

Agilent ChemStation LC



**Primeros pasos con la
ChemStation LC**

Avisos

© Agilent Technologies, Inc. 2003

No se permite la reproducción de parte alguna de este manual bajo cualquier forma y por cualquier medio (incluyendo su almacenamiento y recuperación electrónicos y la traducción a idiomas extranjeros) sin el consentimiento previo por escrito de Agilent Technologies, Inc. según lo estipulado por las leyes de derechos de autor estadounidenses e internacionales.

Número de referencia del manual

G2170-95200

Edición

6/2003

Impreso en Alemania

Agilent Technologies, Deutschland GmbH
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Microsoft[®] es una marca comercial registrada en EE.UU. de Microsoft Corporation.

Revisión de software

Esta guía es válida para las revisiones A.10.xx del software Agilent ChemStation LC, donde xx hace referencia a revisiones menores del software que no afectan a la exactitud técnica de la guía.

Garantía

El material contenido en este documento se proporciona "tal como es" y está sujeto a modificaciones, sin previo aviso, en ediciones futuras. Además, hasta el máximo permitido por la ley aplicable, Agilent rechaza cualquier garantía, expresa o implícita, en relación con este manual y con cualquier información contenida en el mismo, incluyendo, pero no limitado a, las garantías implícitas de comercialización y adecuación a un fin determinado. En ningún caso Agilent será responsable de los errores o de los daños incidentales o consecuentes relacionados con el suministro, utilización o uso de este documento o de cualquier información contenida en el mismo. En el caso que Agilent y el usuario tengan un acuerdo escrito separado con condiciones de garantía que cubran el material de este documento y que estén en conflicto con estas condiciones, prevalecerán las condiciones de garantía del acuerdo separado.

Licencias sobre la tecnología

El hardware y/o software descritos en este documento se suministran bajo una licencia y pueden utilizarse o copiarse únicamente de acuerdo con las condiciones de tal licencia.

Avisos de seguridad

PRECAUCIÓN

Un aviso de **PRECAUCIÓN** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños en el producto o pérdida de datos importantes. No avance más allá de un aviso de **PRECAUCIÓN** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

ADVERTENCIA

Un aviso de **ADVERTENCIA** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños personales o la muerte. No avance más allá de un aviso de **ADVERTENCIA** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

En esta guía...

Esta guía de iniciación ofrece instrucciones detalladas para comenzar a trabajar con la ChemStation LC de Agilent. Si sigue las distintas secciones en la secuencia en que se ofrecen, habrá cubierto todas las operaciones básicas de la ChemStation y estará en disposición de comenzar a analizar sus propias muestras. También puede utilizar las secciones individuales para obtener información acerca de una tarea específica o como recordatorio cuando tenga que llevarla a cabo.

1 Equilibrado del sistema

Este ejercicio le guía a través de los primeros pasos de la operación del sistema Agilent 1100 con la ChemStation.

2 Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación

Este ejercicio le explica cómo configurar el sistema para analizar una muestra individual y obtener un cromatograma.

3 Integración de la señal

Cuando haya obtenido un buen cromatograma, podrá utilizar estas instrucciones para cargar la señal e integrarla.

4 Configuración de las calibraciones

En este ejercicio, utilizará un conjunto de ficheros de datos de demostración para configurar distintos tipos de calibraciones.

5 Automatización de los análisis

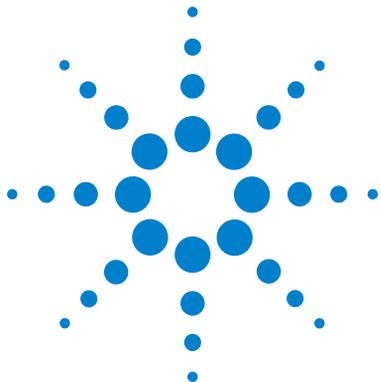
Este ejercicio le guía a través del proceso de configuración de una secuencia para automatizar los análisis.

Tabla de contenido

1	Equilibrado del sistema	7
	Antes de comenzar	7
	Configuración de la interfase de usuario	8
	Carga del método predeterminado	10
	Configuración de los gráficos en línea	10
	Purga de la bomba	12
	Establecimiento de las condiciones de equilibrado	13
2	Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación	15
	Antes de comenzar	15
	Configuración del inyector	17
	Configuración de la bomba	18
	Configuración de la termostatación de la columna	19
	Configuración del detector	20
	DAD y MWD	20
	VWD	20
	Guardar el método	21
	Ejecución del método	22
3	Integración de la señal	23
	Integración de una señal	24
	Cambio de los eventos iniciales	25
	Ampliación de una zona seleccionada de la señal	25
	Establecimiento de eventos programados	26

Tabla de contenido

4	Configuración de las calibraciones	29
	Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel	30
	Cuantificación de una muestra problema	33
	Adición de un segundo y un tercer nivel a la calibración ESTD	34
	Cuantificación de una muestra problema	35
	Cambio del tipo de curva de calibración	36
	Recalibración de un nivel	37
	Configuración de una calibración ISTD (con patrón interno) de un nivel	38
5	Automatización de los análisis	41
	Antes de comenzar	41
	Configuración de los parámetros de la secuencia	42
	Configuración de la tabla de secuencia	45
	Ejecución de la secuencia	47



1

Equilibrado del sistema

Este ejercicio le guía a través del proceso de equilibrado del sistema LC Agilent 1100. En él, llevará a cabo las tareas siguientes:

“Configuración de la interfase de usuario” en la página 8

“Purga de la bomba” en la página 12

“Establecimiento de las condiciones de equilibrado” en la página 13

NOTA

Estas instrucciones describen el procedimiento de equilibrado para la muestra isocrática Agilent, referencia 01080-68702. Si va a utilizar una muestra diferente, tendrá que ajustar las condiciones como corresponda.

Antes de comenzar

Antes de comenzar el ejercicio, compruebe los puntos siguientes:

- los módulos Agilent 1100 están correctamente conectados y configurados. Encontrará los detalles necesarios en los manuales de hardware suministrados con el sistema.
- hay instalada una columna apropiada. Para la muestra isocrática Agilent, recomendamos una columna Zorbax Eclipse XDB C-8, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm, referencia 993967-906.
- todos los módulos están encendidos.
- la ChemStation está correctamente configurada. Consulte las secciones de la ayuda en línea relativas al editor de configuración, Configuration Editor, y la ChemStation.
- las botellas de disolvente están llenas (agua en el canal A y acetonitrilo en el canal B).



Configuración de la interfase de usuario

La pantalla **Method and Run Control** de la ChemStation (**Figura 1**) permite mostrar y controlar los parámetros tanto instrumentales como analíticos.

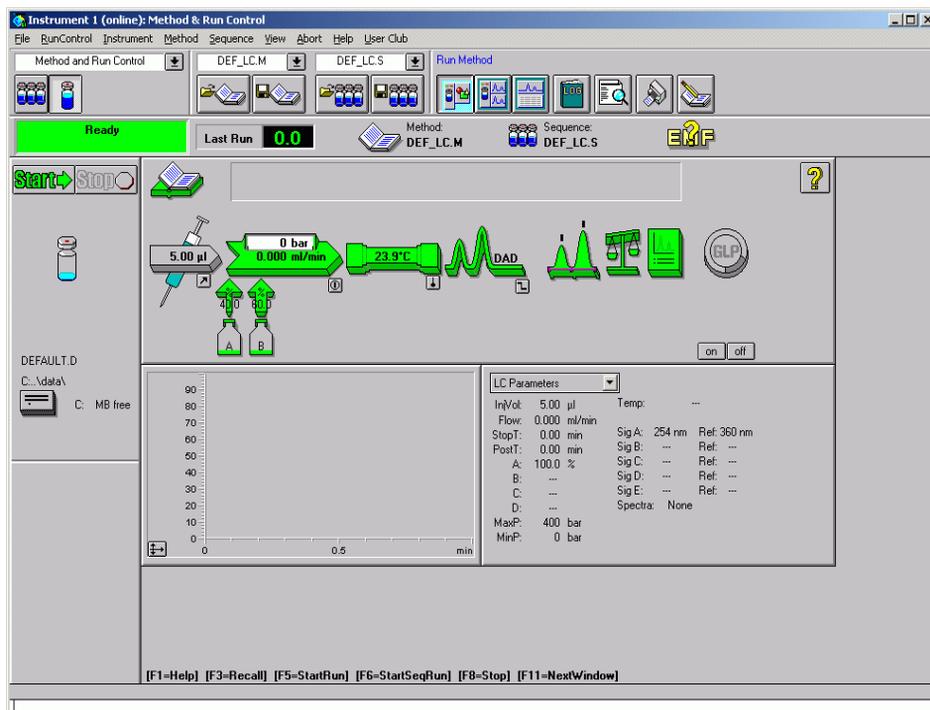


Figura 1 La pantalla de control de métodos y análisis de la ChemStation

- 1 En caso necesario, cambie a la pantalla **Method and Run Control**:
View > Method and Run Control (consulte la **Figura 2**)

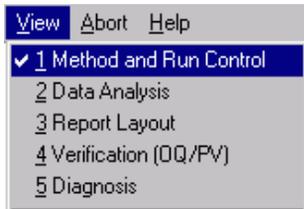


Figura 2 Cambiar a la pantalla de control de métodos y análisis



- 2 Pulse el icono  en la barra de herramientas Run Method.
- 3 En caso necesario, cambie a menús completos:

View > Full Menu

NOTA

Este elemento del menú View permite cambiar entre menús completos, Full Menu, y menús abreviados, Short Menu, según el estado actual de los menús.

- 4 Acceda al diagrama del muestreo si éste no está ya en pantalla:

View > Sampling Diagram

- 5 Muestre el diagrama del sistema si éste no está ya en pantalla:

View > System Diagram

Carga del método predeterminado

- 1 Muestre el cuadro de diálogo de carga de métodos, **Load Method:**
File > Load > Method
- 2 Seleccione `def_lc.m` en la lista de métodos.
- 3 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo y cargar el método.

NOTA

El nombre del método activo (cargado) se muestra en el cuadro combinado central en la parte superior de la barra de herramientas principal.

Configuración de los gráficos en línea

- 1 Muestre la ventana de señal:
View > Online Signals > Signal Window 1
- 2 Pulse **Change** en la ventana del gráfico en línea, **Online Plot**, para mostrar el cuadro de diálogo de edición de la misma, **Edit Signal Plot** (consulte la [Figura 3](#)):

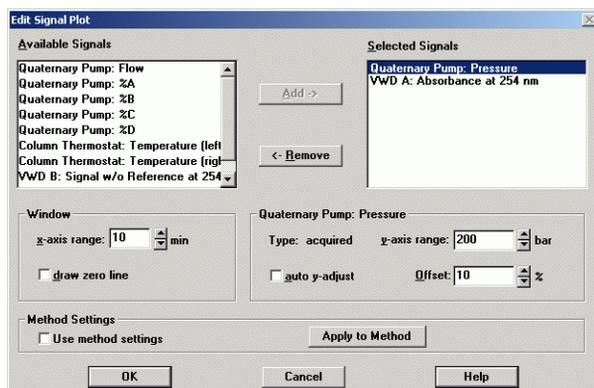


Figura 3 El cuadro de diálogo de edición del gráfico en línea

- 3 En el panel de señales disponibles, **Available Signals**, seleccione DAD 1A, MWD 1A o VWD A, dependiendo del detector que tenga configurado, y pulse **Add**.
- 4 En el panel **Available Signals**, seleccione Binary Pump Pressure o Quaternary Pump Pressure, dependiendo de la bomba, binaria o cuaternaria, que tenga configurada, y pulse **Add**.
- 5 En el panel de señales seleccionadas, **Selected Signals**, seleccione la presión de la bomba.
 - a En el grupo correspondiente a la ventana, **Window**, fije un valor para el rango del eje x, **x-axis range**, de 10 min.
 - b En el grupo correspondiente a la presión de la bomba, **Pump Pressure**, fije un valor para el rango, **Range**, de 200 bar.
- 6 En el panel **Selected Signals**, seleccione ahora la señal del detector.
 - a Fije un valor para el rango del eje y, **y-axis range**, de 1000 mAU
- 7 Pulse **OK**.

Purga de la bomba

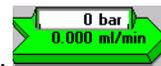
- 1 Abra manualmente la válvula de purga de la bomba. Encontrará los detalles necesarios en el manual de hardware suministrado con la bomba.
- 2 En el diagrama del sistema, pulse sobre la bomba, , y seleccione la opción de configuración de la misma, **Set up Pump**, en el menú.
- 3 En el grupo de control, **Control**, fije un valor del flujo, **Flow**, de 5 ml/min.
- 4 En el grupo de disolventes, **Solvents**, fije un valor de 50% B (para bombas binarias y cuaternarias).
- 5 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 6 En el diagrama del sistema, pulse el botón y deje la bomba purgando durante 10 minutos.

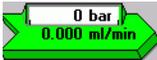
NOTA

Si no puede ver los botones On y Off del diagrama del sistema, desplace la ventana del gráfico en pantalla hasta hacerlos visibles.

- 7 Tras 10 minutos, detenga la purga pulsando el botón .

Establecimiento de las condiciones de equilibrado



- 1 En el diagrama del sistema, pulse sobre la bomba, , y seleccione la opción de configuración de la misma, **Set up Pump**, en el menú.
 - a En el grupo de control, **Control**, fije un valor del flujo, **Flow**, de 1 ml/min.
 - b En el grupo de disolventes, **Solvents**, fije un valor de 80% B (para bombas binarias y cuaternarias).

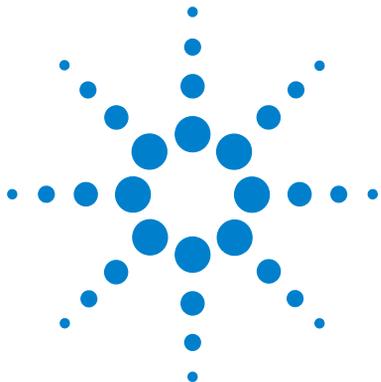
NOTA

Si va a utilizar otra muestra distinta de la muestra isocrática Agilent, referencia 01080-68702, ajuste los parámetros para las condiciones iniciales del análisis.

- c Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 2 Tras 5 minutos, compruebe que el gráfico en pantalla muestra una cierta presión de la bomba.
- 3 Observe el gráfico en pantalla; cuando se hayan estabilizado las líneas base, deje el sistema bombeando durante al menos 15 minutos para que alcance el equilibrio.

1 Equilibrado del sistema

Establecimiento de las condiciones de equilibrado



2 Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación

Este ejercicio le muestra cómo configurar un método para adquirir datos a partir de una muestra patrón. En él, llevará a cabo las tareas siguientes:

“Configuración del inyector” en la página 17

“Configuración de la bomba” en la página 18

“Configuración de la termostatación de la columna” en la página 19

“Configuración del detector” en la página 20

“Guardar el método” en la página 21

“Ejecución del método” en la página 22

NOTA

Estas instrucciones describen la configuración de un método para el análisis de la muestra isocrática Agilent, referencia 01080-68702. Si va a utilizar una muestra diferente, tendrá que ajustar las condiciones como corresponda.

Antes de comenzar

Antes de comenzar el ejercicio, compruebe los puntos siguientes:

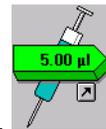
- hay instalada una columna apropiada. Para la muestra isocrática Agilent, recomendamos una columna Zorbax Eclipse XDB C-8, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm, referencia 993967-906.
- el sistema está purgado y equilibrado; consulte el [Capítulo 1](#), “Equilibrado del sistema”.

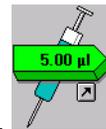


2 Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación

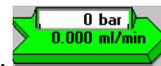
- las botellas de disolvente están llenas (agua en el canal A y acetonitrilo en el canal B).
- ha preparado una muestra en un vial de 2 ml, sellado con tapón de séptum.
- está cargado el método predeterminado, def_lc.m.

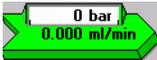
Configuración del inyector



- 1 En el diagrama del sistema, pulse sobre el inyector, , y seleccione la opción de configuración del mismo, **Set up Injector**, en el menú.
 - a En el grupo correspondiente a la inyección, **Injection**, seleccione la inyección de patrón, **Standard Injection**, y fije un valor del volumen de inyección, **Injection Volume**, de 5,0 µl.
 - b Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo **Set up Injector**.

Configuración de la bomba



- 1 En el diagrama del sistema, pulse sobre la bomba, , y seleccione la opción de configuración de la misma, **Set up Pump**, en el menú.
- 2 En el grupo de control, **Control**, fije un valor del flujo, **Flow**, de 1 ml/min.
- 3 Fije un tiempo de parada, **Stoptime**, de 6 min.
- 4 Fije un tiempo posterior, **Posttime**, de 2 min.
- 5 En el grupo de los disolventes, **Solvents**, fije un valor de 80% B (para bombas binarias y cuaternarias).
- 6 En la programación, **Timetable**, pulse **Append**.
- 7 Fije un tiempo, **Time**, de 2,0 min y un **%B** de 80.
- 8 Pulse de nuevo **Append** y ahora fije un valor de **Time** de 6 min y un valor de **%B** de 100.

NOTA

Si va a utilizar otra muestra distinta de la muestra isocrática Agilent, referencia 01080-68702, ajuste los parámetros para las condiciones iniciales del análisis.

- 9 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.



- 10 En el diagrama del sistema, pulse sobre las botellas de disolvente, , y seleccione la opción de llenado de las mismas, **Solvent Bottles Filling**, en el menú.
- 11 Introduzca los volúmenes reales de disolvente correspondientes a A y B.
- 12 Asegúrese de que están marcadas las casillas **Prevent analysis if level falls below** y **Turn pump off if running out of solvent**, que impiden el análisis cuando el nivel de disolvente cae por debajo de un cierto valor y apagan la bomba cuando se agota el disolvente, respectivamente.
- 13 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.

Configuración de la termostatización de la columna

- 1 En el diagrama del sistema, pulse sobre la columna, , y seleccione la opción de método de termostatización de la misma, **Column Thermostat Method**, en el menú.

NOTA

Si hay instalada una válvula de cambio de columna, asegúrese de que la posición de la válvula corresponde al uso de la columna apropiada.

- 2 Fije un valor de temperatura, **Temperature**, de 25°C.
- 3 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.

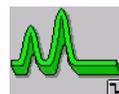
Configuración del detector

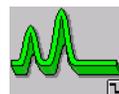
DAD y MWD



- 1 En el diagrama del sistema, pulse sobre el detector, , y seleccione **Set up DAD Signals** o **Set up MWD Signals**, para la configuración de un detector DAD o MWD, respectivamente, en el menú.
- 2 En el grupo de las señales, **Signals**, seleccione **Store** para almacenar las longitudes de onda A y B.
- 3 En la fila A, establezca los valores de **Sample** en 205 nm, **Bw** en 10 nm, **Reference** en 400 nm y **Bw** en 80 nm.
- 4 En la fila B, establezca los valores de **Sample** en 280 nm, **Bw** en 10 nm, **Reference** en 400 nm y **Bw** en 80 nm.
- 5 En el grupo de lámparas requeridas, **Required Lamps**, seleccione tanto **UV** como **Vis**.
- 6 En el grupo correspondiente a la anchura de pico, **Peakwidth (Responsetime)**, abra la lista desplegable y seleccione **>0.1 min (2 s)**.
- 7 En el grupo correspondiente a la rendija, **Slit**, abra la lista desplegable y seleccione **4 nm**.
- 8 En el grupo del equilibrado automático, **Autobalance**, seleccione **Prerun** para que éste tenga lugar antes del análisis.
- 9 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.

VWD



- 1 En el diagrama del sistema, pulse sobre el detector, , y seleccione la opción de configuración del mismo, **Set up VWD Signals**, en el menú.
- 2 En el grupo de las señales, **Signals**, fije un valor de la longitud de onda, **Wavelength**, de 254 nm.
- 3 En el grupo correspondiente a la anchura de pico, **Peakwidth (Responsetime)**, abra la lista desplegable y seleccione **>0.1 min (2 s)**.
- 4 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.

Guardar el método

- 1 Muestre el cuadro de diálogo **Save Method as**:
File > Save As > Method
- 2 En el campo **Name**, introduzca el nombre `testmeth`; pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 3 En el cuadro de diálogo **Save Method**, introduzca un comentario (por ejemplo, Método para una muestra de comprobación) en el campo y pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.

Ejecución del método

- 1 Coloque el vial de muestra en la posición 11 de la bandeja del inyector automático.

NOTA

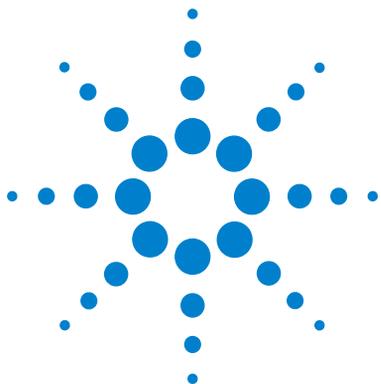
Si está utilizando un inyector de placas de pocillos, emplee una posición apropiada, por ejemplo la 1A1. Encontrará todos los detalles necesarios en la ayuda en línea.

- 2 Pulse el botón correspondiente a **una muestra individual**, , en la barra de herramientas.
- 3 Muestre el cuadro de diálogo de información de la muestra, **Sample Info**:
RunControl > Sample Info
- 4 Introduzca su nombre en el campo **Operator Name**.
- 5 En el grupo correspondiente al fichero de datos, **Data File**,
 - a Seleccione **Prefix/Counter**
 - b Introduzca en **Subdirectory** el nombre de subdirectorio `test` y pulse `Enter`
Si no existe el subdirectorio, aparecerá un mensaje de advertencia.
- 6 En el grupo correspondiente a los parámetros de la muestra, **Sample Parameters**,
 - a Introduzca `11` en el campo correspondiente a la ubicación, **Location**.
 - b En el campo correspondiente al nombre de la muestra, **Sample Name**, introduzca `Test Sample`.
 - c Escriba un comentario para la muestra de prueba en el campo **Comment**.
- 7 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 8 En el diagrama del muestreo, pulse .

NOTA

También es posible iniciar el método pulsando **Run Method** en el cuadro de diálogo de información de la muestra o pulsando **F5** en el teclado.

- 9 Una vez completada la ejecución, pulse el botón  del diagrama del sistema para apagar el instrumento. Pulse **Yes** para confirmar el apagado.



3 Integración de la señal

Este ejercicio le guía a través del proceso de integración de una señal. En él, llevará a cabo las tareas siguientes:

“Integración de una señal” en la página 24

“Cambio de los eventos iniciales” en la página 25

“Establecimiento de eventos programados” en la página 26

Este ejercicio utiliza el fichero de datos adquirido en el [Capítulo 2](#), “Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación”.

No obstante, si lo prefiere, puede utilizar el fichero de datos de demostración DEMODAD.D ubicado en la carpeta HPCHEM\n\DATA\DEMO (donde n es el número del instrumento).



Integración de una señal

- 1 En caso necesario, cambie a la pantalla de análisis de datos, **Data Analysis**:
View > Data Analysis (consulte la [Figura 4](#))

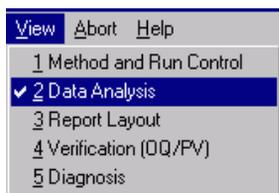
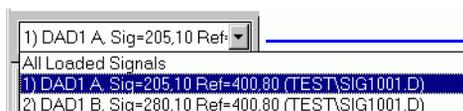


Figura 4 Cambiar a la pantalla de análisis de datos

- 2 En la barra de herramientas Data Analysis, pulse el icono  para cambiar al espacio de trabajo de integración.
- 3 Cargue el fichero de datos adquirido en el ejercicio [Capítulo 2](#), “Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación”:
File > Load Signal
- 4 En el cuadro de diálogo de carga de la señal, **Load Signal**, cambie a la carpeta **TEST** y seleccione el fichero.
- 5 En la barra de herramientas Integration/Report, pulse el icono  para cambiar a la tabla de eventos de integración.
- 6 En la tabla de eventos de integración, pulse la flecha hacia abajo para mostrar la lista de señales disponibles y seleccione la señal **VWD1 A**, la señal **DAD1 A** o la señal **MWD1 A**, dependiendo del detector utilizado para adquirir los datos.

Encontrará más información acerca de las señales disponibles en la ayuda en línea.



Flecha hacia abajo de selección de la señal

Figura 5 Seleccionar la señal

Cambio de los eventos iniciales

- 1 Examine la tabla de resultados de la integración situada debajo de la ventana de señal para obtener información acerca de las áreas de los picos integrados.
- 2 Determine el área del pico más pequeño que desea integrar.
- 3 En la tabla de eventos de integración, pulse sobre la columna correspondiente al valor, **Value**, del evento de rechazo del área, **Area Reject**, y establezca el valor justo por debajo del área del pico más pequeño que desea integrar.
- 4 En la barra de herramientas Integration/Report, pulse el icono  para volver a integrar la señal.

Ampliación de una zona seleccionada de la señal

Es posible comprobar las líneas base de la integración ampliando una parte seleccionada de la señal.

- 1 En la barra de herramientas, pulse el botón  para cambiar al cursor de zoom.
- 2 En la ventana de señal, sitúe la cruz del cursor en posición inferior izquierda con respecto a la zona que desea ampliar (por ejemplo, por debajo de la línea base de la señal y a la izquierda del pico más pequeño).
- 3 Pulse el botón izquierdo del ratón y, sin soltarlo, desplace la cruz hasta la esquina superior derecha de la zona que desea seleccionar.
- 4 Suelte el botón del ratón para mostrar la zona seleccionada en la ventana de señal.
- 5 En la barra de herramientas, pulse el botón  para volver al tamaño original.

NOTA

Es posible repetir la ampliación varias veces para centrarse en una parte específica de la señal. Cada vez que pulse el botón indicado en el paso 5, la ampliación vuelve al valor previo.

Establecimiento de eventos programados

- 1 En la barra de herramientas, pulse la flecha hacia abajo para mostrar la lista de eventos de integración (consulte la Figura 6).

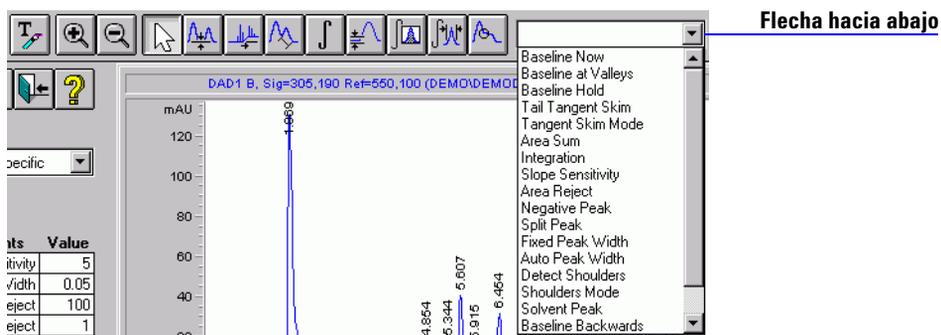


Figura 6 Mostrar la lista de eventos de integración

- 2 Seleccione el evento de integración, Integration, en la lista.
- 3 En la ventana de señal, sitúe el cursor a la izquierda del pico de disolvente y pulse el botón izquierdo del ratón.

Se añade a la tabla de eventos de integración una línea con el evento Integration, el valor **OFF** (desactivado) y el tiempo seleccionado mediante la posición del cursor.

- 4 Desplace el cursor hasta una nueva posición a la derecha del pico de disolvente y pulse el botón izquierdo del ratón.

Se añade a la tabla de eventos de integración un evento Integration con el valor **ON** (activado) y el tiempo seleccionado mediante la nueva posición del cursor.

- 5 En la barra de herramientas Integration/Report, pulse el icono  para volver a integrar la señal.

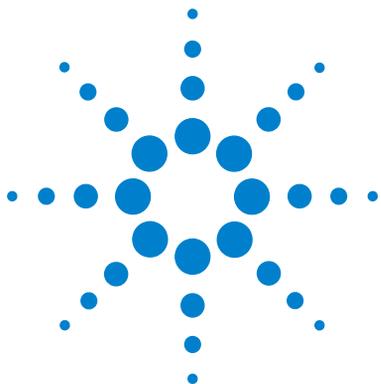
Observe que el pico de disolvente ya no está integrado y no aparece en la tabla de resultados de la integración.

Encontrará todos los detalles de los eventos de integración disponibles en la ayuda en línea.

- 6 En la barra de herramientas del espacio de trabajo de integración, pulse el icono  para guardar la tabla de eventos de integración modificada y cerrar el espacio de trabajo de integración.
- 7 En la barra de herramientas, pulse el icono  para mostrar el cuadro de diálogo **Save Method**.
- 8 En el cuadro de diálogo **Save Method**, introduzca un comentario (por ejemplo, *Eventos de integración modificados*) en el campo correspondiente y pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.

3 Integración de la señal

Establecimiento de eventos programados



4 Configuración de las calibraciones

Este ejercicio le guía a través del proceso de configurar una calibración. En él, llevará a cabo las tareas siguientes:

“Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30

“Cuantificación de una muestra problema” en la página 33

“Adición de un segundo y un tercer nivel a la calibración ESTD” en la página 34

“Recalibración de un nivel” en la página 37

“Configuración de una calibración ISTD (con patrón interno) de un nivel” en la página 38

Este ejercicio utiliza archivos de datos de demostración ubicados en la carpeta HPCHEM\n\DATA\DEMO (donde n es el número del instrumento).



4 Configuración de las calibraciones

Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel

Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel

- 1 En caso necesario, cambie a la pantalla de análisis de datos, **Data Analysis**:
View > Data Analysis (consulte la [Figura 7](#))

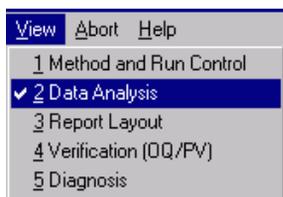


Figura 7 Cambiar a la pantalla de análisis de datos

- 2 En la barra de herramientas Data Analysis, pulse el icono  para cambiar al espacio de trabajo de calibración.
- 3 Cargue la señal A del primer fichero de datos, 005-0101.D:
 - a **File > Load Signal**
 - b En el cuadro de diálogo de carga de la señal, **Load Signal**, navegue hasta la carpeta **HPCHEM\n\DATA\DEMO**, donde **n** es el número del instrumento.
 - c Seleccione el fichero de datos 005-0101.D.
 - d Pulse el botón **Full >>** para mostrar la información correspondiente a la señal (consulte la [Figura 8](#) en la página 31).
 - e Seleccione la primera señal, DAD1 A, y pulse **OK**.
 - f Asegúrese de que la casilla **Integrate after load** está marcada, de modo que se proceda a la integración tras la carga.

Ésta es una muestra de calibración que contiene 100 ng de cada componente.

Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel

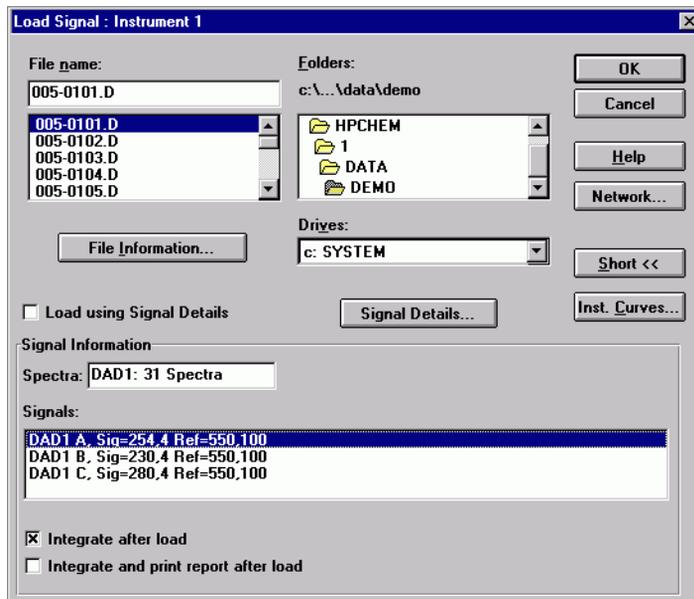


Figura 8 El cuadro de diálogo de carga de la señal completo

- 4 Muestre el cuadro de diálogo de calibración, **Calibrate** (consulte la [Figura 9](#) en la página 32):

Calibration > New Calibration Table

4 Configuración de las calibraciones

Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel

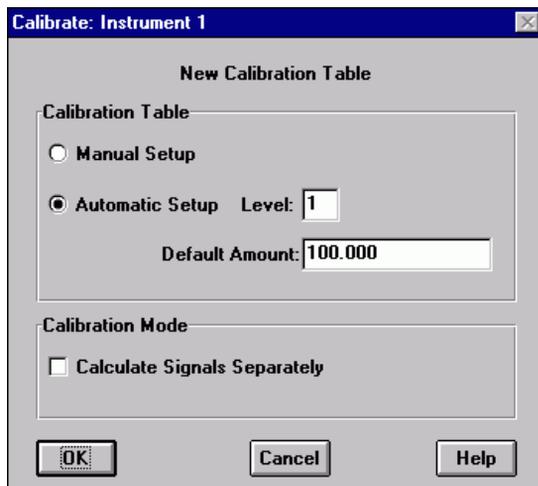


Figura 9 El cuadro de diálogo de calibración correspondiente a una nueva tabla

- 5 En el grupo correspondiente a la tabla de calibración, **Calibration Table**:
 - a Seleccione la opción de configuración automática, **Automatic Setup**.
 - b Fije un nivel, **Level**, de 1.
 - c Fije una cantidad predeterminada, **Default Amount**, de 100.
- 6 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo y configurar la tabla de calibración.
- 7 En la columna **Compound** de la tabla de calibración, introduzca nombres para los cuatro compuestos (por ejemplo, Compound 1, Compound 2, Compound 3 y Compound 4).

Cuantificación de una muestra problema

- 1 Muestre el cuadro de diálogo de especificación del informe, **Specify Report:**
Report > Specify Report
- 2 En el grupo de destino, **Destination**, seleccione la impresora, **Printer**, y la pantalla, **Screen**.
- 3 En el grupo de resultados cuantitativos, **Quantitative Results:**
 - a Pulse la flecha hacia abajo del cuadro combinado **Calculate** y seleccione **ESTD** en la lista.
 - b Asegúrese de que el valor de **Based On** es **Area** y el de **Sorted By** es **Signal**, de modo que los valores cuantificados se basen en las áreas y se ordenen por señales.
 - c Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 4 En el grupo correspondiente al estilo, **Style**, asegúrese de que se ha seleccionado **Add Chromatogram Output**, de modo que el informe incluya el cromatograma.
- 5 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo **Specify Report**.
- 6 Guarde el método como `testcal.m`:
File > Save As > Method
- 7 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 005-0102.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “[Configuración de una calibración ESTD \(con patrón externo\) de un nivel](#)” en la página 30.
- 8 Imprima un informe cuantitativo en la pantalla y en la impresora.
Report > Print Report

4 Configuración de las calibraciones

Adición de un segundo y un tercer nivel a la calibración ESTD

Adición de un segundo y un tercer nivel a la calibración ESTD

- 1 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 006-0201.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30.

Ésta es una muestra de calibración que contiene 200 ng de cada componente.

- 2 Muestre el cuadro de diálogo de calibración, **Calibrate**, correspondiente a la adición de un nuevo nivel (consulte la [Figura 10](#)):

Calibration > Add Level

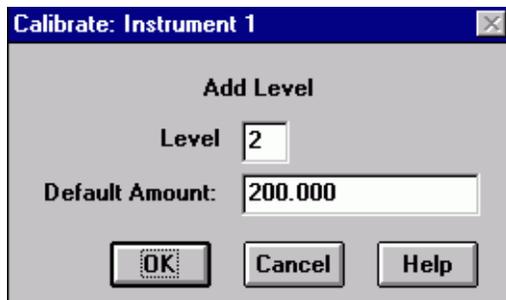


Figura 10 El cuadro de diálogo de calibración para la adición de un nuevo nivel

- 3 Asegúrese de que el valor del nivel, **Level**, está fijado en 2.
- 4 Introduzca 200 en el campo correspondiente a la cantidad predeterminada, **Default Amount**.

Observe que la tabla de calibración se actualiza automáticamente con un nuevo nivel para cada uno de los compuestos.

- 5 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 007-0301.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30.

Ésta es una muestra de calibración que contiene 300 ng de cada componente.

- 6 Muestre el cuadro de diálogo **Calibrate** para añadir otro nivel (consulte la [Figura 10](#)):

Calibration > Add Level

- 7 Asegúrese de que el valor del nivel, **Level**, está fijado en 3.
- 8 Introduzca 300 en el campo correspondiente a la cantidad predeterminada, **Default Amount**.
- 9 Guarde el método:
File > Save > Method

Cuantificación de una muestra problema

- 1 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 005-0102.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30.

- 2 Imprima un informe cuantitativo en la pantalla y en la impresora:

Report > Print Report

4 Configuración de las calibraciones

Adición de un segundo y un tercer nivel a la calibración ESTD

Cambio del tipo de curva de calibración

- 1 Muestre el cuadro de diálogo de parámetros de la calibración, **Calibration Settings**, (consulte la [Figura 11](#)):

Calibration > Calibration Settings

Calibration Settings: Instrument 1

Title

Use Sample Data From Data File

Sample Defaults

Amount	0.000	I#	Compound	ISTD Amount
Amount Units	ng/ul			
Multiplier	1.000			
Dilution	1.000			

Enter

Default RT Windows

	Minutes		%
Reference Peaks	0.00	+	5.00
Other Peaks	0.00	+	5.00

Default Calibration Curve

Type Linear

Origin Include

Weight Equal

Calculate Uncalibrated Peaks

For Signal: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=55

Using Compound None

With Rsp Factor 0.000

Use ISTD None

No

If Peaks Missing

Partial Calibration

Correct All RTs

ISTD Correction

Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

OK Cancel Help

Figura 11 El cuadro de diálogo de parámetros de la calibración

- 2 En el grupo **Default Calibration Curve**, establezca el tipo, **Type**, correspondiente a la curva de calibración predeterminada como **Power**, potencial.

Observe el cambio producido en la curva de calibración.

- 3 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 4 Vuelva a cuantificar la muestra problema y observe el cambio producido en los resultados:

Report > Print Report

Recalibración de un nivel

- 1 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 005-0103.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30.

- 2 Muestre el cuadro de diálogo de recalibración, **Recalibrate** (consulte la [Figura 12](#)):

Calibration > Recalibrate

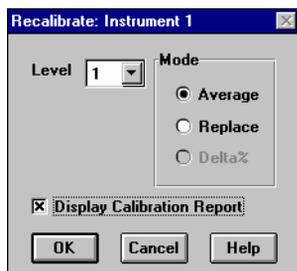


Figura 12 El cuadro de diálogo de recalibración

- 3 En el cuadro de diálogo **Recalibrate**, fije un nivel, **Level**, de 1 y el modo, **Mode**, como **Average**, promedio.
- 4 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo.
- 5 Seleccione **Display Calibration Report**
- 6 Cuando se muestre el informe, observe los cambios que han tenido lugar en el mismo; después, cierre el informe y acepte la recalibración.
- 7 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 005-0102.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30.

- 8 Imprima un informe cuantitativo en la pantalla y en la impresora:

Report > Print Report

4 Configuración de las calibraciones

Configuración de una calibración ISTD (con patrón interno) de un nivel

Configuración de una calibración ISTD (con patrón interno) de un nivel

Este ejercicio utiliza los mismos ficheros de datos que para la calibración ESTD, pero identifica el segundo pico como patrón interno.

- 1 Cargue el método predeterminado, def_lc.m:

File > Load > Method

- 2 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 005-0101.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “Configuración de una calibración ESTD (con patrón externo) de un nivel” en la página 30.

- 3 Muestre el cuadro de diálogo de calibración, **Calibrate** (consulte la [Figura 9](#) en la página 32):

Calibration > New Calibration Table

- 4 En el grupo correspondiente a la tabla de calibración, **Calibration Table**:
 - a Seleccione la opción de configuración automática, **Automatic Setup**.
 - b Fije un nivel, **Level**, de 1.
 - c Fije una cantidad predeterminada, **Default Amount**, de 100.
- 5 Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo y configurar la tabla de calibración.
- 6 En la columna **Compound** de la tabla de calibración, introduzca nombres para los tres compuestos y el patrón interno (por ejemplo, Compound 1, IntStd, Compound 2 y Compound 3).

Configuración de una calibración ISTD (con patrón interno) de un nivel

- 7 Pulse sobre la columna **ISTD** del pico 2, seleccione la flecha hacia abajo y seleccione **Yes**; luego pulse en cualquier otro lugar de la tabla de calibración para mostrar el cuadro de diálogo **Calibration Table** (consulte la [Figura 13](#)).

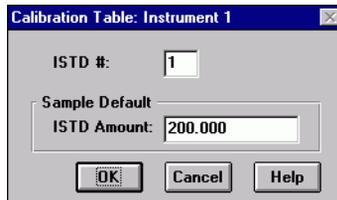


Figura 13 El cuadro de diálogo de la tabla de calibración

- 8 En el cuadro de diálogo **Calibration Table**,
- a Fije un valor de **ISTD #** de 1.
 - b Fije una cantidad de patrón interno, **ISTD Amount**, de 200.
 - c Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo **Calibration Table**.
- 9 En la columna **Amt** del pico 2, fije una cantidad de patrón interno de 200.
- 10 Muestre el cuadro de diálogo de especificación del informe, **Specify Report:**
- Report > Specify Report**
- 11 En el grupo de destino, **Destination**, seleccione la impresora, **Printer**, y la pantalla, **Screen**.
- 12 En el grupo de resultados cuantitativos, **Quantitative Results:**
- a Pulse la flecha hacia abajo del cuadro combinado **Calculate** y seleccione **ISTD** en la lista.
 - b Asegúrese de que el valor de **Based On** es **Area** y el de **Sorted By** es **Signal**, de modo que los resultados cuantificados se basen en las áreas y se ordenen por señales.
- 13 Guarde el método como `testcal2.m`:
- File > Save As > Method**

4 Configuración de las calibraciones

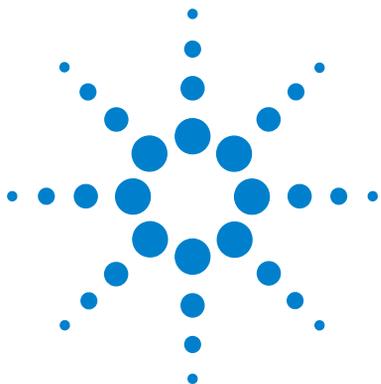
Configuración de una calibración ISTD (con patrón interno) de un nivel

14 Cargue la señal DAD1 A del fichero de datos 005-0102.D ubicado en la carpeta **DEMO**.

Encontrará instrucciones detalladas en el [paso 3](#) de la sección “[Configuración de una calibración ESTD \(con patrón externo\) de un nivel](#)” en la página 30.

15 Imprima un informe cuantitativo en la pantalla y en la impresora:

Report > Print Report



5 Automatización de los análisis

Este ejercicio le guía a través del proceso de configuración de una secuencia. En él, llevará a cabo las tareas siguientes:

“Configuración de los parámetros de la secuencia” en la página 42

“Configuración de la tabla de secuencia” en la página 45

“Ejecución de la secuencia” en la página 47

Antes de comenzar

Antes de comenzar el ejercicio, compruebe los puntos siguientes:

- tiene una serie de muestras que desea analizar automáticamente,
- todas las muestras se van a analizar en las mismas condiciones cromatográficas (columna, sistema de disolventes).



Configuración de los parámetros de la secuencia

- 1 En caso necesario, cambie a la pantalla de control de métodos y análisis, **Method and Run Control**:

View > Method and Run Control (consulte la [Figura 14](#))

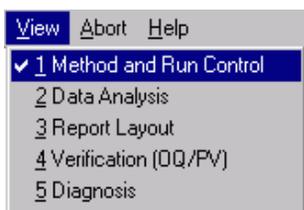


Figura 14 Cambiar a la pantalla de control de métodos y análisis

- 2 Pulse el icono  en la barra de herramientas principal para cambiar al panel de secuencias.
- 3 Cargue la secuencia predeterminada, def_lc.s:
File > Load > Sequence
- 4 Muestre el cuadro de diálogo de parámetros de secuencia, **Sequence Parameters** (consulte la [Figura 15](#)):
Sequence > Sequence Parameters

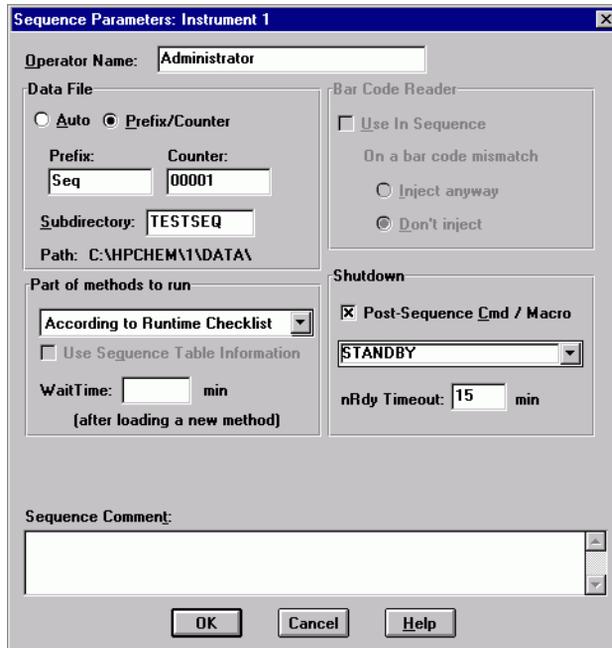


Figura 15 El cuadro de diálogo de parámetros de secuencia

- 5 En el cuadro de diálogo **Sequence Parameters**, introduzca su nombre en el campo **Operator Name**.
- 6 En el grupo correspondiente al fichero de datos, **Data File**:
 - a Seleccione **Prefix/Counter**
 - b Introduzca un prefijo, por ejemplo `Seq`
 - c Deje el contador en el valor predeterminado (0001).
 - d Introduzca un nombre de subdirectorio en el campo **Subdirectory**, por ejemplo `TestSeq`, y pulse en cualquier otro lugar del cuadro de diálogo. Pulse **OK** en el cuadro de mensaje para crear el subdirectorio.

Estos parámetros automatizan la asignación de nombres de ficheros de datos correspondientes a las muestras de la secuencia como `Seq0001`, `Seq0002`, . . . , `Seq000n`, y su ubicación en el nuevo subdirectorio `TestSeq`.

- e En el grupo correspondiente al apagado, **Shutdown**, seleccione **Post-sequence Cmd/Macro**.

5 Automatización de los análisis

Configuración de los parámetros de la secuencia

f Pulse sobre la flecha hacia abajo y seleccione **STANDBY**.

g Fije un valor de **nRdy Timeout** de 15 minutos.

Se asegura de ese modo que, en caso de producirse una condición de error, el sistema se apaga limpiamente transcurridos 15 minutos sin operación.

Pulse **OK** para cerrar el cuadro de diálogo **Sequence Parameters**.

Configuración de la tabla de secuencia

1 Muestre la tabla de secuencia, **Sequence Table** (consulte la [Figura 16](#)):

Sequence > Sequence Table

Line	Location	Sample Name	Method Name	Inj/Location	Sample Type	Cal Level	Update RF	Update RT	Interval	Samp
1					Sample					

Figura 16 La tabla de secuencia

2 Complete la primera línea de la **tabla de secuencia** con la información obligatoria:

- a Introduzca una ubicación para la muestra en **Sample Location**.
- b Pulse en la celda **Method**, abra la lista desplegable y seleccione un método.

5 Automatización de los análisis

Configuración de la tabla de secuencia

c Introduzca un número de inyecciones para esa ubicación.

También puede completar los demás campos si así lo desea. Observe que la barra de desplazamiento horizontal le ofrece acceso a las columnas situadas a la derecha de la tabla. Encontrará más información en la ayuda en pantalla y en el manual Understanding Your ChemStation (Entender la ChemStation).

- 3** Pulse el botón **Append Line** para añadir una nueva línea a la tabla; complétela como la primera.
- 4** Cuando haya completado una línea de la **tabla de secuencia** para cada una de las muestras, pulse **OK** para cerrar la **tabla de secuencia**.
- 5** Guarde la secuencia con un nuevo nombre:

Sequence > Save Sequence As

Ejecución de la secuencia

- 1 Asegúrese de que las muestras están en la bandeja del inyector automático en las posiciones correctas de acuerdo con sus entradas en la **tabla de secuencia**.
- 2 Pulse el botón  para iniciar la secuencia.

5 Automatización de los análisis

Ejecución de la secuencia

www.agilent.com

En este manual

Este manual ofrece instrucciones paso a paso para ayudarle a comenzar a trabajar con la ChemStation de Agilent. Se cubren las tareas siguientes:

- Equilibrado del sistema
- Configuración de un método para analizar una muestra de comprobación
- Integración de la señal
- Configuración de las calibraciones
- Automatización de los análisis

© Agilent Technologies, Deutschland GmbH 2003

Impreso en Alemania
6/2003



G2170-95200



Agilent Technologies