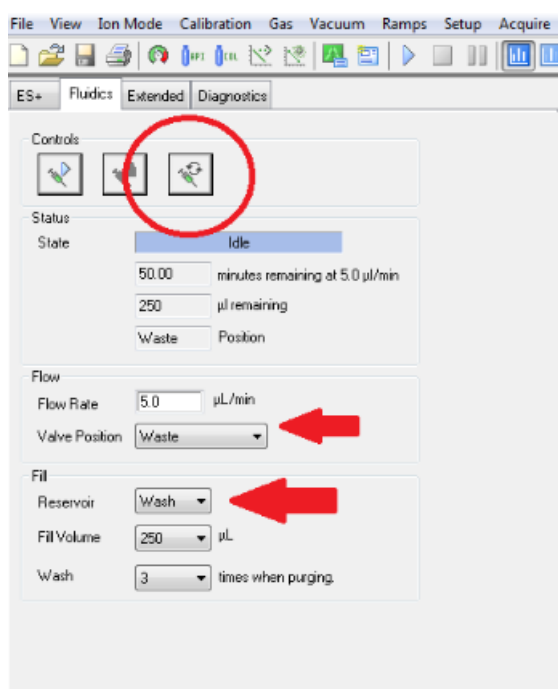


Procedimento Operacional Padrão (POP) – Injeção direta UPC²-MS

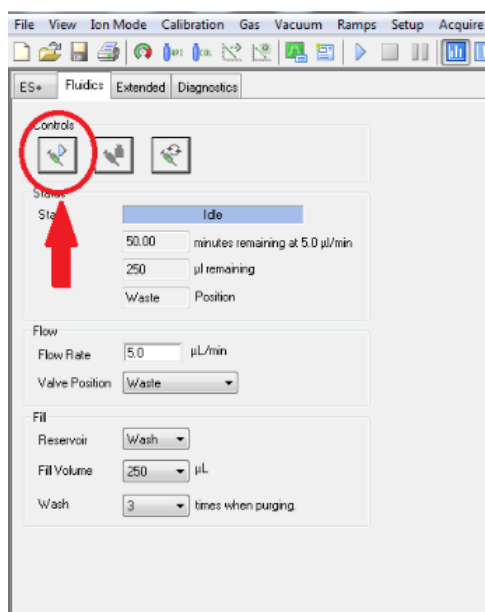
Este documento é um manual para bom uso do equipamento e DEVE ser seguido por todos os usuários para garantir o bom funcionamento e preservação do UPC²-MS.

• PARA INJEÇÃO

1. Abrir o MassLynx e clicar na aba MS Tune
2. Ligar os gases API e Col **antes de tirar o equipamento do Standby**
3. Tirar o equipamento do standby
4. Purgar o sistema com a solução “wash” (reservoir) com a válvula na posição “waste”. O fluxo (flow rate) deve ser mantido em até 100 µL (fluxos muito altos podem danificar o equipamento)

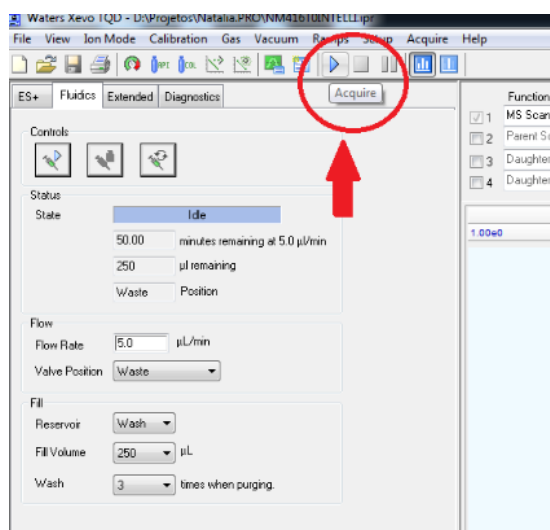


5. Purgar o sistema com a solução de limpeza (vial I ou vial II) na posição (reservoir) de vial A e a válvula na posição “infusion”. O fluxo (flow rate) deve ser mantido em até 100 µL
6. Quando for realizar mais de uma injeção de amostras diferentes, deve ser realizada a injeção/purga do diluente (2x), para limpar o sistema.
7. Purgar o sistema com a sua amostra, repetindo o passo 4, apenas substituindo o vial de limpeza pelo vial da sua amostra. O fluxo (flow rate) DEVE ser mantido em 10 µL, principalmente para a injeção de amostra fluxos muito altos podem acarretar em danos ao equipamento.
8. Iniciar a infusão

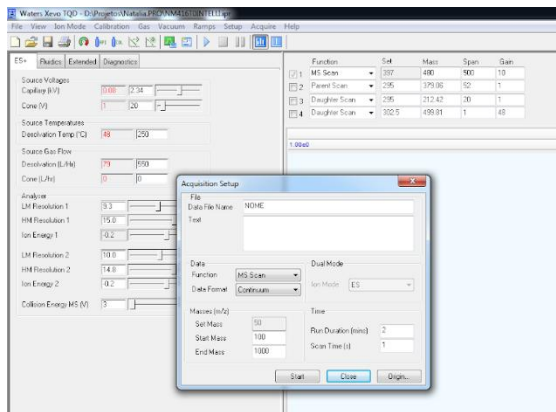


- **PARA ADQUIRIR O ESPECTRO**

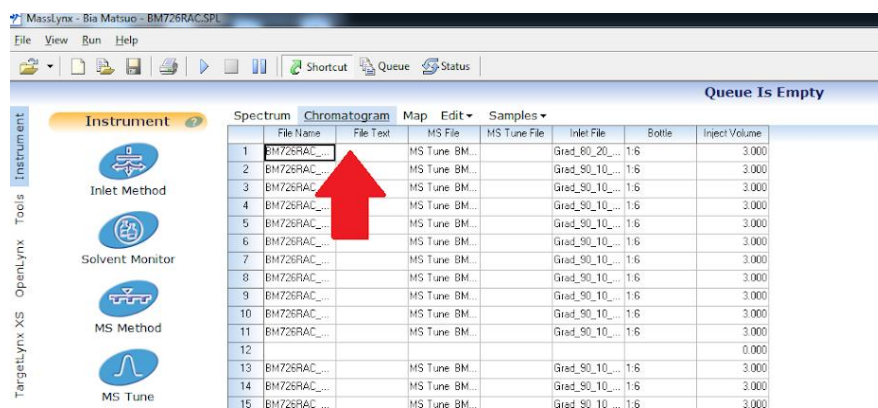
1. Abra seu próprio projeto no MassLynx: File > Open Project. Esse passo é importante para que seu espectro seja salvo no seu projeto.
2. Clique em “Aquire”



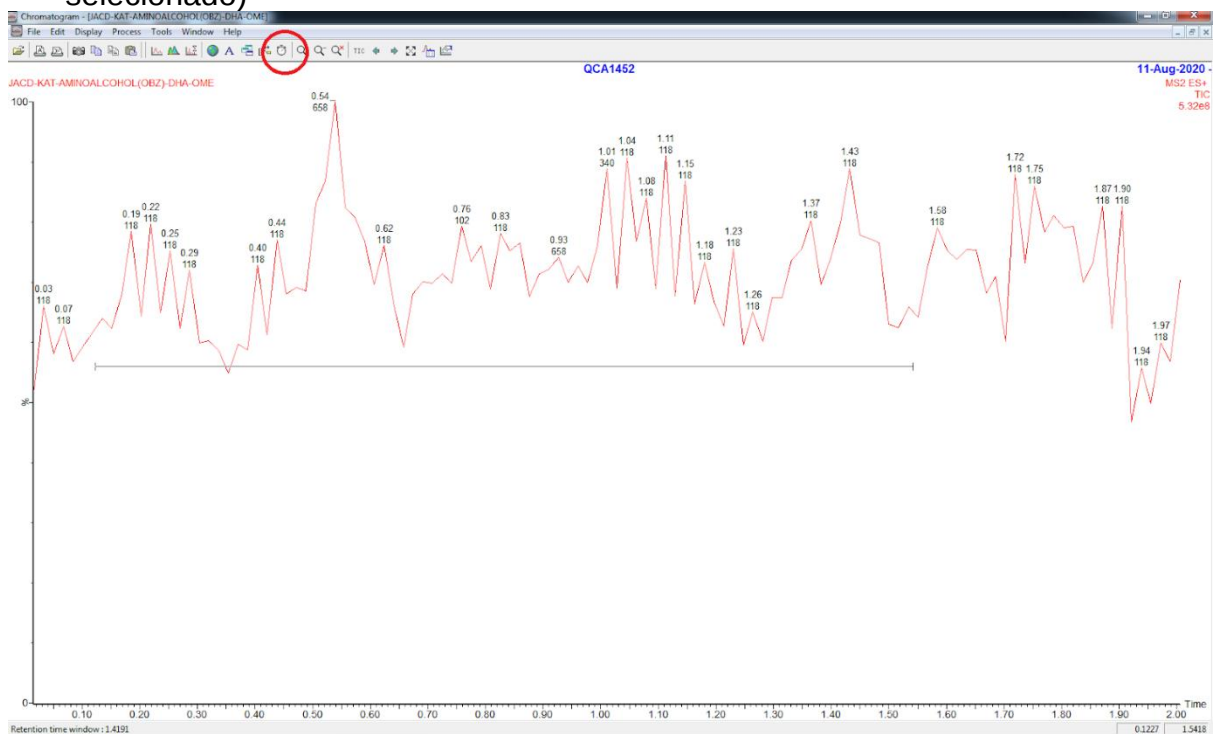
3. Escrever o código da amostra, o tipo de espectro (MS1 Scan é o espectro básico) e a faixa de massas desejada. Clicar em Start



4. Na aba principal (MassLynx) abrir o Cromatograma



5. Clique com o botão direito do mouse e arraste para a direita no cromatograma que está sendo gerado (O relóginho precisa estar selecionado)



6. O espectro abrirá em outra aba e estará pronto para salvar: file > print > ok > abra sua pasta e salve

- **PARA LIMPAR E DESLIGAR O EQUIPAMENTO**

1. Após finalizar todas as injeções é necessário limpar o sistema purgando o diluente três vezes (times when purging) com a válvula em “infusion” e o fluxo em 10 μ L. Nesse momento, é importante acompanhar o espectro e analisar se ainda há detecção da massa do seu produto ou de alguma impureza e, caso seja necessário, realize mais três purgas do diluente.
2. Em seguida, purgar o sistema com a solução “wash” (reservoir) com a válvula na posição “waste” 10 vezes (times when purging) e o fluxo em 100 μ L.
3. Por fim, purgar o sistema com a solução de limpeza do vial I ou vial II, a depender do seu diluente, por duas vezes, com a válvula na posição “infusion”
4. Ao final das limpezas, colocar o equipamento em stanby e na aba “ES+”, esperar a “source temperature” chegar à 60 °C. Só então desligar API e Col.

PREPARO DE AMOSTRAS

É IMPRESCINDÍVEL para um bom funcionamento do equipamento que as amostras sejam preparadas de forma correta. Este equipamento é bastante sensível, as quantidades especificadas a seguir são suficientes.

O preparo de amostras deve ser feito com solvente grau HPLC, sendo preferível acetonitrila ou metanol, caso sua amostra não seja solúvel em nenhum desses dois solventes, será necessário preparar uma solução diluente/ácido fórmico com o solvente correspondente.

1. Preparar uma solução 1 mg/1 mL (Solução A)
2. Pipetar 100 μ L da solução A e adicionar 900 μ L de diluente (Solução B)
3. Pipetar 10 μ L da solução B e diluir em 1 mL da solução diluente/ácido fórmico
 - solução I: acetonitrila/ácido fórmico
 - solução II: metanol/ácido fórmico
 - escolher a que possui o diluente em que você solubilizou a sua amostra
4. **FILTRAR** a solução para o vial utilizando **filtro 0.22 μ m**

Obs: trazer consigo um vial extra contendo apenas o diluente para as injeções de limpeza.

SOBRE AS SOLUÇÕES DE DILUENTE/ÁCIDO FÓRMICO

As soluções de limpeza já preparadas são misturas de **acetonitrila e ácido fórmico (I)** ou **metanol e ácido fórmico (II)**, sendo assim, o **vial I** está abastecido com a solução A e o **vial II** com a solução B. Ao final da utilização do equipamento, você deverá purgar a solução de limpeza que corresponde ao diluente utilizado na sua amostra.

Exemplo: diluí minha amostra em ACETONITRILA – utilizo o vial I