccitazione e di emissione della chinidina

Queste operazioni devono essere ripetute per ciascun composto da analizzare, utilizzando uno spettrofotometro a fluorescenza o condizioni di arresto del flusso in LC. In genere ciascun composto richiede un'analisi separata. Come risultato finale, si ottiene una serie di spettri di eccitazione e di emissione (Figura 29, pagina 78) per ciascun composto. Poiché si tratta di una procedura dai tempi lunghi, viene utilizzata soltanto se il numero di composti di interesse è limitato.

Il sistema LC Agilent serie 1200 Infinity offre tre diversi modi per ottenere informazioni complete sulla fluorescenza di un composto:

Procedura I - acquisire la scansione in fluorescenza non in linea per un singolo composto, come descritto in precedenza per la fase mobile. Questa operazione viene eseguita di preferenza con una cuvetta FLD manuale, quando sono disponibili composti puri.

Procedura II - utilizzare due analisi LC con il rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity per separare la miscela di composti in condizioni note e acquisire separatamente gli spettri di emissione e di eccitazione.

Procedura III - utilizzare una combinazione rivelatore FLD /DAD Agilent serie 1200 Infinity e acquisire gli spettri UV/Vis (equivalenti agli spettri di eccitazione) con il rivelatore DAD e gli spettri di emissione con il rivelatore FLD (entrambi in una singola analisi).

Procedura I - acquisizione di una scansione in fluorescenza

Poiché in genere gli spettri di fluorescenza non erano facilmente disponibili con i precedenti rivelatori a fluorescenza LC, in passato sono stati utilizzati spettrofotometri a fluorescenza standard per acquisire informazioni spettrali per i composti sconosciuti. Sfortunatamente questo approccio impone dei limiti all'ottimizzazione a causa delle differenze che esistono tra il design ottico di un rivelatore LC e di uno spettrofotometro a fluorescenza dedicato, o anche semplicemente tra gli stessi rivelatori. Tali differenze possono comportare variazioni nelle lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione ottimali.

Il rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity offre una scansione in fluorescenza che fornisce tutte le informazioni spettrali ottenibili in precedenza con uno spettrofotometro a fluorescenza standard indipendente dal rivelatore a fluorescenza LC. In Figura 31, pagina 83 sono mostrate le informazioni complete relative alla chinidina ottenute con il rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity e una cuvetta manuale con una singola misurazione non in linea. I valori ottimali per la lunghezza d'onda di eccitazione e di emissione possono

essere estratti come coordinate dei punti di massimo nel grafico tridimensionale. Uno dei tre massimi al centro del grafico può essere scelto per definire la lunghezza d'onda di eccitazione. La scelta della lunghezza d'onda dipende dagli altri composti da analizzare nell'analisi cromatografica e dal rumore di fondo, che può differire se l'eccitazione viene eseguita a 250 nm, a 315 nm o a 350 nm. Il massimo di emissione si osserva a 440 nm.

Informazioni dettagliate relative alla [Figura 31](#), pagina 83:

Nel grafico sono mostrati tutti gli spettri di eccitazione e di emissione della chinidina (1 µg/ml). L'intensità della fluorescenza è tracciata sul grafico in funzione delle lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione.

Impostazioni del rivelatore: passo 5 nm, PMT 12 , tempo di risposta 4 s.

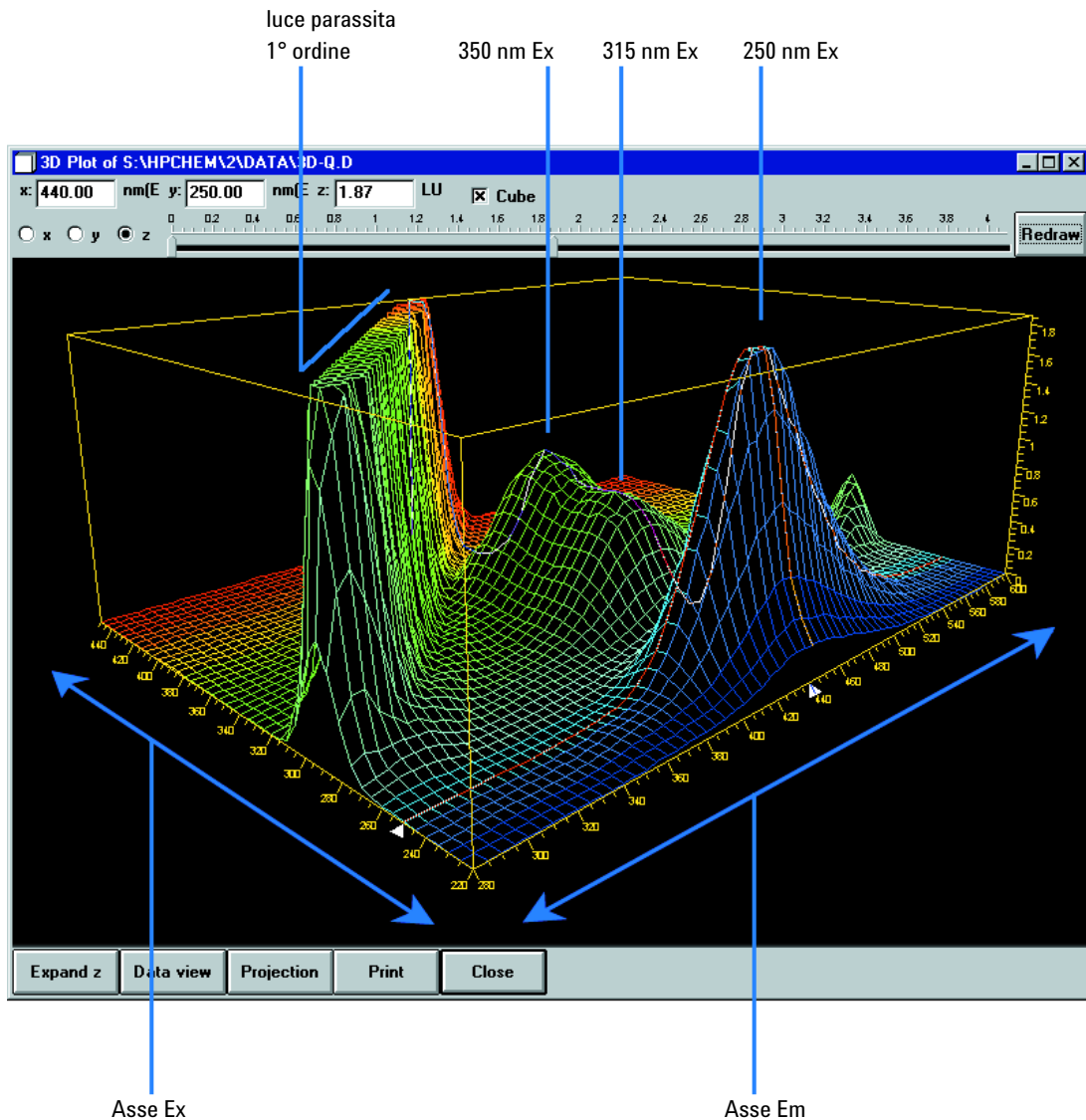


Figura 31 Caratterizzazione di un composto puro con una scansione in fluorescenza

Procedura II - acquisizione di due analisi LC con il rivelatore FLD

Le condizioni per la separazione di composti organici quali gli idrocarburi aromatici polinucleari (PNA) sono descritte dettagliatamente in vari metodi standard, inclusi i metodi EPA e DIN di uso comune. Per ottenere i migliori livelli di rivelazione è necessario determinare le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione ottimali per tutti i composti. Questa operazione, tuttavia, richiede tempi lunghi poiché è necessario acquisire scansioni in fluorescenza per ciascun composto in esame. Un metodo migliore consiste nell'acquisire gli spettri in linea per tutti i composti durante un'analisi. Ciò rende nettamente più rapido lo sviluppo del metodo. Per l'ottimizzazione sono sufficienti due analisi.

Durante la *prima analisi*, si sceglie una lunghezza d'onda nella regione del basso UV per la lunghezza d'onda di eccitazione e una lunghezza d'onda di emissione nell'intervallo spettrale per la lunghezza d'onda di emissione. La maggior parte dei fluorofori presenta un assorbimento elevato a queste lunghezze d'onda e la resa quantica è elevata. L'eccitazione è sufficiente per la raccolta degli spettri di emissione.

In [Tabella](#) , pagina 86 sono inclusi tutti gli spettri di emissione ottenuti in una singola analisi per una miscela di 15 PNA. Questo insieme di spettri è utilizzato per preparare una tabella di programmazione per le lunghezze d'onda di emissione ottimali per tutti i composti.

Gli spettri dei singoli composti nel grafico di isofluorescenza dimostrano che sono necessarie almeno tre lunghezze d'onda di emissione per rivelare in modo appropriato i 15 PNA.

Tabella 10 Tabella di programmazione dei tempi per l'analisi di PNA

0 min:	350 nm	da naftalene fino a fenantrene
8,2 min:	420 nm	da antracene fino a benzo(g,h,i)perilene
19,0 min:	500 nm	per indeno(1,2,3-cd)pirene

Nella seconda analisi, nella tabella di programmazione vengono inseriti tre valori di regolazione per le lunghezze d'onda di emissione e vengono registrati gli spettri di eccitazione, come mostrato in [Figura 33](#), pagina 87. La regione ad alta intensità (in rosso) è dovuta alla luce parassita quando gli spettri di emissione si sovrappongono alla lunghezza d'onda di eccitazione. Ciò può essere evitato adeguando automaticamente il campo spettrale. L'eccitazione a 260 nm è la più appropriata per tutti i PNA.

Tabella 11 Condizioni per l'ottimizzazione dell'analisi PNA in base alle figure seguenti

Colonna	Vydac, 2,1 x 200 mm, PNA, 5 µm
Fase mobile	A = acqua; B = acetonitrile (50 : 50)
Gradiente	3 minuti, 60% 14 minuti, 90% 22 minuti, 100%
Flusso	0,4 ml/min
Temperatura colonna	18 °C
Volume di iniezione	5 µl
Impostazioni FLD	PMT = 12 tempo di risposta 4 s, passo 5 nm

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Sviluppo di metodi

Grafico di isofluorescenza degli spettri di emissione per i 15 PNA (5 µg/ml) con una lunghezza d'onda di eccitazione fissa (260 nm).

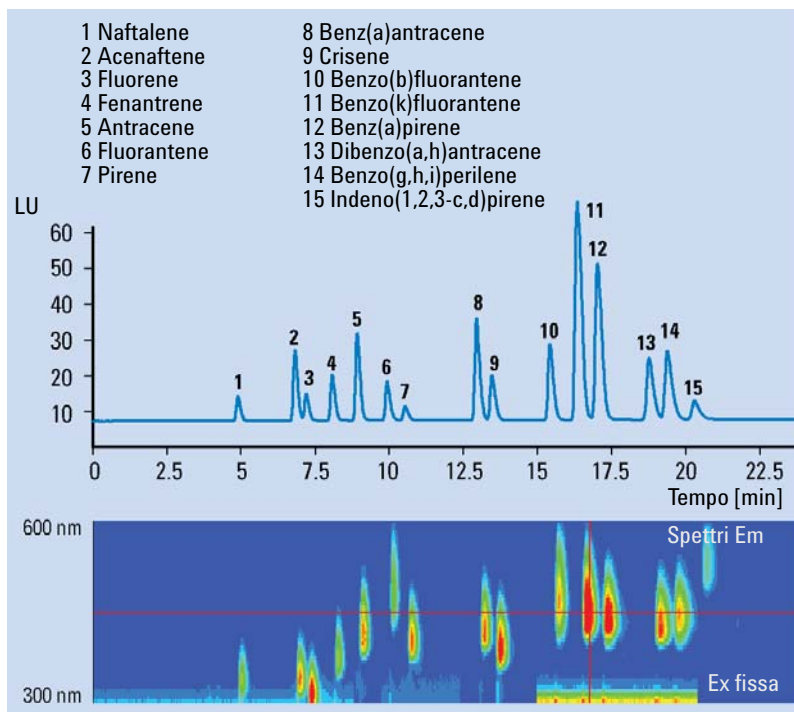


Figura 32 Ottimizzazione della tabella di programmazione per la lunghezza d'onda di emissione

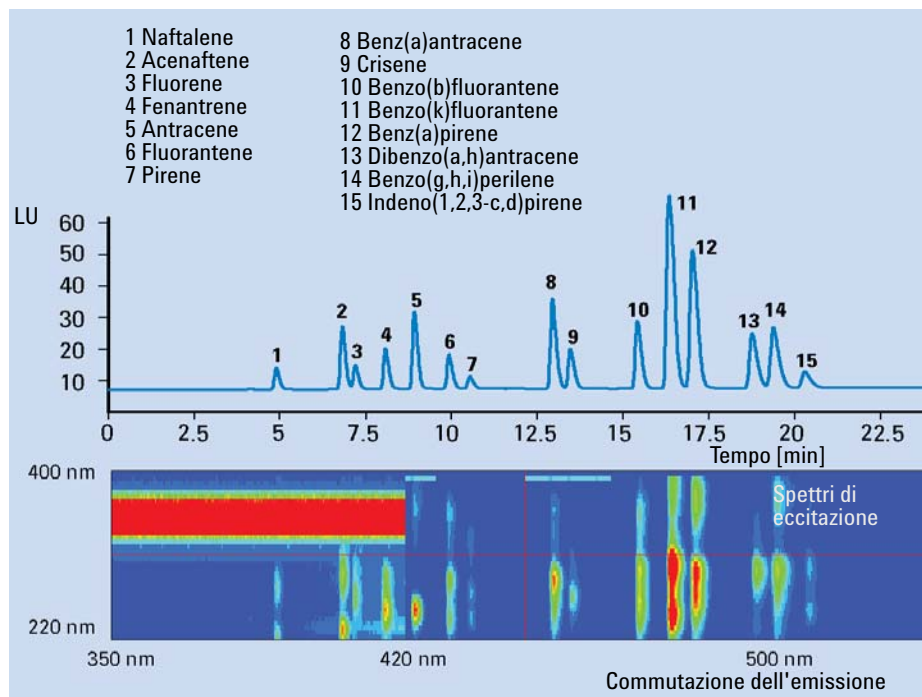


Figura 33 Ottimizzazione della tabella di programmazione per la lunghezza d'onda di eccitazione

I dati ottenuti sono combinati per mettere a punto la tabella di programmazione per la lunghezza d'onda di eccitazione al fine di ottimizzare i limiti di rivelazione e la selettività. Gli eventi di commutazione ottimizzati per questo esempio sono riassunti in [Tabella 12](#), pagina 87.

Tabella 12 Tabella di programmazione dei tempi per l'analisi di 15 PNA

Tempo [min]	Lunghezza d'onda di eccitazione [nm]	Lunghezza d'onda di emissione [nm]
0	260	350
8.2	260	420
19.0	260	500

In questa tabella di programmazione sono riportate le condizioni per ottimizzare la rivelazione in base ai risultati di due analisi cromatografiche.

Procedura III - esecuzione di una singola analisi con la combinazione rivelatore DAD/FLD

Per la maggior parte dei composti organici, gli spettri UV ottenuti con un rivelatore a serie di diodi sono pressoché identici agli spettri di eccitazione in fluorescenza. Le differenze spettrali sono causate da caratteristiche specifiche del rivelatore, quali la risoluzione spettrale o la sorgente luminosa.

In pratica, combinando in serie un rivelatore DAD con un rivelatore a fluorescenza si ottiene il set di dati completo necessario per determinare le lunghezze d'onda di emissione e di eccitazione ottimali per una serie di composti con un'unica analisi. A partire dagli spettri di eccitazione UV/Vis ottenuti con il rivelatore a serie di diodi, è possibile impostare il rivelatore a fluorescenza per acquisire spettri di emissione con una lunghezza d'onda di eccitazione fissa nella regione del basso UV.

L'esempio riportato riguarda il controllo qualità di carbammati. I campioni sono analizzati per ricercare la 2,3-diamminofenazina (DAP) e la 2-ammino-3-idrossifenazina (AHP) come impurità. I campioni di riferimento di DAP e AHP sono stati analizzati con rivelatori a serie di diodi e a fluorescenza. In [Tabella](#) , pagina 89 sono mostrati gli spettri della DAP ottenuti con entrambi i rivelatori. Lo spettro di eccitazione della DAP è molto simile allo spettro di assorbimento UV ottenuto con il rivelatore a serie di diodi. In [Tabella](#) , pagina 90 è mostrata l'applicazione riuscita del metodo a un campione di carbammato e a una miscela pura di DAP e AHP utilizzata come riferimento. La colonna è stata sovraccaricata con il carbammato non fluorescente (estere metilico dell'acido 2-benzimidazolo carbammico/MBC) per visualizzare le impurità note AHP e DAP.

Esempio di impurità di carbammati. Lo spettro di eccitazione nella seconda analisi dimostra l'equivalenza tra spettri UV e spettri di eccitazione in fluorescenza. Una lunghezza d'onda di eccitazione pari a 265 nm è stata utilizzata per acquisire lo spettro di emissione e una lunghezza d'onda di emissione pari a 540 nm è stata utilizzata per acquisire lo spettro di eccitazione.

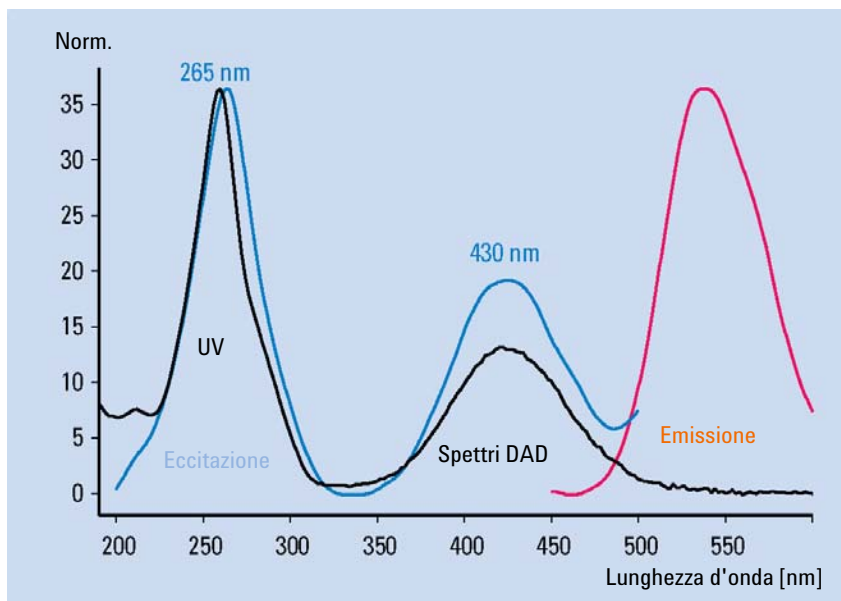


Figura 34 Spettri UV e a fluorescenza della 2,3-diamminofenazina (DAP)

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza
Sviluppo di metodi

Le due tracce in alto sono ottenute utilizzando due diverse lunghezze d'onda di eccitazione. La traccia in basso corrisponde a uno standard puro delle impurità note.

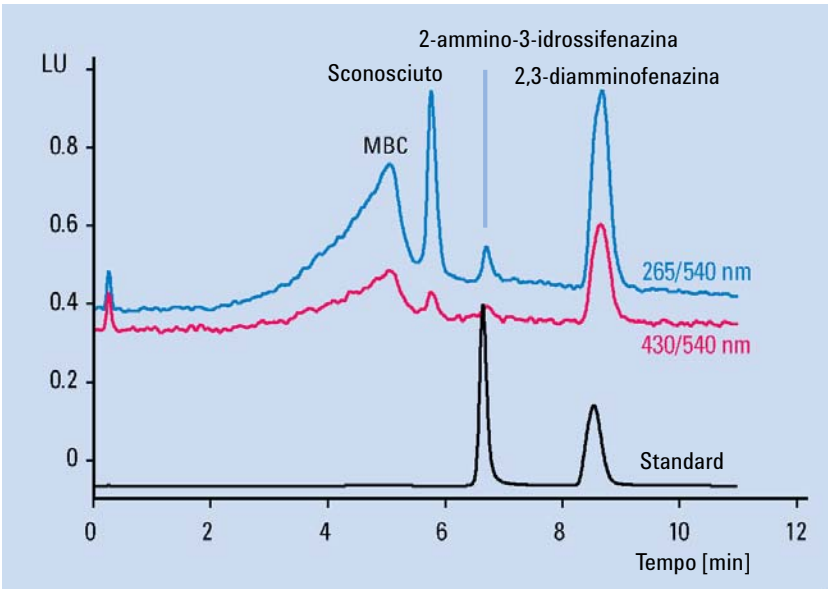


Figura 35 Analisi qualitativa di MBC (estere metilico dell'acido 2-benzimidazolo carbammico) e delle impurità

Tabella 13 Condizioni per l'analisi del DAP e dell'MBC in base alle figure seguenti

Colonna	Zorbax SB, 2 x 50 mm, PNA, 5 µm
Fase mobile	A = acqua; B = acetonitrile
Gradiente	0 minuti, 5% 10 minuti, 15%
Flusso	0,4 ml/min
Temperatura colonna	35 °C
Volume di iniezione	5 µl
Impostazioni FLD	PMT = 12 tempo di risposta 4 s, passo 5 nm Ex 265 nm e 430 nm Em 540 nm

Passaggio 3: impostazione di metodi di routine

Nelle analisi di routine le matrici dei campioni possono influenzare in modo significativo i tempi di ritenzione. Per ottenere risultati affidabili, la preparazione del campione deve essere condotta in modo da evitare interferenze o i metodi LC devono essere sufficientemente affidabili e resistenti. In presenza di matrici complesse, la rivelazione simultanea a lunghezza d'onda multipla offre maggiore affidabilità rispetto all'uso della commutazione di lunghezza d'onda programmata nel tempo. Il rivelatore FLD, inoltre, è in grado di acquisire gli spettri di fluorescenza mentre registra i segnali del rivelatore per l'analisi quantitativa. Pertanto, sono disponibili dati qualitativi nelle analisi di routine per la conferma e il controllo della purezza dei picchi.

Rivelazione a lunghezza d'onda multipla

La tecnica della commutazione della lunghezza d'onda programmata nel tempo è utilizzata in genere per ottenere bassi limiti di rivelazione e alta selettività nelle analisi quantitative di routine. La commutazione, tuttavia, è difficile se i composti eluiscono con tempi di ritenzioni simili e richiedono la modifica della lunghezza d'onda di eccitazione o di emissione. I picchi possono venire distorti e la quantificazione resa impossibile se la commutazione della lunghezza d'onda avviene durante l'eluizione di un composto. Molto spesso ciò si verifica in presenza di matrici complesse, che incidono sulla ritenzione dei composti.

In modalità spettrale, il rivelatore FLD è in grado di acquisire simultaneamente fino a quattro segnali diversi. Tutti i segnali possono essere utilizzati per l'analisi quantitativa. Oltre al caso delle matrici complesse, ciò rappresenta un vantaggio anche quando si ricercano impurità a lunghezze d'onda aggiuntive. Inoltre risulta vantaggioso per raggiungere bassi limiti di rivelazione o aumentare la selettività grazie all'utilizzo della lunghezza d'onda ottimale in ogni istante. Il numero di punti dati acquisiti per segnale è ridotto e, pertanto, i limiti di rivelazione possono essere più alti, a seconda delle impostazioni del rivelatore rispetto alla modalità a segnale singolo.

L'analisi dei PNA, per esempio, può essere eseguita mediante rivelazione simultanea a lunghezza d'onda multipla, anziché tramite commutazione della lunghezza d'onda. Le quattro diverse lunghezze d'onda per l'emissione consentono di monitorare tutti i 15 PNA (*Tabella* , pagina 93).

Tabella 14 Condizioni per la rivelazione simultanea a lunghezza d'onda multipla per l'analisi di PNA (vedere la figura seguente)

Colonna	Vydac, 2,1 x 250 mm, PNA, 5 µm
Fase mobile	A = acqua; B = acetonitrile (50 : 50)
Gradiente	3 min, 60 % 14,5 min, 90 % 22,5 min, 95 %
Velocità di flusso	0,4 mL/min
Temperatura della colonna	22 °C
Volume di iniezione	2 µL
Impostazioni FLD	PMT 12 , tempo di risposta 4 s

La traccia in alto è stata acquisita con la commutazione tradizionale della lunghezza d'onda.

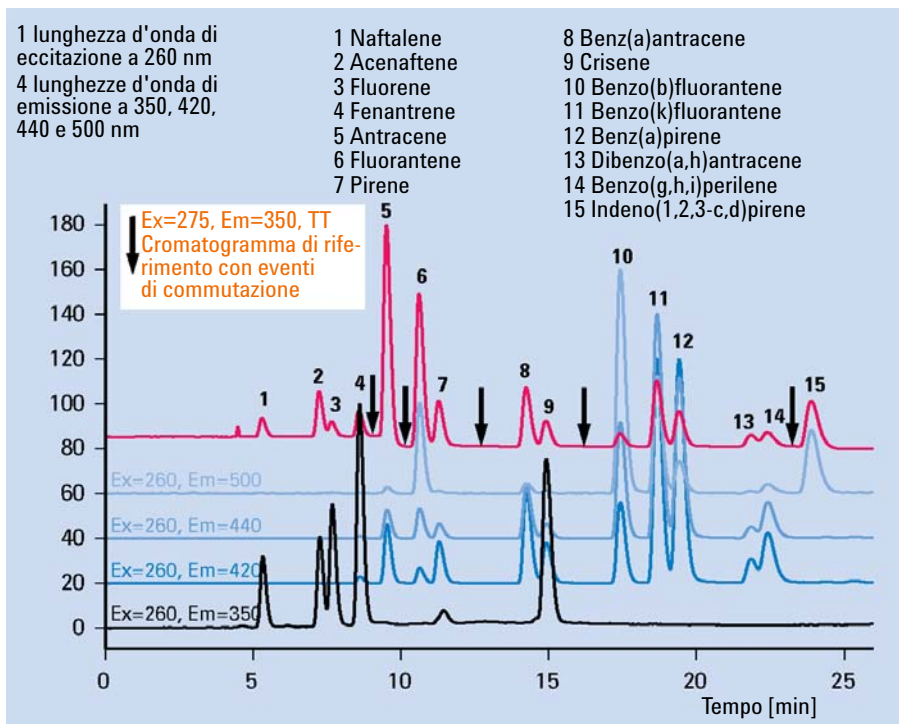


Figura 36 Rivelazione simultanea a lunghezza d'onda multipla per l'analisi di PNA

In precedenza, solo i rivelatori a serie di diodi e per spettrometria di massa erano in grado di fornire le informazioni spettrali in linea necessarie per confermare l'identità di un picco assegnata in base al tempo di ritenzione.

Ora i rivelatori a fluorescenza mettono a disposizione un altro strumento per la conferma automatica dell'identità dei picchi e il controllo della purezza. Non sono necessarie ulteriori analisi dopo l'analisi quantitativa.

Durante lo sviluppo del metodo, gli spettri di emissione e di eccitazione in fluorescenza sono acquisiti a partire da standard di riferimento e inseriti in una libreria scelta dallo sviluppatore del metodo. Tutti i dati spettrali dei composti sconosciuti possono essere quindi confrontati automaticamente con i dati di libreria. In [Tabella 15](#), pagina 94 questo principio è illustrato utilizzando un'analisi di PNA. Il fattore di corrispondenza indicato nel report per ciascun picco esprime il grado di somiglianza tra lo spettro di riferimento e gli

spettri di un picco. Un fattore di corrispondenza pari a 1000 indica spettri identici.

Inoltre, la purezza del picco può essere esaminata confrontando i vari spettri ottenuti per un singolo picco. Quando il risultato del calcolo per un picco rientra nei limiti di purezza stabiliti dall'utente, il fattore di purezza è il valore medio di purezza di tutti gli spettri che rientrano in tali limiti.

L'affidabilità della purezza e il fattore di corrispondenza dipendono dalla qualità degli spettri registrati. A causa del minor numero di punti dati disponibili in genere con il rivelatore a fluorescenza, i dati relativi al fattore di corrispondenza e alla purezza presentano deviazioni più ingenti rispetto ai dati ottenuti con il rivelatore a serie di diodi, anche se i composti sono identici.

In [Tabella 15](#), pagina 94 sono mostrati i risultati di una ricerca automatica nella libreria basata sugli spettri di emissione di un campione di riferimento di PNA.

Tabella 15 Conferma dei picchi mediante biblioteche di spettri in fluorescenza

T rit, Biblioteca Tabella	calibra- zione	misurato	Segnale	Quantità	Purezza	#	Confronto	Nome in biblioteca
[min]	[min]	[min]		[ng]	Fattore			
4,859	4,800	5,178	1	1,47986e-1	-	1	993	Naphthalene@em
6,764	7,000	7,162	1	2,16156e-1	-	1	998	Acenaphthene@em
7,137	7,100	7,544	1	1,14864e-1	-	1	995	Fluorene@em
8,005	8,000	8,453	1	2,56635e-1	-	1	969	Phenanthrene@em
8,841	8,800	9,328	1	1,76064e-1	-	1	993	Anthracene@em
9,838	10,000	10,353	1	2,15360e-1	-	1	997	Fluoranthene@em
10,439	10,400	10,988	1	8,00754e-2	-	1	1000	Pyrene@em
12,826	12,800	13,469	1	1,40764e-1	-	1	998	Benz(a)anthracene@em
13,340	13,300	14,022	1	1,14082e-1	-	1	999	Chrysene@em
15,274	15,200	16,052	1	6,90434e-1	-	1	999	Benzo(b)fluoranthene@em
16,187	16,200	17,052	1	5,61791e-1	-	1	998	Benzo(b)fluoranthene@em
16,865	16,900	17,804	1	5,58070e-1	-	1	999	Benz(a)pyrene@em

Tabella 15 Conferma dei picchi mediante biblioteche di spettri in fluorescenza

T rit, Biblioteca Tabella	calibra- zione	misurato	Segnale	Quantità	Purezza	#	Confronto	Nome in biblioteca
[min]	[min]	[min]		[ng]	Fattore			
18,586	18,600	19,645	1	5,17430e-1	-	1	999	Dibenz(a,h)anthracene@em
19,200	19,100	20,329	1	6,03334e-1	-	1	995	Benzo(g,h,i)perylene@em
20.106	20.000	21.291	1	9,13648e-2	-	1	991	Indeno(1,2,3-c,d)pyrene@em

4 **Utilizzo del rivelatore a fluorescenza**

Esempio: ottimizzazione per più composti

Esempio: ottimizzazione per più composti

Esempio ottimizzazione per vari composti

Utilizzando i PNA come campioni, in questo esempio sono utilizzate le funzioni di scansione descritte.

Impostazione delle condizioni cromatografiche

In questo esempio vengono utilizzate le seguenti condizioni cromatografiche (le impostazioni del rivelatore sono mostrate in [Figura 37](#), pagina 98):

Tabella 16 Condizioni cromatografiche

Fasi mobili	A = acqua = 50 % B = acetonitrile = 50 %
Colonna	Vydac-C18-PNA, 250 mm x 2,1 mm d.i. con particelle da 5 µm
Campione	PAH 0,5 ng
Flusso	0,4 ml/min
Compressibilità A (acqua)	46
Compressibilità B (acetonitrile)	115
Corsa di A e B	auto
Tabella di programmazione	A 0 min % B=50
	A 3 min % B=60
	A 14,5 min % B=90
	A 22,5 min % B=95
Tempo di arresto	26 min
Post time (tempo post analisi)	8 min
Volume di iniezione	1 µl
Temperatura forno (1200)	30 °C
Guadagno PMT FLD	PMT = 15
Tempo di risposta FLD	4 secondi

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Esempio: ottimizzazione per più composti

Selezionare una lunghezza d'onda di eccitazione nella regione del basso UV (230 - 260 nm). Ciò consente una copertura pressoché completa della fluorescenza del campione.

NON selezionare lunghezze d'onda di emissione aggiuntive (B, C, D).
Ciò aumenta il tempo di scansione e riduce le prestazioni.

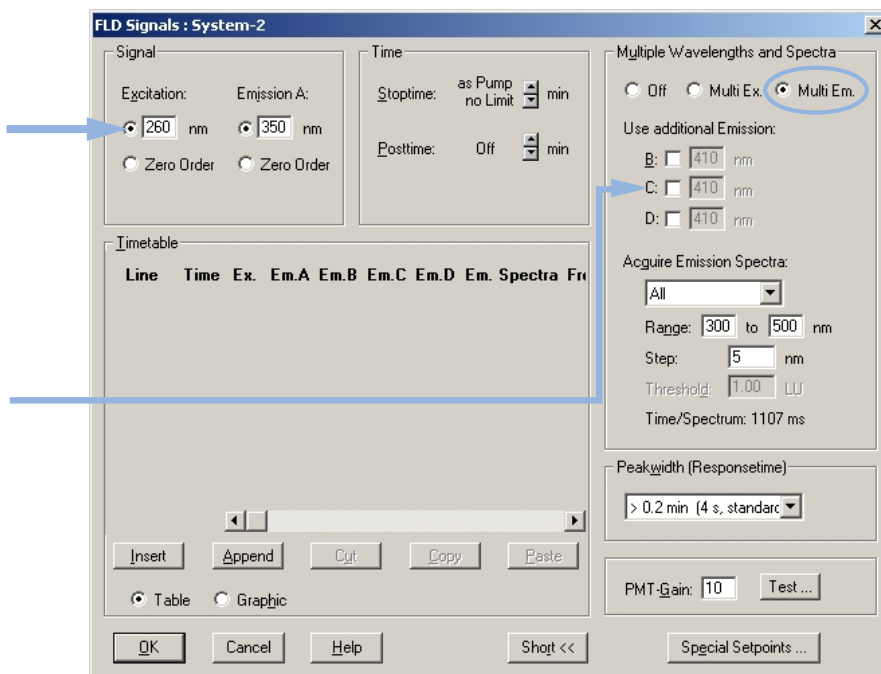


Figura 37 Impostazioni del rivelatore per la scansione di emissione

- 1 Attendere la stabilizzazione della linea di base. Completare l'analisi.

- 2 Caricare il segnale. In questo esempio viene mostrato solo un intervallo di 13 minuti.

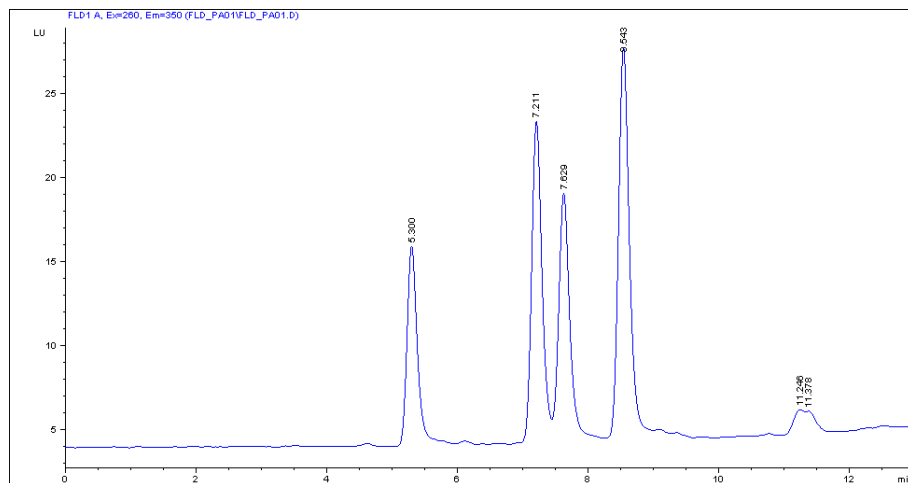


Figura 38 Cromatogramma da scansione in emissione

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza
Esempio: ottimizzazione per più composti

3 Utilizzare il grafico di isoassorbanza per determinare le lunghezze d'onda di emissione ottimali, mostrate nella tabella seguente.

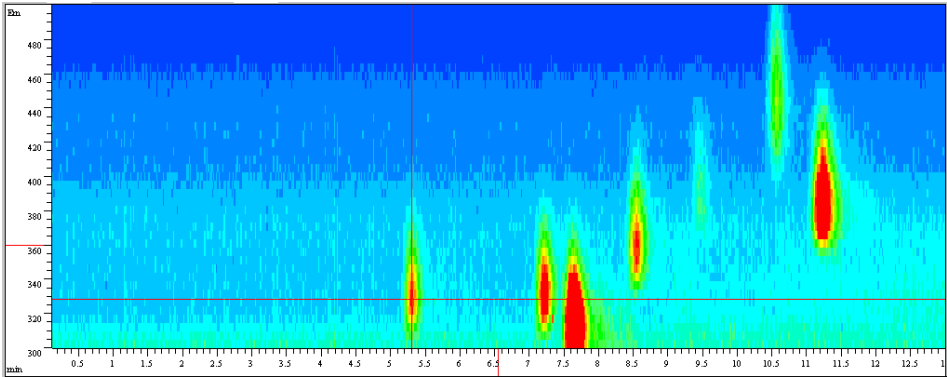


Figura 39 Grafico di isoassorbanza dalla scansione di emissione

Tabella 17

N. picco	Tempo	Lunghezza d'onda di emissione
1	5,3 min	330 nm
2	7,2 min	330 nm
3	7,6 min	310 nm
4	8,6 min	360 nm
5	10,6 min	445 nm
6	11,23 min	385 nm

- 4 Utilizzando le impostazioni e la tabella di programmazione (pagina precedente), effettuare una seconda analisi per la valutazione della lunghezza d'onda di eccitazione ottimale. Vedere Figura 40, pagina 101.

NON selezionare lunghezze d'onda di eccitazione aggiuntive (B, C, D). Ciò aumenta il tempo di scansione e riduce le prestazioni.

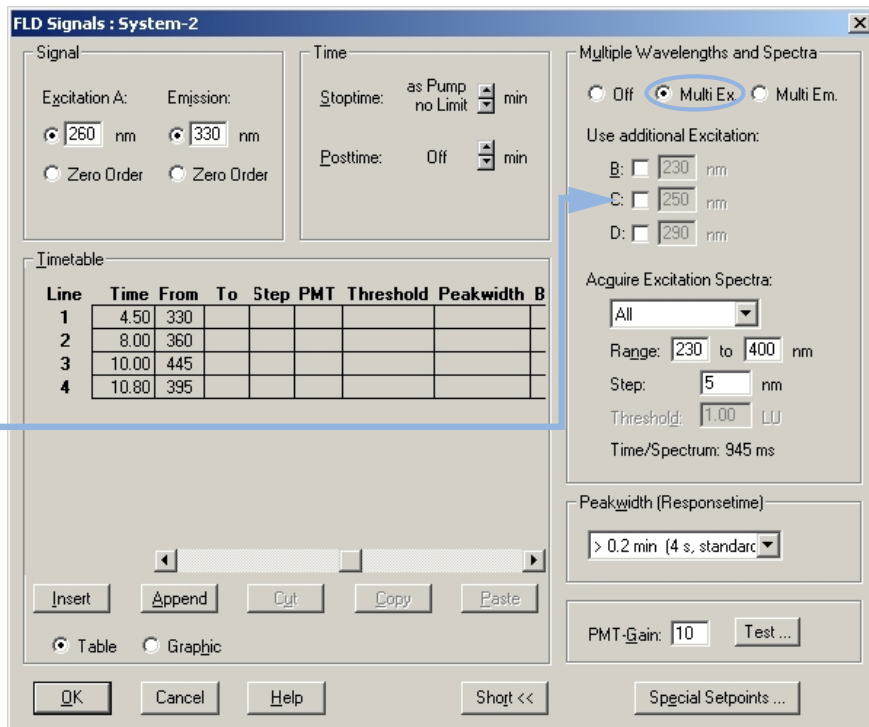


Figura 40 Impostazioni del rivelatore per la scansione di eccitazione

- 5 Attendere la stabilizzazione della linea di base. Avviare l'analisi.

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Esempio: ottimizzazione per più composti

6 Caricare il segnale.

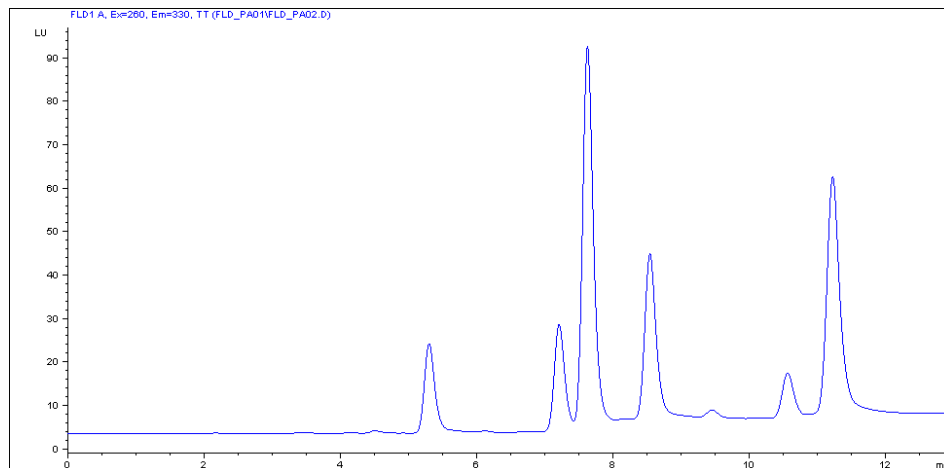


Figura 41 Cromatogramma - scansione di eccitazione alla lunghezza d'onda di riferimento 260/330 nm

7 Utilizzare il grafico di isoassorbanza per determinare le lunghezze d'onda di eccitazione ottimali (in questo esempio soltanto nell'intervallo da 0 a 13 minuti).

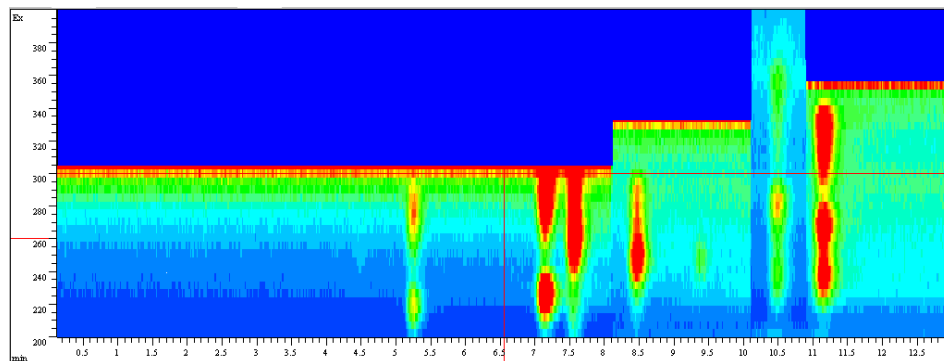


Figura 42 Grafico di isoassorbanza - eccitazione

Nella seguente tabella sono mostrate le informazioni complete relative ai massimi di emissione (dalla [Figura 39](#), pagina 100) e di eccitazione.

Tabella 18

N. picco	Tempo	Lunghezza d'onda di emissione	Lunghezza d'onda di eccitazione
1	5,3 min	330 nm	220 / 280 nm
2	7,3 min	330 nm	225 / 285 nm
3	7,7 min	310 nm	265 nm
4	8,5 min	360 nm	245 nm
5	10,7 min	445 nm	280 nm
6	11,3 min	385 nm	270 / 330 nm

Valutazione del valore di fondo del sistema

L'esempio che segue utilizza acqua.

- 1 Pompare il solvente attraverso il sistema.
- 2 Impostare il campo di scansione in fluorescenza tra i valori di controllo speciali per l'FLD, secondo le proprie necessità.

NOTA

Il tempo di scansione aumenta quando il campo è ampliato. Con i valori di default, la scansione dura circa 2 minuti.

- 3 Impostare il guadagno PMT su 16.

L'intervallo di lunghezza d'onda e il valore del passo determinano la durata. In caso di utilizzo dell'intervallo massimo, la scansione richiede circa 10 minuti.

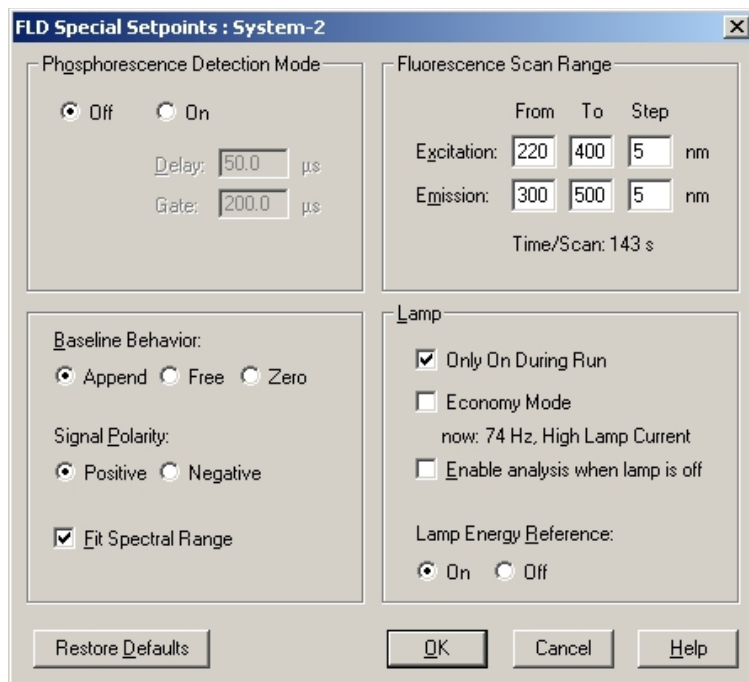


Figura 43 Impostazioni speciali del rivelatore FLD

- 4 Definire il nome del file di dati e acquisire una scansione in fluorescenza.
Al termine della scansione, viene visualizzata la scansione in isoassorbanza; vedere la [Figura 44](#), pagina 105.

NOTA

Un basso valore di fondo migliora il rapporto segnale-rumore; vedere anche “[Riduzione della luce parassita](#)”, pagina 132.

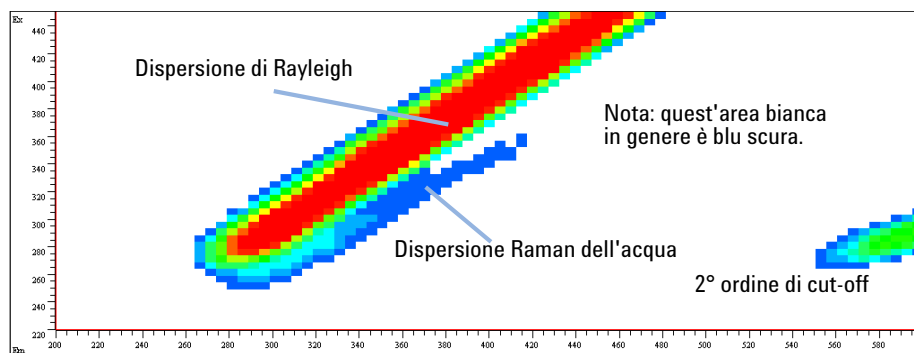


Figura 44 Scansione in fluorescenza dell'acqua

Raccolta di spettri con le modalità SPECTRA ALL IN PEAK e APEX SPECTRA ONLY

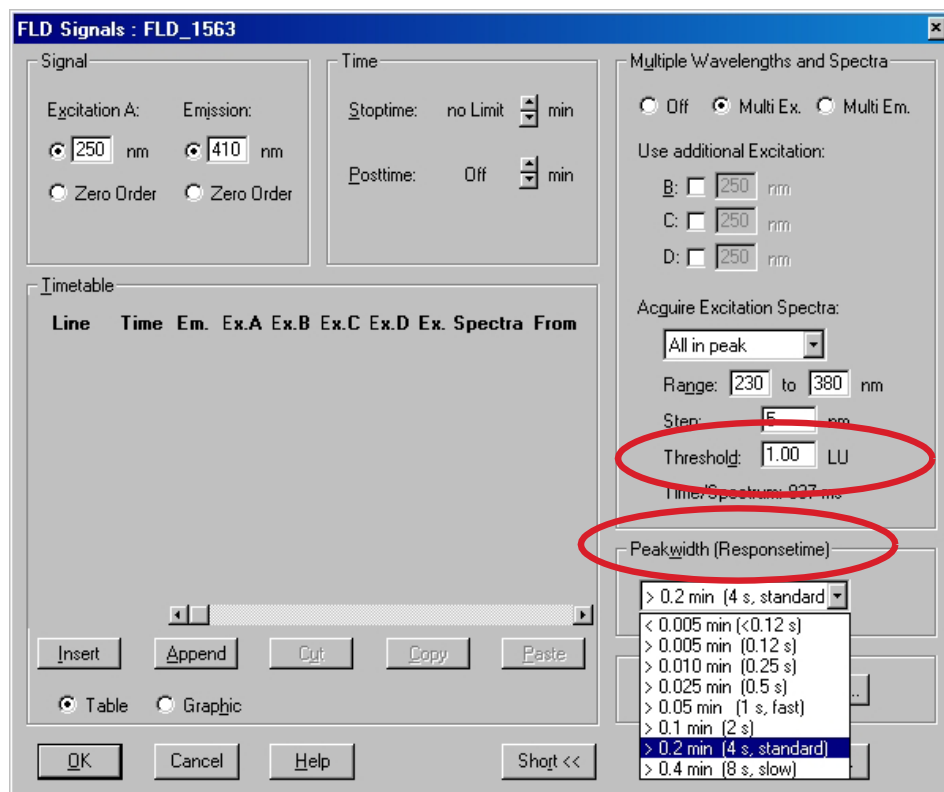
Nella presente sezione è descritto come superare un problema di funzionamento nell'attuale implementazione di ChemStation Agilent con il rivelatore a fluorescenza (G1321A/B). In queste modalità, gli spettri non vengono raccolti nel file di dati in maniera intermittente.

L'acquisizione degli spettri attivata dai picchi nel rivelatore FLD è controllata da 2 parametri - THRS (Threshold (Soglia)) e PDPW (PeakDetector PeakWidth (Ampiezza picco del rivelatore picchi)). Inoltre, il parametro PKWD (Detector PeakWidth (Ampiezza picco del rivelatore)) incide soltanto sul filtraggio del cromatogramma.

- 1 Impostare i parametri THRS, PDPW e PKWD in base al cromatogramma corrente.

I risultati migliori per la raccolta di spettri attivata dai picchi si ottengono quando il valore impostato per PDPW è inferiore di 2 passi rispetto a PKWD; vedere [“Impostazioni di ampiezza del picco”](#), pagina 130.

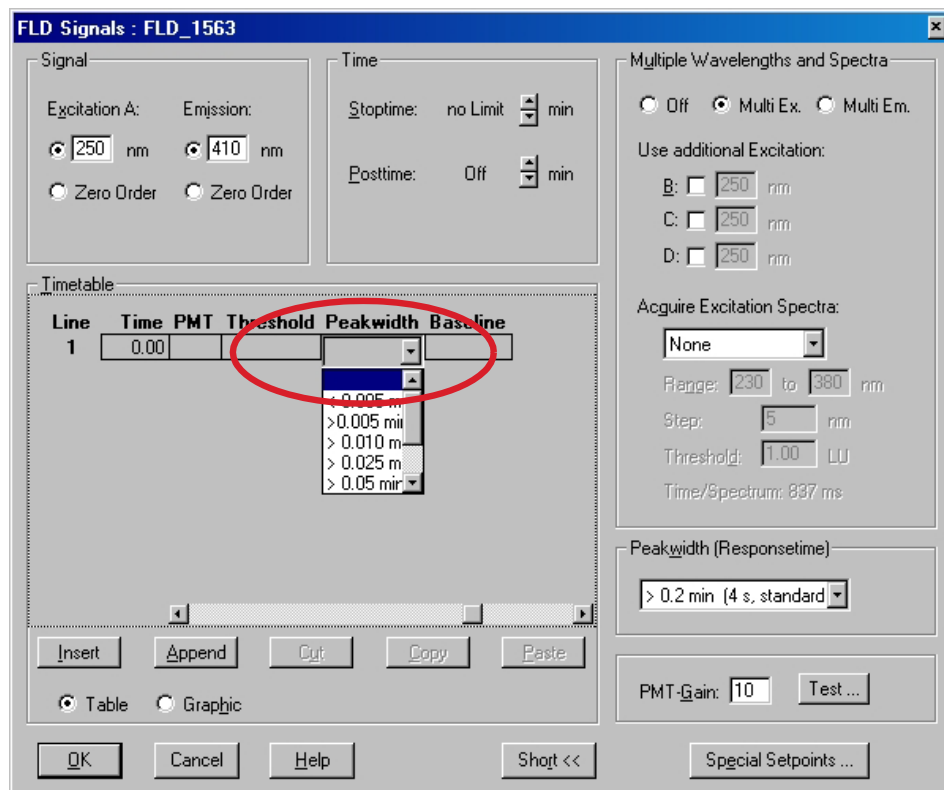
- 2 Nella schermata di impostazione del rivelatore FLD sono presenti 2 campi in cui inserire i valori dei parametri PKWD **Peakwidth (Responsetime)** e THRS **Threshold** (visibile quando è selezionata l'opzione **Multi-EX** o **Multi-EM**). Le impostazioni predefinite sono: PKWD = 6 (0,2 min); THRS = 5,000 LU.



4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Raccolta di spettri con le modalità SPECTRA ALL IN PEAK e APEX SPECTRA ONLY

I valori selezionati sono fissi durante l'analisi. È possibile modificare PDPW soltanto utilizzando il campo **Peakwidth** nella tabella di programmazione (visibile quando è selezionata l'opzione **Multi-EX** o **Multi-EM**).



NOTA

Se si modifica PKWD è necessario modificare anche PDPW. Inserire nella tabella di programmazione a 0,0 min un valore PDPW = PKWD - 2 (per esempio PKWD = 0,2 min, PDPW = 0,05 min). In caso di cromatogrammi più lunghi e allargamento dei picchi, è possibile incrementare successivamente il valore PDPW di 1 passo inserendo una voce aggiuntiva nel riquadro **Timetable**.

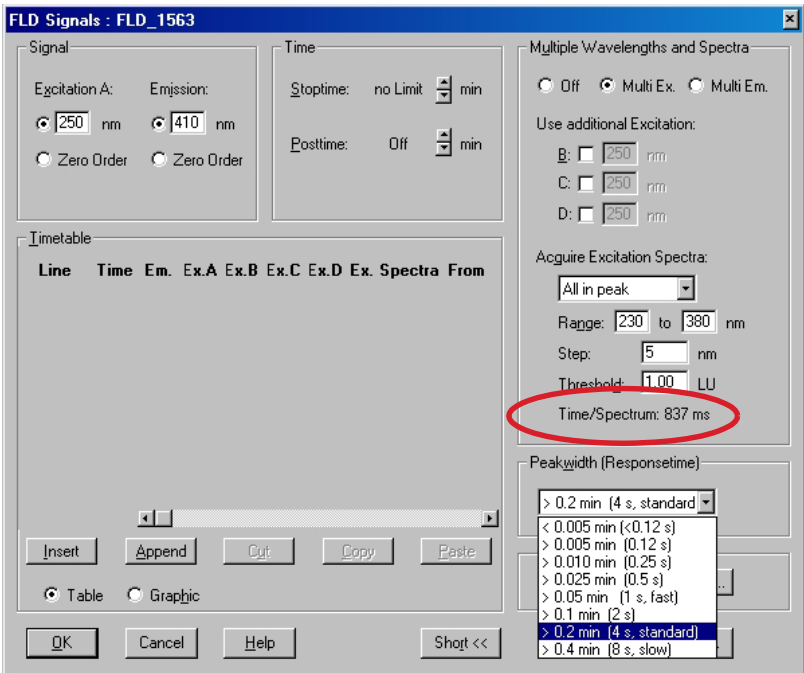
I parametri THRS e PDPW incidono sull'acquisizione degli spettri attivata dai picchi. È possibile modificare il parametro THRS nella schermata di impostazione del rivelatore FLD; il parametro PDPW può essere modificato soltanto tramite il campo **Peakwidth** in **Timetable**.

Note:

- Il funzionamento ottimale dell'algoritmo di rivelazione dei picchi si ottiene quando il numero di punti dati per un picco è pari a 8 – 16 . Il rivelatore FLD raccoglie i punti dati con una velocità di campionamento interna pari a 74,08 Hz (= 13,50 ms) (1 solo segnale). L'unico parametro che incide sulla riduzione dei dati è il parametro PDPW. Se il valore di PDPW è insufficiente, il rivelatore dei picchi non individua un picco ma, al contrario, presuppone la presenza di una linea di base ascendente/discendente all'inizio/alla fine del picco. Se il valore di PDPW è eccessivo, il rivelatore dei picchi presuppone che il picco non sia altro che rumore.
- Il rivelatore dei picchi opera in linea sul cromatogramma corrente. Ciò significa che inizio/apice/fine di un picco vengono riconosciuti con un certo ritardo. Inoltre, i punti degli spettri vengono acquisiti in maniera sequenziale. Ciò significa che l'acquisizione di spettri su intervalli ampi richiede tempi nettamente più lunghi rispetto all'acquisizione di spettri su intervalli stretti. Se l'analisi cromatografica è rapida, è praticamente impossibile raccogliere spettri "puliti" di tipo APEX: i primi/ultimi punti degli spettri vengono acquisiti prima/dopo che la concentrazione nella cella del rivelatore abbia raggiunto il valore massimo.
- La durata dell'acquisizione di singoli spettri è riportata nella schermata di impostazione del rivelatore FLD.

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Raccolta di spettri con le modalità SPECTRA ALL IN PEAK e APEX SPECTRA ONLY



Informazioni sui solventi

Osservare le seguenti raccomandazioni sull'uso dei solventi.

- Attenersi alle raccomandazioni per evitare la comparsa di alghe; fare riferimento ai manuali della pompa.
- Piccole particelle possono ostruire in modo permanente i capillari e le valvole. Filtrare sempre i solventi con filtri da 0,4 μm .
- Evitare o ridurre al minimo l'uso di solventi che possano corrodere le parti del circuito idraulico. Osservare le specifiche relative all'intervallo di pH consigliato per i diversi materiali, ad esempio, le celle di flusso, i materiali delle valvole e così via, nonché le raccomandazioni riportate nelle sezioni seguenti.

Informazioni sui solventi per le parti del sistema LC bioinerte 1260 Infinity

Per il circuito idraulico (componenti bagnati) del sistema LC bioinerte Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies utilizza materiali di altissima qualità (vedere [“Materiali bioinerti”](#), pagina 32), comunemente impiegati dai ricercatori nel campo delle scienze biologiche in quanto presentano un'inerzia ottimale nei confronti dei campioni biologici e offrono la migliore compatibilità con i campioni e solventi di uso comune su un ampio intervallo di pH. In particolare, l'intero circuito idraulico è privo di acciaio inossidabile e di altre leghe contenenti metalli quali ferro, nichel, cobalto, cromo, molibdeno o rame, che possono interferire con i campioni biologici. I componenti del circuito idraulico a valle del sistema di introduzione del campione sono completamente privi di metalli.

Tenere presente, tuttavia, che non esistono materiali che abbinano proprietà di idoneità per la svariata strumentazione HPLC (valvole, capillari, molle, teste delle pompe, celle di flusso e così via) e completa compatibilità con tutte le sostanze chimiche e le condizioni delle applicazioni. In questa sezione sono consigliati i solventi preferiti. Evitare l'utilizzo di sostanze chimiche note per dare luogo a problemi oppure ridurre al minimo l'esposizione limitandola, per esempio, alle procedure di pulizia a breve termine. Dopo aver utilizzato

sostanze chimiche potenzialmente aggressive, lavare il sistema con solventi HPLC standard compatibili.

PEEK

Il PEEK (polietereterchetone) coniuga eccellenti proprietà di biocompatibilità, resistenza chimica, stabilità meccanica e termica e, pertanto, è il materiale preferito per la strumentazione biochimica. È stabile nell'intervallo di pH specificato ed è inerte nei confronti di molti solventi di uso comune. È nota l'incompatibilità con diversi prodotti chimici quali cloroformio, cloruro di metilene, THF, DMSO, acidi forti (acido nitrico > 10 %, acido solforico > 10 %, acidi sulfonici, acido tricloroacetico), alogeni o soluzioni acquose di alogeni, fenolo e derivati (cresoli, acido salicilico, ecc.).

Se utilizzato a temperature superiori alla temperatura ambiente, il PEEK è sensibile nei confronti di basi e vari solventi organici e può essere soggetto a rigonfiamenti. Poiché i normali capillari in PEEK sono estremamente sensibili all'alta pressione, in particolare in presenza delle condizioni di cui sopra, Agilent utilizza capillari in PEEK placcati in acciaio inossidabile per evitare la presenza di acciaio nel circuito idraulico e assicurare la stabilità della pressione ad almeno 600 bar. In caso di dubbi, consultare la letteratura disponibile in merito alla compatibilità chimica del PEEK.

Titanio

Il titanio vanta una notevole resistenza nei confronti degli acidi ossidanti (per esempio acido nitrico, perclorico e ipocloroso) su un ampio intervallo di valori di concentrazione e temperatura. Questa proprietà è dovuta alla presenza sulla sua superficie di un sottile strato di ossido, stabilizzato dai composti ossidanti. Gli acidi riducenti (per esempio acido cloridrico, solforico e fosforico) possono causare una leggera corrosione, che aumenta all'aumentare della concentrazione dell'acido e della temperatura. Per esempio, il tasso di corrosione con HCl 3 % (circa pH 0,1) a temperatura ambiente è pari a circa 13 µm/anno. A temperatura ambiente il titanio è resistente a concentrazioni di acido solforico pari a circa 5 % (circa pH 0,3). L'aggiunta di acido nitrico all'acido cloridrico o solforico riduce significativamente i tassi di corrosione. Il titanio è soggetto a corrosione in metanolo anidro, un fenomeno che può essere evitato tramite l'aggiunta di un ridotto quantitativo d'acqua (circa 3 %). Una leggera corrosione può verificarsi in presenza di ammoniaca in concentrazione > 10 %.

Silice fusa

La silice fusa è inerte nei confronti di tutti i solventi e acidi di uso comune fatta eccezione per l'acido fluoridrico. È soggetta a corrosione da parte di basi forti e non deve essere utilizzata a pH superiore a 12 a temperatura ambiente. La corrosione delle finestre delle celle di flusso può incidere negativamente sui risultati delle misure. Se il pH è superiore a 12, si consiglia di utilizzare celle di flusso con finestre in zaffiro.

Oro

L'oro è inerte nei confronti di tutti gli acidi, le basi e i solventi HPLC di uso comune nell'intervallo di pH specificato. Può essere corrosivo da cianuri complessanti e acidi concentrati quali l'acqua regia (una miscela di acido cloridrico e acido nitrico concentrati).

Ossido di zirconio

L'ossido di zirconio (ZrO_2) è inerte nei confronti di quasi tutti gli acidi, le basi e i solventi di uso comune. Non sono note incompatibilità documentate per le applicazioni HPLC.

Platino/iridio

Il platino/iridio è inerte nei confronti di quasi tutti gli acidi, le basi e i solventi di uso comune. Non sono note incompatibilità documentate per le applicazioni HPLC.

PTFE

Il PTFE (politetrafluoroetilene) è inerte nei confronti di quasi tutti gli acidi, le basi e i solventi di uso comune. Non sono note incompatibilità documentate per le applicazioni HPLC.

Zaffiro, rubino, e ceramiche basate su Al_2O_3

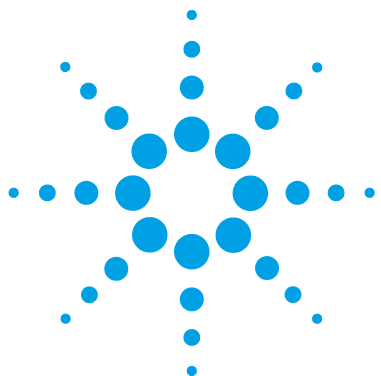
Zaffiro, rubino e ceramiche basate su Al_2O_3 sono inerti nei confronti di quasi tutti gli acidi, le basi e i solventi di uso comune. Non sono note incompatibilità documentate per le applicazioni HPLC.

I dati di cui sopra sono stati raccolti da risorse esterne e devono essere intesi come riferimento. Agilent non garantisce la completezza e la correttezza di tali

4 Utilizzo del rivelatore a fluorescenza

Informazioni sui solventi

informazioni. Inoltre, le informazioni non possono essere generalizzate a causa degli effetti catalitici di impurità quali ioni metallici, agenti complessanti, ossigeno e così via. La maggior parte dei dati disponibili fa riferimento alla temperatura ambiente (in genere 20 – 25 °C, 68 – 77 °F). Se sono possibili processi di corrosione, essi in genere si verificano più velocemente a temperature più elevate. In caso di dubbi, consultare ulteriori risorse.



5 Ottimizzazione del rivelatore

Panoramica sull'ottimizzazione	116
Funzioni progettate per ottimizzare le prestazioni	118
Verifica delle prestazioni prima dell'avvio	118
Ricerca delle migliori lunghezze d'onda	119
Un esempio concreto	119
Ricerca della migliore amplificazione del segnale	121
Intervallo di scala del rivelatore FLD e condizioni operative	122
Modifica della frequenza della lampada flash allo xeno	127
Prolungamento della durata utile della lampada	128
Selezione del miglior tempo di risposta	129
Riduzione della luce parassita	132

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sull'ottimizzazione del rivelatore.



Panoramica sull'ottimizzazione

NOTA

Alcune funzioni (per esempio acquisizione di spettri, rivelazione a più lunghezze d'onda) descritte in questo capitolo non sono disponibili con il rivelatore a fluorescenza 1260 Infinity G1321C.

1 Impostazione del valore PMT corretto

Per la maggior parte delle applicazioni un'impostazione pari a 10 è adeguata (vedere [“Ricerca della migliore amplificazione del segnale”](#), pagina 121). Il convertitore A/D del rivelatore FLD possiede un ampio intervallo lineare che rende superflua la modifica del valore PMT per la maggior parte delle applicazioni. Per esempio, se ad alte concentrazioni un picco risulta tagliato, ridurre l'impostazione PMT. Tenere presente che impostando valori PMT bassi si riduce il rapporto segnale-rumore.

Il test integrato relativo al guadagno PMT utilizza i parametri nel rivelatore. Quando si utilizza tale test, l'impostazione della lunghezza d'onda e la modalità di energia della lampada (che dipendono dalla modalità a lunghezza d'onda multipla e dalla modalità "economy" della lampada) incidono sul calcolo del guadagno PMT.

NOTA

Se sono stati modificati uno o più parametri, è necessario premere **'OK'** per applicare le nuove impostazioni al rivelatore FLD. Reinserire quindi **'FLD-Signals'** e avviare il test del guadagno PMT.

2 Utilizzo di un tempo di risposta adeguato

Per la maggior parte delle applicazioni un'impostazione pari a 4 secondi è adeguata (vedere [“Selezione del miglior tempo di risposta”](#), pagina 129). Si consiglia di impostare un valore inferiore solo per analisi ad alta velocità (colonne corte ad alte velocità di flusso). Tenere presente che anche se il tempo di risposta è troppo alto i picchi veloci appariranno più piccoli e allargati, ma tempi di ritenzione e aree dei picchi saranno comunque corretti e riproducibili.

3 Ricerca della lunghezza d'onda ottimale

La maggior parte delle molecole con attività di fluorescenza assorbe a 230 nm (vedere [“Ricerca delle migliori lunghezze d'onda”](#), pagina 119).

Impostare la lunghezza d'onda di eccitazione su 230 nm ed effettuare una scansione in linea degli spettri di emissione (modalità a multiemissione). Quindi impostare la lunghezza d'onda di emissione così determinata ed effettuare una scansione in modalità a multiexcitazione per determinare la lunghezza d'onda di eccitazione ottimale.

4 Valutazione degli spettri di fluorescenza

Contrariamente al caso dei rivelatori UV a serie di diodi in cui gli spettri UV si valutano acquisendo lo spettro all'apice del picco e selezionando uno spettro di riferimento sulla linea di base, gli spettri di fluorescenza corretti si ottengono selezionando lo spettro all'apice del picco e quello di riferimento intorno ai punti di flesso del picco. Selezionare gli spettri di riferimento sulla linea di base non è utile poiché lo spettro sulla linea di base presenta un rumore molto elevato (assenza di luce).

5 Accensione della lampada soltanto per l'analisi

A meno che non sia necessaria la massima sensibilità, è possibile prolungare considerevolmente la durata utile della lampada accendendola solo per l'analisi. A differenza di altri rivelatori LC, il rivelatore a fluorescenza raggiunge l'equilibrio nell'arco di alcuni secondi dall'accensione della lampada.

NOTA

Per ottenere la massima riproducibilità e linearità, impostare la lampada su "always ON" (sempre accesa); l'impostazione predefinita è "on only during run" (accesa solo durante l'analisi).

Si consiglia un periodo di riscaldamento iniziale dello strumento di un'ora.

6 Non sottoporre la cella di flusso del rivelatore a una pressione eccessiva

Prestare attenzione a non superare una caduta di pressione di 20 bar a valle della cella di flusso quando si collegano in serie altri dispositivi quali rivelatori o collettori di frazioni. È consigliabile installare un rivelatore UV a monte del rivelatore a fluorescenza.

NOTA

Quando si confrontano spettri di eccitazione in fluorescenza direttamente con spettri DAD o con spettri di assorbimento di letteratura, tenere in considerazione ampie differenze nella larghezza di banda ottica utilizzata (FLD = 20 nm) che comportano uno spostamento sistematico del massimo della lunghezza d'onda a seconda dello spettro di assorbimento del composto in esame.

Funzioni progettate per ottimizzare le prestazioni

Il modulo è dotato di numerose funzioni utilizzabili per ottimizzare la rivelazione:

PMTGAIN	Fattore di amplificazione
LAMP	Frequenza di flash
RESPONSETIME	Intervallo di riduzione dei dati

Verifica delle prestazioni prima dell'avvio

Prima di iniziare è opportuno verificare che il rivelatore funzioni in accordo alle specifiche definite da Agilent Technologies.

Nella maggior parte dei casi, i normali solventi per HPLC possono fornire buoni risultati, ma secondo la nostra esperienza mostrano un rumore della linea di base che può essere superiore rispetto a quando si usano solventi per fluorescenza.

Lavare (aprendo il flusso) il sistema di distribuzione del solvente per almeno 15 minuti prima di verificare la sensibilità. Se la pompa ha più di un canale, è necessario lavare anche i canali non in uso.

Ricerca delle migliori lunghezze d'onda

I parametri più importanti da ottimizzare nella rivelazione di fluorescenza sono le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione. In genere, l'ipotesi adottata prevede che sia possibile individuare la migliore lunghezza d'onda di eccitazione esaminando uno spettro di eccitazione acquisito con uno spettrofluorimetro. Inoltre, si assume che una volta individuata la lunghezza d'onda di eccitazione ottimale per un particolare tipo di strumento, essa sia valida anche per altri strumenti.

Entrambe queste ipotesi sono errate.

La lunghezza d'onda ottimale per l'eccitazione dipende dall'assorbimento dei composti ma anche dalle caratteristiche dello strumento, quali il tipo di lampada e i reticoli. Poiché la maggior parte delle molecole organiche assorbe al meglio nell'ultravioletto, il modulo è stato progettato per fornire un rapporto segnale-rumore ottimale nell'intervallo dello spettro compreso tra 210 nm e 360 nm. Per ottenere la massima sensibilità, la lunghezza d'onda di assorbimento della molecola in esame deve corrispondere all'intervallo di lunghezza d'onda dello strumento. In altri termini, ciò significa che la lunghezza d'onda di eccitazione deve rientrare nella regione dell'ultravioletto. Il modulo possiede un ampio intervallo di lunghezza d'onda di eccitazione, ma per ottenere la massima sensibilità è necessario scegliere una lunghezza d'onda nella regione dell'ultravioletto (prossima a 250 nm).

Gli elementi strutturali che contribuiscono a ridurre l'efficienza nella regione dell'ultravioletto più basso sono la lampada flash allo xeno e i reticoli. Le lampade di tipo flash utilizzate con il modulo causano lo spostamento della lunghezza d'onda ottimale verso intervalli di lunghezza d'onda più bassi fino a un massimo di 250 nm. Il reticolo di eccitazione possiede un angolo di blaze tale da garantire la massima efficienza a 300 nm.

Un esempio concreto

Sebbene il valore di letteratura della lunghezza d'onda di eccitazione dell'ortoftalaldeide (un derivato dell'amminoacido alanina) è pari a 340 nm, la

5 Ottimizzazione del rivelatore

Ricerca delle migliori lunghezze d'onda

scansione effettuata con il modulo (Figura 45, pagina 120) presenta un massimo tra 220 nm e 240 nm.

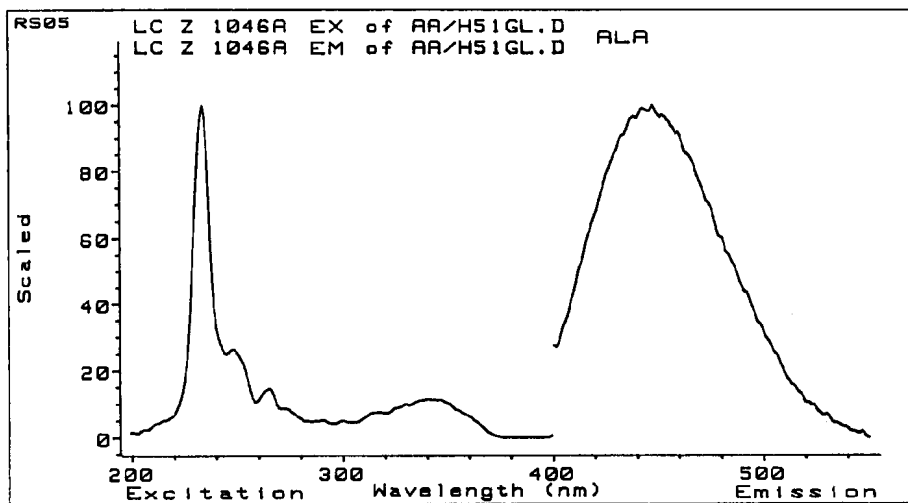


Figura 45 Scansione dell'ortoftaldeide, un derivato dell'alanina

Quando si ricerca la lunghezza d'onda tramite scansione, eseguire la scansione sull'intero intervallo. Come evidenziato dall'esempio, è possibile trovare un massimo in un intervallo di lunghezze d'onda completamente diverso.

NOTA

Quando si confrontano spettri di eccitazione in fluorescenza direttamente con spettri DAD o con spettri di assorbimento di letteratura, tenere in considerazione ampie differenze nella larghezza di banda ottica utilizzata (FLD = 20 nm) che comportano uno spostamento sistematico del massimo della lunghezza d'onda a seconda dello spettro di assorbimento del composto in esame.

Ricerca della migliore amplificazione del segnale

Incrementando il valore del parametro PMTGAIN aumentano anche il segnale e il rumore. Fino a un certo fattore, l'aumento del segnale è maggiore rispetto all'aumento del rumore.

Il passo tra valori successivi di guadagno è pari a un fattore 2 (identico al caso del rivelatore FLD HP 1046A).

In [Figura 46](#), pagina 121 il valore di PMTGAIN è stato gradualmente aumentato da 4 a 11 (il picco deriva dal campione isocratico Agilent Technologies diluito 1000 volte). Aumentando PMTGAIN fino al valore 10 si osserva un miglioramento del rapporto segnale-rumore. Oltre 10 il rumore aumenta in maniera proporzionale al segnale, senza alcun miglioramento nel rapporto segnale-rumore.

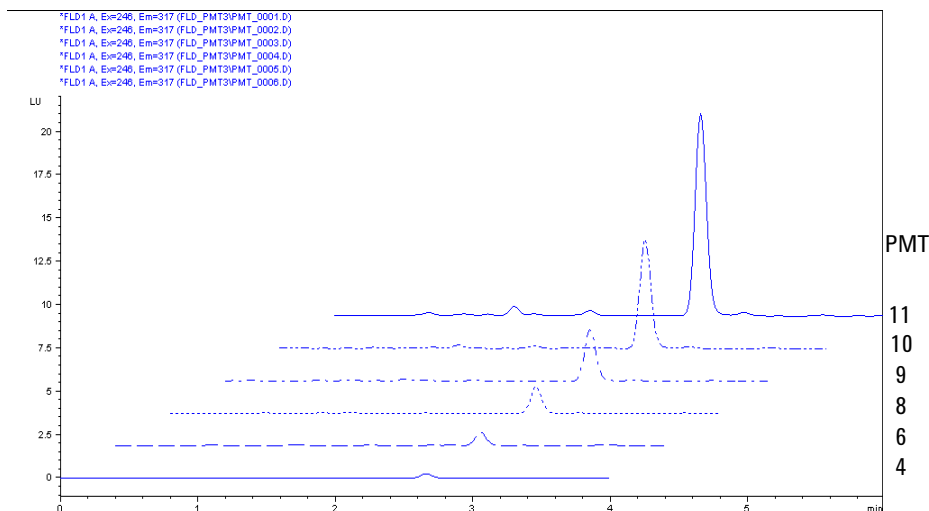


Figura 46 Ricerca del valore migliore di PMTGAIN per il bifenile

Ciò si deve al fatto che la quantificazione delle linee di base (in particolare a bassi livelli del fondo) non è sufficiente per i metodi di filtraggio statistici. Per ottenere il valore ottimale del guadagno, controllare il solvente in presenza di flusso con la funzione di guadagno automatico. Non utilizzare valori superiori

a quelli proposti dal sistema, se non necessario, per evitare segnali di fluorescenza eccessivi.

Utilizzare il test PMT per determinare automaticamente l'impostazione.

Intervallo di scala del rivelatore FLD e condizioni operative

In caso di utilizzo di vari rivelatori FLD

- L'altezza del segnale di singoli moduli FLD G1321 può superare l'intervallo consigliato del segnale 0 – 100 LU. In particolari circostanze ciò può comportare la presenza di picchi tagliati.
- Moduli FLD G1321 diversi presentano segnali di altezza diversa con metodi identici. In genere ciò non costituisce un problema ma può rappresentare un inconveniente qualora nel laboratorio si utilizzi più di un rivelatore G1321.

Entrambi i problemi di scala possono essere risolti. Fare riferimento a [“Ottimizzazione del livello di guadagno PMT”](#), pagina 122.

Ottimizzazione del livello di guadagno PMT

Avviare il test del guadagno PMT con le condizioni operative in uso (parametri del metodo, lunghezza d'onda di eccitazione/emissione, solvente, velocità di flusso e così via). Il valore PMT così determinato garantisce le migliori prestazioni in termini di rapporto segnale-rumore con l'intervallo massimo utilizzabile del segnale per il metodo in uso e lo strumento specifico. Il livello PMT per un altro rivelatore FLD può differire (in base allo specifico test del guadagno PMT).

Nella figura che segue è illustrato l'effetto della modifica del valore del guadagno PMT.

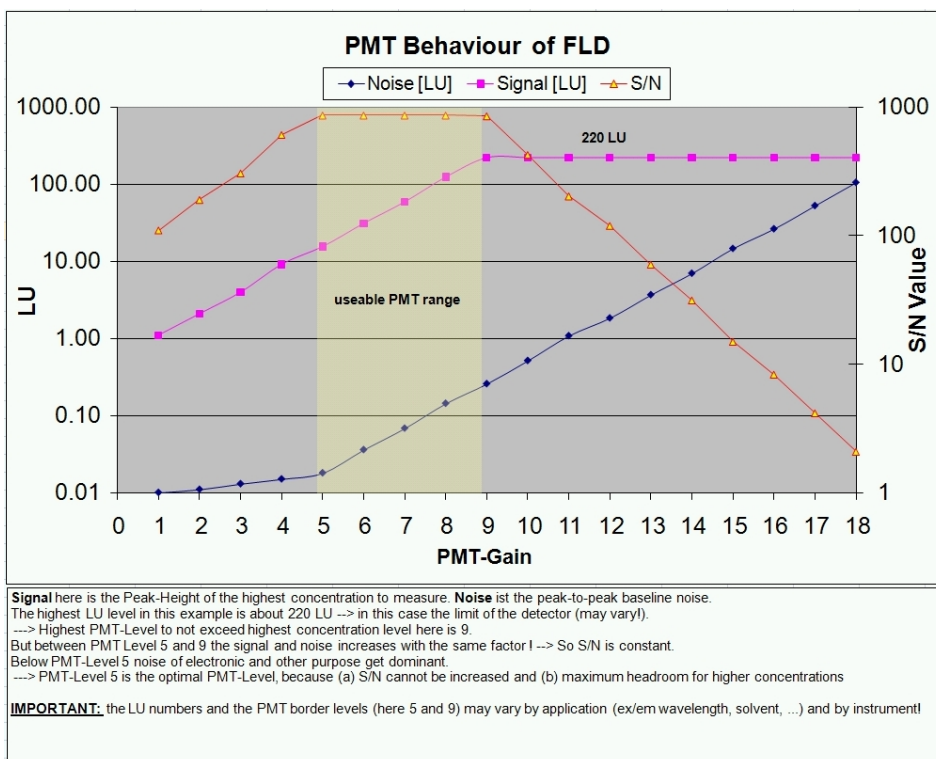


Figura 47 Comportamento del guadagno PMT

In questo esempio l'uscita massima è pari a circa 220 LU e un ulteriore incremento del valore PMT (oltre 9) provoca il sovraccarico del segnale (taglio) e la caduta del valore del rapporto segnale-rumore.

1 Impostare il livello di guadagno PMT

A questo punto, verificare con la concentrazione massima che il picco più intenso non sia tagliato o saturo.

- Se la verifica ha esito positivo, l'ottimizzazione del livello di guadagno PMT è terminata. Procedere con la sezione "Impostare le unità di luminescenza in LU".
- Se la verifica evidenzia che la concentrazione massima non rientra nell'intervallo selezionato (per esempio a causa del taglio del segnale), è possibile ridurre la sensibilità del rivelatore FLD riducendo gradualmente il livello PMT di 1 unità per dimezzare circa l'altezza del segnale in corrispondenza di ogni decremento. Tenere presente che questa opera-

zione comporta una perdita di sensibilità a bassi livelli del segnale (LOD).

2 Impostare le unità di luminescenza in LU

Se il livello di uscita LU del rivelatore non è soddisfacente o si desidera allineare l'uscita di più strumenti che presentano livelli di uscita differenti, è possibile scalare l'uscita di ciascuno strumento.

L'impostazione consigliata per il rivelatore FLD G1321 è circa 100 LU per il picco più intenso in modo da ottimizzare il rapporto segnale-rumore e l'intervallo del segnale. Valori LU più bassi in genere non incidono sulle prestazioni dello strumento se il test di guadagno PMT è stato eseguito correttamente.

Per l'uscita analogica un valore inferiore a 100 LU è ottimale per ottenere le migliori prestazioni del segnale analogico con l'attenuazione predefinita pari a 100 LU/ 1 V. Adattare l'impostazione LU in uso in modo che il livello massimo del segnale con l'attenuazione predefinita sia compreso tra 50 e 80 LU (uscita analogica equivalente compresa tra 500 mV e 800 mV).

Dopo l'impostazione corretta di PMT, è possibile impostare la scala di qualsiasi strumento sul valore LU preferito. Si consiglia di non superare circa 100 LU. Il parametro scelto è noto come 'Scale factor' (Fattore di scala) e può essere applicato dal controller locale Instant Pilot (B.02.07 o versione successiva).

Qualora si utilizzino versioni precedenti, è possibile inserire il fattore di scala tramite la riga di comando di:

- ChemStation Agilent:
PRINT SENDMODULE\$(LFLD, "DMUL x.xx")
- Instant Pilot: Service Mode (Modalità di assistenza) – FLD; quindi digitare
DMUL x.xx e premere **SEND**.
- Strumento di aggiornamento del firmware LAN/RS-232: tramite il menu Send Instruction (Invia istruzione):
DMUL x.xx
- Software Agilent Lab Advisor: tramite il menu Instruction (Istruzione):
DMUL x.xx

Questa impostazione è residente nello strumento anche nel caso di aggiornamenti del firmware ed è indipendente dall'ambiente software.

Il livello LU non è una misura della sensibilità dello strumento! In corrispondenza del limite di concentrazione più basso (limite di rivelazione), il

rapporto segnale-rumore (per esempio determinato dal test S/N Raman) è l'unica misura che può essere utilizzata in modo accurato per confrontare cromatogrammi e risultati e confermare le prestazioni dello strumento.

Per ottenere un basso valore di fondo e la massima sensibilità, tenere pulita la cella di flusso e utilizzare sempre acqua appena sostituita per evitare la presenza di fondo di origine biologica dovuto alla fluorescenza nativa di alghe e batteri.

Visualizzazione dei limiti ADC

È stata rilasciata una nuova versione firmware (A.06.11) per il rivelatore a fluorescenza G1321A/B che include la nuova funzione di "visualizzazione dei limiti ADC".

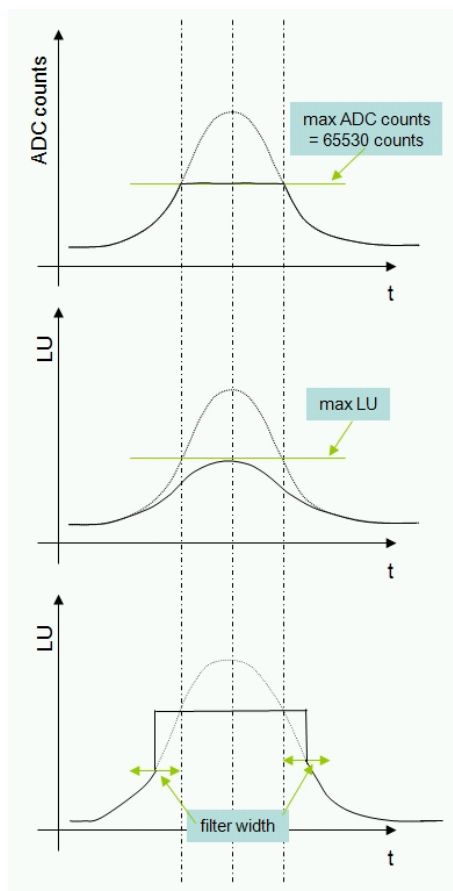
Fino alla versione firmware A.06.10, in presenza di particolari condizioni del metodo una "saturazione del convertitore ADC" non era visibile nel cromatogramma.

La saturazione poteva essere mascherata dallo smoothing di un filtro e, di conseguenza, risultare invisibile all'utente. Nella ChemStation Agilent, l'evento di "saturazione del convertitore ADC" veniva riportato soltanto nel registro elettronico.

Questo problema si verificava soltanto se il parametro Peakwidth (Response-time) (Ampiezza picco (Tempo di risposta)) era stato impostato su un valore simile o maggiore rispetto all'ampiezza effettiva del picco cromatografico.

5 Ottimizzazione del rivelatore

Ricerca della migliore amplificazione del segnale



Conteggi ADC grezzi

L'intensità luminosa misurata è limitata dall'intervallo massimo del convertitore ADC.

Un filtro applica lo smoothing al picco, rendendo non chiaramente visibile che è stata raggiunta l'intensità massima. Inoltre, l'area e l'altezza del picco sono soggette a distorsione, il che degrada la linearità delle prestazioni.

Si noti che il valore "max LU" non è un numero fisso ma dipende dall'intensità del canale di riferimento!

Nuova implementazione (con firmware A.06.11 o versione successiva)

Sebbene ogni valore del campione all'interno dell'ampiezza del filtro si trovi in uno stato di "saturazione del convertitore ADC", nel cromatogramma è visualizzato il valore massimo possibile di LU.

Si noti che il valore "max LU" dipende in lieve misura dalla deriva e dal rumore della lampada e in misura notevole dalla lunghezza d'onda di eccitazione.

Ora la "saturazione del convertitore ADC" è visibile come un picco reale piatto nel cromatogramma; ciò indica all'utente che il parametro del rivelatore (guadagno PMT o concentrazione della soluzione) è impostato su un valore eccessivo.

NOTA

Il trasferimento 1:1 di metodi da un rivelatore FLD a un altro rivelatore FLD può comportare l'insorgenza del problema di "saturazione del convertitore ADC" descritto in precedenza. Per informazioni dettagliate vedere ["Intervallo di scala del rivelatore FLD e condizioni operative"](#), pagina 122.

Modifica della frequenza della lampada flash allo xeno

Modalità

La frequenza di flash della lampada può essere modificata in base alle seguenti modalità:

Tabella 19 Modalità per la lampada flash

Posizionamento	296 Hz (Standard), 560 V	63 mJ (18,8 W)
	74 Hz (Economy), 560 V	63 mJ (4,7 W)
Rotazione (Multi Ex/Em)	74 Hz (Standard), 950 V	180 mJ (13,3 W)
	74 Hz (Economy), 560 V	63 mJ (4,7 W)

La migliore sensibilità si ottiene con la modalità “no economy”; vedere la Figura 48, pagina 127.

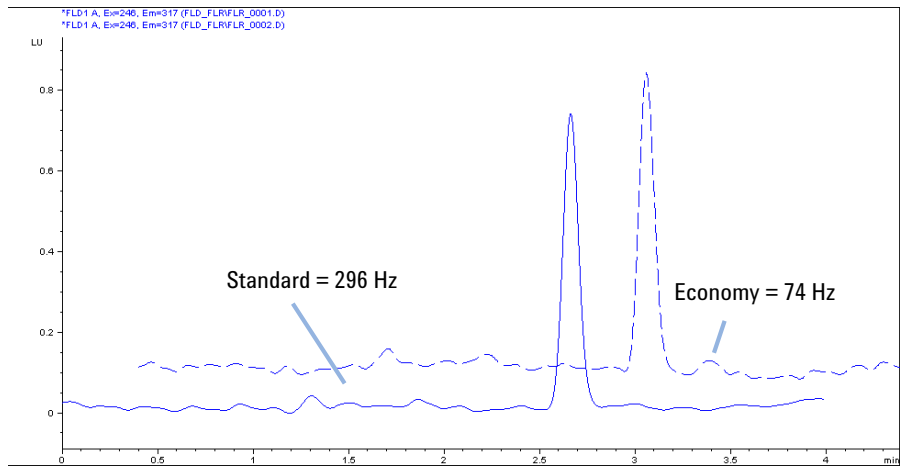


Figura 48 Frequenza della lampada flash allo xeno

Prolungamento della durata utile della lampada

Vi sono tre modi per aumentare la durata della lampada:

- Commutare su "**lamp on during run**" (lampada accesa durante l'analisi), senza perdita di sensibilità.
- Passare al modo "**economy**" con una certa perdita di sensibilità.
- Una combinazione delle precedenti.

Selezione del miglior tempo di risposta

Selezione del miglior tempo di risposta

La riduzione dei dati tramite la funzione RESPONSETIME aumenta il rapporto segnale-rumore.

Per un esempio vedere la [Figura 49](#), pagina 129.

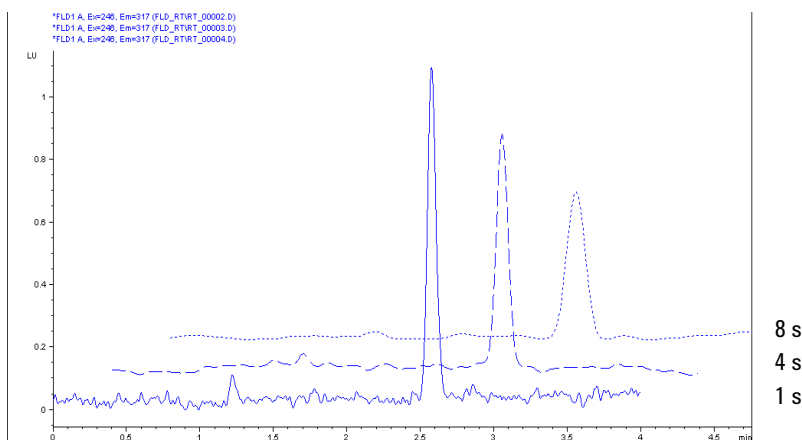


Figura 49 Ricerca del miglior tempo di risposta

I rivelatori a fluorescenza LC in genere operano con tempi di risposta di 2 o 4 s. L'impostazione predefinita del modulo è 4 secondi. È importante tenere presente che per confrontare la sensibilità è necessario utilizzare lo stesso tempo di risposta. Un tempo di risposta di 4 s (impostazione predefinita) è equivalente a una costante temporale di 1,8 s ed è adeguato in presenza di condizioni cromatografiche standard.

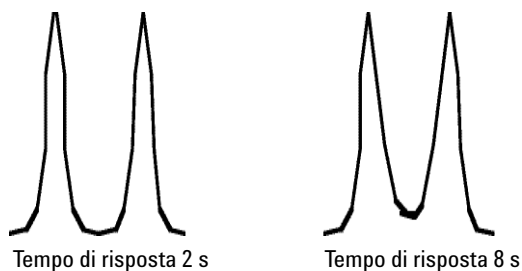


Figura 50 Separazione di picchi tramite la funzione Responsetime

Impostazioni di ampiezza del picco

NOTA

Non utilizzare un'ampiezza del picco inferiore a quella necessaria.

Ampiezza picco consente di selezionare l'ampiezza del picco (tempo di risposta) per l'analisi. L'ampiezza del picco è definita come l'ampiezza di un picco, espressa in minuti, a metà altezza del picco. Impostare l'ampiezza del picco sul picco più stretto previsto nel cromatogramma. L'ampiezza del picco determina il tempo di risposta ottimale per il rivelatore. Il rivelatore di picchi ignora i picchi nettamente più stretti o più larghi dell'impostazione definita per l'ampiezza del picco. Il tempo di risposta è il tempo compreso tra 10 % e 90 % del segnale in uscita in risposta a una funzione di variazione improvvisa in ingresso.

Limiti: quando si imposta l'ampiezza del picco (in minuti), il tempo di risposta corrispondente viene impostato automaticamente e viene selezionata la velocità di campionamento adeguata per l'acquisizione del segnale e degli spettri, come mostrato nella seguente tabella:

Tabella 20 Impostazione di ampiezza del picco

Ampiezza del picco		Velocità di campionamento		
A metà altezza [min]	Risposta [s]	Hz	ms	
> 0,0016	0,016	144,93	6,9	G1321B, K1321B (con firmware A.06.54 e versioni successive)
< 0,003	0,03	74,07	13,5	G1321B/C, K1321B
> 0,003	0,06	37,04	27,0	G1321A/B/C, K1321B
> 0,005	0,12	37,04	27,0	
> 0,01	0,25	37,04	27,0	
> 0,025	0,5	18,52	54,0	
> 0,05	1,0	9,26	108,0	
> 0,1	2,0	4,63	216,0	
> 0,2	4,0	2,31	432,0	
> 0,4	8,0	1,16	864,0	

Riduzione della luce parassita

I filtri di cut-off sono utilizzati per eliminare la luce parassita e la luce parassita di 2° ordine o superiore consentendo la trasmissione completa al di sopra del valore di cut-off e una trasmissione ridotta o nulla al di sotto di tale valore. Tali filtri sono utilizzati tra i reticoli di eccitazione e di emissione, per evitare che l'eventuale luce di eccitazione parassita raggiunga il fotomoltiplicatore quando sta misurando l'emissione.

Quando le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione sono prossime tra loro, la distorsione dovuta alla dispersione limita seriamente la sensibilità. Quando la lunghezza d'onda di emissione è doppia rispetto a quella di eccitazione, il fattore limitante è la luce di 2° ordine. Per spiegare l'effetto di questa luce di ordine superiore, si immagini che il rivelatore sia acceso, ma che attraverso la cella di flusso non eluisca alcun campione.

La lampada invia 1 milione di fotoni nella cella di flusso, per esempio a 280 nm. In seguito alla dispersione sulla superficie della cella di flusso e alla dispersione da parte delle molecole di solvente, lo 0,1% di questa luce esce dalla cella attraverso la finestra ad angoli retti rispetto alla luce incidente. In assenza di filtro di cut-off, questi 1000 fotoni rimanenti raggiungono il reticolo di emissione. Il 90% è soggetto a riflessione totale senza dispersione sul fotomoltiplicatore. L'altro 10% si disperde a 280 nm (1° ordine) e a 560 nm (2° ordine). Per eliminare questa luce parassita, è necessario un filtro di cut-off intorno a 280 nm.

In considerazione dei requisiti di varie applicazioni note, nel sistema è integrato un filtro di cut-off a 295 nm che consente di eseguire applicazioni senza disturbi fino a 560 nm (vedere la [Figura 51](#), pagina 133).

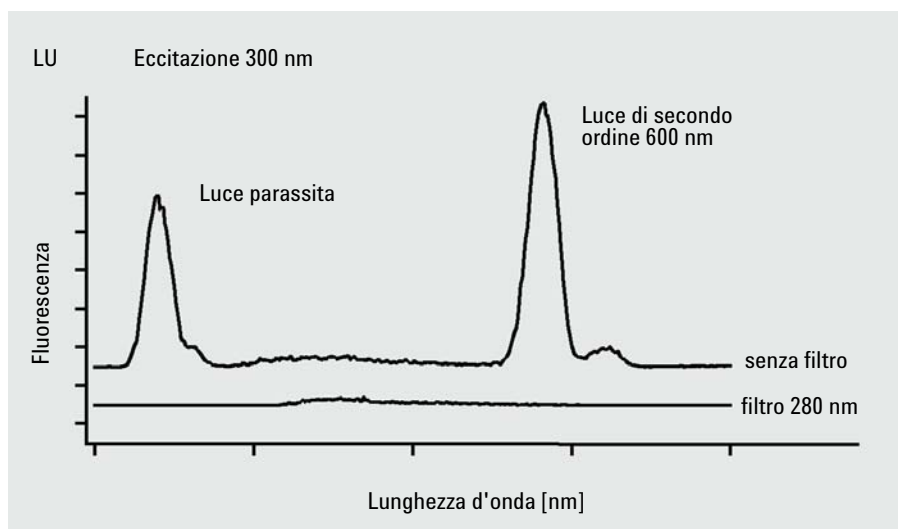
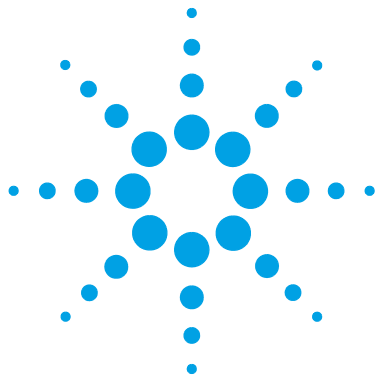


Figura 51 Riduzione della luce parassita

5 Ottimizzazione del rivelatore

Riduzione della luce parassita



6

Risoluzione dei problemi e diagnostica

Panoramica degli indicatori e delle funzioni di test del modulo 136

Indicatori di stato 137

Indicatore di alimentazione 137

Indicatore di stato del modulo 138

Interfacce utente 139

Software Agilent Lab Advisor 140

Nel presente capitolo è fornita una panoramica sulle funzioni di risoluzione dei problemi e di diagnostica nonché sulle varie interfacce utente.



Panoramica degli indicatori e delle funzioni di test del modulo

Indicatori di stato

Il modulo è dotato di due indicatori di stato che ne segnalano lo stato operativo (pre-analisi, analisi e situazioni di errore). Gli indicatori di stato consentono di controllare visivamente e rapidamente il funzionamento del modulo.

Messaggi di errore

In caso di guasto di tipo elettronico, idraulico o meccanico, il modulo produce un messaggio di errore nell'interfaccia utente. In questa sezione viene descritto il significato di ciascun messaggio e viene riportata una breve descrizione del guasto, oltre ad un elenco delle cause e delle azioni consigliate per risolvere il problema (vedere il capitolo Informazioni sugli errori).

Funzioni di test

È disponibile una serie di funzioni di test per la risoluzione dei problemi e la verifica del funzionamento dopo la sostituzione di componenti interni (vedere Funzioni di test e calibrazione).

Ricalibrazione della lunghezza d'onda

Si consiglia di ricalibrare la lunghezza d'onda dopo aver eseguito interventi di riparazione di componenti interni al fine di assicurare il funzionamento corretto del rivelatore. Il rivelatore utilizza proprietà specifiche della luce di eccitazione ed emissione (vedere [“Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda”](#), pagina 183).

Indicatori di stato

Sul lato anteriore del modulo sono presenti due indicatori di stato. L'indicatore in basso a sinistra indica lo stato dell'alimentatore, quello in alto a destra lo stato del modulo.

Indicatore di stato
verde/giallo/rosso

Interruttore di alimentazione
con luce verde

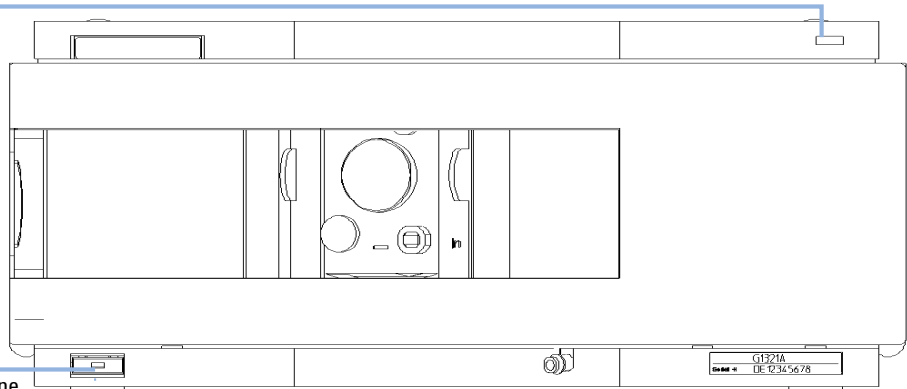


Figura 52 Posizione degli indicatori di stato

Indicatore di alimentazione

L'indicatore di alimentazione è integrato nell'interruttore di accensione principale. Quando l'indicatore è illuminato (*verde*), l'alimentazione è *ON*.

Indicatore di stato del modulo

L'indicatore di stato del modulo segnala una delle sei possibili condizioni del modulo:

- Se l'indicatore di stato è spento (*OFF*) e la spia di alimentazione è accesa, il modulo si trova nello stato di *pre-analisi* ed è pronto per iniziare un'analisi.
- Se l'indicatore di stato è *verde*, il modulo sta effettuando un'analisi (modalità di *analisi*).
- L'indicatore *giallo* segnala la condizione di *non pronto*. Il modulo si trova in questo stato quando è in attesa che venga raggiunta una determinata condizione o completata una specifica azione (ad esempio, subito dopo la modifica del valore di un parametro), oppure mentre è in esecuzione una procedura di autoverifica.
- Una condizione di *errore* è segnalata dal colore *rosso* dell'indicatore di stato. Tale condizione indica che il modulo ha rilevato un problema interno che ne impedisce il funzionamento corretto. In genere, una condizione di errore richiede un intervento da parte dell'operatore (ad esempio, in caso di perdite o componenti interni difettosi). Una condizione di errore interrompe sempre l'analisi.

Se l'errore si verifica durante l'analisi, viene propagato all'interno del sistema LC; un LED rosso, ad esempio, può indicare un problema in un altro modulo. Utilizzare il display di stato dell'interfaccia utente per individuare la causa/il modulo all'origine dell'errore.

- Un indicatore *intermittente* segnala che il modulo si trova in modalità residente (ad esempio, durante l'aggiornamento del firmware principale).
- Un indicatore *intermittente a intervalli ravvicinati* segnala che il modulo si trova in una condizione di errore di basso livello. In questo caso, è possibile provare a riavviare il modulo o effettuare un avvio a freddo (vedere [“Impostazioni speciali”](#), pagina 248). In seguito provare a eseguire un aggiornamento del firmware (vedere [“Sostituzione del firmware del modulo”](#), pagina 204). Se questa operazione non risolve il problema, è necessario sostituire la scheda principale.

Interfacce utente

I test disponibili variano in base all'interfaccia utente. Tutte le descrizioni dei test si basano sull'interfaccia utente ChemStation Agilent. Alcune descrizioni sono disponibili solo nel Manuale di manutenzione.

Tabella 21 Funzioni di test disponibili in base all'interfaccia utente

Test	ChemStation	Instant Pilot G4208A	Lab Advisor
Convertitore D/A	No	No	Sì
Cromatogramma di prova	Sì (C)	No	Sì
Calibrazione della lunghezza d'onda	Sì	Sì (M)	Sì
Intensità della lampada	Sì	No	Sì
Corrente di buio	Sì	No	Sì

C tramite comando
M sezione Manutenzione
D sezione Diagnostica

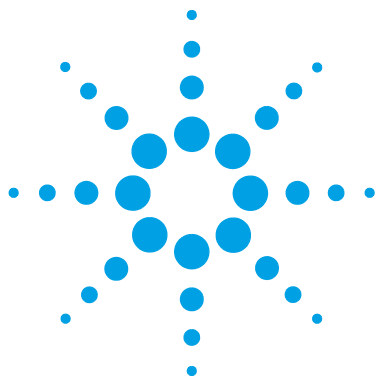
Software Agilent Lab Advisor

Il software Agilent Lab Advisor è un prodotto indipendente che può essere utilizzato con o senza sistema di dati. Agilent Lab Advisor aiuta a gestire il laboratorio per ottenere risultati cromatografici di alta qualità ed è in grado di monitorare in tempo reale un singolo sistema LC Agilent o tutti i sistemi GC e LC Agilent configurati sulla rete intranet del laboratorio.

Il software Agilent Lab Advisor fornisce funzionalità diagnostiche a tutti i moduli Agilent serie 1200 Infinity. Sono incluse funzionalità di diagnostica, procedure di calibrazione e routine di manutenzione per tutte le operazioni di manutenzione.

Il software Agilent Lab Advisor consente inoltre agli utenti di controllare lo stato degli strumenti LC in uso. La funzione di avviso di manutenzione preventiva (EMF) agevola la realizzazione degli interventi di manutenzione preventiva. Inoltre, gli utenti possono creare report sullo stato di ogni singolo strumento LC. I test e le funzioni di diagnostica fornite dal software Agilent Lab Advisor possono differire dalle descrizioni riportate in questo manuale. Per ottenere informazioni dettagliate, fare riferimento ai file della guida del software Agilent Lab Advisor.

Il software Instrument Utilities è una versione di base di Lab Advisor che include funzionalità limitate ed è necessario per l'installazione, l'uso e la manutenzione. Non include funzionalità avanzate di riparazione, risoluzione dei problemi e monitoraggio.



7 Informazioni sugli errori

Cosa sono i messaggi di errore?	142
Messaggi di errore generici	143
Timeout	143
Shutdown	144
Remote Timeout	145
Lost CAN Partner	146
Leak	147
Leak Sensor Open	148
Leak Sensor Short	149
Compensation Sensor Open	149
Compensation Sensor Short	150
Fan Failed	151
Messaggi di errore del rivelatore	152
Lamp Cover Open	152
FLF Board not found	152
ADC Not Calibrated	153
A/D Overflow	154
Flash Lamp Current Overflow	155
No light at reference diode despite lamp is on	156
Flash Trigger Lost	157
Wavelength Calibration Failed	158
Wavelength Calibration Lost	159
Flow Cell Removed	159
Errori dei motori	160

Nel presente capitolo è descritto il significato dei messaggi di errore e sono fornite informazioni sulle cause possibili e sugli interventi consigliati per eliminare le condizioni che hanno causato l'errore.



Cosa sono i messaggi di errore?

I messaggi di errore vengono visualizzati nell'interfaccia utente quando si verifica un guasto elettronico, meccanico o idraulico (circuito idraulico) che richiede attenzione immediata prima di poter continuare l'analisi (ad esempio sono necessari interventi di riparazione o la sostituzione di prodotti di consumo). In caso di guasto, si accende l'indicatore di stato di colore rosso sul lato anteriore del modulo e viene inserita una voce nel registro elettronico del modulo.

Se si verifica un errore mentre non è in corso un metodo, il sistema non segnala l'errore agli altri moduli. Se l'errore si verifica mentre è in corso un metodo, tutti i moduli collegati ricevono una notifica, tutti i LED assumono un colore rosso e l'analisi viene interrotta. A seconda del tipo di modulo, l'interruzione viene implementata in modo diverso. Per esempio, nel caso di una pompa il flusso viene arrestato per ragioni di sicurezza. Nel caso di un rivelatore, la lampada rimane accesa per evitare la necessità di eseguire nuovamente l'equilibratura. A seconda del tipo di errore, l'analisi successiva può essere avviata soltanto se l'errore è stato risolto, per esempio è stata asciugata una fuoriuscita di liquido. Se l'errore è associato a un evento che presumibilmente non si ripeterà, è possibile risolvere l'errore accendendo il sistema dall'interfaccia utente.

Le perdite sono gestite con una procedura speciale. Poiché una perdita costituisce un potenziale problema di sicurezza e può avere avuto origine in un modulo diverso da quello in cui è stata osservata, ogni perdita comporta sempre lo spegnimento di tutti i moduli, anche se non è in corso un metodo.

In ogni caso, la propagazione dell'errore avviene tramite il bus CAN o tramite un cavo remoto APG (consultare la documentazione dell'interfaccia APG).

Messaggi di errore generici

I messaggi di errore generici sono comuni a tutta la serie di moduli Agilent HPLC e possono apparire anche su altri moduli.

Timeout

Error ID: 0062

Timeout

Superamento dei limiti di tempo.

Probabile causa

- 1 L'analisi è stata completata con successo e la funzione timeout ha spento il modulo come richiesto.
- 2 Durante una sequenza o un'iniezione multipla si è verificata una condizione di non pronto per un periodo superiore a quello impostato per la soglia di tempo.

Azioni suggerite

Controllare il registro elettronico del sistema per individuare l'origine della condizione di non pronto. Ripetere l'analisi, se necessario.

Controllare il registro elettronico del sistema per individuare l'origine della condizione di non pronto. Ripetere l'analisi, se necessario.

Shutdown

Error ID: 0063

Spegnimento

Uno strumento esterno ha prodotto un segnale di spegnimento sulla linea remota.

Il modulo controlla costantemente i segnali di stato attraverso i connettori di input a distanza. Un segnale di input BASSO sul pin 4 del connettore a distanza produce un messaggio di errore.

Probabile causa	Azioni suggerite
1 Perdita rilevata in un altro modulo collegato al sistema tramite CAN.	Eliminare la perdita dello strumento esterno prima di riavviare il modulo.
2 Perdita segnalata in uno strumento esterno collegato a distanza al sistema.	Eliminare la perdita dello strumento esterno prima di riavviare il modulo.
3 Arresto di uno strumento esterno collegato a distanza al sistema.	Controllare l'arresto degli strumenti esterni.
4 Il sistema di degassaggio non è riuscito a produrre vuoto sufficiente per degasare il solvente.	Verificare che non ci siano condizioni di errore del degassatore sottovuoto. Fare riferimento al <i>Manuale di manutenzione</i> del sistema di degassaggio o della pompa 1260 con sistema di degassaggio integrato.

Remote Timeout

Error ID: 0070

Timeout remoto

È presente una condizione di non pronto nelle linee remote. Quando si inizia un'analisi, tutte le situazioni di non pronto del sistema (ad esempio, durante il bilanciamento del rivelatore) devono passare alla condizione di funzionamento entro un minuto dall'inizio. Se la condizione di non pronto è ancora presente sulla linea remota dopo un minuto, viene visualizzato un messaggio di errore.

Probabile causa

- 1** Condizione di non pronto di uno strumento collegato alla linea remota.
- 2** Cavo remoto difettoso.
- 3** Componenti difettosi dello strumento che generano messaggi di non pronto.

Azioni suggerite

Verificare che lo strumento che segnala una condizione di non pronto sia installato correttamente e impostato per l'analisi in modo adeguato.

Sostituire il cavo remoto.

Controllare che lo strumento non sia difettoso (consultare la relativa documentazione).

Lost CAN Partner

Error ID: 0071

Partner CAN perso

Durante l'analisi si è verificata una perdita di sincronizzazione oppure si è interrotta la comunicazione fra uno o più moduli del sistema.

I processori del sistema controllano continuamente la configurazione. Se uno o più moduli non vengono più individuati come collegati al sistema, viene visualizzato un messaggio di errore.

Probabile causa

- 1** Cavo CAN non collegato.
- 2** Cavo CAN difettoso.
- 3** Scheda principale difettosa in un altro modulo.

Azioni suggerite

- Verificare che tutti i cavi CAN siano collegati correttamente.
 - Verificare che tutti i cavi CAN siano installati correttamente.
- Sostituire il cavo CAN.
- Spegnere il sistema. Riavviare il sistema e determinare quali moduli non vengono riconosciuti.

Leak

Error ID: 0064

Perdita

Si è verificata una perdita nel modulo.

I segnali dai due sensori di temperatura (sensore di perdita e sensore di compensazione della temperatura montato sulla scheda) vengono utilizzati dall'algoritmo di individuazione delle perdite per determinare quando si verifica questa condizione. Se si verifica una perdita, il relativo sensore viene raffreddato dal solvente. Ciò modifica la resistenza del sensore delle perdite sensibilizzato dal circuito presente sulla scheda principale.

Probabile causa

- 1** Raccordi allentati.
- 2** Capillari rotti.

Azioni suggerite

- Verificare che tutti i raccordi siano serrati correttamente.
- Sostituire i capillari difettosi.

Leak Sensor Open

Error ID: 0083

Sensore delle perdite aperto

Il sensore delle perdite del modulo non funziona (circuito aperto).

La corrente che passa attraverso il sensore di perdite dipende dalla temperatura. La perdita viene individuata quando il solvente raffredda il sensore provocando una modifica della corrente entro certi limiti. Se la corrente scende al di sotto del limite inferiore, viene visualizzato un messaggio di errore.

Probabile causa

- 1** Sensore non collegato alla scheda principale.
- 2** Sensore delle perdite difettoso.
- 3** Sensore delle perdite non correttamente posizionato e/o in contatto con un componente di metallo.

Azioni suggerite

- Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.
- Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.
- Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Leak Sensor Short

Error ID: 0082

Cortocircuito del sensore delle perdite

Il sensore delle perdite del modulo non funziona (cortocircuito).

La corrente che passa attraverso il sensore di perdite dipende dalla temperatura. La perdita viene individuata quando il solvente raffredda il sensore provocando una modifica della corrente entro certi limiti. Se la corrente aumenta oltre il limite superiore, viene visualizzato un messaggio di errore.

Probabile causa

- 1 Sensore delle perdite difettoso.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Compensation Sensor Open

Error ID: 0081

Sensore di compensazione aperto

Il sensore di compensazione della temperatura ambiente (NTC) sulla scheda principale del modulo non funziona (circuito aperto).

La resistenza lungo il sensore di compensazione della temperatura (NTC) sulla scheda principale dipende dalla temperatura ambiente. La modifica della resistenza viene utilizzata dal circuito delle perdite per compensare le variazioni della temperatura ambiente. Se la resistenza sul sensore supera il limite superiore, viene visualizzato un messaggio di errore.

Probabile causa

- 1 Scheda principale difettosa.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Compensation Sensor Short

Error ID: 0080

Cortocircuito del sensore di compensazione

Il sensore di compensazione della temperatura ambiente (NTC) sulla scheda principale del modulo non funziona (cortocircuito).

La resistenza lungo il sensore di compensazione della temperatura (NTC) sulla scheda principale dipende dalla temperatura ambiente. La modifica della resistenza viene utilizzata dal circuito delle perdite per compensare le variazioni della temperatura ambiente. Se la resistenza sul sensore scende al di sotto dei limiti inferiori, viene visualizzato un messaggio di errore.

Probabile causa

- 1 Scheda principale difettosa.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Fan Failed

Error ID: 0068

Ventola guasta

La ventola di raffreddamento del modulo non funziona.

Il sensore a effetto Hall sull'albero della ventola viene utilizzato dalla scheda principale per tenere sotto controllo la velocità della ventola. Se la velocità della ventola scende al di sotto di un certo limite per un determinato periodo, viene visualizzato un messaggio di errore.

A seconda del modulo, alcuni gruppi (ad esempio, la lampada nel rivelatore) vengono arrestati al fine di evitare che il modulo si surriscaldi.

Probabile causa

- 1 Cavo della ventola scollegato.
- 2 Ventola difettosa.
- 3 Scheda principale difettosa.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Messaggi di errore del rivelatore

Lamp Cover Open

Error ID: 6622, 6731

Coperchio della lampada aperto

Il coperchio della lampada nel comparto ottico è stato rimosso. La lampada non può essere accesa finché è visualizzato questo messaggio.

Probabile causa

- 1 Coperchio della lampada rimosso.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

FLF Board not found

Error ID: 6620, 6730

Scheda FLF non trovata

La scheda principale (FLM) non ha individuato la scheda FLF. Questo messaggio viene visualizzato unitamente ad altri messaggi generati sulla scheda FLF (per esempio relativi a perdite e così via).

Probabile causa

- 1 Scheda FLF non collegata alla scheda FLM.
- 2 Scheda FLF difettosa.
- 3 Scheda FLM difettosa.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

ADC Not Calibrated

Error ID: 6621, 6732

ADC non calibrato

Il convertitore analogico-digitale situato sulla scheda FLF non può essere calibrato.

Probabile causa

- 1 Convertitore ADC difettoso o altri componenti elettronici FLF difettosi.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

A/D Overflow

Error ID: 6618, 6619

Saturazione A/D

Questo messaggio non è implementato nel firmware A.03.66 e versioni precedenti.

Indica una situazione di sovraccarico del convertitore A/D (segnale del campione). Nell'interfaccia utente viene visualizzata una condizione di non pronto per il rivelatore FLD e nel registro elettronico viene inserita una voce contenente informazioni al riguardo. Se il messaggio compare nel corso di un'analisi, include l'ora in cui si è verificata e l'ora in cui è terminata la saturazione.

1200 FLD 1 A/D overflow (RT is 0.32 min) 16:33:24 02/11/99

1200 FLD 1 A/D overflow finished (RT is 0.67 min)16:33:46 02/11/99

Se questa condizione è presente prima di un'analisi, lo stato di non pronto impedisce al sistema di avviare l'analisi/la sequenza.

Se si utilizza il firmware A.06.11 o una versione successiva, la saturazione A/D genera un picco piatto nel cromatogramma. Per i dettagli, vedere [“Visualizzazione dei limiti ADC”](#), pagina 125.

Probabile causa

- 1 Impostazione PMT eccessiva.
- 2 Impostazione errata della lunghezza d'onda.

Azioni suggerite

- Ridurre il guadagno PMT.
- Modificare l'impostazione della lunghezza d'onda.

Flash Lamp Current Overflow

Error ID: 6704

Saturazione di corrente della lampada flash

La corrente della lampada flash allo xeno viene controllata costantemente. Se la corrente assume un valore eccessivo, viene generato un errore e la lampada viene spenta.

Probabile causa

- 1 Insufficienza del gruppo di accensione o scheda FLL difettosa.
- 2 Insufficienza del gruppo della lampada flash.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.
Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

No light at reference diode despite lamp is on

Error ID: 6721

Assenza di luce sul diodo di riferimento a lampada accesa

- Revisione A/B/C della scheda front-end (FLF):
Non è presente un meccanismo di feedback che verifica se la lampada è accesa! Se nel cromatogramma non compare alcun picco, nell'interfaccia utente è visualizzato ancora lo stato **Ready** per il modulo. Eseguire innanzitutto un "test di intensità della lampada" (vedere ["Test dell'intensità della lampada"](#), pagina 164). Se il profilo dell'intensità è piatto, eseguire le operazioni descritte di seguito.
- Revisione D della scheda front-end (FLF):
L'emissione dei flash della lampada flash allo xeno viene controllata costantemente. Se la lampada non ha emesso alcun flash per più di 100 volte consecutive, viene generato un errore e la lampada viene spenta.

Probabile causa

- 1 Hardware difettoso.

Azioni suggerite

Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Flash Trigger Lost

Error ID: 6722

Perdita dell'accensione del flash

Questo messaggio viene visualizzato quando non viene più generata l'accensione del flash.

Probabile causa

- 1 Problema firmware.
- 2 Modalità multipla disattivata
- 3 Codificatore difettoso.

Azioni suggerite

- Riavviare il rivelatore (spegnere e riaccendere).
- Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.
- Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Wavelength Calibration Failed

Error ID: 6703

Calibrazione della lunghezza d'onda non riuscita

Questo messaggio può essere visualizzato durante una calibrazione della lunghezza d'onda.

Se la deviazione prevista è superiore all'accuratezza della lunghezza d'onda specificata, viene visualizzato il messaggio **“Calibrazione della lunghezza d'onda non riuscita”** e lo strumento rimane in una condizione **Not Ready**.

Probabile causa	Azioni suggerite
1 Lampada flash non accesa o posizione errata.	Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.
2 Posizione della cella errata.	Verificare la posizione della cella.
3 Solvente non pulito nella cella o bolle d'aria nella cella.	Lavare la cella di flusso.
4 Posizione del gruppo del monocromatore errata (dopo la sostituzione).	Rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.

Wavelength Calibration Lost

Error ID: 6691

Perdita della calibrazione della lunghezza d'onda

Dopo aver sostituito i gruppi dei monocromatori, i fattori di calibrazione devono essere reimpostati sui valori predefiniti (la scheda FLM nuova è fornita con valori predefiniti). In questo caso viene visualizzato il messaggio **"Perdita della calibrazione della lunghezza d'onda"** e lo strumento rimane in una condizione **Not Ready**.

Probabile causa

- 1 Reimpostazione delle impostazioni del monocromatore dopo la sostituzione.
- 2 Sostituzione della scheda FLM.

Azioni suggerite

Eseguire una calibrazione della lunghezza d'onda.
Eseguire una calibrazione della lunghezza d'onda.

Flow Cell Removed

Error ID: 6616, 6702, 6760

Cella di flusso rimossa

Il rivelatore è dotato di un sistema automatico di riconoscimento della cella. Quando si rimuove la cella di flusso, la lampada viene spenta e si verifica una condizione **NOT READY**. Se la cella di flusso viene rimossa durante un'analisi, viene generato uno **SHUT DOWN**.

Probabile causa

- 1 La cella di flusso è stata rimossa durante l'analisi.

Azioni suggerite

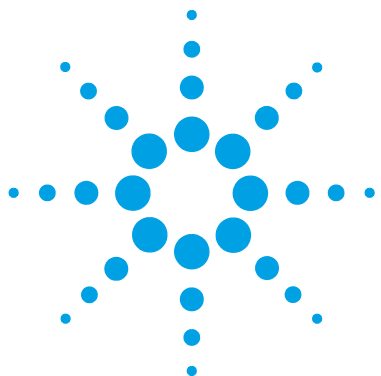
Inserire la cella di flusso e accendere la lampada.

Errori dei motori

NOTA

Gli errori dei motori dei monocromatori possono essere visualizzati durante l'*inizializzazione* o durante il *funzionamento* del rivelatore. Sono presenti messaggi di errore separati per il monocromatore di eccitazione e per il monocromatore di emissione. Se si verifica un errore, eseguire un'accensione della lampada. Questa operazione elimina l'errore e comporta la reinizializzazione dei motori.

Se vengono visualizzati errori dei motori, rivolgersi a un rappresentante dell'assistenza Agilent.



8 Funzioni di test

Introduzione	162
Diagramma del cammino ottico	163
Test dell'intensità della lampada	164
Dati cronologici sull'intensità della lampada	165
Test del rapporto segnale-rumore ASTM Raman	166
Esecuzione del test tramite Agilent Lab Advisor	169
Interpretazione dei risultati	169
Utilizzo del cromatogramma di prova integrato	170
Procedura tramite Agilent Lab Advisor	170
Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda	172
Test di accuratezza della lunghezza d'onda	176
Esecuzione del test tramite Agilent Lab Advisor	176
Interpretazione dei risultati	178
Esecuzione (manuale) del test tramite ChemStation Agilent	179
Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda	183

Nel presente capitolo vengono descritte le funzioni di test integrate nel rivelatore.



Introduzione

Tutti i test descritti si basano sul software Agilent Lab Advisor B.02.03.

Le altre interfacce utente potrebbero non offrire tutti i test o solo alcuni di essi.

Tabella 22 Interfacce e funzioni di test disponibili

Interfaccia	Commento	Funzione disponibile
Agilent Instrument Utilities	I test di manutenzione sono disponibili	• Intensità • Calibrazione della lunghezza d'onda
Agilent Lab Advisor	Sono disponibili tutti i test	• Intensità • Deriva e rumore ASTM • Corrente di buio • Convertitore D/A • Accuratezza della lunghezza d'onda • Calibrazione della lunghezza d'onda • Cromatogramma di test (strumenti) • Scansione spettrale (strumenti) • Informazioni sul modulo (strumenti) • Diagnostica (strumenti)
ChemStation Agilent	Possono essere disponibili alcuni test Aggiunta della temperatura	• Alcuni dei test Lab Advisor
Agilent Instant Pilot	Sono disponibili alcuni test	• Intensità • Calibrazione della lunghezza d'onda • Scansione spettrale (strumenti) • Informazioni sul modulo (strumenti) • Diagnostica

Per ottenere informazioni dettagliate sull'utilizzo dell'interfaccia, fare riferimento alla documentazione dell'interfaccia.

Diagramma del cammino ottico

Il cammino ottico è mostrato in [Figura 53](#), pagina 163.

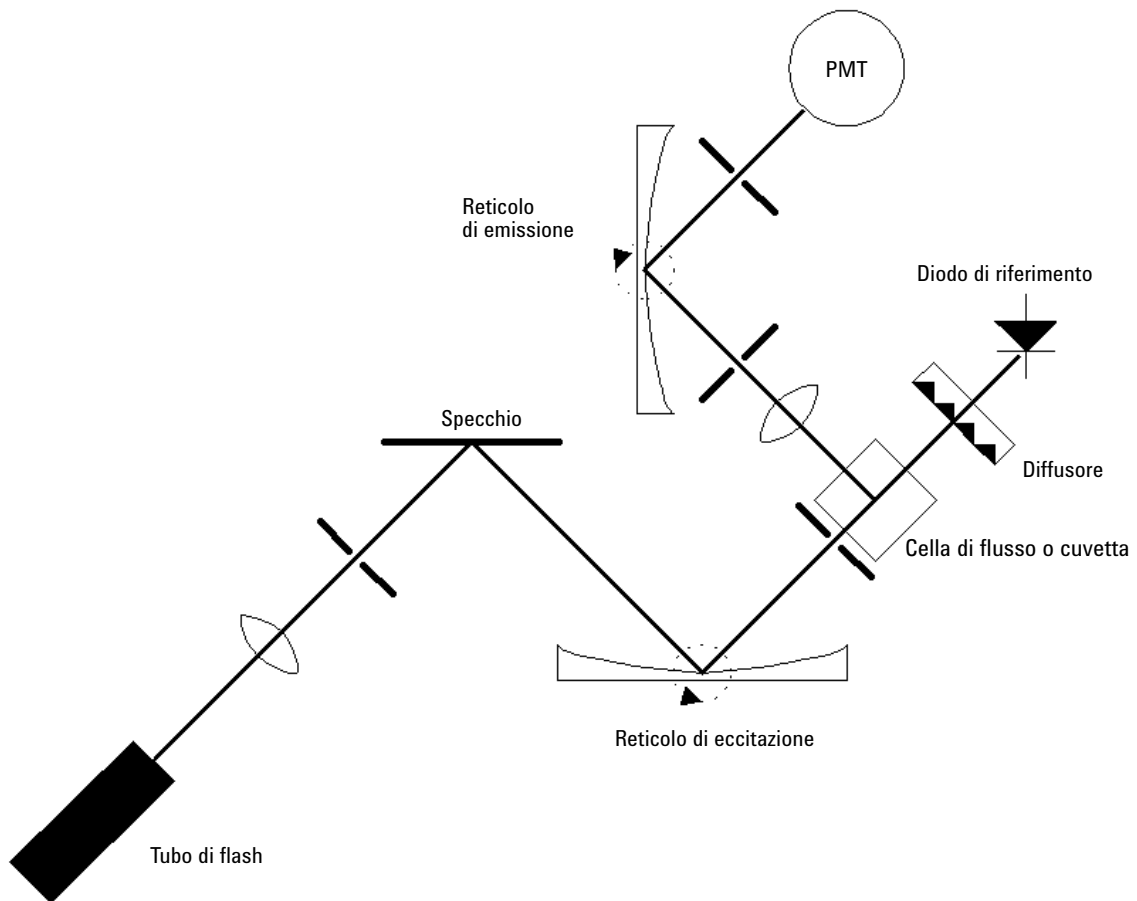


Figura 53 Schema del cammino ottico

Test dell'intensità della lampada

Durante il test dell'intensità della lampada viene acquisito uno spettro dell'intensità tramite il diodo di riferimento (200 - 1200 nm con incrementi di 1 nm) e salvato in una memoria tampone diagnostica. La scansione viene visualizzata in una finestra grafica. Non viene eseguita alcuna ulteriore valutazione del test.

I risultati di questo test sono memorizzati come dati cronologici della lampada (codice della data, intensità).

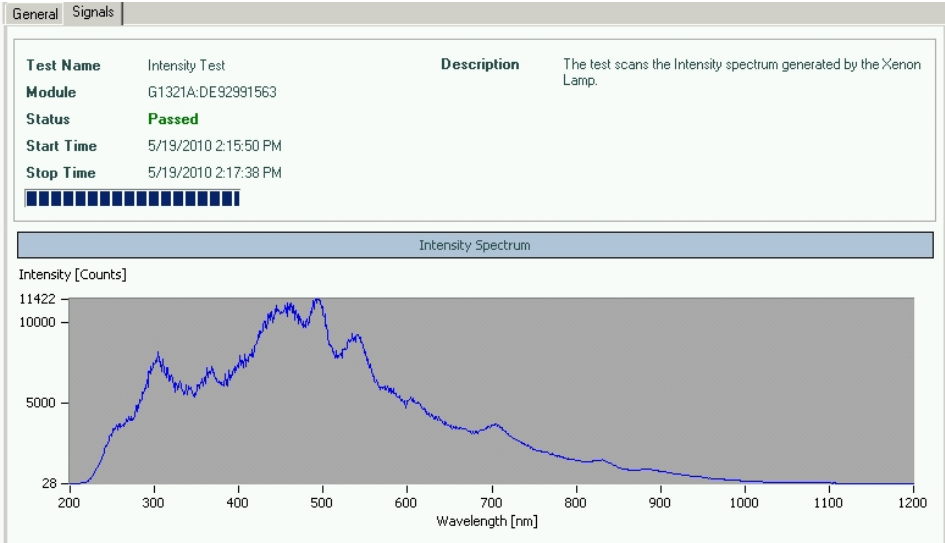


Figura 54 Test dell'intensità della lampada (Agilent Lab Advisor)

NOTA

Il profilo può variare da strumento a strumento. Dipende dall'età della lampada e dal contenuto della cella di flusso (utilizzare acqua appena sostituita).

La degradazione UV, in particolare a lunghezze d'onda inferiori a 250 nm, è significativamente più elevata rispetto alla degradazione nella regione del visibile. In genere, l'impostazione "**LAMP ON during run**" o l'utilizzo della "**economy mode**" consentono di incrementare di un ordine di grandezza la durata della lampada.

Dati cronologici sull'intensità della lampada

I risultati del test dell'intensità della lampada (se l'ultimo test risale a più di una settimana) sono memorizzati come dati cronologici della lampada (codice della data, intensità a 4 diverse lunghezze d'onda: 250 nm, 350 nm, 450 nm e 600 nm) in una memoria tampone. I dati/grafici possono essere recuperati tramite la diagnostica e costituiscono una raccolta di dati di intensità in un determinato periodo di tempo.

Available tables:
Lamp Intensity History

Date	Reference Diode Counts at 250nm	Reference Diode Counts at 350nm	Reference Diode Counts at 450nm	Reference Diode Counts at 600nm
01/28/2013 14:15	2143	2994	7166	3150
12/17/2012 13:55	10	9	9	9
12/17/2012 13:55	9	9	11	10
12/17/2012 13:49	10	11	10	10
10/29/2012 16:48	388	2120	5776	2766
12/08/2011 10:39	88	1004	1227	935
12/06/2011 11:31	576	2155	5532	2679

Figura 55 Dati cronologici sull'intensità della lampada (Agilent Lab Advisor in **Module Info**)

Test del rapporto segnale-rumore ASTM Raman

Questo test verifica il rapporto segnale-rumore ASTM Raman per i rivelatori FLD G1321.

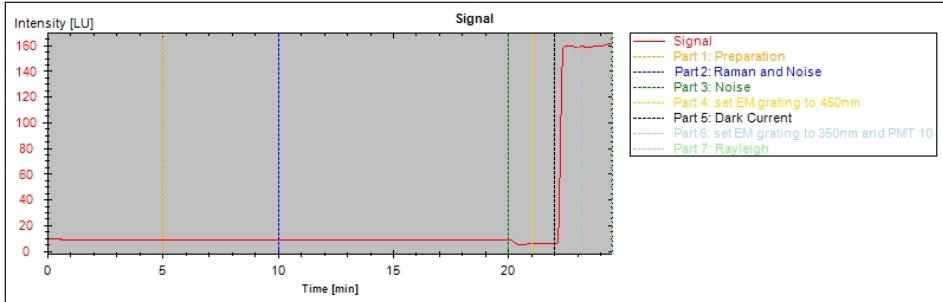


Figura 56 Test del rapporto segnale-rumore ASTM Raman (Lab Advisor)

Le specifiche dipendono dalla versione del rivelatore.

Tabella 23 Specifica del rapporto segnale-rumore ASTM Raman

Strumento	Specifica SNR Raman / Buio	Specifica SNR lunghezza d'onda doppia	Commento
G1321C (1260)	500 / 3000		Scheda FLF revisione D e successive
G1321B (1260)	500 / 3000	300	Scheda FLF revisione D e successive
G1321A (1200)	500	300	Scheda FLF revisione D e successive
G1321A (1100)	400		Scheda FLF revisione B e successive
G1321A (1100)	200		Scheda FLF revisione A

Condizioni: cella di flusso standard (G1321-60005, G5615-60005), flusso di acqua pari a 0,25 mL/min.

NOTA

I valori **Dark** e **Dual WL** sono semplicemente specifiche aggiuntive. Per la verifica standard dello strumento si utilizza soltanto il valore **Raman**.

NOTA

La specifica relativa alla lunghezza d'onda singola in corrispondenza del segnale può essere misurata con Agilent Lab Advisor. Tutte le altre (non utilizzate per la verifica standard) devono essere impostate manualmente con le informazioni riportate in [Tabella 26](#), pagina 167 e in [Tabella 27](#), pagina 168.

Tabella 24 Condizioni del test del rapporto segnale-rumore Raman

Durata	circa 23 minuti
Cella di flusso standard	G1321-60005, G5615-60005
Solvente	Acqua di grado LC, degassificata
Velocità di flusso	0,25 mL/min
Specifica (lunghezza d'onda singola in corrispondenza del segnale)	>500 (in base alle impostazioni in Tabella 25 , pagina 167)
Specifica (lunghezza d'onda singola in corrispondenza del fondo)	>3000 (in base alle impostazioni in Tabella 26 , pagina 167)
Specifica (lunghezza d'onda doppia)	>300 (in base alle impostazioni in Tabella 27 , pagina 168)

Tabella 25 Impostazioni per le specifiche della lunghezza d'onda singola (in corrispondenza del segnale)

Tempo	EX	EM	PMT	Linea di base
0	350	397	12	Libera
20,30	350	450	12	Libera

Tabella 26 Impostazioni per le specifiche della lunghezza d'onda singola (in corrispondenza del fondo)

Tempo	EX	EM	PMT	Linea di base
0	350	450	14	Libera
20,30	350	397	14	Libera

Tabella 27 Impostazioni per le specifiche della lunghezza d'onda doppia (scansione Multi-EM)

Tempo	EX	EM_A	EM_B	Spettri	Da	A	Passo	PMT	Linea di base	Interpolazione spettri
00.00	350	397	450	Nessuno	280	450	10	12	Libera	OFF
20.30	350	450	450	Nessuno	280	450	10	12	Libera	OFF

Formule per il valore S/N ASTM Raman (vedere [Figura 57](#), pagina 168 per informazioni dettagliate):

$$SNR_{Raman} = \frac{\text{mean_raman (ex = 350, em = 397)} - \text{mean_background (ex = 350, em = 450)}}{\text{noise_raman (ex = 350, em = 397)}}$$

$$SNR_{Dark} = \frac{\text{mean_raman (ex = 350, em = 397)} - \text{mean_background (ex = 350, em = 450)}}{\text{noise_background (ex = 350, em = 450)}}$$

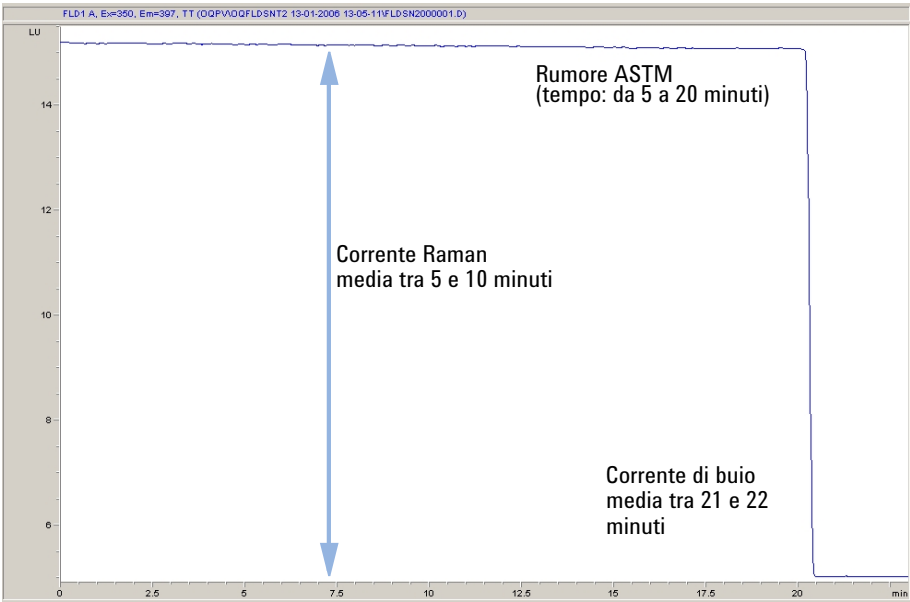


Figura 57 Calcolo del rapporto segnale-rumore ASTM Raman

Esecuzione del test tramite Agilent Lab Advisor

- 1 Impostare il sistema HPLC e Lab Advisor.
- 2 Lavare la cella di flusso con acqua bidistillata pulita.
- 3 Avviare il test in Lab Advisor.

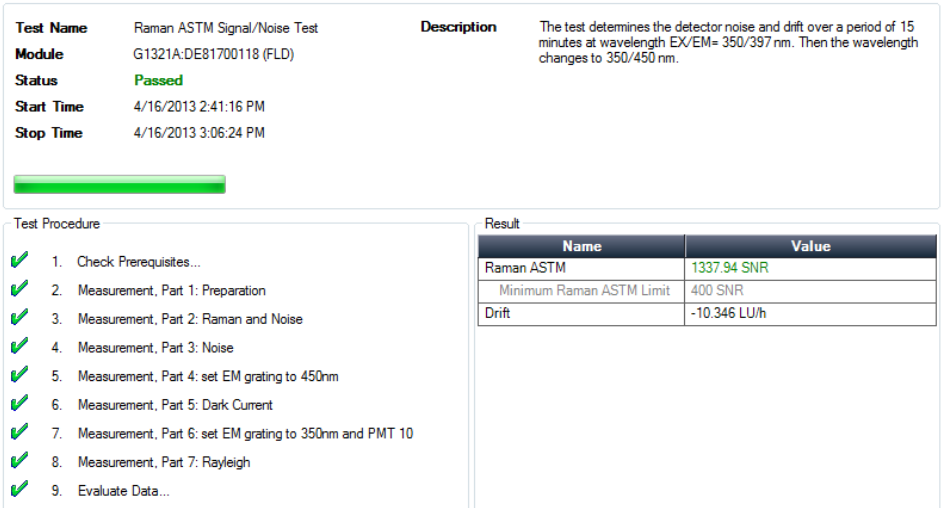


Figura 58 Test del rapporto segnale-rumore ASTM Raman (Agilent Lab Advisor)

Se il test ha esito negativo (come mostrato in precedenza), vedere [“Interpretazione dei risultati”](#), pagina 169.

Interpretazione dei risultati

Se il test indica valori Raman bassi, controllare quanto segue:

- ✓ posizionamento corretto della cella di flusso;
- ✓ pulizia della cella di flusso (lavare con acqua bidistillata pulita);
- ✓ assenza di bolle d'aria (verificare con una scansione in fluorescenza o esaminando visivamente la cella/cuvetta);
- ✓ filtro di ingresso del solvente (può creare bolle d'aria nella cella di flusso).

Utilizzo del cromatogramma di prova integrato

Questa funzione è disponibile in Agilent ChemStation, Lab Advisor e Instant Pilot.

Il cromatogramma di prova integrato può essere utilizzato per verificare il percorso del segnale dal rivelatore al sistema di dati e all'analisi dei dati o tramite l'uscita analogica all'integratore o al sistema di dati. Il cromatogramma viene ripetuto in continuo finché non viene arrestato tramite tempo finale o arresto manuale.

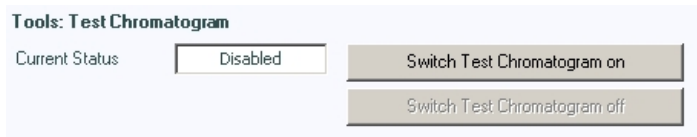
NOTA

L'altezza del picco è sempre la stessa ma area e tempo di ritenzione dipendono dall'ampiezza del picco impostata; vedere l'esempio riportato di seguito.

Procedura tramite Agilent Lab Advisor

Questa procedura è valida per tutti i rivelatori Agilent 1200 Infinity (DAD, MWD, VWD, FLD e RID). La figura di esempio è relativa al caso del rivelatore RID.

- 1 Assicurarsi che il metodo LC predefinito sia caricato tramite il software di controllo.
- 2 Avviare il software Agilent Lab Advisor (B.01.03 SP4 o versione successiva) e aprire la selezione **Tools** del rivelatore.
- 3 Aprire la schermata del cromatogramma di prova.



- 4 Attivare la funzione **Test Chromatogram**.
- 5 Passare a **Module Service Center** del rivelatore e aggiungere il segnale del rivelatore alla finestra Signal Plot (Grafico del segnale).

- 6 Per avviare un cromatogramma di prova immettere quanto segue nella riga di comando: STRT

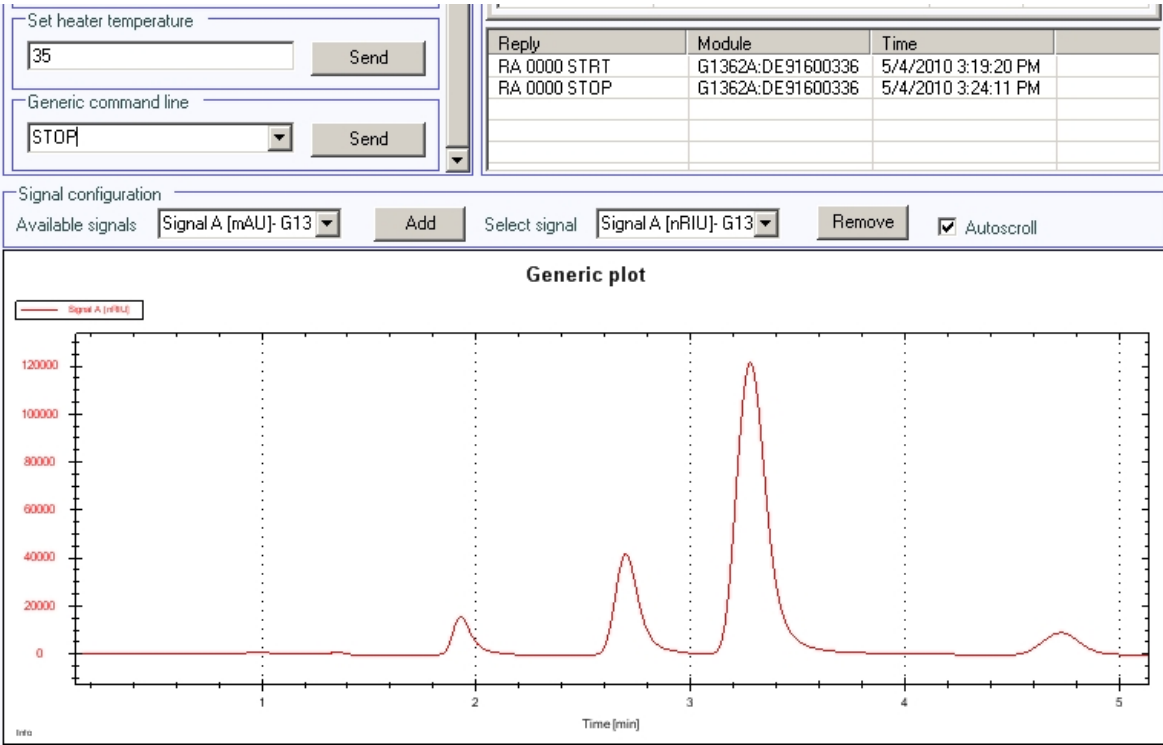


Figura 59 Cromatogramma di prova con Agilent Lab Advisor

- 7 Per interrompere il cromatogramma di prova immettere quanto segue nella riga di comando: STOP

NOTA

Il cromatogramma di prova viene disattivato automaticamente al termine di un'analisi.

Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda

La calibrazione della lunghezza d'onda viene effettuata con una soluzione di glicogeno, che agisce come forte disperdente elastico della luce (fare riferimento al metodo di test ASTM E388-72-1993 “*Spectral Bandwidth and Wavelength Accuracy of Fluorescence Spectrometers*”). La soluzione di glicogeno viene introdotta nella cella di flusso; quindi si utilizza la funzionalità integrata di calibrazione della lunghezza d'onda.

L'algoritmo si basa sulla valutazione di differenti ordini di reticolo e sul calcolo delle scale di lunghezza d'onda per entrambi i monocromatori (eccitazione ed emissione) applicando l'equazione fondamentale del reticolo.

NOTA

Una calibrazione completa della lunghezza d'onda non è sempre necessaria. Nella maggior parte dei casi è sufficiente una rapida verifica dell'accuratezza della lunghezza d'onda; vedere [Tabella 28](#), pagina 172.

Tabella 28 Motivi per eseguire una verifica o calibrazione

	Verifica	Calibrazione della lunghezza d'onda
interesse	X	
conformità GLP	X	
sostituzione della cella	X	(X)
sostituzione della lampada	X	(X)
sostituzione del monocromatore		X
sostituzione della scheda principale		X
sostituzione dell'unità ottica		X

(X): necessario soltanto se la deviazione è eccessiva.

NOTA

Prima di eseguire una calibrazione della lunghezza d'onda, effettuare una verifica dell'accuratezza della lunghezza d'onda; vedere [“Test di accuratezza della lunghezza d'onda”](#), pagina 176. Se la deviazione è superiore a ± 3 nm, eseguire la calibrazione della lunghezza d'onda come descritto in [“Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda”](#), pagina 183.

NOTA

La durata della procedura di calibrazione della lunghezza d'onda è di circa 15 minuti, più il tempo necessario per preparare il campione per la calibrazione e il sistema. A seconda del valore massimo di intensità rilevato durante questa scansione, il valore del guadagno PMT viene modificato automaticamente; questa operazione richiede 1 minuto aggiuntivo per scansione.

In [Tabella 29](#), pagina 175 sono mostrate le fasi in cui è articolata la calibrazione della lunghezza d'onda.

Il reticolo di eccitazione e il reticolo di emissione vengono calibrati utilizzando la luce parassita Rayleigh (dalla cella di flusso o dalla cuvetta) misurata con il fotomoltiplicatore.

8 Funzioni di test
Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda

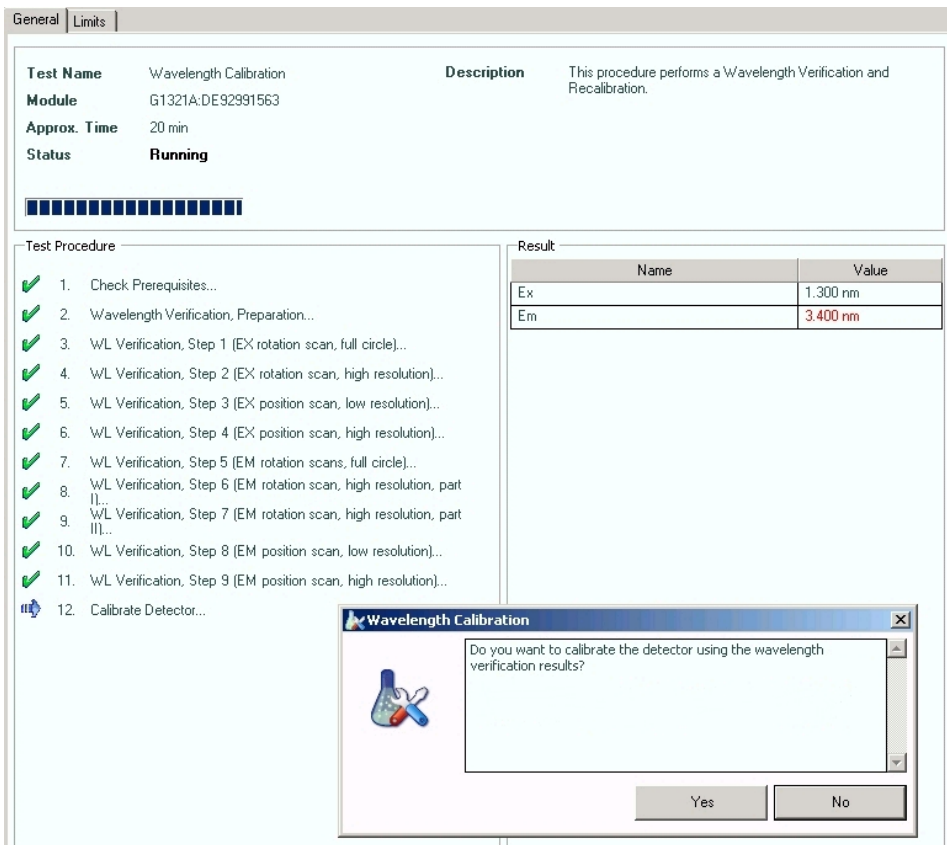


Figura 60 Calibrazione della lunghezza d'onda (Agilent Lab Advisor)

Tabella 29 Fasi della calibrazione della lunghezza d'onda

Fase	Descrizione	Durata
1	Preparazione	massimo 30 s
2	Scansione rotazionale di eccitazione, cerchio completo	60 s
3	Scansione rotazionale di eccitazione, alta risoluzione	44 s
4	Scansione della posizione di eccitazione, bassa risoluzione	55 s (variabile)
5	Scansione della posizione di eccitazione, alta risoluzione	260 s (variabile)
6.n	Scansione rotazionale di emissione, cerchio completo (il numero di scansioni dipende dal guadagno PMT richiesto, 1 minuto per scansione)	61 s (variabile)
6.n	Scansione rotazionale di emissione, cerchio completo (profilo dello strumento)	9 s
6.n	Scansione rotazionale di emissione, cerchio completo (profilo dello strumento)	9 s
6.n	Scansione rotazionale di emissione, cerchio completo (profilo dello strumento)	9 s
6.n	Scansione rotazionale di emissione, cerchio completo (profilo dello strumento)	9 s
7	Scansione rotazionale di emissione, alta risoluzione, parte I	44 s
8	Scansione rotazionale di emissione, alta risoluzione, parte II	44 s
9	Scansione della posizione di emissione, bassa risoluzione	50 s (variabile)
10	Scansione della posizione di emissione, alta risoluzione	250 s (variabile)

NOTA

Variabile indica che la procedura potrebbe richiedere tempi leggermente più lunghi.

Quando la lampada è spenta, il processo di calibrazione si interrompe entro le prime due fasi e viene visualizzato il messaggio “Wavelength Calibration Failed” (Calibrazione della lunghezza d'onda non riuscita); vedere [“Wavelength Calibration Failed”](#), pagina 158.

Test di accuratezza della lunghezza d'onda

Esecuzione del test tramite Agilent Lab Advisor

- 1 Impostare il sistema HPLC e Agilent Lab Advisor.
- 2 Lavare la cella di flusso con acqua bidistillata pulita.
- 3 Accendere la lampada del rivelatore FLD.
- 4 Eseguire il test di accuratezza della lunghezza d'onda.
- 5 Il rivelatore FLD passa alla modalità a multiexcitazione con una lunghezza d'onda di emissione pari a 397 nm ed esegue la scansione nell'intervallo previsto per il massimo ossia $350 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$.

Di conseguenza, i massimi dovrebbero essere individuati a $350 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$; vedere la [Figura 61](#), pagina 176.

Il rivelatore FLD passa alla modalità a multiemissione con una lunghezza d'onda di eccitazione pari a 350 nm ed esegue la scansione nell'intervallo previsto per il massimo ossia $397 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$.

Di conseguenza, i massimi dovrebbero essere individuati a $397 \text{ nm} \pm 3 \text{ nm}$; vedere la [Figura 61](#), pagina 176.

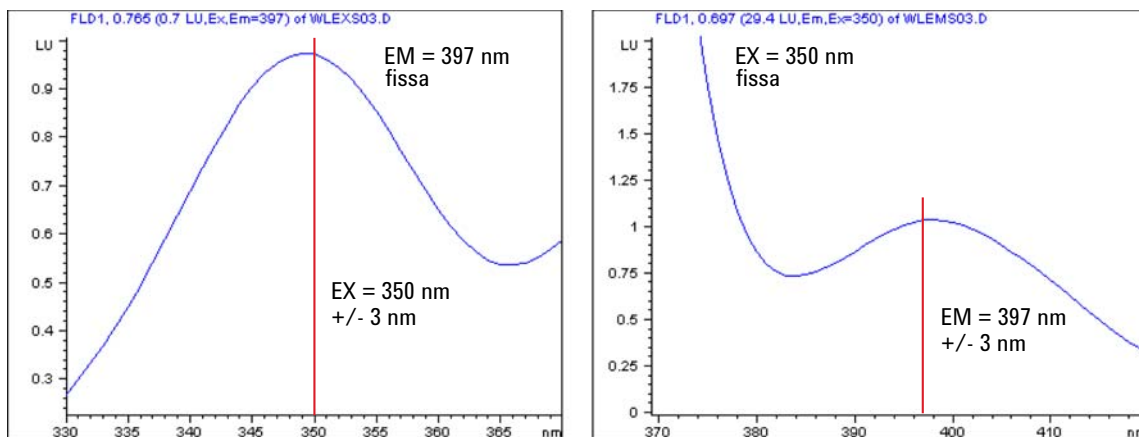


Figura 61 Spettro di eccitazione e spettro di emissione (risultati previsti)

NOTA

Se i grafici non presentano un massimo intorno a EM=397 nm ed EX=350 nm (± 3 nm) il test ha esito negativo. Fare riferimento a “Interpretazione dei risultati”, pagina 178.

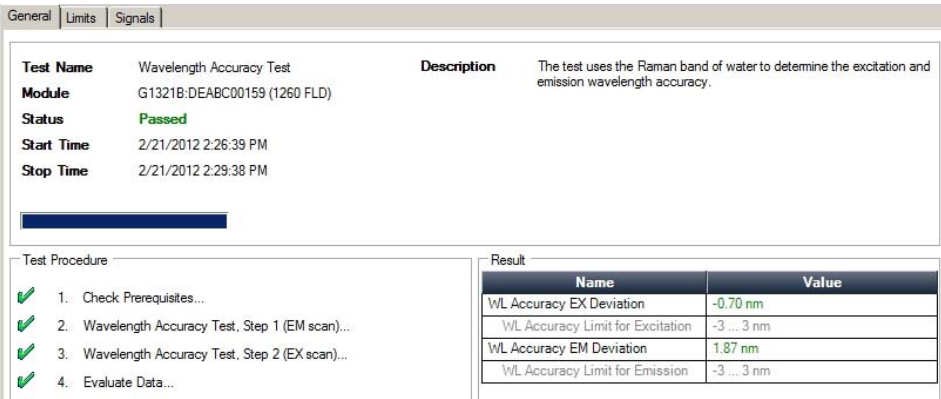


Figura 62 Test di accuratezza della lunghezza d'onda con Lab Advisor

Se il test ha esito negativo, osservare i massimi EX o EM nella scheda **Signals**.

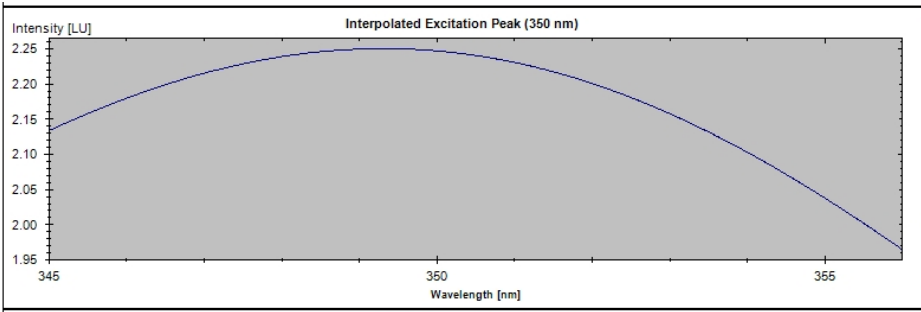


Figura 63 Esempio di massimi EX validi

Se i grafici non presentano un massimo intorno a EM=397 nm ed EX=350 nm (± 3 nm) il test ha esito negativo; vedere la figura che segue. Fare riferimento a “Interpretazione dei risultati”, pagina 178.

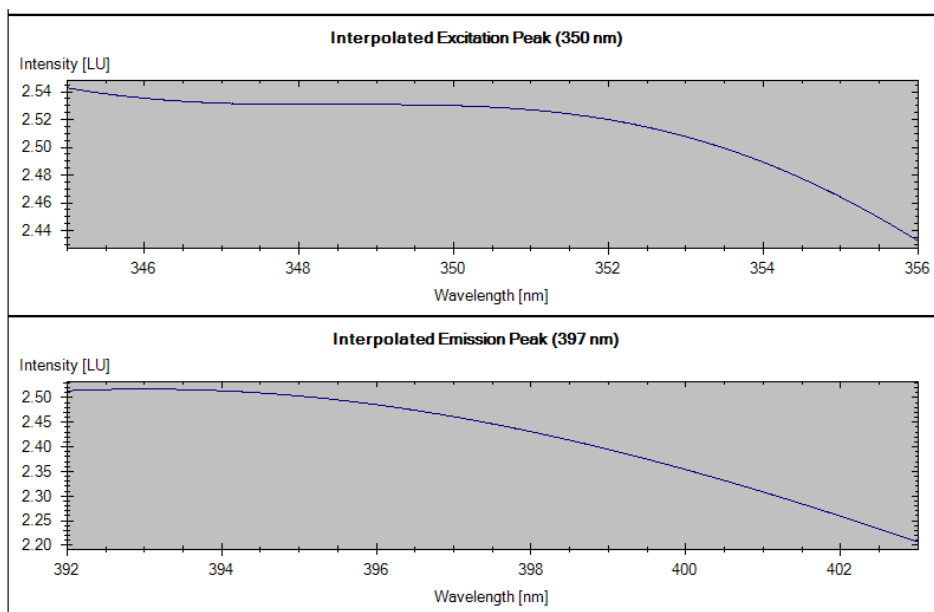


Figura 64 Esempio di massimi EX/EM non validi (nessun massimo individuato)

Interpretazione dei risultati

Se il test ha esito negativo, controllare quanto segue:

- ✓ posizionamento corretto della cella di flusso;
- ✓ pulizia della cella di flusso (lavare con acqua bidistillata pulita);
- ✓ assenza di bolle d'aria (verificare con una scansione in fluorescenza o esaminando visivamente la cella/cuvetta);
- ✓ filtro di ingresso del solvente (può creare bolle d'aria nella cella di flusso).
- ✓ verificare l'eventuale presenza di contaminazione nel cammino ottico (manutenzione)
- ✓ controllare l'allineamento della lampada / il gruppo di accensione (manutenzione)
- ✓ eseguire una calibrazione della lunghezza d'onda

Esecuzione (manuale) del test tramite ChemStation Agilent

- 1 Creare i metodi WLEMTEST e WLEXTEST come indicato in [Tabella 30](#), pagina 179.

Tabella 30 Impostazioni dei metodi

Impostazione	Verifica della lunghezza d'onda EM 397 nm WLEMTEST	Verifica della lunghezza d'onda EX 350 nm WLEXTEST
Ampiezza del picco	>0,2 min (4 s, standard)	>0,2 min (4 s, standard)
Interpolazione intervallo spettrale	OFF	OFF
Guadagno PMT	12	12
Lampada flash	ON	ON
Intervallo spettrale	EM 367 - 417 nm passo 1 nm	EX 330 - 380 nm passo 1 nm
Memorizzazione spettri	Tutti senza segnale	Tutti senza segnale
Lunghezza d'onda EX	350 nm, ON	350 nm, OFF
Lunghezza d'onda EM	397 nm, OFF	397 nm, ON
Impostazioni lunghezza d'onda multipla	Multi EM	Multi EX

8 Funzioni di test

Test di accuratezza della lunghezza d'onda

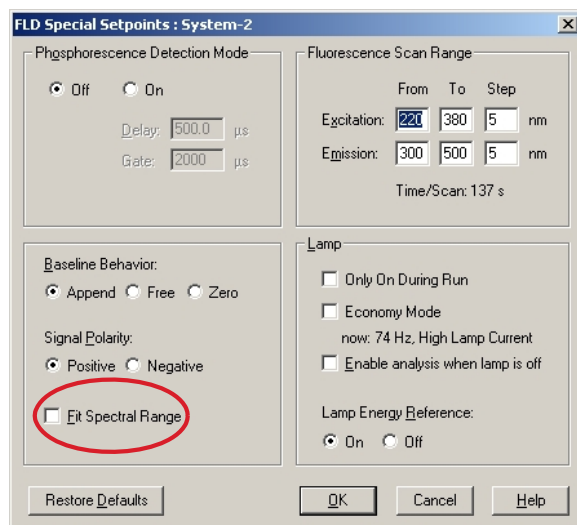


Figura 65 Impostazioni speciali dei valori di regolazione

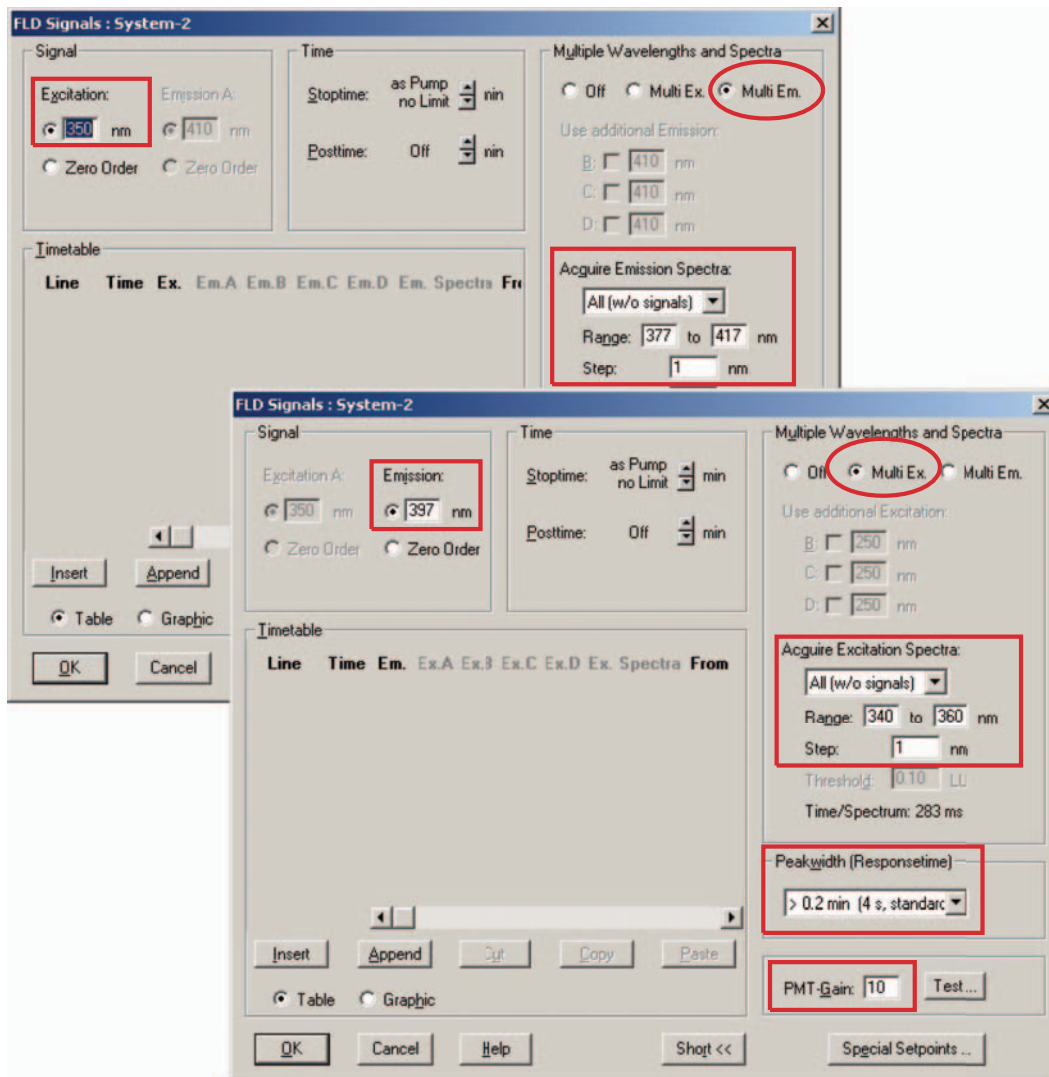


Figura 66 Impostazioni per la scansione EM / EX

- 2 Caricare il metodo **WLEXTTEST**. Il rivelatore FLD passa alla modalità a multi-emissione ed esegue la scansione nell'intervallo previsto per il massimo ossia 397 nm $\pm$ 20 nm.

- 3 Avviare la pompa e lavare la cella con acqua per alcuni minuti per assicurarsi che la cella di flusso sia pulita. La velocità di flusso deve essere compresa tra 0,5 e 1 mL/min e la linea di base deve essere stabile.

NOTA

È possibile rimuovere la cella di flusso e verificare l'eventuale presenza di bolle d'aria. Dopo aver reinserito la cella, accendere la lampada.

- 4 Aprire il grafico Online Spectra (Spettri in linea) e osservare il massimo come indicato in [Figura 61](#), pagina 176 (sinistra).
- 5 Caricare il metodo **WLEMTEST**. Il rivelatore FLD passa alla modalità a multi-eccitazione ed esegue la scansione nell'intervallo previsto per il massimo ossia 350 nm $\pm$ 20 nm.
- 6 Aprire il grafico Online Spectra (Spettri in linea) e osservare il massimo come indicato in [Figura 61](#), pagina 176 (destra).

Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda

Quando Se l'applicazione lo richiede; in alternativa vedere la [Tabella 29](#), pagina 175.

Strumenti richiesti **Descrizione**
Bilancia da laboratorio

Parti richieste	Codice	Descrizione
	5063-6597	Campione di calibrazione (glicogeno)
	9301-1446	Siringa
	9301-0407	Ago della siringa
	5190-5111	Filtro per siringa, 0,45 µm, confezione da 100
	0100-1516	Raccordi

- 1** Preparazione del campione di glicogeno per la calibrazione.
 - a** Per preparare 10 mL di soluzione di calibrazione è necessario utilizzare 10 mg del campione di glicogeno (una tolleranza pari a $\pm 20\%$ non è critica).
 - b** Versare la quantità preparata in un vial o in una bottiglia adatti.
 - c** Aggiungere al vial 10 mL di acqua distillata e agitare.
 - d** Attendere 5 minuti e agitare nuovamente. Una volta trascorsi 10 minuti, la soluzione è pronta.
- 2** Preparazione della cella di flusso.
 - a** Lavare la cella di flusso con acqua.
 - b** Staccare il capillare di ingresso dalla cella di flusso.
 - c** Prendere la siringa e fissare l'ago all'adattatore della siringa.
 - d** Aspirare nella siringa circa 1,0 mL di campione di calibrazione.
 - e** Tenere la siringa in posizione orizzontale.
 - f** Rimuovere l'ago.

8 Funzioni di test

Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda

- g Aggiungere il filtro alla siringa e montare l'ago sul filtro.

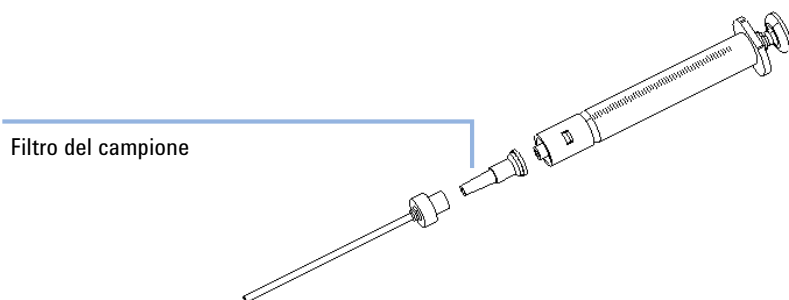


Figura 67 Siringa con filtro del campione

- h Sollevare la punta dell'ago ed espellere con cautela circa 0,5 mL per eliminare l'aria dalla siringa e lavare l'ago.
- i Aggiungere il raccordo in PEEK alla punta dell'ago e fissare entrambi i componenti all'ingresso della cella di flusso

NOTA

Non iniettare il campione di calibrazione senza aver montato il filtro del campione.

- j Iniettare lentamente circa 0,2 mL e attendere circa 10 secondi prima di iniettare altri 0,1 mL. Questa operazione assicura che la cella sia riempita adeguatamente.
- 3** Calibrazione della lunghezza d'onda.
- a Dall'interfaccia utente avviare la calibrazione della lunghezza d'onda del rivelatore FLD (vedere la [Figura 70](#), pagina 186).
- Agilent Lab Advisor: **Calibrations**
 - ChemStation Agilent: **Diagnosis > Maintenance > FLD Calibration**
 - Instant Pilot (G4208A): **Maintenance > FLD > Calibration**

NOTA

Se la procedura di calibrazione della lunghezza d'onda ha esito negativo, fare riferimento a "Wavelength Calibration Failed", pagina 158.

- b Se viene visualizzato un valore di deviazione, premere **Yes** (Lab Advisor) per effettuare la regolazione su nuovi valori oppure **Adjust** e **OK** (Chem-Station; vedere la pagina successiva). La tabella della cronologia viene aggiornata.

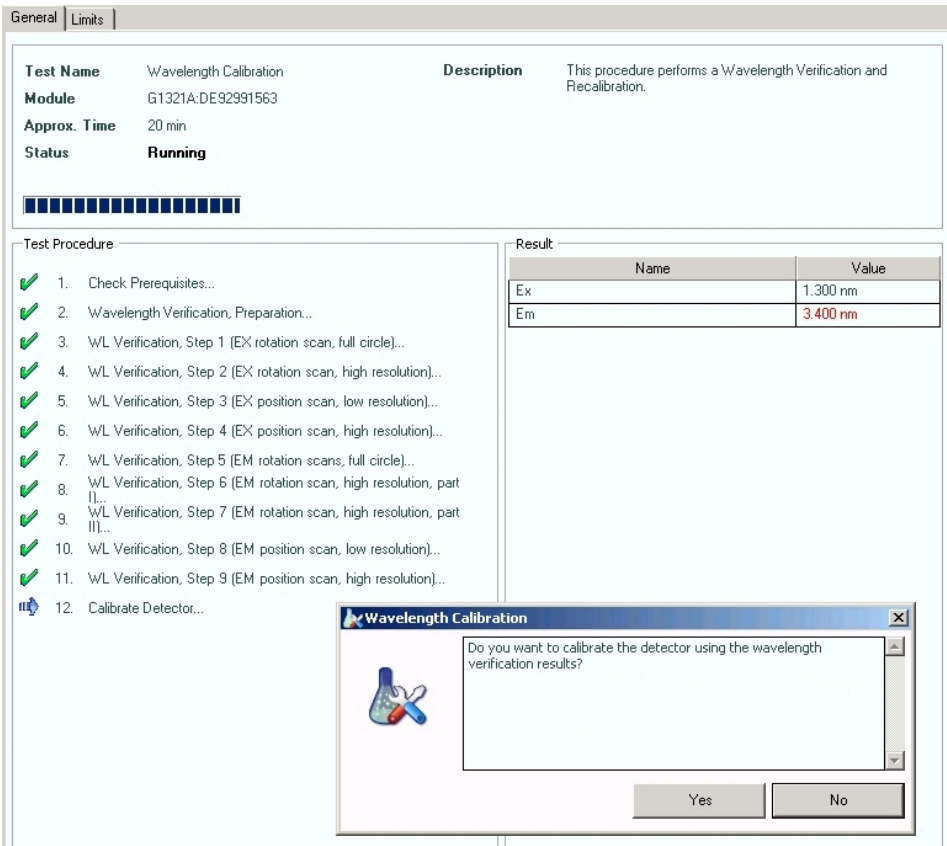


Figura 68 Calibrazione della lunghezza d'onda (Agilent Lab Advisor)

WL Calibration History		
Date	Deviation of Excitation	Deviation of Emission
02/11/2010 12:54	0.3	-1.6
02/09/2010 12:22	0.0	0.0
02/09/2010 11:48	13.2	12.5
10/20/2009 10:41	-2.2	0.5
07/21/2009 13:41	23.2	-1.1
07/21/2009 12:22	0.1	0.1
07/21/2009 11:31	-19.7	-6.6
08/25/2006 12:05	-0.2	0.2
01/09/2006 16:02	-0.2	-0.1
01/09/2006 15:30	0.6	0.8

Figura 69 Cronologia della calibrazione (Agilent Lab Advisor in Module Info (Informazioni sul modulo))

FLD Wavelength Calibration : System-2

Excitation

-12 nm 362.0 nm +12 nm

Emission

-12 nm 362.0 nm +12 nm

Excitation deviat-0.2 nm

Emission deviat-0.1 nm

Abort

Adjust

Calibration settings not equal to measured ones: To calibrate click 'Adjust'.

Calibration history

Deviation		Time	Date
Excitation	Emission		
0.0 nm	0.0 nm	14:54:41	04.04.2001
-0.6 nm	-1.0 nm	10:00:53	06.10.2004
0.6 nm	0.8 nm	15:44:26	09.01.2006

OK

Cancel

Help

Figura 70 Calibrazione della lunghezza d'onda (ChemStation Agilent)

NOTA

Per esaminare la tabella della cronologia (ChemStation) avviare una calibrazione della lunghezza d'onda e interromperla immediatamente. In questo caso non vengono apportate modifiche alla calibrazione.

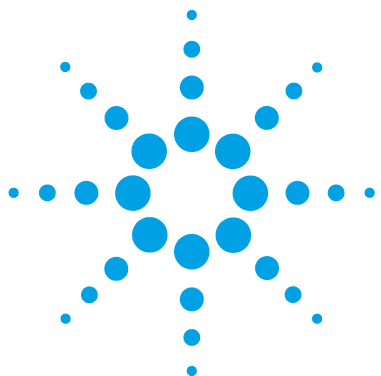
NOTA

Sciacquare la cella di flusso con acqua pura a una velocità di flusso minima di 1,5 mL/min per eliminare il glicogeno dalla cella e dai capillari. Se in seguito si passa a utilizzare un solvente organico (senza sciacquare), può verificarsi l'ostruzione dei capillari.

- 4 Verifica tramite “[Test di accuratezza della lunghezza d'onda](#)”, pagina 176.
 - a Ricollegare il capillare alla cella di flusso.
 - b Seguire la procedura “[Test di accuratezza della lunghezza d'onda](#)”, pagina 176.

8 Funzioni di test

Procedura di calibrazione della lunghezza d'onda



9 Manutenzione

Introduzione alla manutenzione	190
Avvertenze e precauzioni	191
Panoramica sulla manutenzione	193
Pulizia del modulo	194
Sostituzione di una cella di flusso	195
Come utilizzare la cuvetta	199
Lavaggio della cella di flusso	200
Eliminazione delle perdite	201
Sostituzione delle parti del sistema di gestione delle perdite	202
Sostituzione della scheda di interfacciamento	203
Sostituzione del firmware del modulo	204
Test e calibrazioni	205

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni generali sulla manutenzione del rivelatore.



Introduzione alla manutenzione

Il modulo è stato progettato per semplificare al massimo la manutenzione. La manutenzione può essere effettuata dal lato anteriore lasciando il modulo al proprio posto nello stack.

NOTA

All'interno non sono presenti parti soggette a manutenzione.

Non aprire il modulo.

Avvertenze e precauzioni

ATTENZIONE

Solventi, campioni e reagenti tossici, infiammabili e pericolosi

La manipolazione di solventi, campioni e reagenti può condurre a rischi per la salute e la sicurezza.

- Durante l'uso di queste sostanze attenersi alle procedure di sicurezza adeguate (ad esempio, indossare occhiali, guanti e indumenti protettivi) come descritto nella scheda sull'uso e sulla sicurezza dei materiali fornita dal produttore e attenersi sempre alla buona pratica di laboratorio.
 - Il volume delle sostanze deve essere ridotto al minimo necessario per condurre l'analisi.
 - Non usare lo strumento in ambienti in cui siano presenti gas esplosivi.
-

ATTENZIONE

Lesioni oculari provocate dalla luce del rivelatore



La visione diretta della luce UV prodotta dalla lampada del sistema ottico utilizzata in questo prodotto può provocare lesioni oculari.

- Spegnerne sempre la lampada del sistema ottico prima di rimuoverla.
-

ATTENZIONE

Scosse elettriche

Gli interventi di riparazione del modulo possono provocare lesioni personali, quali scosse elettriche, quando il coperchio è aperto.

- Non rimuovere il coperchio del modulo.
 - Solo le persone certificate sono autorizzate a eseguire riparazioni all'interno del modulo.
-

ATTENZIONE

Lesioni fisiche personali e danni allo strumento

Agilent non è responsabile di alcun danno causato, in tutto o in parte, dall'utilizzo sbagliato dei prodotti, da modifiche non autorizzate, da modifiche o adattamenti apportati ai prodotti, dall'omissione nel rispettare le procedure descritte nelle guide per l'utente dei prodotti Agilent o dall'utilizzo dei prodotti in violazione di leggi, norme o regolamenti in vigore.

- Utilizzare i prodotti Agilent solo nel modo descritto nelle guide per l'utente dei prodotti Agilent.
-

AVVERTENZA

Standard di sicurezza dei dispositivi esterni

- Se si collegano dispositivi esterni allo strumento, assicurarsi di utilizzare solo unità accessorie collaudate e approvate secondo gli standard di sicurezza appropriati per il tipo di dispositivo esterno.
-

Panoramica sulla manutenzione

Nelle seguenti pagine vengono descritte le procedure di manutenzione (riparazioni semplici) del rivelatore che possono essere effettuate senza aprire il coperchio principale.

Tabella 31 Riparazioni semplici

Procedura	Frequenza tipica	Note
Sostituzione della cella di flusso	Se l'applicazione richiede un diverso tipo di cella di flusso o se la cella è difettosa.	Gruppo completo Dopo la sostituzione deve essere effettuata la verifica della calibrazione della lunghezza d'onda. Se la cella di flusso viene rimossa e reinserita, viene eseguita una verifica rapida della calibrazione. Se la verifica ha esito negativo, è necessario procedere alla ricalibrazione della lunghezza d'onda; vedere "Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda", pagina 172.
Lavaggio della cella di flusso	Se la cella di flusso è contaminata.	
Asciugatura del sensore delle perdite	Se si è verificata una perdita.	Verificare la presenza di perdite.
Sostituzione del sistema di gestione delle perdite	In caso di rottura o corrosione.	Verificare la presenza di perdite.

Pulizia del modulo

Per pulire il modulo, usare un panno morbido leggermente imbevuto di acqua o una soluzione diluita di acqua e detergente.

ATTENZIONE

L'ingresso di liquidi nel comparto dell'elettronica del modulo può causare scosse elettriche o il danneggiamento del modulo stesso.

- Evitare l'uso di un panno eccessivamente umido durante la pulizia.
 - Svuotare tutte le linee del solvente, prima di aprire qualsiasi collegamento nel circuito idraulico.
-

Sostituzione di una cella di flusso



Con i moduli bioinerti utilizzare esclusivamente parti bioinerti!

Quando Se l'applicazione richiede una cella di flusso di tipo diverso o se la cella è difettosa (presenza di perdite).

Strumenti richiesti **Descrizione**
Chiave, 1/4 inch
per collegamenti capillari

Parti richieste	Quantità	Codice	Descrizione
	1	G1321-60005	Cella di flusso, 8 µL, 20 bar (pH 1 – 9,5)
	1	G1321-60015	Cella di flusso, 4 µL, 20 bar (pH 1 – 9,5)
	1	G5615-60005	Cella di flusso bioinerte, 8 µL, 20 bar (pH 1–12) include kit di capillari per celle di flusso BIO (codice G5615-68755)
	1	G1321-60007	Kit di cuvette FLD, 8 µL, 20 bar

Preparazioni Chiudere il flusso.

AVVERTENZA

Degradazione e contaminazione del campione nello strumento

Le parti metalliche del circuito idraulico possono interagire con le biomolecole del campione e provocare la degradazione e contaminazione del campione.

- Per le applicazioni bioinerti, utilizzare sempre parti bioinerti dedicate, contrassegnate dal simbolo di bioinerzia o dagli altri simboli descritti in questo manuale.
- Non utilizzare parti o moduli misti (bioinerti e non inerti) in un sistema bioinerte.

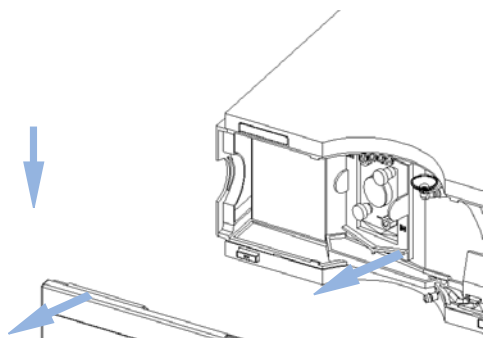
NOTA

NON installare il capillare di ingresso sulla connessione di uscita della cella di flusso. Questa operazione comporta scarse prestazioni.

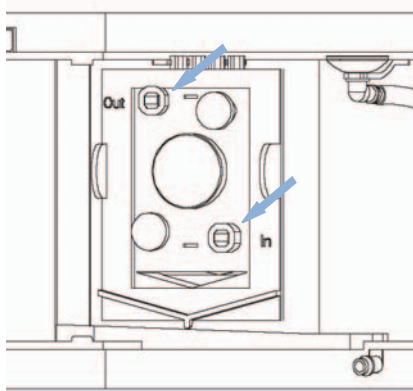
NOTA

Nel caso in cui la cella di flusso non venga utilizzata per un periodo prolungato (stoccata), lavare la cella di flusso con isopropanolo e chiudere la cella tramite Vite a tappo - Raccordo (0100-1259).

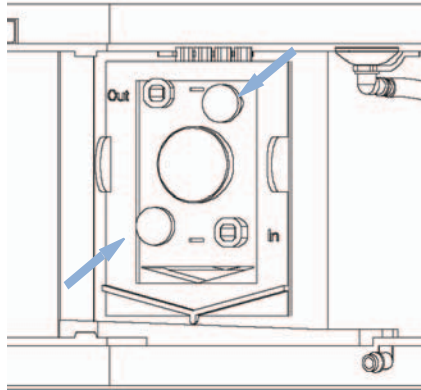
- 1** Premere i tasti di rilascio e togliere il coperchio anteriore per accedere all'area della cella di flusso.



- 2** Staccare i capillari dalla cella di flusso.



- 3** Svitare le viti di tenuta ed estrarre la cella di flusso dallo scomparto.

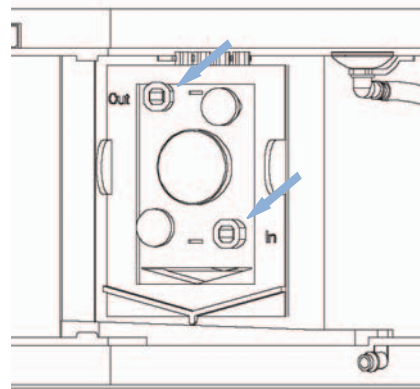


NOTA

Nell'etichetta sulla cella di flusso sono contenute le informazioni relative al numero di codice, al volume della cella e alla pressione massima tollerata. Il tipo di cella viene rilevato automaticamente.

Non vi sono parti sostituibili nella cella di flusso. Se essa è difettosa (perde), deve essere sostituita completamente.

- 4** Inserire la cella di flusso e serrare le viti a testa zigrinata. Ricollegare i capillari alla cella di flusso. **NON** installare il capillare di ingresso sulla connessione di uscita della cella di flusso. Questa operazione comporta scarse prestazioni o provoca danni.



NOTA

Se si aggiunge un altro rivelatore al sistema, il rivelatore a fluorescenza deve essere l'ultimo rivelatore nel circuito idraulico, fatta eccezione per i rivelatori a evaporazione, quali il modello LC-MSD. In caso contrario, la contropressione generata dall'altro rivelatore potrebbe sovraccaricare la cella di flusso e danneggiarla (la pressione massima è 20 bar (2 MPa)).

Utilizzare sempre il set di capillari di uscita in dotazione con il kit degli accessori.

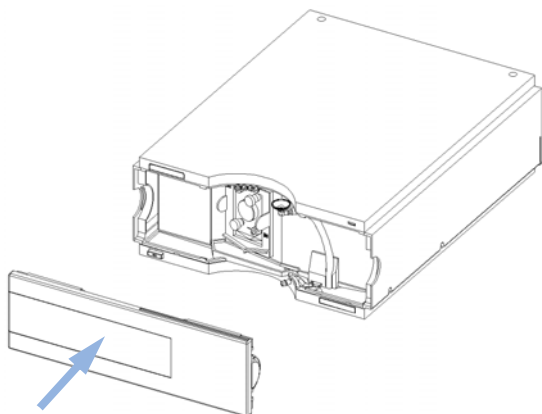
NOTA

Per verificare la presenza di eventuali perdite, avviare il flusso e osservare la cella di flusso (all'esterno del comparto della cella) e tutte le connessioni dei capillari.

9 Manutenzione

Sostituzione di una cella di flusso

- 5 Rimontare il coperchio anteriore.



NOTA

Effettuare la verifica della lunghezza d'onda per controllare il corretto posizionamento della cella di flusso, come descritto nel capitolo “[Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda](#)”, pagina 172.

Come utilizzare la cuvetta

La cuvetta è utilizzata per le misurazioni non in linea (non è richiesto il sistema di flusso) e in pratica è una cella di flusso standard con alcune modifiche:

- collegamenti con capillari wide-bore per facilitare le iniezioni tramite siringa
 - leva di identificazione per il sistema di riconoscimento automatico della cella.
- 1** Installare la cuvetta al posto della cella di flusso standard.
 - 2** Collegare il tubo di scarico all'uscita della cuvetta.
 - 3** Utilizzare la siringa (vedere [“Kit di cuvette”](#), pagina 210) per iniettare il composto.
 - 4** Impostare i parametri per la scansione in fluorescenza in Special Setpoints (Valori di controllo speciali).
 - 5** Selezionare "Take Fluorescence Scan" (Esegui scansione a fluorescenza) nell'interfaccia per l'utente per avviare la misurazione off-line.

Lavaggio della cella di flusso

Quando Se la cella di flusso è contaminata

Strumenti richiesti

Descrizione
Siringa di vetro
Adattatore

Parti richieste

Quantità	Descrizione
1	Acqua bidistillata, acido nitrico (65 %), tubi di scarico

ATTENZIONE

Concentrazione pericolosa di acido nitrico

La procedura di lavaggio con acido nitrico non è un rimedio infallibile contro la sporcizia della cella. Deve essere adottata come ultimo tentativo di recupero della cella prima di procedere alla sua sostituzione. Si noti che la cella è un articolo di consumo.

→ Prestare adeguata attenzione alla sicurezza.

NOTA

Solventi acquosi nella cella di flusso possono favorire l'accumulo di alghe. Le alghe emettono fluorescenza. Pertanto, non lasciare solventi acquosi nella cella di flusso per periodi prolungati. Aggiungere piccole percentuali di solventi organici (per esempio acetonitrile o metanolo al 5 % circa).

- 1 Lavare con flusso di acqua bidistillata.
- 2 Lavare introducendo acido nitrico (65%) tramite una siringa in vetro.
- 3 Lasciare la soluzione nella cella per circa un'ora.
- 4 Lavare con flusso di acqua bidistillata.

NOTA

Non superare i limiti di pressione previsti per la cella: 20 bar (0,2 MPa).

Eliminazione delle perdite

Quando Nel caso si sia verificata una perdita nella zona della cella di flusso o in corrispondenza dei collegamenti capillari.

Strumenti richiesti

Descrizione

Panno

Chiave, 1/4 inch
per collegamenti capillari

- 1 Togliere il coperchio anteriore.
- 2 Usare il panno per asciugare la zona del sensore di perdita ed il piatto di raccolta delle perdite.
- 3 Verificare l'eventuale presenza di perdite alle connessioni dei capillari e nella zona della cella di flusso: eliminarle se necessario.
- 4 Rimontare il coperchio anteriore.

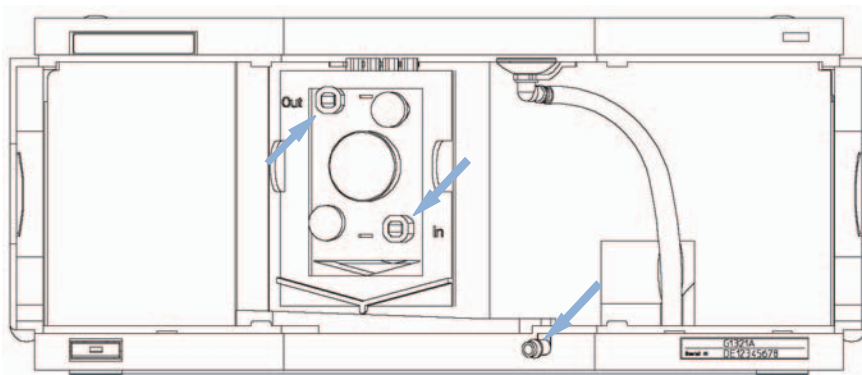


Figura 71 Zone dove verificare la presenza di eventuali perdite

Sostituzione delle parti del sistema di gestione delle perdite

Quando Nel caso in cui le parti risultino corrose o rotte

Parti richieste	Quantità	Codice	Descrizione
	1	5041-8388	Imbuto per le perdite
	1	5041-8389	Supporto per imbuto per le perdite
	1	5042-9974	Tubo di raccolta perdite (da 1,5 m, 120 mm)

- 1 Togliere il coperchio anteriore.
- 2 Disinserire l'imbuto di raccolta perdite dal suo supporto.
- 3 Allontanarlo dalla sua posizione insieme al tubo collegato.
- 4 Inserire in posizione il nuovo imbuto di raccolta perdite ed il tubo collegato.
- 5 Inserire l'imbuto di raccolta nel supporto.
- 6 Rimontare il coperchio anteriore.

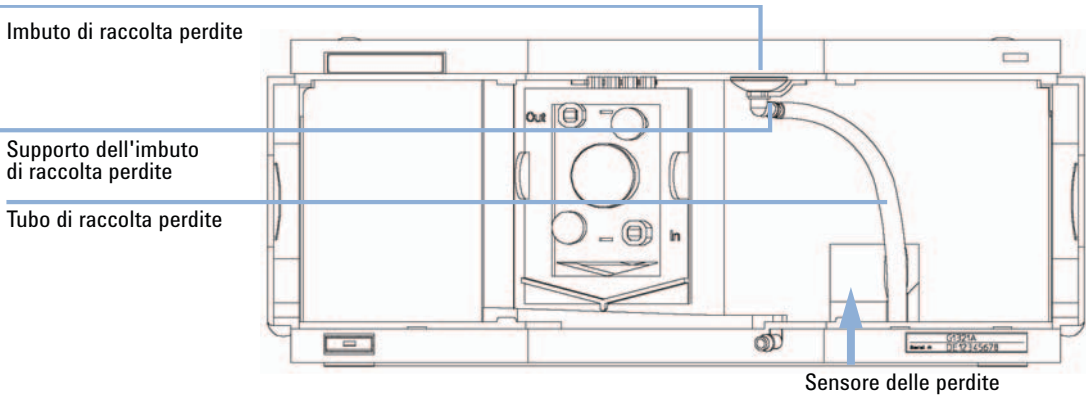


Figura 72 Sostituzione delle parti del sistema di gestione delle perdite

Sostituzione della scheda di interfacciamento

Quando In tutti gli interventi di riparazione del rivelatore o per installare la scheda

Parti richieste	Quantità	Codice	Descrizione
	1	G1351-68701	Scheda di interfaccia (BCD) con contatti esterni ed uscite BCD
	1	G1369B o G1369-60002	Scheda di interfacciamento (LAN)
o	1	G1369C o G1369-60012	Scheda di interfacciamento (LAN)

- 1 Per sostituire la scheda di interfacciamento svitare le due viti, rimuovere la scheda, inserire la scheda di interfacciamento nuova e fissarla con le relative viti.

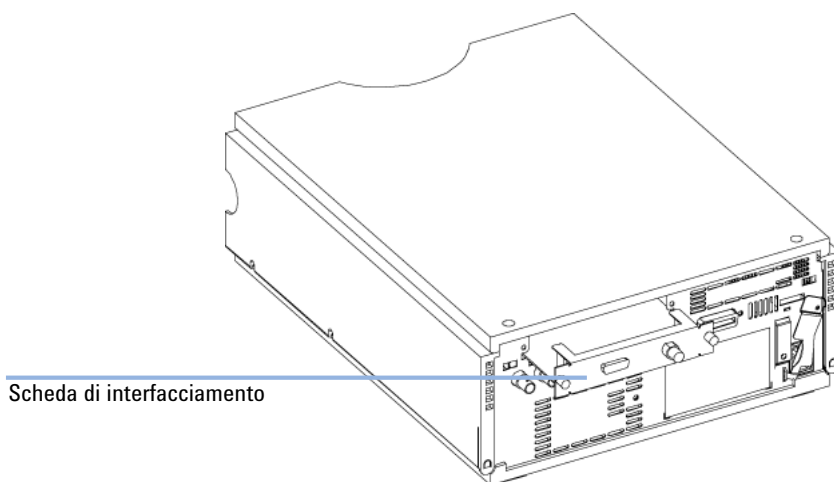


Figura 73 Posizione della scheda di interfacciamento

Sostituzione del firmware del modulo

Quando

L'installazione di firmware più recente può essere necessaria nei seguenti casi:

- se la versione più recente risolve i problemi delle versioni precedenti; oppure
- per fare in modo che tutti i sistemi possiedano la stessa versione (convalidata).

L'installazione di firmware meno recente può essere necessaria nei seguenti casi:

- per fare in modo che tutti i sistemi possiedano la stessa versione (convalidata); oppure
- se al sistema viene aggiunto un nuovo modulo dotato di firmware più recente; oppure
- se il software di controllo di terzi richiede una versione specifica.

Strumenti richiesti

Descrizione

Strumento di aggiornamento del firmware LAN/RS-232

- o Software Agilent Lab Advisor
- o Instant Pilot G4208A
(solo se supportato dal modulo)

Parti richieste

Quantità

Descrizione

1 Firmware, strumenti e documentazione dal sito Web Agilent

Preparazioni

Consultare la documentazione fornita con lo strumento di aggiornamento del firmware.

Per installare una versione successiva/precedente del firmware del modulo, attenersi alla seguente procedura:

- 1 Scaricare il firmware necessario del modulo, la versione più recente dello strumento di aggiornamento del firmware LAN/RS-232 e la documentazione dal sito Web Agilent.
 - http://www.chem.agilent.com/_layouts/agilent/downloadFirmware.aspx?whid=69761
- 2 Per caricare il firmware nel modulo, seguire le istruzioni fornite nella documentazione.

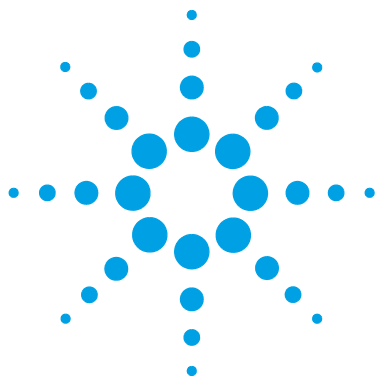
Informazioni specifiche per il modulo

Non esiste alcuna informazione specifica per questo modulo.

Test e calibrazioni

È necessario effettuare i seguenti test dopo aver sottoposto a interventi di manutenzione le lampade e le celle di flusso:

- [“Test dell'intensità della lampada”](#), pagina 164.
- [“Verifica e calibrazione della lunghezza d'onda”](#), pagina 172



10

Parti per la manutenzione

Panoramica sulle parti per la manutenzione 208

Kit di cuvette 210

Kit di accessori 211

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sulle parti per la manutenzione.



Panoramica sulle parti per la manutenzione

Codice	Descrizione
G1321-60005	Cella di flusso, 8 µL, 20 bar (pH 1 – 9,5)
o G1321-60015	Cella di flusso, 4 µL, 20 bar (pH 1 – 9,5) richiede un capillare con diametro interno di 0,12 mm (per esempio codice G1316-87318, lunghezza 300 mm), parte del kit di capillari con diametro interno di 0,12 mm (codice G1316-68716)
o G5615-60005	Cella di flusso bioinerte, 8 µL, 20 bar (pH 1–12) include kit di capillari per celle di flusso BIO (codice G5615-68755)
G5615-68755	Il kit di capillari per celle di flusso BIO include capillare in PEEK da 0,18 mm x 1,5 m e raccordi in PEEK, confezione da 10 (codice 5063-6591)
G1321-60007	Kit di cuvette FLD, 8 µL, 20 bar
9301-0407	Ago della siringa
9301-1446	Siringa
5067-4691	Pannello anteriore DAD/VWD/FLD (1260/1290)
5041-8388	Imbuto per le perdite
5041-8389	Imbuto di raccolta perdite
5041-8387	Gancio per tubo
5062-2463	Tubo corrugato, PP, diametro interno 6,5 mm, 5 m
5062-2462	Tubo in PTFE 0,8 mm x 2 m, riordinazione 5 m
5181-1516	Cavo CAN, Agilent da modulo a modulo, 0,5 m
5181-1519	Cavo CAN, Agilent da modulo a modulo, 1 m
G1369B o G1369-60002	Scheda di interfacciamento (LAN)
5023-0203	Cavo di rete incrociato, schermato, 3 m (per collegamento punto a punto)

Codice	Descrizione
5023-0202	Cavo di rete a coppia intrecciata, schermato, 7 m (per collegamento punto a punto)
01046-60105	Modulo Agilent a cavo per uso generale (analogico)
G1351-68701	Scheda di interfaccia (BCD) con contatti esterni ed uscite BCD

Parti per la calibrazione della lunghezza d'onda; vedere [“Kit di accessori standard”](#), pagina 211.

Kit di cuvette

Codice	Descrizione
G1321-60007	Kit di cuvette per il rivelatore FLD, 8 µL, 20 bar; include:
5062-2462	Tubo in PTFE 0,8 mm x 2 m, riordinazione 5 m
79814-22406	Raccordo ST
0100-0043	Boccola anteriore ST
0100-0044	Boccola posteriore ST
0100-1516	Raccordi
9301-0407	Ago della siringa
9301-1446	Siringa

Kit di accessori

Kit di accessori standard

Kit degli accessori (G1321-68755) contiene alcuni accessori e attrezzi necessari per l'installazione e la riparazione/calibrazione del rivelatore.

Parte	Codice	Descrizione
1	5062-2462	Tubo in PTFE 0,8 mm x 2 m, riordinazione 5 m
2	0100-1516	Raccordi
3	G1315-87311	Capillare ST 0,17 mm x 380 mm S/S Da colonna a rivelatore (include boccia ST anteriore, boccia ST posteriore e raccordo ST)
4	0100-0043	Boccia anteriore ST
5	0100-0044	Boccia posteriore ST
6	79814-22406	Raccordo ST

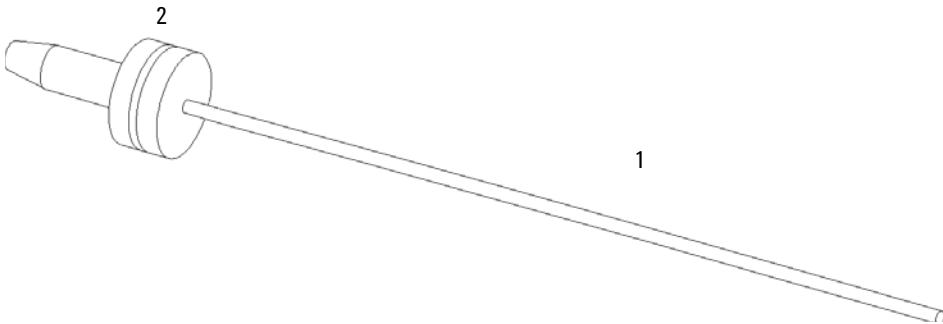


Figura 74 Parti del tubo di scarico

10 Parti per la manutenzione
Kit di accessori

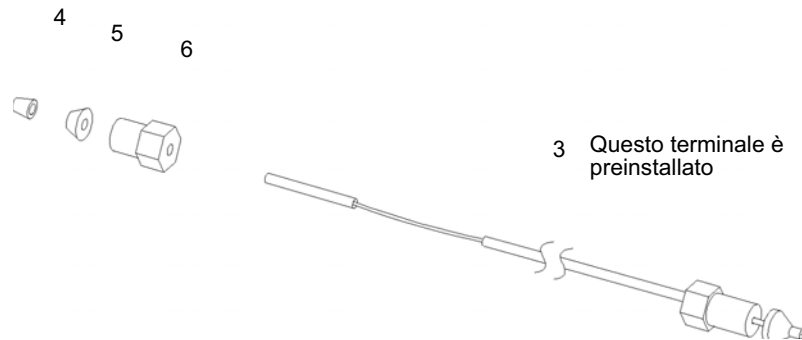
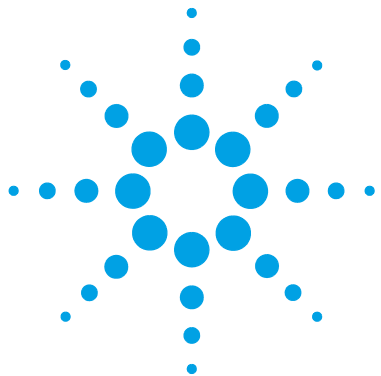


Figura 75 Parti del capillare di ingresso (colonna-rivelatore)

Kit di capillari per celle di flusso BIO

Il kit di capillari per celle di flusso BIO include capillare in PEEK da 0.18 mm x 1.5 m e raccordi in PEEK, confezione da 10 (codice 5063-6591) (G5615-68755) include:

Codice	Descrizione
0890-1763	Capillare in PEEK da 0,18 mm x 1,5 m
5063-6591	Raccordi in PEEK 10/pz.



11 Identificazione dei cavi

Descrizione generale dei cavi [214](#)

Cavi analogici [216](#)

Cavi remoti [218](#)

Cavi BCD [221](#)

Cavi CAN/LAN [223](#)

Cavo di contatto esterno [224](#)

Da modulo Agilent a PC [225](#)

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sui cavi utilizzati con i moduli Agilent serie 1200 Infinity.



Descrizione generale dei cavi

NOTA

Utilizzare solo cavi forniti da Agilent Technologies, in modo da assicurare il funzionamento corretto e la conformità alle norme di sicurezza o alle normative EMC.

Cavi analogici

Codice	Descrizione
35900-60750	Da modulo Agilent a integratori 3394/6
35900-60750	Convertitore 3900A A/D
01046-60105	Cavo analogico (BNC-generico, capocorda a forcella)

Cavi remoti

Codice	Descrizione
03394-60600	Da modulo Agilent a integratori Serie I 3396A 3396 Serie II / Integratore 3395A, vedere dettagli nella sezione “Cavi remoti” , pagina 218
03396-61010	Da modulo Agilent a integratori 3396 Serie III / 3395B
5061-3378	Cavo remoto
01046-60201	Da modulo Agilent a uso generico

Cavi BCD

Codice	Descrizione
03396-60560	Da modulo Agilent a integratori 3396
G1351-81600	Da modulo Agilent a uso generico

Cavi CAN

Codice	Descrizione
5181-1516	Cavo CAN, Agilent da modulo a modulo, 0,5 m
5181-1519	Cavo CAN, Agilent da modulo a modulo, 1 m

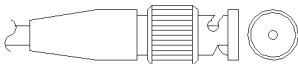
cavi LAN

Codice	Descrizione
5023-0203	Cavo di rete incrociato, schermato, 3 m (per collegamento punto a punto)
5023-0202	Cavo di rete a coppia intrecciata, schermato, 7 m (per collegamento punto a punto)

Cavi RS-232

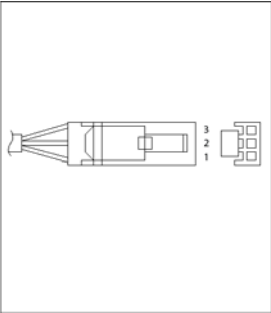
Codice	Descrizione
G1530-60600	Cavo RS-232, 2 m
RS232-61601	Cavo RS-232, 2,5 m Da strumento a PC, da 9 pin a 9 pin (femmina). Questo cavo ha una piedinatura speciale e non è compatibile con le stampanti e i plotter collegati. È noto anche come "cavo null modem" con funzionalità complete di sincronizzazione consensuale (handshake) quando i collegamenti vengono effettuati tra i pin 1-1, 2-3, 3-2, 4-6, 5-5, 6-4, 7-8, 8-7 e 9-9.
5181-1561	Cavo RS-232, 8 m

Cavi analogici

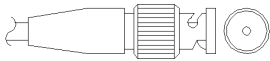


Un'estremità di questi cavi termina con un connettore BNC da collegare ai moduli Agilent. L'altra estremità varia a seconda dello strumento al quale deve essere effettuata la connessione.

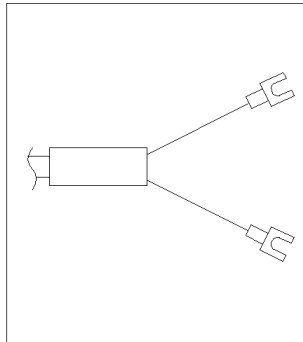
Da modulo Agilent a integratori 3394/6

Codice 35900-60750	Pin 3394/6	Pin modulo Agilent	Nome del segnale
	1		Non collegato
	2	Schermo	Analogico -
	3	Centro	Analogico +

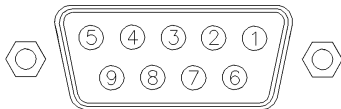
Da modulo Agilent a connettore BNC

codice 8120-1840	Pin BNC	Pin modulo Agilent	Nome del segnale
	Schermo	Schermo	Analogico -
	Centro	Centro	Analogico +

Da modulo Agilent a cavo per uso generale

codice 01046-60105	Pin	Pin modulo Agilent	Nome del segnale
	1		Non collegato
	2	Nero	Analogico -
	3	Rosso	Analogico +

Cavi remoti



Ad un'estremità questi cavi terminano con un connettore APG (Analytical Products Group) remoto Agilent Technologies da collegare ai moduli Agilent. Il connettore all'altra estremità dipende dallo strumento con cui deve essere effettuata la connessione

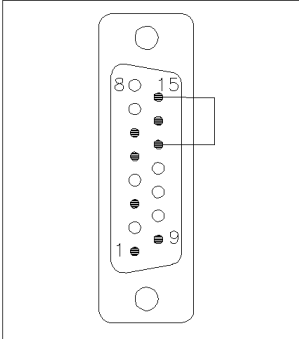
Da modulo Agilent a integratori 3396A

codice 03394-60600	Pin 3396A	Pin modulo Agilent	Nome del segnale	Attività (TTL)
	9	1 - Bianco	Terra digitale	
	NC	2 - Marrone	Preparazione analisi	Bassa
	3	3 - Grigio	Inizio	Bassa
	NC	4 - Blu	Chiusura	Bassa
	NC	5 - Rosa	Non collegato	
	NC	6 - Giallo	Acceso	Alta
	5,14	7 - Rosso	Pronto	Alta
	1	8 - Verde	Arresto	Bassa
	NC	9 - Nero	Richiesta di avvio	Bassa
	13, 15		Non collegato	

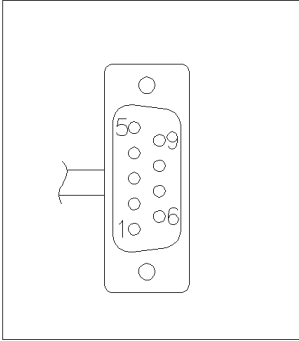
Da modulo Agilent a integratori 3396 Serie II / 3395A

Usare il cavo Da modulo Agilent a integratori Serie I 3396A (03394-60600) e tagliare il pin #5 sul lato dell'integratore. In caso contrario l'integratore riporta START; not ready (Avvio, non pronto).

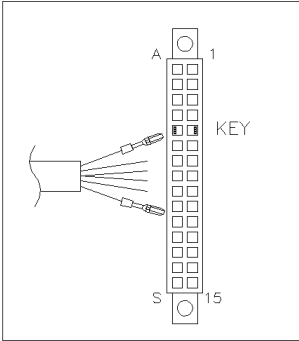
Da modulo Agilent a integratori 3396 Serie III / 3395B

codice 03396-61010	Pin 33XX	Pin modulo Agilent	Nome del segnale	Attività (TTL)
	9	1 - Bianco	Terra digitale	
	NC	2 - Marrone	Preparazione analisi	Bassa
	3	3 - Grigio	Inizio	Bassa
	NC	4 - Blu	Chiusura	Bassa
	NC	5 - Rosa	Non collegato	
	NC	6 - Giallo	Acceso	Alta
	14	7 - Rosso	Pronto	Alta
	4	8 - Verde	Stop	Bassa
	NC	9 - Nero	Richiesta di avvio	Bassa
	13, 15		Non collegato	

Da modulo Agilent a convertitori Agilent 35900 A/D

codice 5061-3378	Pin 35900 A/D	Pin modulo Agilent	Nome del segnale	Attività (TTL)
	1 - Bianco	1 - Bianco	Terra digitale	
	2 - Marrone	2 - Marrone	Preparazione analisi	Bassa
	3 - Grigio	3 - Grigio	Inizio	Bassa
	4 - Blu	4 - Blu	Chiusura	Bassa
	5 - Rosa	5 - Rosa	Non collegato	
	6 - Giallo	6 - Giallo	Acceso	Alta
	7 - Rosso	7 - Rosso	Pronto	Alta
	8 - Verde	8 - Verde	Stop	Bassa
	9 - Nero	9 - Nero	Richiesta di avvio	Bassa

Da modulo Agilent a cavo per uso generale

codice 01046-60201	Colore del conduttore	Pin modulo Agilent	Nome del segnale	Attività (TTL)
	Bianco	1	Terra digitale	
	Marrone	2	Preparazione analisi	Bassa
	Grigio	3	Inizio	Bassa
	Blu	4	Chiusura	Bassa
	Rosa	5	Non collegato	
	Giallo	6	Acceso	Alta
	Rosso	7	Pronto	Alta
	Verde	8	Arresto	Bassa
	Nero	9	Richiesta di avvio	Bassa

Cavi BCD



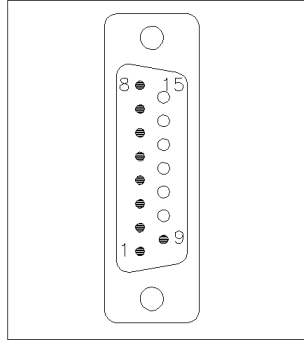
Ad un'estremità questi cavi terminano con un connettore BCD a 15 pin da collegare ai moduli Agilent. Il connettore all'altra estremità dipende dallo strumento con cui deve essere effettuata la connessione

Da modulo Agilent a uso generico

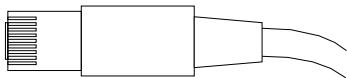
codice G1351-81600	Colore del conduttore	Pin modulo Agilent	Nome del segnale	Codifica BCD
	Verde	1	BCD 5	20
	Viola	2	BCD 7	80
	Blu	3	BCD 6	40
	Giallo	4	BCD 4	10
	Nero	5	BCD 0	1
	Arancione	6	BCD 3	8
	Rosso	7	BCD 2	4
	Marrone	8	BCD 1	2
	Grigio	9	Terra digitale	Grigio
	Grigio/rosa	10	BCD 11	800
	Rosso/blu	11	BCD 10	400
	Bianco/verde	12	BCD 9	200
	Marrone/verde	13	BCD 8	100
	non collegato	14		
	non collegato	15	+ 5 V	Bassa

11 Identificazione dei cavi
Cavi BCD

Da modulo Agilent a integratori 3396

codice 03396-60560	Pin 3396	Pin modulo Agilent	Nome del segnale	Codifica BCD
	1	1	BCD 5	20
	2	2	BCD 7	80
	3	3	BCD 6	40
	4	4	BCD 4	10
	5	5	BCD0	1
	6	6	BCD 3	8
	7	7	BCD 2	4
	8	8	BCD 1	2
	9	9	Terra digitale	
	NC	15	+ 5 V	Bassa

Cavi CAN/LAN



Entrambe le estremità di questo cavo dispongono di un connettore modulare da collegare ai connettori bus CAN o LAN dei moduli Agilent.

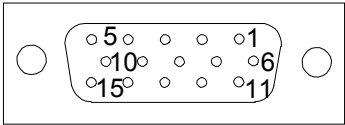
Cavi CAN

Codice	Descrizione
5181-1516	Cavo CAN, Agilent da modulo a modulo, 0,5 m
5181-1519	Cavo CAN, Agilent da modulo a modulo, 1 m

Cavi LAN

Codice	Descrizione
5023-0203	Cavo di rete incrociato, schermato, 3 m (per collegamento punto a punto)
5023-0202	Cavo di rete a coppia intrecciata, schermato, 7 m (per collegamento punto a punto)

Cavo di contatto esterno



A un'estremità questo cavo termina con un connettore a 15 pin da collegare alla scheda di interfacciamento dei moduli Agilent. L'altra estremità è per uso generale.

Da scheda di interfacciamento del modulo Agilent a connettore generale

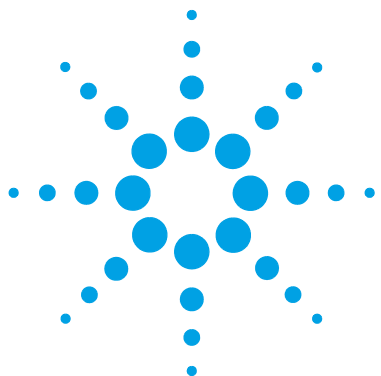
codice G1103-61611	Colore	Pin modulo Agilent	Nome del segnale
	Bianco	1	EXT 1
	Marrone	2	EXT 1
	Verde	3	EXT 2
	Giallo	4	EXT 2
	Grigio	5	EXT 3
	Rosa	6	EXT 3
	Blu	7	EXT 4
	Rosso	8	EXT 4
	Nero	9	Non collegato
	Viola	10	Non collegato
	Grigio/rosa	11	Non collegato
	Rosso/blu	12	Non collegato
	Bianco/verde	13	Non collegato
	Marrone/verde	14	Non collegato
	Bianco/giallo	15	Non collegato

Da modulo Agilent a PC

Codice	Descrizione
G1530-60600	Cavo RS-232, 2 m
RS232-61601	Cavo RS-232, 2,5 m Da strumento a PC, da 9 pin a 9 pin (femmina). Questo cavo ha una piedinatura speciale e non è compatibile con le stampanti e i plotter collegati. È noto anche come "cavo null modem" con funzionalità complete di sincronizzazione consensuale (handshake) quando i collegamenti vengono effettuati tra i pin 1-1, 2-3, 3-2, 4-6, 5-5, 6-4, 7-8, 8-7 e 9-9.
5181-1561	Cavo RS-232, 8 m

11 Identificazione dei cavi

Da modulo Agilent a PC



12 Informazioni sull'hardware

- Descrizione del firmware [228](#)
- Schede di interfacciamento opzionali [231](#)
- Collegamenti elettrici [235](#)
 - Vista posteriore del modulo [236](#)
 - Informazioni sul numero di serie [236](#)
- Interfacce [238](#)
 - Informazioni generali sulle interfacce [241](#)
- Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata) [245](#)
 - Impostazioni della comunicazione per RS-232C [246](#)
 - Impostazioni speciali [248](#)
- Avviso di manutenzione preventiva [250](#)
- Configurazione dello strumento [251](#)

Nel presente capitolo vengono descritti in maggior dettaglio i componenti elettronici e l'hardware del rivelatore.



Descrizione del firmware

Il firmware dello strumento è costituito da due sezioni indipendenti:

- una sezione non specifica per lo strumento, denominata *sistema residente*
- una sezione specifica per lo strumento, denominata *sistema principale*

Sistema residente

La sezione residente del firmware è identica per tutti i moduli Agilent serie 1100/1200/1220/1260/1290. Le sue proprietà sono:

- funzionalità di comunicazione complete (CAN, LAN e RS-232C)
- gestione della memoria
- possibilità di aggiornare il firmware del "sistema principale"

Sistema principale

Le sue proprietà sono:

- funzionalità di comunicazione complete (CAN, LAN e RS-232C)
- gestione della memoria
- possibilità di aggiornare il firmware del "sistema residente"

Inoltre, il sistema principale include le funzioni dello strumento suddivise in funzioni comuni quali

- sincronizzazione delle analisi tramite APG remoto
- gestione degli errori
- funzioni diagnostiche
- oppure funzioni specifiche per il modulo quali
 - eventi interni quali controllo della lampada e spostamenti del filtro
 - raccolta di dati grezzi e conversione in assorbanza.

Aggiornamenti firmware

Gli aggiornamenti del firmware possono essere effettuati dall'interfaccia utente:

- PC e strumento di aggiornamento del firmware con file locali sul disco rigido
- Instant Pilot (G4208A) con file da un disco flash USB
- Software Agilent Lab Advisor B.01.03 e versioni successive

Le convenzioni di denominazione dei file sono:

PPPP_RVVV_XXX.dlb, in cui

PPPP è il codice prodotto, ad esempio 1315AB per il rivelatore DAD G1315A/B,

R è la versione firmware, ad esempio A per il rivelatore DAD G1315B o B per il rivelatore DAD G1315C,

VVV è il numero della versione, ad esempio 102 è la versione 1.02,

XXX è il numero di build del firmware.

Per istruzioni sugli aggiornamenti del firmware fare riferimento alla sezione *Sostituzione del firmware* nel capitolo *Manutenzione* o utilizzare la documentazione fornita con gli *strumenti di aggiornamento del firmware*.

NOTA

L'aggiornamento del sistema principale può essere effettuato solo nel sistema residente.
L'aggiornamento del sistema residente può essere effettuato solo nel sistema principale.

Il firmware residente e principale devono appartenere allo stesso set.

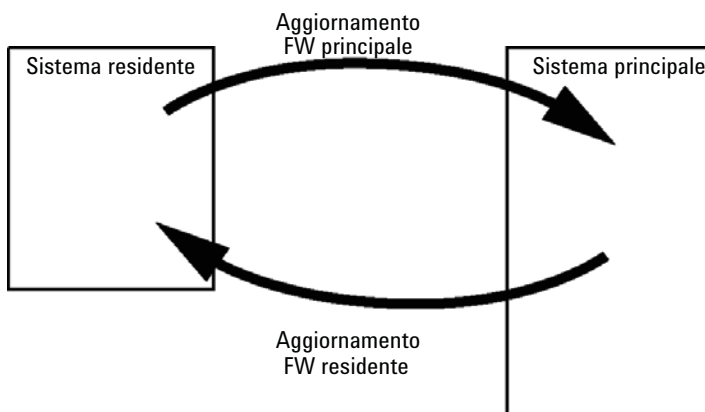


Figura 76 Meccanismo di aggiornamento del firmware

12 Informazioni sull'hardware

Descrizione del firmware

NOTA

In alcuni moduli il passaggio a una versione precedente è limitato a causa della relativa versione della scheda principale o della versione firmware iniziale. Ad esempio, nel caso di un rivelatore DAD SL G1315C non è possibile passare a versioni firmware precedenti la versione B.01.02 o a una versione A.xx.xx.

Alcuni moduli possono essere rinominati (ad esempio da G1314C a G1314B) per consentire il funzionamento in ambienti software di controllo specifici. In questo caso viene utilizzato il set di funzioni del tipo target e quello originale viene perso. Dopo la ridenominazione (ad esempio da G1314B a G1314C), il set di funzioni originale è di nuovo disponibile.

Queste informazioni specifiche sono descritte nella documentazione fornita con gli strumenti di aggiornamento del firmware.

Gli strumenti di aggiornamento del firmware, il firmware e la documentazione sono disponibili sul sito Web Agilent.

- http://www.chem.agilent.com/_layouts/agilent/downloadFirmware.aspx?whid=69761

Schede di interfacciamento opzionali

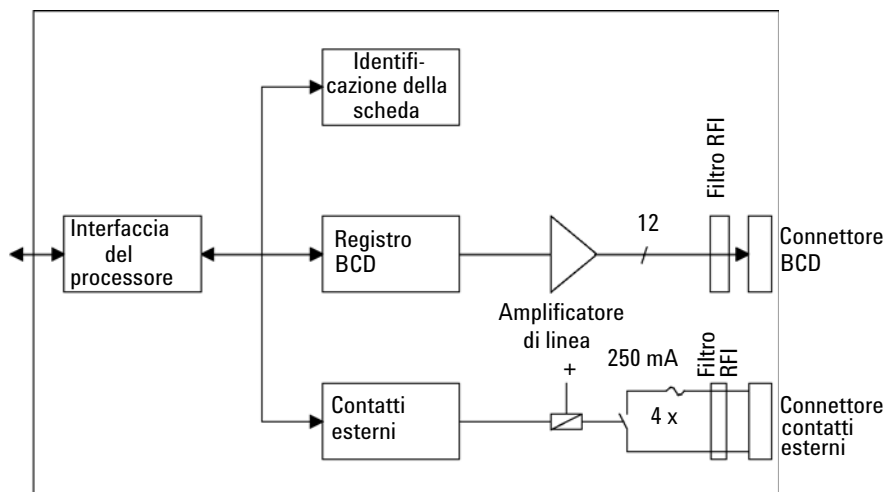
Scheda BCD / contatti esterni

I moduli Agilent serie 1200 Infinity sono dotati di uno slot per scheda opzionale che consente di aggiungere una scheda di interfacciamento ai moduli. Alcuni moduli sono privi di slot di interfaccia. Per informazioni dettagliate fare riferimento a “Interfacce”, pagina 238.

Schede di interfacciamento opzionali

Codice	Descrizione
G1351-68701	Scheda di interfaccia (BCD) con contatti esterni ed uscite BCD
2110-0004	Fusibile per scheda BCD, 250 mA

La scheda BCD rende disponibile un'uscita BCD per il numero di bottiglia dell'autocampionatore Agilent serie 1200 e quattro contatti esterni. I contatti di chiusura esterni sono contatti di relè. Le impostazioni massime sono: 30 V (AC/DC); 250 mA (con fusibile).



12 Informazioni sull'hardware
Schede di interfacciamento opzionali

Sono disponibili cavi per uso generale per collegare l'uscita BCD (vedere la “Cavi BCD”, pagina 221) e le uscite esterne (vedere la “Cavo di contatto esterno”, pagina 224) ai dispositivi esterni.

Tabella 32 Layout dettagliato del connettore (1200)

Pin	Nome del segnale	Cifra BCD
1	BCD 5	20
2	BCD 7	80
3	BCD 6	40
4	BCD 4	10
5	BCD 0	1
6	BCD 3	8
7	BCD 2	4
8	BCD 1	2
9	Terra digitale	
10	BCD 11	800
11	BCD 10	400
12	BCD 9	200
13	BCD 8	100
15	+5V	Bassa

Scheda di interfacciamento per le comunicazioni LAN

I moduli Agilent sono dotati di uno slot per scheda opzionale che consente di aggiungere una scheda di interfacciamento ai moduli. Alcuni moduli sono privi di slot di interfaccia. Per informazioni dettagliate fare riferimento a “Interfacce”, pagina 238.

Codice	Descrizione
G1369B o G1369-60002	Scheda di interfacciamento (LAN)
o G1369C o G1369-60012	Scheda di interfacciamento (LAN)

NOTA

È necessaria una scheda per strumento Agilent 1260 Infinity. Si consiglia di aggiungere la scheda LAN al rivelatore con la velocità di trasferimento dati più elevata.

NOTA

Per la configurazione della scheda di interfacciamento per le comunicazioni LAN G1369 fare riferimento alla relativa documentazione.

Le schede riportate di seguito sono compatibili con i moduli Agilent 1260 Infinity.

Tabella 33 Schede LAN

Tipo	Fornitore	Reti supportate
Scheda di interfacciamento (LAN) (G1369B o G1369-60002) oppure Scheda di interfacciamento (LAN) (G1369C o G1369-60012)	Agilent Technologies	Fast Ethernet, Ethernet/802.3, RJ-45 (10/100Base-TX) <i>consigliato per la riordinazione</i>
Scheda di interfacciamento per la comunicazione LAN (G1369A o G1369-60001)	Agilent Technologies	Fast Ethernet, Ethernet/802.3, RJ-45 (10/100Base-TX) <i>(obsoleto)</i>
J4106A ¹	Hewlett Packard	Ethernet/802.3, RJ-45 (10Base-T)
J4105A ¹	Hewlett Packard	Token Ring/802.5, DB9, RJ-45 (10Base-T)
J4100A ¹	Hewlett Packard	Fast Ethernet, Ethernet/802.3, RJ-45 (10/100Base-TX) + BNC (10Base2)

12 Informazioni sull'hardware

Schede di interfacciamento opzionali

¹ Queste schede potrebbero non essere più ordinabili. La versione minima del firmware di queste schede Hewlett Packard JetDirect è A.05.05.

Cavi LAN consigliati

Codice	Descrizione
5023-0203	Cavo di rete incrociato, schermato, 3 m (per collegamento punto a punto)
5023-0202	Cavo di rete a coppia intrecciata, schermato, 7 m (per collegamento punto a punto)

Collegamenti elettrici

- Il bus CAN è un bus seriale ad alta velocità di trasferimento dei dati. I due connettori per il bus CAN vengono utilizzati per il trasferimento interno dei dati del modulo e per la sincronizzazione.
- Due uscite analogiche indipendenti forniscono i segnali per gli integratori o per la gestione dei dati.
- Lo slot della scheda di interfacciamento viene utilizzato per i contatti esterni e per l'uscita del numero della bottiglia BCD oppure per i collegamenti LAN.
- Il connettore REMOTE può essere utilizzato in combinazione con altri strumenti analitici di Agilent Technologies se si desiderano utilizzare funzioni di avvio, interruzione, arresto comune, preparazione e così via.
- Il connettore RS-232C può essere utilizzato per controllare il modulo tramite un computer, attraverso un collegamento RS-232C, utilizzando il software adatto. Questo connettore viene attivato e può essere configurato tramite l'interruttore di configurazione.
- La presa di alimentazione accetta una tensione di rete compresa nell'intervallo 100 – 240 VAC $\pm$ 10 % con una frequenza di rete di 50 o 60 Hz. Il consumo elettrico massimo varia a seconda del modulo. Il modulo non è dotato di selettore di tensione poiché l'alimentatore è compatibile con un ampio intervallo di tensione. Non sono presenti fusibili accessibili dall'esterno poiché l'alimentatore è dotato di fusibili elettronici automatici.

NOTA

Utilizzare esclusivamente cavi forniti da Agilent Technologies per assicurare il funzionamento corretto e la conformità alle norme di sicurezza o alle normative EMC.

Vista posteriore del modulo

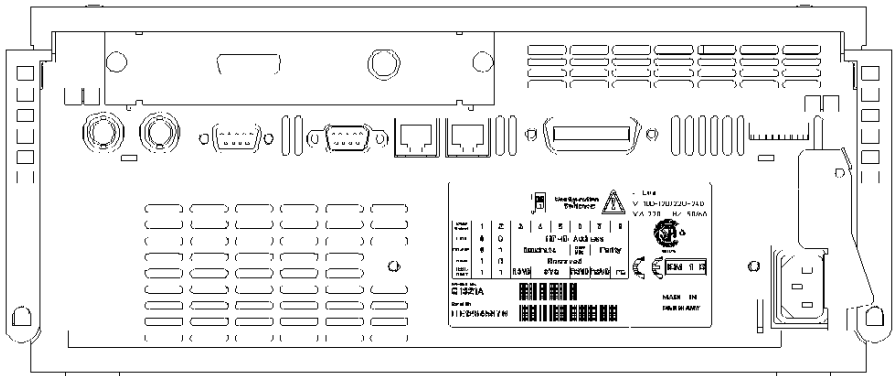


Figura 77 Vista posteriore del rivelatore - Collegamenti elettrici ed etichetta

NOTA

In seguito all'introduzione dei moduli 1260 Infinity l'interfaccia GPIB è stata eliminata.

Informazioni sul numero di serie

Informazioni sul numero di serie 1260 Infinity

Le informazioni sul numero di serie, disponibili sulle etichette dello strumento, comprendono i seguenti dati:

CCXZZ00000	Formato
CC	Paese di produzione • DE = Germania • JP = Giappone • CN = Cina
X	Caratteri alfabetici A-Z (utilizzati dalla produzione)

ZZ	Codice alfanumerico 0-9, A-Z, in cui ogni combinazione indica in modo univoco un modulo (può esistere più di un codice per lo stesso modulo)
00000	Numero di serie

Informazioni sul numero di serie delle serie 1200 e 1290 Infinity

Le informazioni sul numero di serie, disponibili sulle etichette dello strumento, comprendono i seguenti dati:

CCYWWSSSSS	Formato
CC	Paese di produzione • DE = Germania • JP = Giappone • CN = Cina
YWW	Anno e settimana dell'ultima modifica di produzione significativa; ad esempio 820 può indicare la ventesima settimana del 1998 o del 2008
SSSSS	Numero di serie effettivo

Interfacce

I moduli Agilent Serie 1200 Infinity presentano le interfacce riportate di seguito.

Tabella 34 Interfacce Agilent serie 1200 Infinity

Modulo	CAN	LAN/BCD (opzionale)	LAN (integrata)	RS-232	Analogica	APG remoto	Speciale
Pumps							
Pompa isocratica G1310B	2	Sì	No	Sì	1	Sì	
Pompa quaternaria G1311B							
Pompa quaternaria VL G1311C							
Pompa binaria G1312B							
Pompa binaria K1312B							
Clinical Ed.							
Pompa binaria VL G1312C							
Pompa capillare 1376A							
Nano pompa G2226A							
Pompa quaternaria bioinerte G5611A							
Pompa binaria G4220A/B	2	No	Sì	Sì	No	Sì	CAN-DC- OUT per CAN secondari
Pompa quaternaria G4204A							
Pompa preparativa G1361A	2	Sì	No	Sì	No	Sì	CAN-DC- OUT per CAN secondari
Samplers							
ALS G1329B	2	Sì	No	Sì	No	Sì	TERMOSTATO per G1330B/K1330B
ALS preparativo G2260A							

Tabella 34 Interfacce Agilent serie 1200 Infinity

Modulo	CAN	LAN/BCD (opzionale)	LAN (integrata)	RS-232	Analogica	APG remoto	Speciale
G1364B FC-PS G1364C FC-AS G1364D FC- μ S HiP ALS G1367E HiP ALS K1367E Clinical Ed. HiP micro ALS G1377A DL ALS G2258A FC-AS bioinerte G5664A Autocampionatore bioinerte G5667A	2	Sì	No	Sì	No	Sì	TERMOSTATO per G1330B/K1330B CAN-DC- OUT per CAN secondari
ALS G4226A	2	Sì	No	Sì	No	Sì	
Detectors							
VWD VL G1314B VWD VL+ G1314C	2	Sì	No	Sì	1	Sì	
VWD G1314E/F K1314F Clinical Ed.	2	No	Sì	Sì	1	Sì	
DAD G4212A/B DAD K4212B Clinical Ed.	2	No	Sì	Sì	1	Sì	
DAD VL+ G1315C MWD G1365C DAD VL G1315D MWD VL G1365D	2	No	Sì	Sì	2	Sì	
FLD G1321B FLD K1321B Clinical Ed. FLD G1321C	2	Sì	No	Sì	2	Sì	
RID G1362A	2	Sì	No	Sì	1	Sì	
ELSD G4280A	No	No	No	Sì	Sì	Sì	Contatto est. AZZERAMENTO AUTOMATICO
Others							
Sistema di azionamento della valvola G1170A	2	No	No	No	No	No	1

Tabella 34 Interfacce Agilent serie 1200 Infinity

Modulo	CAN	LAN/BCD (opzionale)	LAN (integrata)	RS-232	Analogica	APG remoto	Speciale
TCC G1316A/C TCC K1316C Clinical Ed.	2	No	No	Sì	No	Sì	
DEG G1322A DEG K1322A Clinical Ed.	No	No	No	No	No	Sì	AUX
DEG G1379B	No	No	No	Sì	No	Sì	
DEG G4225A DEG K4225A Clinical Ed.	No	No	No	Sì	No	Sì	
Flex Cube G4227A	2	No	No	No	No	No	CAN-DC- OUT per CAN secondari 1
CHIP CUBE G4240A	2	Sì	No	Sì	No	Sì	CAN-DC- OUT per CAN secondari TERMOSTATO per G1330A/B (NON UTILIZZATO), K1330B

¹ Richiede un modulo HOST con LAN integrata (ad es., G4212A o G4220A con versione firmware minima B.06.40 o C.06.40) o con scheda LAN G1369C aggiuntiva

NOTA

Il rivelatore (DAD/MWD/FLD/VWD/RID) rappresenta il punto di accesso più utilizzato per il controllo via LAN. La comunicazione tra i moduli avviene tramite CAN.

- Connettori CAN come interfaccia per gli altri moduli
- Connettore LAN come interfaccia per il software di controllo
- RS-232C come interfaccia per il computer
- Connettore REMOTE come interfaccia per altri prodotti Agilent
- Connettore/i di uscita analogica per l'uscita del segnale

Informazioni generali sulle interfacce

CAN

CAN è l'interfaccia per le comunicazioni tra i moduli. Si tratta di un sistema a bus seriale a 2 fili, in grado di supportare comunicazione di dati ad alta velocità e richieste in tempo reale.

LAN

I moduli sono dotati di slot di interfaccia per una scheda LAN (ad esempio interfaccia LAN Agilent G1369B/C) oppure di interfaccia LAN integrata (ad esempio rivelatori DAD G1315C/D e MWD G1365C/D). Questa interfaccia permette il controllo del modulo/sistema per mezzo di un PC dotato del software di controllo adeguato. Alcuni moduli sono privi sia di interfaccia LAN integrata sia di slot di interfaccia per una scheda LAN (ad esempio sistema di azionamento della valvola G1170A o Flex Cube G4227A). Si tratta di moduli per i quali è necessario provvedere l'hosting e che richiedono un modulo host con firmware B.06.40 o versione successiva o con scheda LAN G1369C aggiuntiva.

NOTA

Se nel sistema è presente un rivelatore Agilent (DAD/MWD/FLD/VWD/RID), la LAN deve essere collegata al rivelatore DAD/MWD/FLD/VWD/RID (a causa del maggiore carico di dati). Se nessun rivelatore Agilent fa parte del sistema, l'interfaccia LAN deve essere installata nella pompa o nell'autocampionatore.

RS-232C (Seriale)

Il connettore RS-232C è usato per controllare il modulo da un computer tramite un collegamento RS-232C, utilizzando il software adatto. È possibile configurare il connettore con il modulo dell'interruttore di configurazione dalla parte posteriore del modulo. Fare riferimento a *Impostazioni della comunicazione per RS-232C*.

NOTA

Non esiste alcuna configurazione possibile sulle schede con LAN incorporata. Queste sono pre-configurate per

- 19200 baud,
- 8 bit di dati senza parità e
- vengono sempre utilizzati un bit di start e un bit di stop (non selezionabili).

La scheda RS-232C è progettata come DCE (data communication equipment - dispositivo di comunicazione dati) con un connettore a 9 pin di tipo SUB-D maschio. I pin sono definiti come segue:

Tabella 35 Tavola dei collegamenti RS-232C

Pin	Direzione	Funzione
1	In	DCD
2	In	RxD
3	Out	TxD
4	Out	DTR
5		Terra
6	In	DSR
7	Out	RTS
8	In	CTS
9	In	RI

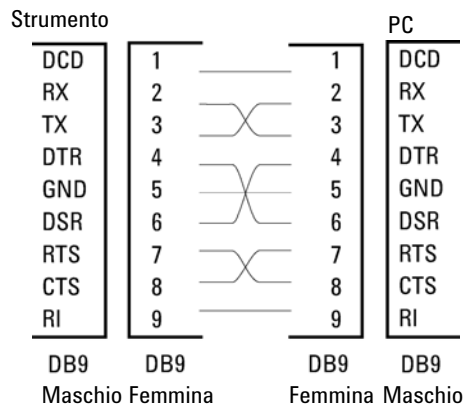


Figura 78 Cavo RS-232

Uscita del segnale analogico

È possibile inviare l'uscita del segnale analogico a un dispositivo di registrazione. Per ulteriori dettagli fare riferimento alla descrizione della scheda principale del modulo.

APG remoto

Il connettore APG remoto può essere utilizzato in combinazione con altri strumenti analitici di Agilent Technologies se si desiderano utilizzare funzioni quali arresto comune, preparazione e così via.

Il controllo a distanza consente di collegare facilmente i singoli strumenti o sistemi per coordinare le analisi rispettando semplici requisiti di accoppiamento.

Viene utilizzato il connettore D subminiatura. Il modulo è dotato di un connettore remoto di input/output (tecnica OR cablata o "wired-or").

Per ottenere la massima sicurezza in un sistema di analisi distribuito, una linea è dedicata allo **SHUT DOWN** delle parti critiche del sistema qualora si verifichi un problema grave in uno qualsiasi dei moduli. Per verificare che tutti i moduli siano accesi o alimentati correttamente, è stata creata una linea che controlla lo stato di **POWER ON** di tutti i moduli collegati. Il controllo dell'analisi viene mantenuto tramite il segnale di **READY** per l'analisi successiva, seguito da **START** dell'analisi e da **STOP** opzionale dell'analisi, azionati sulle rispettive linee. Inoltre possono essere inviati segnali quali **PREPARE** e **START REQUEST**. I livelli di segnale sono definiti come segue:

- livelli TTL standard (0 V è il vero logico, + 5,0 V è falso),
- fan-out è 10
- input load è 2,2 kOhm contro + 5,0 V e
- output è di tipo collettore aperto, input/output (tecnica OR cablata o "wired-or").

NOTA

Tutti i circuiti TTL comuni funzionano con alimentazione a 5 V. Un segnale TTL viene definito come "basso" o L se è compreso tra 0 V e 0,8 V e "alto" o H se è compreso tra 2,0 V e 5,0 V (rispetto al terminale di messa a terra).

Tabella 36 Distribuzione del segnale a distanza

Pin	Segnale	Descrizione
1	DGND	Terra digitale
2	PREPARE	(L) Richiesta di preparare l'analisi (ad esempio calibrazione, accensione lampada rivelatore). Il ricevitore è qualsiasi modulo che effettua attività di pre-analisi.
3	START	(L) Richiesta di avvio di un'analisi / programmazione. Il ricevente è qualsiasi modulo che effettua attività temporizzate.
4	SHUT DOWN	(L) Il sistema ha un problema grave (ad esempio una perdita: arresta la pompa). Il ricevente è qualsiasi modulo in grado di ridurre i rischi.
5		Non usato
6	POWER ON	(H) Tutti i moduli collegati al sistema sono accesi. Il ricevente è qualsiasi modulo che si basa sul funzionamento di altri.
7	READY	(H) Il sistema è pronto per l'analisi successiva. Il ricevente è qualsiasi dispositivo di controllo della sequenza.
8	STOP	(L) Richiesta di raggiungere lo stato di pronto il più presto possibile (ad esempio, arresto analisi, termine o fine e arresto dell'iniezione). Il ricevente è qualsiasi modulo che effettua attività temporizzate.
9	START REQUEST	(L) Richiesta di iniziare un ciclo di iniezione (tramite il tasto di inizio di qualsiasi modulo). Il ricevente è l'autocampionatore.

Interfacce speciali

Non esiste alcuna interfaccia speciale per questo modulo.

Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata)

L'interruttore di configurazione a 8 bit è situato sul retro del modulo.

Questo modulo non dispone di una propria interfaccia LAN integrata sulla scheda. Può essere controllato mediante l'interfaccia LAN di un altro modulo e attraverso il collegamento CAN a tale modulo.

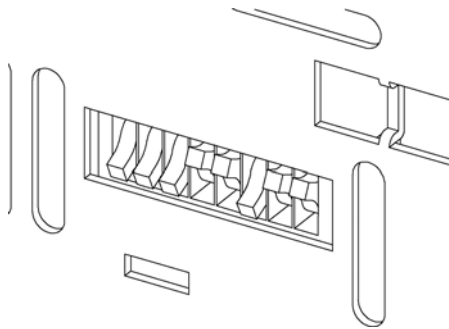


Figura 79 Interruttore di configurazione (le impostazioni dipendono dalla modalità configurata)

Tutti i moduli senza LAN integrata sulla scheda:

- l'impostazione predefinita deve essere TUTTI I DIP GIÙ (= impostazioni ottimali)
 - modalità bootp per LAN e
 - 19200 baud, 8 bit di dati / 1 bit di stop bit senza parità per RS-232
- DIP 1 GIÙ e DIP 2 SU consente di eseguire le impostazioni RS-232 speciali
- per le modalità avvio/test, i DIP 1+2 devono essere SU oltre alla modalità richiesta

NOTA

Per il funzionamento normale utilizzare le impostazioni predefinite (ottimali).

12 Informazioni sull'hardware

Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata)

Le impostazioni dell'interruttore consentono di ottenere parametri di configurazione per il protocollo di comunicazione seriale e le procedure di inizializzazione specifiche per strumento.

NOTA

Dall'introduzione di Agilent 1260 Infinity, tutte le interfacce GPIB sono state rimosse. L'interfaccia di comunicazione preferita è l'interfaccia LAN.

NOTA

Le tabelle che seguono illustrano le impostazioni dell'interruttore di configurazione solo per i moduli senza LAN integrata sulla scheda.

Tabella 37 Commutatore di configurazione a 8 bit (senza scheda LAN integrata)

Selezione. Modalità	1	2	3	4	5	6	7	8
RS-232C	0	1	Percentuale di baud			Bit dati	Parità	
Riservato	1	0	Riservato					
TEST/BOOT	1	1	RSVD	SYS		RSVD	RSVD	FC

NOTA

Le impostazioni LAN vengono eseguite sulla LAN Interface Card G1369B/C. Consultare la documentazione fornita con la scheda stessa.

Impostazioni della comunicazione per RS-232C

Il protocollo di comunicazione utilizzato nel comparto colonna supporta unicamente le procedure di sincronizzazione hardware (CTS/RTR).

L'interruttore 1 in basso e l'interruttore 2 in alto indicano che i parametri RS-232C saranno cambiati. Una volta che la modifica è stata completata, lo strumento della colonna deve essere alimentato di nuovo in modo da salvare i valori nella memoria non volatile.

Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata)

Tabella 38 Impostazioni della comunicazione per le comunicazioni RS-232C (senza LAN integrata sulla scheda)

Selezione modalità	1	2	3	4	5	6	7	8
RS-232C	0	1	Velocità in baud			Bit dati	Parità	

Utilizzare le tabelle che seguono per selezionare l'impostazione da usare per la comunicazione RS-232C. Il numero 0 significa che l'interruttore è posizionato verso il basso, 1 che è posizionato verso l'alto.

Tabella 39 Impostazioni velocità in baud (senza LAN integrata sulla scheda)

Interruttori			Velocità in baud	Interruttori			Velocità in baud
3	4	5		3	4	5	
0	0	0	9600	1	0	0	9600
0	0	1	1200	1	0	1	14400
0	1	0	2400	1	1	0	19200
0	1	1	4800	1	1	1	38400

Tabella 40 Impostazioni bit di dati (senza LAN integrata sulla scheda)

Interruttore 6	Dimensioni data word
0	Comunicazione a 7 bit
1	Comunicazione a 8 bit

Tabella 41 Impostazioni di parità (senza LAN integrata sulla scheda)

Interruttori		Parità
7	8	
0	0	Nessuna parità
0	1	Dispari
1	1	Pari

12 Informazioni sull'hardware

Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata)

Vengono sempre utilizzati un bit di start e un bit di stop (non selezionabili).

Per impostazione predefinita, il modulo passerà a 19200 baud, 8 bit di dati e nessuna parità.

Impostazioni speciali

Le impostazioni speciali sono richieste per azioni specifiche (normalmente in caso di manutenzione).

Avvio residente

Le procedure di aggiornamento del firmware possono richiedere questa modalità in caso di errori di caricamento (parte principale del firmware).

Se si utilizzano le impostazioni dell'interruttore che seguono e si riaccende lo strumento, il firmware dello strumento resta in modalità residente. Non è utilizzabile come modulo. Utilizza solamente le funzioni base del sistema operativo, ad esempio per la comunicazione. In questa modalità può essere caricato il firmware principale (usando le utilità di aggiornamento).

Tabella 42 Impostazioni per avvio residente (senza LAN integrata)

Selezione modalità	SW1	SW2	SW3	SW4	SW5	SW6	SW7	SW8
TEST/BOOT	1	1	0	0	1	0	0	0

Ripresa forzata

Una ripresa forzata può essere utilizzata per portare il modulo in una modalità definita con impostazioni predefinite dei parametri.

AVVERTENZA

Perdita dati

L'impostazione di ripresa forzata cancella tutti i metodi e i dati memorizzati nella memoria non volatile. Fanno eccezione le impostazioni di calibrazione e i registri elettronici relativi a diagnosi e riparazione, che non vengono cancellati.

→ Salvare i metodi e i dati prima di eseguire una ripresa forzata.

Impostazione dell'interruttore di configurazione a 8 bit (senza LAN integrata)

Se si utilizzano le impostazioni dell'interruttore che seguono e si riaccende lo strumento, la ripresa forzata è completa.

Tabella 43 Impostazioni per ripresa forzata (senza LAN integrata)

Selezione modalità	SW1	SW2	SW3	SW4	SW5	SW6	SW7	SW8
TEST/BOOT	1	1	0	0	0	0	0	1

Avviso di manutenzione preventiva

La manutenzione richiede la sostituzione di componenti soggetti a usura o sollecitazioni. La sostituzione dei componenti non deve essere effettuata a intervalli regolari predefiniti, ma determinata in base alla frequenza di utilizzo del modulo strumento e alle condizioni analitiche. L'avviso di manutenzione preventiva (**EMF**) controlla l'utilizzo di componenti specifici dello strumento e avvisa quando i limiti selezionabili dall'operatore sono stati superati. L'avviso, visualizzato sull'interfaccia utente, indica che è necessario programmare un intervento di manutenzione.

Contatori EMF

Il valore riportato sul contatore aumenta con l'uso ed è possibile assegnargli un limite massimo oltre il quale compare un avviso nell'interfaccia utente. Alcuni contatori possono essere reimpostati a zero dopo la procedura di manutenzione necessaria.

Uso dei contatori EMF

I limiti impostati per i contatori EMF possono essere modificati dall'utente e consentono quindi di adattare la funzione di avviso di manutenzione preventiva a specifici requisiti. Il ciclo di manutenzione utile varia a seconda dei requisiti di utilizzo. Di conseguenza, la definizione dei limiti massimi deve essere eseguita in base alle condizioni operative specifiche dello strumento.

Impostazione dei limiti EMF

L'impostazione dei limiti EMF deve essere ottimizzata su uno o due cicli di manutenzione. Inizialmente, è necessario impostare i limiti EMF predefiniti. Quando la riduzione nelle prestazioni dello strumento indicherà la necessità di eseguire la manutenzione, si prenderà nota dei valori riportati dai contatori EMF. Inserire questi valori (o valori leggermente inferiori a quelli visualizzati) come limiti EMF, quindi reimpostare i misuratori a zero. Quando i contatori superano nuovamente i limiti stabiliti, viene visualizzato un avviso che segnala la necessità di programmare interventi di manutenzione.

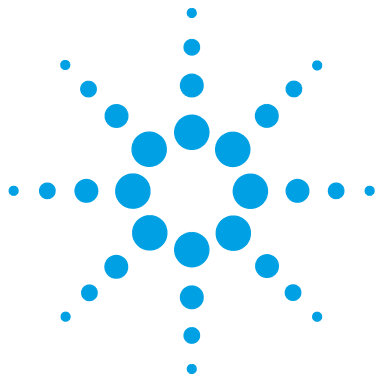
Configurazione dello strumento

Il modulo è stato progettato con numerose funzioni innovative. Utilizza la tecnologia E-PAC di Agilent per l'imballaggio dei gruppi elettronici e meccanici. Questa tecnologia si basa sull'utilizzo di distanziatori costituiti da strati sagomati in schiuma di polipropilene espanso (EPP) nei quali vengono inseriti i componenti meccanici e le schede elettroniche del modulo. Questo imballo viene quindi racchiuso in un contenitore interno in metallo, rivestito esternamente in materiale plastico. I vantaggi di questa tecnologia di imballaggio sono i seguenti:

- Eliminazione quasi totale di viti di fissaggio, bulloni o giunti, con conseguente riduzione del numero di componenti e semplificazione delle operazioni di montaggio/smontaggio.
- Gli strati in materiale plastico sono attraversati da canali per l'aerazione, in modo che l'aria di raffreddamento venga convogliata nel punto esatto.
- Gli strati in materiale plastico contribuiscono a proteggere le parti elettroniche e meccaniche dagli urti.
- Il rivestimento metallico interno del contenitore scherma le parti elettroniche dalle interferenze elettromagnetiche e contribuisce inoltre a ridurre o eliminare l'emissione di radiofrequenze dallo strumento stesso.

12 Informazioni sull'hardware

Configurazione dello strumento



13 Appendice

Informazioni generali sulla sicurezza [254](#)

Direttiva RAEE (rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche)
(2002/96/CE) [257](#)

Informazioni sulle batterie al litio [258](#)

Interferenze radio [259](#)

Emissioni sonore [260](#)

Radiazione UV (solo lampade UV) [261](#)

Informazioni sui solventi [262](#)

Agilent Technologies su Internet [264](#)

Nel presente capitolo vengono fornite informazioni sulla sicurezza e altre informazioni generali.



Informazioni generali sulla sicurezza

Simboli di sicurezza

Tabella 44 Simboli di sicurezza

Simbolo	Descrizione
	Se l'apparecchiatura è contrassegnata da questo simbolo, l'utente è tenuto a consultare il manuale d'uso al fine di evitare il pericolo di lesioni all'operatore e danni all'apparecchiatura.
	Indica la presenza di tensioni pericolose.
	Indica un terminale di messa a terra protetto.
	Indica il rischio di lesioni oculari in caso di visione diretta della luce prodotta dalla lampada al deuterio utilizzata nel prodotto.
	Se l'apparecchiatura è contrassegnata da questo simbolo, sono presenti superfici molto calde che non devono essere toccate dall'utente.

ATTENZIONE

L'indicazione **ATTENZIONE**

segnala situazioni che potrebbero potenzialmente causare lesioni gravi o mortali.

- Prima di continuare a usare lo strumento, verificare di aver compreso e attuato quanto indicato nell'indicazione di attenzione.

AVVERTENZA

L'indicazione **AVVERTENZA**

indica situazioni che possono causare una perdita di dati o danni allo strumento.

- Non procedere oltre finché non è stato compreso ed eseguito quanto indicato.

Informazioni generali sulla sicurezza

Le seguenti precauzioni generali di sicurezza devono essere rispettate durante tutte le fasi di utilizzo, manutenzione e riparazione dello strumento. Il mancato rispetto di tali precauzioni o di avvertenze specifiche riportate in altri punti del presente manuale implica la violazione degli standard di sicurezza della progettazione, della produzione e dell'uso previsto dello strumento. Agilent Technologies non riconosce alcuna responsabilità per eventuali danni risultanti dal mancato rispetto delle istruzioni fornite.

ATTENZIONE

Verificare che lo strumento venga utilizzato correttamente.

La protezione fornita dallo strumento potrebbe risultare insufficiente.

→ L'operatore di questo strumento è tenuto a utilizzarlo come specificato nel presente manuale.

Standard di sicurezza:

Questo strumento è classificato come facente parte della Classe di Sicurezza I (provvisto di terminale di messa a terra) ed è stato prodotto e collaudato secondo gli standard di sicurezza internazionali.

Funzionamento

Prima di attivare l'alimentazione, seguire le istruzioni della sezione relativa all'installazione. Inoltre, osservare quanto segue.

Non rimuovere i coperchi dello strumento mentre è in funzione. Prima dell'accensione, tutti i terminali a terra, le prolunghe, gli autotrasformatori e i dispositivi connessi devono essere collegati a massa mediante una presa a terra. Qualsiasi interruzione della messa a terra protettiva causerà un rischio potenziale di scosse elettriche con possibilità di lesioni gravi. Laddove questa protezione risulti danneggiata, è necessario mettere lo strumento fuori funzione e impedirne l'uso.

Assicurarsi che siano utilizzati esclusivamente fusibili con la corrente nominale richiesta e del tipo specificato (apertura circuito normale, ritardo, ecc.). Non utilizzare fusibili riparati ed evitare il cortocircuito dei supporti fusibile.

Alcune modifiche descritte nel manuale devono essere effettuate con la corrente collegata e lo strumento privo di coperchi. La corrente presente in molti punti può, in caso di contatto, provocare lesioni alle persone.

Qualsiasi operazione di modifica, manutenzione e riparazione dello strumento aperto sotto tensione deve essere, per quanto possibile, evitata. Queste operazioni, quando inevitabili, devono essere eseguite da persone competenti e consapevoli del rischio a cui sono sottoposte. Non tentare riparazioni o modifiche interne se non è presente un'altra persona in grado di prestare soccorso e rianimazione. Non sostituire parti con il cavo di alimentazione collegato.

Non usare lo strumento in presenza di gas infiammabili o fumi. L'uso dello strumento, al pari di altre apparecchiature elettriche, in queste condizioni può compromettere la sicurezza.

Non installare parti di ricambio e non effettuare modifiche non autorizzate.

I condensatori all'interno dello strumento possono essere ancora carichi, anche se lo strumento non è collegato alla presa di corrente. Questo strumento utilizza tensioni pericolose, in grado di provocare gravi lesioni alle persone. Usare, collaudare e riparare lo strumento con la massima cautela.

Quando si utilizzano solventi si devono osservare le procedure di sicurezza appropriate (ad esempio, occhiali protettivi, guanti di sicurezza e indumenti di protezione), come descritto nella scheda sull'uso e sulla sicurezza dei materiali del produttore dei solventi, in particolare quando si utilizzano solventi tossici o pericolosi.

Direttiva RAEE (rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche) (2002/96/CE)

Sunto

La direttiva RAEE sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (2002/96/CE), adottata dalla Commissione europea il 13 febbraio 2003, introduce la responsabilità del produttore su tutte le apparecchiature elettriche ed elettroniche a partire dal 13 agosto 2005.

NOTA



Questo prodotto è conforme ai requisiti di contrassegno della direttiva RAEE (2002/96/CE). L'etichetta indica che questo prodotto elettrico/elettronico non deve essere smaltito con i normali rifiuti domestici.

Categoria del prodotto: in riferimento ai tipi di apparecchiature indicati nell'allegato I della direttiva RAEE, questo prodotto è classificato come "strumentazione di monitoraggio e controllo"

Non smaltirlo con i normali rifiuti domestici.

Per la restituzione di prodotti indesiderati, rivolgersi all'ufficio Agilent locale o visitare il sito www.agilent.com per ulteriori informazioni.

Informazioni sulle batterie al litio

ATTENZIONE

Le batterie al litio non possono essere smaltite con i normali rifiuti domestici. Il trasporto di batterie al litio da parte di vettori IATA/ICAO, ADR, RID, IMDG è vietato.

Il posizionamento errato delle batterie può comportare il pericolo di esplosioni.

- Le batterie al litio scariche devono essere smaltite in loco secondo le norme vigenti in materia.
- Sostituire le batterie esaurite solo con lo stesso tipo o con un tipo equivalente consigliato dal produttore dello strumento.



ATTENZIONE

Lithiumbatteri - Eksplosionsfare ved fejlagtig håndtering.

Udskiftning må kun ske med batteri af samme fabrikat og type.

- Lever det brugte batteri tilbage til leverandøren.

ATTENZIONE

Lithiumbatteri - Eksplosionsfare.

Ved udskiftning benyttes kun batteri som anbefalt av apparatfabrikanten.

- Brukt batteri returneres apparatleverandøren.

NOTA

Bij dit apparaat zijn batterijen geleverd. Wanneer deze leeg zijn, moet u ze niet weggooien maar inleveren als KCA.

Interferenze radio

I cavi forniti da Agilent Technologies vengono accuratamente ispezionati per garantire una protezione ottimale contro le interferenze radio. Tutti i cavi sono conformi alle norme di sicurezza o EMC.

Valutazione e misurazione

Se lo strumento di controllo e misurazione viene utilizzato con cavi non schermati e/o all'aperto, l'utente dovrà verificare che, alle normali condizioni operative, le interferenze radio rientrino nei limiti stabiliti.

Emissioni sonore

Dichiarazione del produttore

Questa dichiarazione viene fornita in conformità con le leggi sulle emissioni sonore approvate nella Repubblica Federale Tedesca il 18 Gennaio 1991.

Questo prodotto ha un'emissione sonora (dal punto di lavoro dell'operatore) < 70 dB.

- Pressione sonora $L_p < 70 \text{ dB (A)}$
- In posizione di lavoro
- Funzionamento normale
- In conformità con la normativa ISO 7779:1988/EN 27779/1991 (test di tipizzazione - type test)

Radiazione UV (solo lampade UV)

L'emissione di radiazioni ultraviolette (200-315 nm) da questo prodotto è limitata in modo che l'esposizione radiante incidente sulla pelle o sugli occhi non protetti di operatori o personale di assistenza è limitata ai seguenti valori limite di soglia (TLV - Threshold Limit Value) secondo l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists:

Tabella 45 Limiti delle radiazioni UV

Esposizione/giorno	Irradianza effettiva
8 ore	0,1 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$
10 minuti	5,0 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

In genere i valori di radiazione sono molto inferiori a questi limiti:

Tabella 46 Valori tipici delle radiazioni UV

Posizione	Irradianza effettiva
Lampada installata a una distanza di 50 cm	media 0,016 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$
Lampada installata a una distanza di 50 cm	massima 0,14 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

Informazioni sui solventi

Cella di flusso

Per proteggere la funzionalità ottimale della cella di flusso:

- Evitare l'uso di soluzioni alcaline (pH > 9,5) in grado di intaccare il quarzo e di alterare le proprietà ottiche della cella di flusso.
- Se la cella di flusso viene trasportata a temperature inferiori a 5 °C, assicurarsi di riempirla con alcool.
- Solventi acquosi nella cella di flusso possono favorire l'accumulo di alghe. Pertanto, non lasciare solventi acquosi nella cella di flusso se non si prevede di utilizzarla. Aggiungere piccole percentuali di solventi organici (per esempio acetonitrile o metanolo al 5 % circa).

Uso dei solventi

Osservare le seguenti raccomandazioni sull'uso dei solventi.

- I recipienti di vetro scuro possono prevenire la proliferazione delle alghe.
- Piccole particelle possono ostruire in modo permanente i capillari e le valvole. Filtrare sempre i solventi con filtri da 0,4 µm.
- Evitare l'utilizzo dei seguenti solventi che corrodono l'acciaio:
 - Soluzioni di alogenuri di alcali e relativi acidi (ad esempio, ioduro di litio, cloruro di potassio, ecc.).
 - Concentrazioni elevate di acidi inorganici, come l'acido solforico e nitrico, specialmente ad alte temperature (se il metodo cromatografico lo consente, sostituirli con soluzioni tampone di acido fosforico o fosfati, meno corrosivi per l'acciaio inossidabile).
 - Solventi alogenati o miscele che formano radicali e/o acidi, ad esempio:
$$2\text{CHCl}_3 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{COCl}_2 + 2\text{HCl}$$

Questa reazione, nella quale l'acciaio inossidabile agisce da catalizzatore, avviene rapidamente in presenza di cloroformio anidro, se il processo di disidratazione elimina l'alcool stabilizzatore.

- Gli eteri di grado cromatografico contenenti perossidi (ad esempio, THF, diossano, diisopropiletere) devono essere filtrati con ossido di alluminio, che assorbe i perossidi.
- Solventi contenenti agenti complessanti forti (come EDTA).
- Miscele di tetracloruro di carbonio con 2-propanolo o THF.

Agilent Technologies su Internet

Per informazioni aggiornate su prodotti e servizi, visitare il sito Web di Agilent al seguente indirizzo:

<http://www.agilent.com>

Glossario-IU

A

Adjust
Regola

C

Calibrations
Calibrazioni

D

Dark
Buio
Detectors
Rivelatori
Diagnosis > Maintenance > FLD Calibration
Diagnosi > Manutenzione > Calibrazione FLD
Dual WL
Lunghezza d'onda doppia

E

Economy mode
Modalità economy

F

FLD-Signals
Segnali FLD

L

LAMP ON during run
LAMPADA ACCESA durante l'analisi

M

Maintenance > FLD > Calibration
Manutenzione > FLD > Calibrazione
Module Info
Informazioni sul modulo
Module Service Center
Centro assistenza modulo

N

Not Ready
Non pronto
NOT READY
NON PRONTO

O

Others
Altro

P

Peakwidth
Ampiezza picco
Peakwidth (Responsetime)
Ampiezza picco (Tempo di risposta)
POWER ON
ACCENSIONE
PREPARE
PREPARAZIONE
Pumps
Pompe

R

Ready
Pronto

READY
PRONTO

S

Samplers
Campionatori
SEND
INVIA
SHUT DOWN
SPEGNIMENTO
Signals
Segnali
START
AVVIO
START REQUEST
RICHIESTA DI AVVIO
STOP
ARRESTO

T

Test Chromatogram
Cromatogramma di prova
Threshold
Soglia
Timetable
Tabella di programmazione
Tools
Strumenti

Y

Yes
Sì

Indice

A

accuratezza della lunghezza d'onda 40
 Agilent Lab Advisor 140
 Agilent
 internet 264
 alghe 200, 262
 altitudine non operativa 39
 altitudine operativa 39
 ampiezza picco
 selezione 129
 analogico
 cavo 216
 apg remoto 243
 avvertenze e precauzioni 191

B

batteria
 informazioni sulla sicurezza 258
 batterie al litio 258
 BCD
 cavo 221
 bioinerte 195
 bioinerti
 materiali 32

C

calibrazione della lunghezza d'onda 173
 campione per la calibrazione 183
 CAN
 cavo 223
 caratteristiche
 sicurezza e manutenzione 42, 45, 48

cavi di alimentazione 37
 cavi
 analogici 214
 BCD 214
 CAN 215
 informazioni generali 214
 LAN 215
 remoti 214
 RS-232 215
 cavo
 analogico 216
 BCD 221
 CAN 223
 collegamento APG remoto 56
 collegamento CAN 56
 collegamento dell'alimentazione 56
 collegamento di ChemStation 56
 collegamento LAN 56
 contatto esterno 224
 LAN 223
 remoto 218
 RS-232 225
 cella di flusso 16, 21, 262
 informazioni sui solventi 262
 classe di sicurezza I 255
 collegamenti elettrici
 descrizione 235
 condensa 38
 configurazione dello stack 55, 56
 vista anteriore 55
 vista posteriore 56
 configurazione dello strumento 251
 configurazione e installazione del sistema
 ottimizzazione della configurazione dello stack 52

Configurazione
 due stack 55
 stack unico 53
 considerazioni sull'alimentazione 36
 consumo elettrico 39
 contatti esterni
 scheda BCD 231
 contatto esterno
 cavo 224
 cortocircuito sensore di compensazione 150
 cortocircuito sensore perdite 149
 cromatogramma di prova 170
 cuvetta 10
 modo d'uso 199

D

dati cronologici sull'intensità della lampada 165
 degradazione UV 18, 164
 difetti alla consegna 50
 dimensioni 39
 diodo di riferimento 23
 disimballaggio 50

E

elenco di verifica della consegna 51
 EMF
 avviso di manutenzione preventiva 250
 emissioni sonore 260

F

fenditura di eccitazione 16

fenditura di emissione 16
 filtro di cut-off 16
 firmware
 aggiornamenti 228, 204
 descrizione 228
 passaggio alla versione
 successiva/precedente 204
 sistema principale 228
 sistema residente 228
 strumento di aggiornamento 229
 fluorescenza e fosforescenza 13
 fotoluminescenza 12
 frequenza di rete 39
 Funzionamento del rivelatore 12, 12
 funzioni di test 136, 163
 Funzioni GLP 42, 45, 48

G

glicogeno 183

I

identificazione delle parti
 cavi 213
 kit di accessori 211
 panoramica 208
 imballaggio
 danneggiato 50
 impostazione per le comunicazioni
 RS-232C 246
 impostazioni del tempo di risposta 130
 impostazioni di ampiezza del picco 130
 impostazioni speciali
 avvio residente 248
 ripresa forzata 248
 impostazioni
 ampiezza picco 130
 tempo di risposta 130
 indicatore di alimentazione 137
 indicatore di stato 138

informazioni di sicurezza
 batterie al litio 258
 informazioni sui solventi 111, 262
 installazione
 cella di flusso e capillari 64
 collegamenti di flusso 64
 del rivelatore 61
 requisiti del luogo di installazione 35
 spazio su banco 38
 interfacce speciali 244
 interfacce 238
 interferenze radio 259
 internet 264
 interruttore di configurazione a 8 bit
 senza LAN integrata sulla
 scheda 245
 intervallo di frequenza 39
 intervallo di tensione 39
 Introduzione al rivelatore 10

L

lampada flash allo xeno 16, 17
 LAN
 cavo 223
 scheda di interfacciamento per le
 comunicazioni 232
 lente condensatrice di eccitazione 16
 lente condensatrice di emissione 16
 luce parassita 132
 luminescenza 12
 lunghezza d'onda
 ricalibrazione 136, 163

M

manutenzione
 avviso 250
 definizione 190
 panoramica 193
 sostituzione del firmware 204

materiali
 bioinerti 32
 messaggi di errore generici 143
 messaggi di errore
 ADC non calibrato 153
 calibrazione della lunghezza d'onda
 non riuscita 158
 cella di flusso rimossa 159
 coperchio della lampada aperto 152
 cortocircuito del sensore delle
 perdite 149
 cortocircuito del sensore di
 compensazione 150
 errori dei motori 160
 partner CAN perso 146
 perdita della calibrazione della lun-
 ghezza d'onda 159
 perdita dell'accensione del flash 157
 perdita 147
 saturazione A/D 154
 saturazione di corrente della lampada
 flash 155
 scheda FLF non trovata 152
 sensore delle perdite aperto 148
 sensore di compensazione
 aperto 149
 spegnimento 144
 timeout 143
 tmeout remoto 145
 ventola guasta 151
 messaggio
 ADC non calibrato 153
 calibrazione della lunghezza d'onda
 non riuscita 158
 cella di flusso rimossa 159
 coperchio della lampada aperto 152
 messaggi relativi ai motori 160
 perdita della calibrazione della lun-
 ghezza d'onda 159
 perdita dell'accensione del flash 157
 saturazione A/D 154

saturazione di corrente della lampada
 flash 155
 scheda FLF non trovata 152
 timeout remoto 145
 misurazioni non in linea 10
 modo d'uso della cuvetta 199
 monocromatore di eccitazione 18
 monocromatore di emissione 20
 monocromatore
 EM 16, 20
 EX 18, 16

N

numero di serie
 informazioni 237, 236

O

ottimizzazione
 configurazione stack 52
 esempio 96

P

panoramica dell'unità ottica 16
 parti del kit di accessori 211
 parti
 danneggiate 51
 mancanti 51
 partner CAN perso 146
 perdita 147
 perdite
 eliminazione 201
 peso 39
 PMT
 guadagno 121, 22
 intervallo 27
 test del guadagno 116
 tubo fotomoltiplicatore 22
 precauzioni e avvertenze 191

procedura di calibrazione della lunghezza
 d'onda 173, 183
 pulizia 194

R

Raman 15
 remoto
 cavo 218
 requisiti ambientali
 cavi di alimentazione 37
 requisiti del luogo di installazione 35
 responsetime 27
 reticolo di eccitazione 16
 reticolo di emissione 16
 ricalibrazione della lunghezza
 d'onda 136, 163
 riparazioni
 eliminazione delle perdite 201
 precauzioni e avvertenze 191
 rivelatore 189
 sostituzione del firmware 204
 sostituzione del sistema di gestione
 delle perdite 202
 sostituzione di una cella di
 flusso 195
 risoluzione dei problemi
 indicatori di stato 137, 136
 messaggi di errore 136, 142
 rivelazione a lunghezza d'onda
 multipla 91
 rivelazione della fluorescenza 24
 rivelazione della fosforescenza 25
 RS-232C
 cavo 225
 impostazione per le
 comunicazioni 246

S

scheda BCD
 contatti esterni 231

scheda HP JetDirect 232
 scheda
 scheda HP JetDirect 232
 schede
 scheda LAN 232
 segnale analogico 243
 selezione
 ampiezza picco 129
 tempo di risposta 129
 sensore della temperatura 147
 sensore delle perdite aperto 148
 sensore di compensazione aperto 149
 sicurezza
 informazioni generali 255
 simboli 254
 standard 39
 sistema di riferimento 23, 23
 Software Agilent Lab Advisor 140
 solventi 262
 sostituzione della scheda di interfaccia-
 mento (BCD/LAN) 203
 spazio su banco 38
 specchio 16
 specifiche delle prestazioni 40, 43, 46
 specifiche fisiche 39
 specifiche
 accuratezza della lunghezza
 d'onda 40
 cella di flusso 41, 44, 47
 comunicazioni 42, 45, 48
 fisiche 39
 frequenza degli impulsi 40, 43, 46
 funzioni GLP 42, 45, 48
 monocromatori 41, 44, 46
 prestazioni 40, 43, 46
 sicurezza e manutenzione 42, 45,
 48
 uscite analogiche 42, 45, 47
 spegnimento 144

spettri, spostamento della lunghezza d'onda 117

spostamento della lunghezza d'onda degli spettri 117

sviluppo di metodi

1 - verifica dell'assenza di impurità nel sistema LC 78

2 - ottimizzazione dei limiti di rivelazione e della selettività 80

3 - impostazione di metodi di routine 91

acquisizione di una scansione in fluorescenza 81

rivelazione a lunghezza d'onda multipla 91

T

temperatura ambiente non operativa 39

temperatura ambiente operativa 39

temperatura non operativa 39

temperatura operativa 39

tempo di risposta

selezione 129

tensione di rete 39

test dell'intensità della lampada 164

test S/N Raman 166

test

cromatogramma di prova 170

dati cronologici sull'intensità della lampada 165

funzioni 163

intensità della lampada 164

S/N AST Raman 166

test del guadagno PMT 116

timeout 143

tubo fotomoltiplicatore

PMT 22

posizione del PMT 16

U

umidità 39

UV, degradazione 18, 164

V

ventola guasta 151

vista anteriore del modulo 61

In questo volume

Il presente manuale contiene informazioni tecniche sul rivelatore a fluorescenza Agilent 1260 Infinity (G1321B SPECTRA, G1321C) e sul rivelatore a fluorescenza Agilent serie 1100/1200 G1321A (obsoleto).

- Introduzione e specifiche
- installazione
- uso e ottimizzazione
- diagnosi e risoluzione dei problemi
- manutenzione
- identificazione delle parti
- sicurezza e informazioni correlate.

© Agilent Technologies 2010-2012, 2013

Printed in Germany
05/2013



G1321-94014



Agilent Technologies