

2009

Manuel simplifié d'utilisation du logiciel Turbomass

Salle de TP de Génie Analytique

Présentation Succincte du logiciel Turbomass

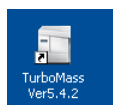
TYPE DE DOCUMENT : MSUL	N° 4	PAGE : 24	IND.REV/DATE : 1 – 22/08/2009
ETABLI PAR : Véronique JACOB	VERIFIE PAR : V.JACOB		APPROUVE PAR : V. JACOB
DESTINATAIRES : Utilisateurs du laboratoire de Génie Analytique n° 001			



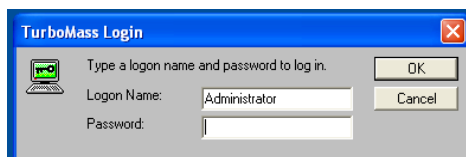
TABLE DES MATIERES

1	Ouverture du logiciel	1
2	Création ou ouverture d'un projet.....	2
2.1	Création d'un projet.....	2
2.2	Ouverture d'un projet.....	2
3	Préparation des expériences	3
3.1	Réglage de l'analyseur (Tune) et création du fichier de « tuning »	3
3.2	Création des méthodes.....	10
3.2.1	Création de la méthode chromatographique.....	10
3.2.2	Création de la méthode spectrométrique	16
3.3	Création de la sample list	21
4	Démarrage d'une analyse.....	22
5	Exploitation d'un chromatogramme	22
6	Création d'une méthode de quantification	23

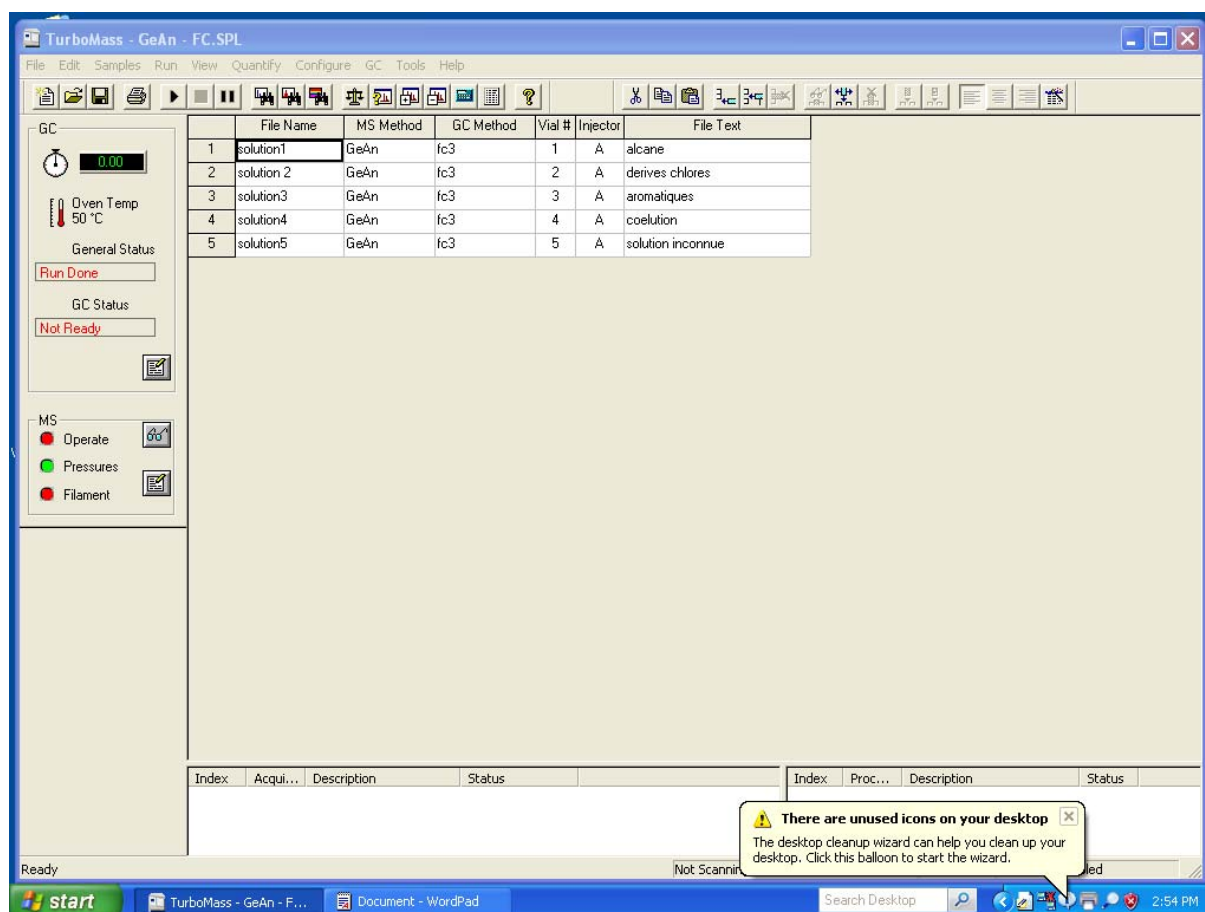
1 OUVERTURE DU LOGICIEL



1. Cliquer sur l'icône
2. À l'invite du login valider par OK (pas de mot de passé)



3. La fenêtre de travail s'ouvre



2 CREATION OU OUVERTURE D'UN PROJET

2.1 CREATION D'UN PROJET

1. Cliquer sur **File** de la barre de menu puis **New Project**
2. Sélectionner « création à partir d'un projet existant »
3. Nommer le projet

2.2 OUVERTURE D'UN PROJET

1. Cliquer sur **File** de la barre de manu puis **Load Project**
2. Sélectionner le projet à ouvrir
3. Valider par **OK**

3 PREPARATION DES EXPERIENCES

3.1 REGLAGE DE L'ANALYSEUR (TUNE) ET CREATION DU FICHIER DE « TUNING »

 **Cette opération doit obligatoirement être effectuée en présence d'un enseignant**

Le spectromètre de masse est un analyseur dont la sensibilité évolue au cours du temps, c'est pour cette raison qu'il est nécessaire de le régler (sensibilité, résolution) avant toute série d'analyses. Ce réglage se fait en routine, de manière automatique, bien qu'un réglage manuel (pour des applications particulières) soit possible. Ce réglage, appelé « tuning » est basé sur l'analyse d'un composé référence, le FC43 (appelé également : Heptacos, perfluorotributylamine) qui possède la propriété de se fragmenter en ions positifs sur une plage de masse très étendue. Le réglage consiste donc à modifier les potentiels appliqués aux différents éléments de la source et de l'analyseur (quadripôle), afin d'obtenir la sensibilité et la résolution souhaitée. Un exemple de réglage est donné ci dessous, ainsi que le spectre de masse du FC43.

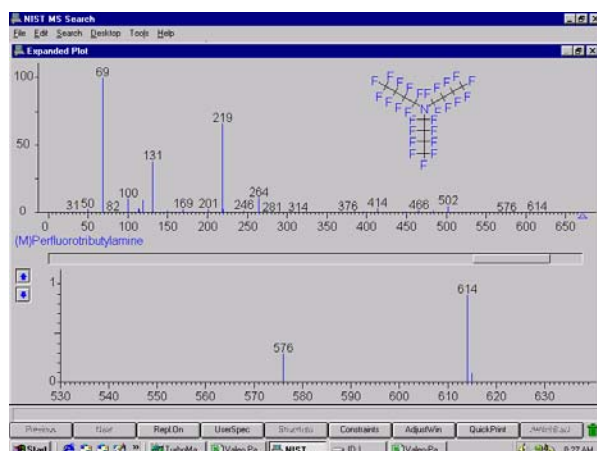


FIGURE 1 : SPECTRE DE MASSE DU FC43

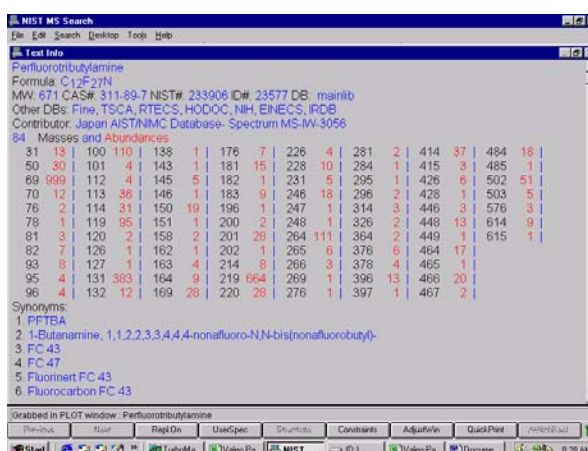


FIGURE 2 : ABONDANCE DES IONS DANS LA FRAGMENTATION DU FC43

Les réglages de l'analyseur sont accessibles dans la page de tune que l'on ouvre en cliquant sur l'icône  accessible lors de l'ouverture du logiciel TURBOMASS.

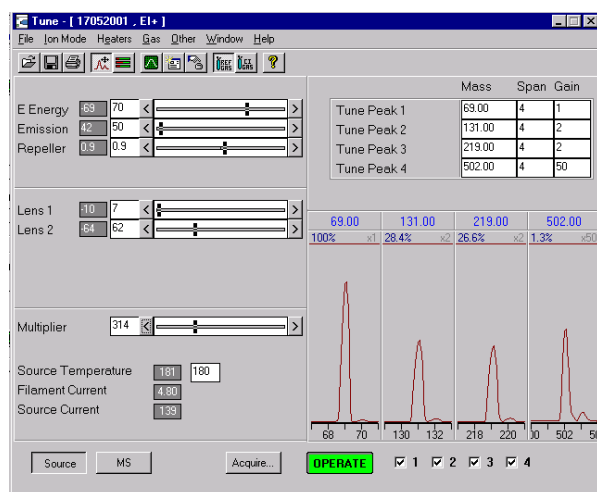


FIGURE 3 : EXEMPLE DE REGLAGE DES PARAMETRES SOURCES

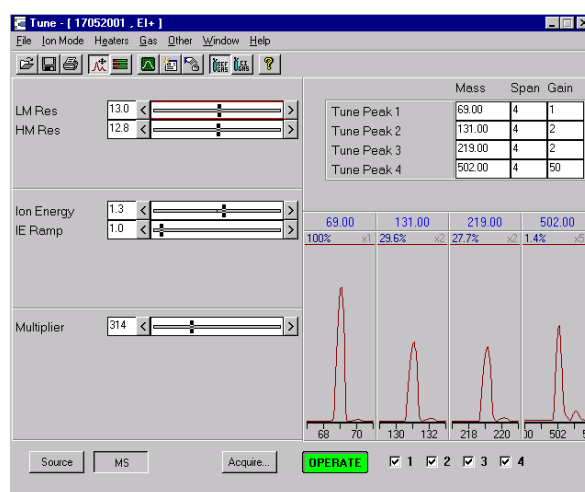


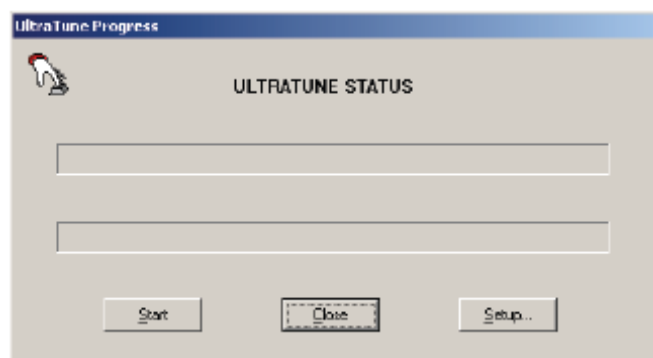
FIGURE 4 : EXEMPLE DE REGLAGE DES PARAMETRES ANALYSEUR

1. Cliquer sur  pour afficher la fenêtre de réglage : *Tune*.
2. Allumer le filament et les hautes tensions en cliquant sur le bouton **Operate** situé en bas et au centre de la fenêtre

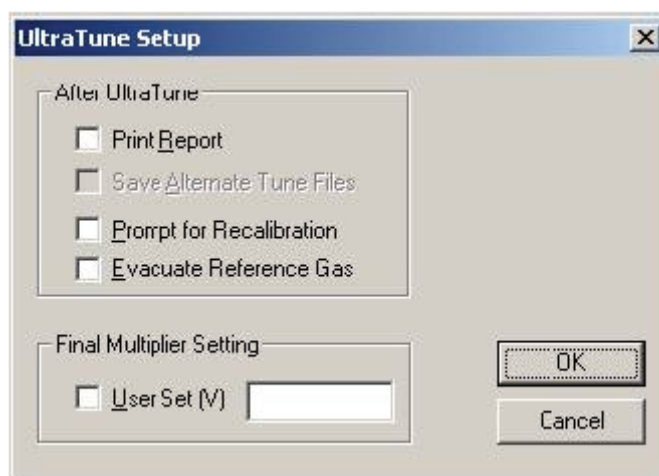
Le voyant passe au vert pour indiquer que le filament en On.

3. Ouvrir la vanne de gaz de référence en cliquant sur .
4. Cliquer sur  pour démarre l'*UltraTune*.

Vous devez entendre le click d'ouverture de la vanne de gaz de référence. Le réglage commence. La première page de l'ultra Tune s'affiche.



5. Cliquer sur **Setup** pour ouvrir la boîte de dialogue.



Les paramètres par défaut (Full Width Half Max (**FWHM**) = 0.55 pour les masses 69, 131, 219, and 502) sont appropriés pour les réglages avec l'Heptacosa. Il n'est pas nécessaire de modifier ces paramètres si vous utilisez l'Heptacosa.

La sensibilité en SIR doit être augmentée en choisissant un nombre supérieur à 0,6, mais attention d'éviter les pics élus proches ayant un rapport m/z supérieur ou inférieur à l'ion cible.

6. Sélectionner les paramètres « **After UltraTune** »:

Print Report – Rapport de réglage automatiquement imprimé après un réglage réussi.

Save Alternate Tune Files - Saves the top three UltraTune result sets as tune files rather than just the top one.

Prompt for Recalibration – Demande une calibration en masses après un Ultra Tune réussi.

Evacuate Reference Gas – Le gaz de référence est automatiquement évacué après un réglage.

7. Réglage du multiplicateur.

User Set (V) – Cocher la case si vous souhaitez imposer la tension du PMT.

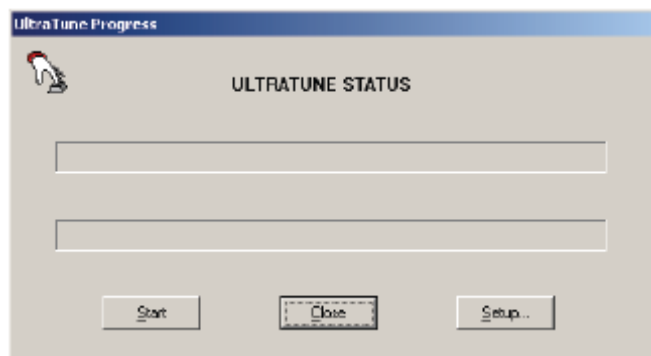
8. Lorsque les paramètres de réglage conviennent valider par **OK** pour sortir de la boîte de dialogue.

9. Cliquer sur **Start** pour démarrer le réglage. Les évènements suivants peuvent se produire :

- Si la source n'est pas à la bonne température, le message "Waiting for the source temperature to equilibrate" s'affiche.
- Lorsque la température est atteinte, si le voyant Operate est Off, la vanne d'admission du gaz de référence est fermée ou le pompage du gaz de référence est activé, le message "Waiting for Reference Gas pressure to stabilize" s'affiche.
- Si la vanne de pompage du gaz de référence est ouverte, elle se fermera automatiquement dans un délai de 50 secondes.
- Si la vanne d'admission du gaz de référence est fermée, elle sera ouverte au bout de 100 s. Le message "Waiting for reference Gas pressure to stabilize" s'effacera.
- Si le voyant Operate est Off, il sera mis sur on, suivi d'un délai de 5 secondes. Un contrôle est réalisé pour vérifier si l'énergie des électrons et le courant d'émission sont aux valeurs imposées (avec une tolérance respectivement de ± 7 and ± 10). Si les valeurs sont hors tolérance le message d'erreur "Electron energy not at the set value." et/ou "Trap emission current not at the set value" s'affiche et la procédure de réglage est interrompue.

La boîte de dialogue d'avancement de l'*UltraTune* s'affiche.

Le processus de réglage en cours s'affiche.



Lorsque le réglage est terminé, le message " the UltraTune completed" s'affiche.

10. Cliquer sur OK

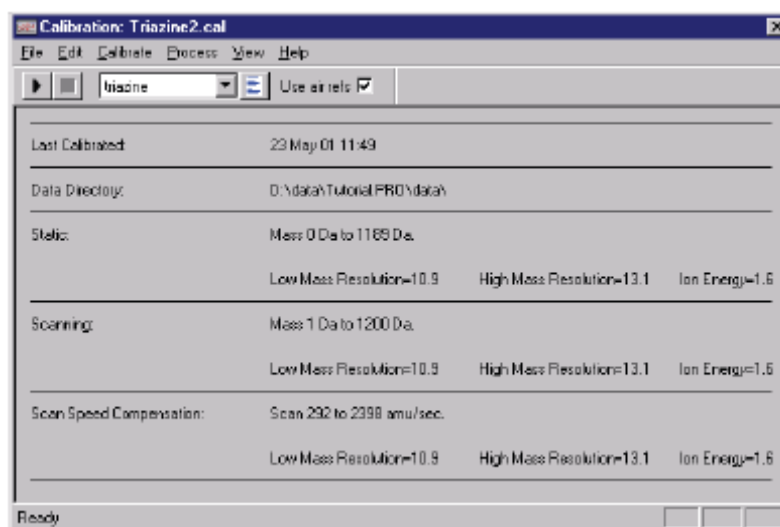
Les paramètres de réglage déterminés par l'Ultra Tune seront sauvés dans un fichier.

11. Si la calibration en masses a été demandée dans l'Ultra Tune Setup, le message suivant apparaît :



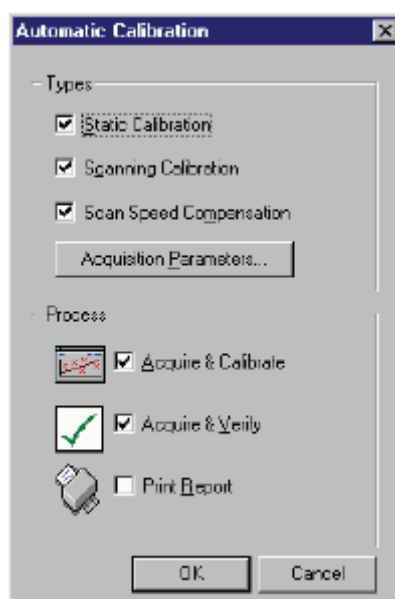
12. Cliquer sur **OK** pour démarrer le processus de calibration.

La fenêtre de dialogue de calibration s'affiche:

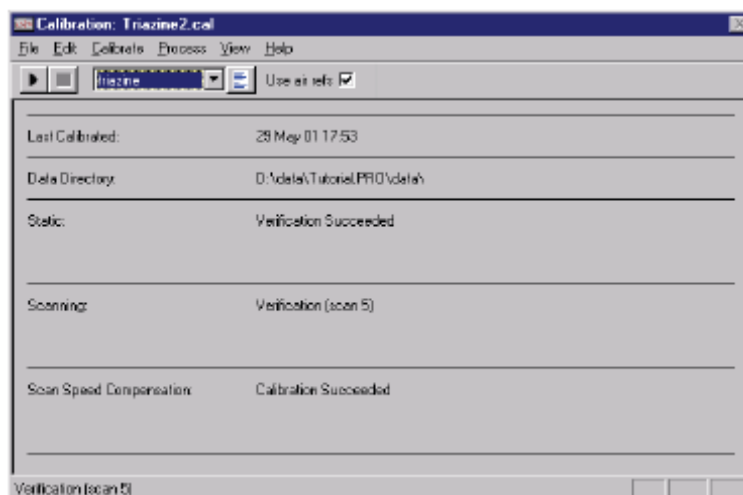


13. Cliquer sur  pour démarrer le processus de calibration automatique.

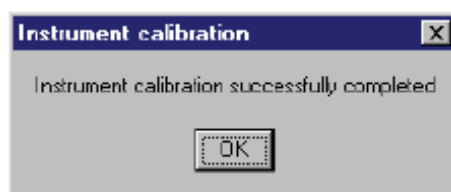
La fenêtre de dialogue du processus de calibration s'ouvre.



14. S'assurer que les cases sont cochées comme sur la fenêtre précédente
15. Cliquer sur **OK** pour démarrer la calibration en masses.

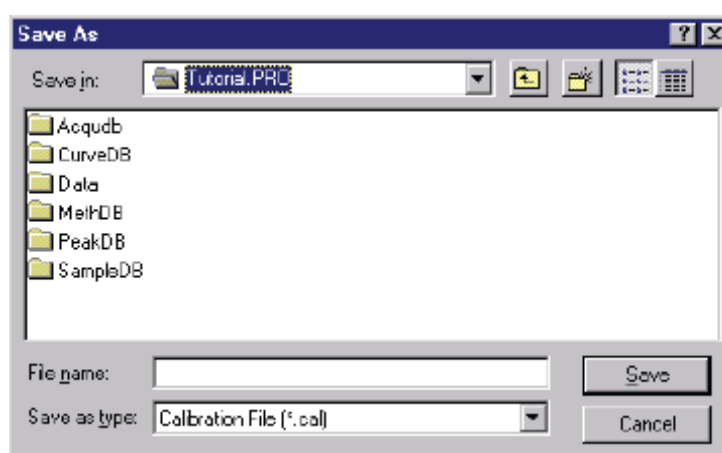


16. Une fois la calibration terminée la fenêtre suivante s'ouvre :



17. Cliquer sur **OK** pour effacer le message.

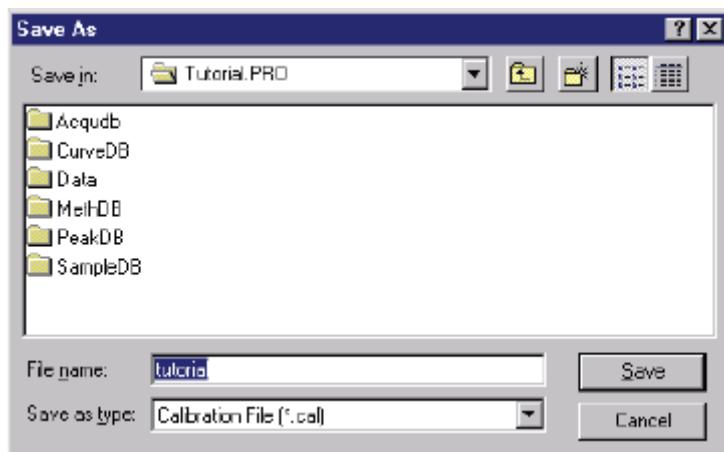
La fenêtre de sauvegarde de la calibration s'ouvre.



Le fichier doit être sauvegardé dans le répertoire du projet (TPGEAN.PRO).

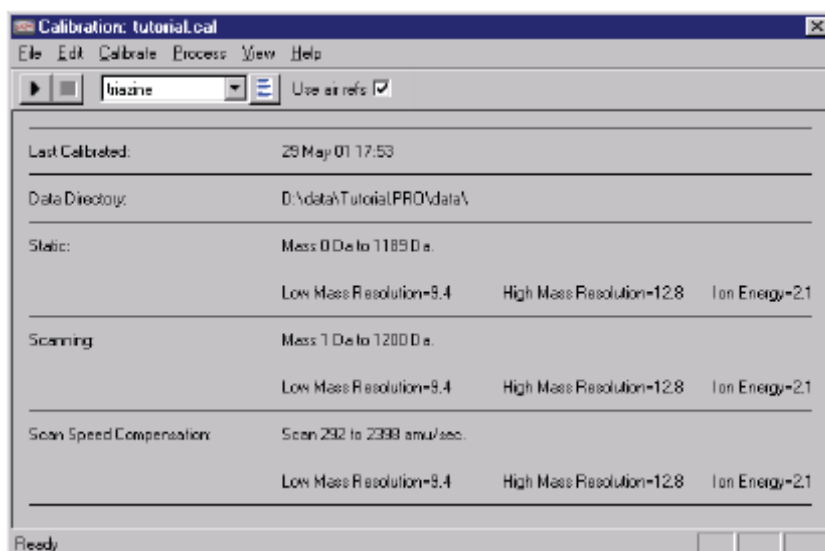
18. Entrer un nom de fichier de calibration.

Dans cet exemple, le fichier s'appelle tutorial.cal.



19. Cliquer sur **Save** pour sauvegarder le fichier.

La boîte de dialoguer de calibration s'ouvre.



Une fois la fenêtre fermée, si la case “Evacuate reference Gas” de la boîte de dialogue de l’ultra tune a été cochée, la vanne d’évacuation s’ouvre et l’heptacosa est évacué par pompage.

3.2 CREATION DES METHODES

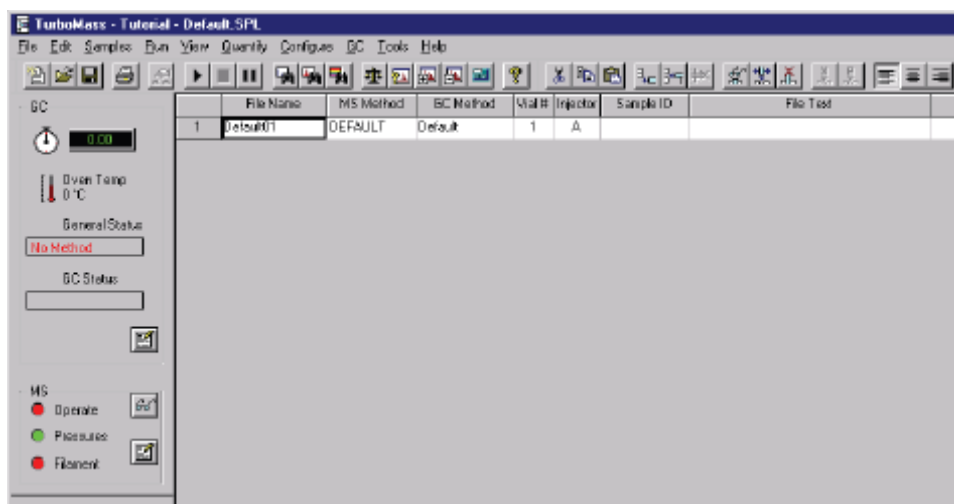
Lors d'une analyse par couplage GC/SM, il est nécessaire d'éditer deux méthodes relatives à chaque élément de la chaîne analytique. Dans le cas présent une méthode chromatographique et une méthode spectrométrique seront éditées. L'édition des méthodes est accessible en cliquant successivement sur la fonction **RUN** de la barre de menu puis **CONTROL PANEL** du menu déroulant, puis enfin respectivement sur **GC** pour l'édition de la méthode chromatographique et **INSTRUMENT** pour la méthode spectrométrique.

3.2.1 CREATION DE LA METHODE CHROMATOGRAPHIQUE

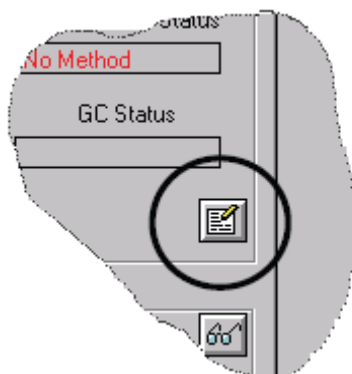
Une méthode chromatographique nécessite la définition des paramètres suivants :

- programmation de température de la colonne
- température d'injecteur
- débit de gaz vecteur
- débit de split

Le point de départ est la sample liste :



1. Cliquer sur  de la fenêtre

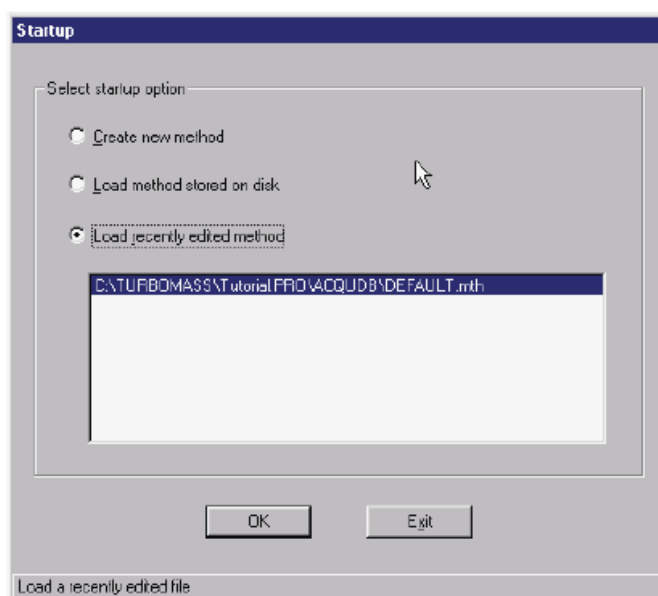


Ou

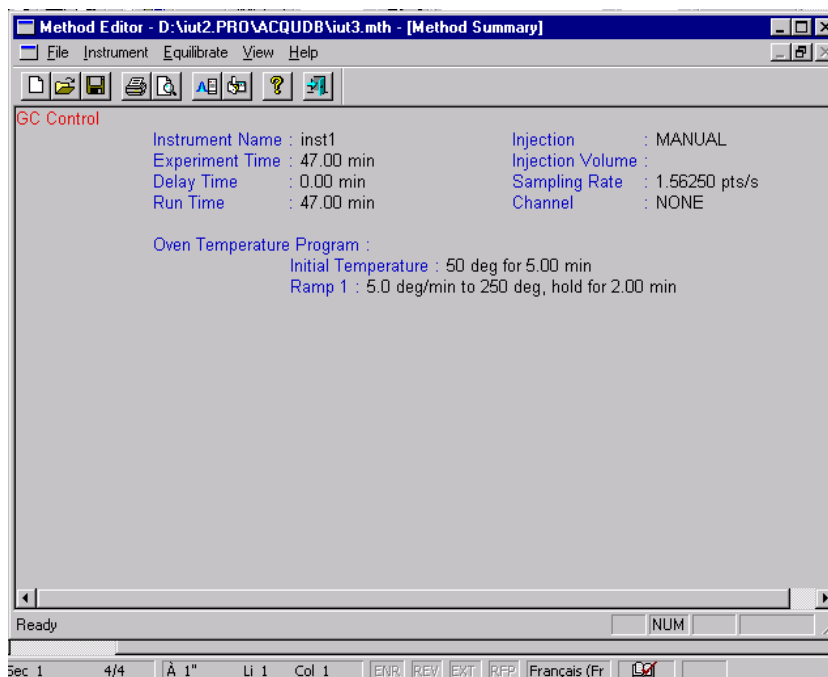
Sélectionner **Method Editor** en cliquant droit le nom de la méthode de la sample list.

Un menu pop-up apparait ; sélectionner **Open**.

La boite de dialogue Startup s'ouvre :



2. Choisir **CREATE NEW METHOD**
3. Valider par **OK** pour ouvrir la fenêtre d'édition de méthode

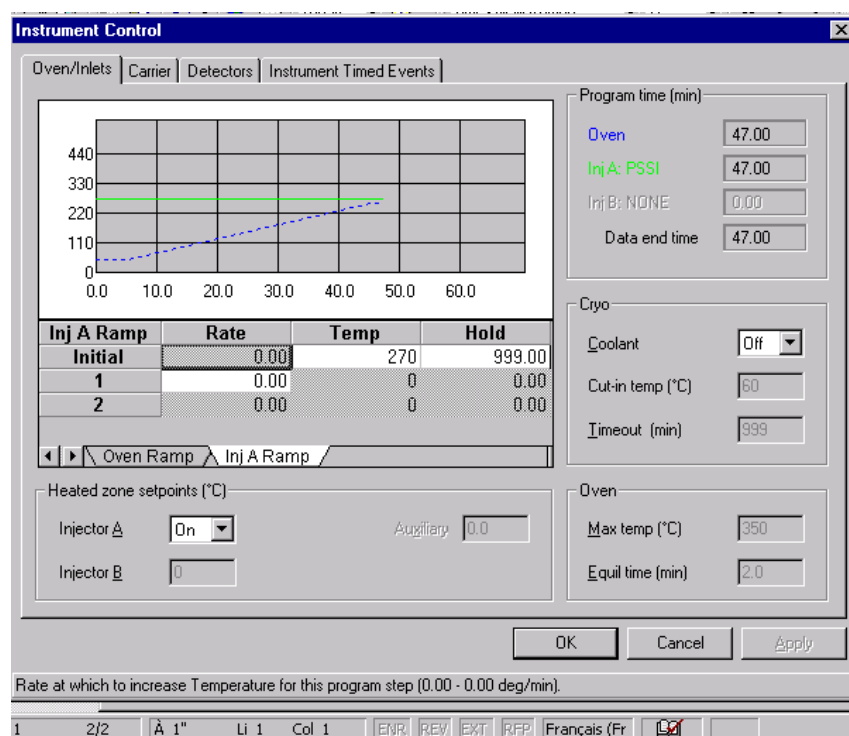
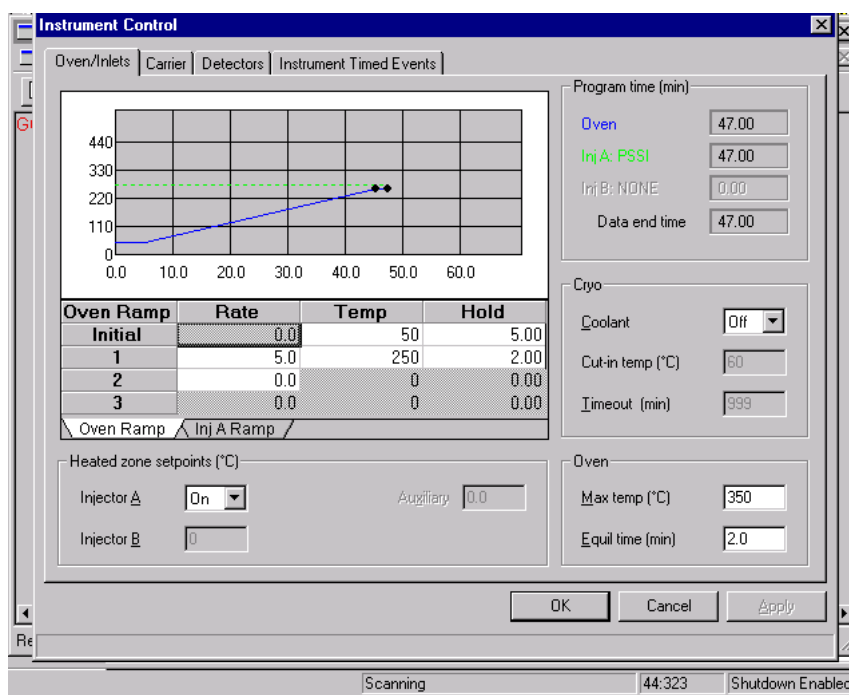


- Afficher les parameter de GC en sélectionnant **Control Options** du menu Instrument

Les parameters GC sont::

Oven/Inlets, Carrier, Valves, Detectors, and Inst Timed Events.

- Sélectionner l'onglet **Oven/Inlets** et entrer les paramètres GC (température du four, Température de l'injecteur).



6. Sélectionner l'onglet Carrier et imposer les paramètres.

The screenshot shows the 'Instrument Control' window with the 'Carrier' tab selected. The interface includes a graph of temperature vs. time, a table for carrier gas parameters, and various control settings.

Graph: The graph shows a temperature profile over time. The x-axis represents time from 0.0 to 60.0 minutes. The y-axis represents temperature from 0.0 to 40.0 degrees Celsius. A blue dashed line indicates the temperature ramp, starting at 10.0 degrees at 0.0 minutes and rising to 30.0 degrees at 40.0 minutes.

Carrier A Ramp Table:

	Rate	Setpoint	Hold
Initial	0.0	1.00	999.00
1	0.0	0.00	0.00
2	0.0	0.00	0.00
3	0.0	0.00	0.00

Program time (min):

- A: PFlow - He: 47.00
- B: NONE: 0.00
- Oven time: 47.00
- Data end time: 47.00

Column:

- Length (m): 60.00
- Diameter (µm): 250
- Vacuum comp: On

Split Control:

- Ratio (n:1): 99.0
- Flow (mL/min): 100.0
- Mode: Flow

Auxiliary Pneumatics:

- Aux 1: 0.0 psig
- Aux 2: 0
- Aux 3: 0
- Aux 4: 0

Buttons: OK, Cancel, Apply

Footer: Rate at which to increase Temperature for this program step (0.00 - 0.00 deg/min).

Attention : ne pas oublier de fournir les bonnes caractéristiques de colonne. Si celles-ci sont erronées, le débit indiqué ne sera pas le débit réel.

7. Sélectionner l'onglet **Instrument Timed Events** et entrer les paramètres.

The screenshot shows the 'Instrument Control' window with the 'Instrument Timed Events' tab selected. The interface includes fields for event time, event name, and value, a table of defined events, and a list of valves.

Event Fields:

- Time (min): 5.00
- Event: SPL1
- Value: 0

Buttons: Add, Delete, Replace, Clear List

Defined Events Table:

Event	Value	Time
SPL1	20	5.00

Valves:

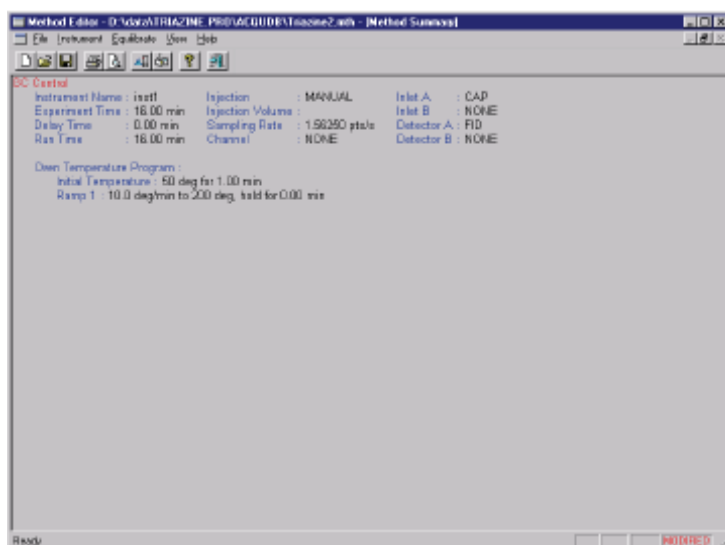
- 1: SP11
- 2: NONE
- 3: NONE
- 4: NONE
- 5: NONE
- 6: NONE

Buttons: OK, Cancel, Apply

Footer: Time into run at which this event is to occur (0.000000 to 0.000000)

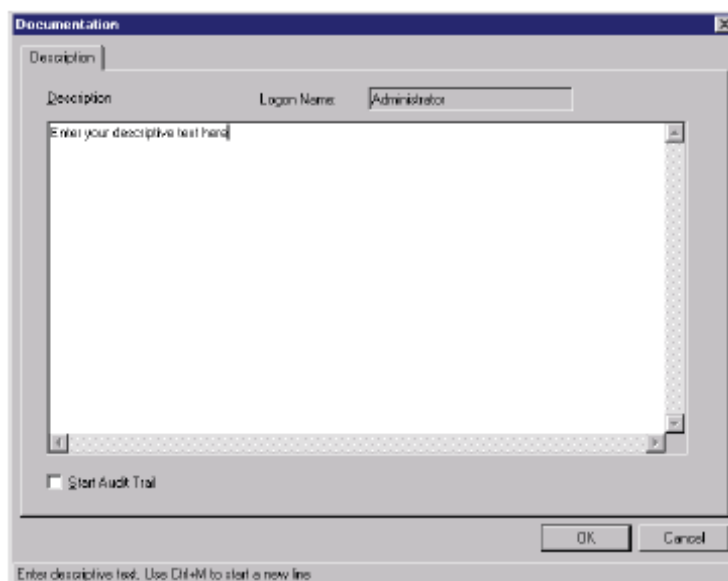
Cette fenêtre est utilisée lors d'une injection en mode Splitless.

8. Cliquer sur **OK** pour afficher la fenêtre du résumé de la méthode.



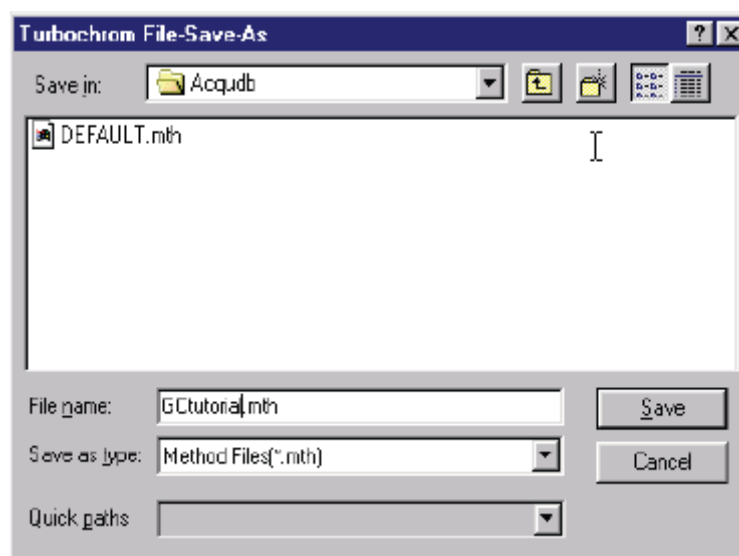
9. Sauvegarder la method en cliquant sur **Save As** du menu *File*.

La fenêtre *Documentation* s'affiche.



10. Entrer la description de la méthode et cliquer sur **OK**.

La fenêtre de dialogue s'ouvre..



11. Entrer un nom de fichier possédant l'extension **.mth** et cliquer sur **Save**.

12. Sélectionner **Exit** du menu *File*.

3.2.2 CREATION DE LA METHODE SPECTROMETRIQUE

Il existe deux modes principales de travail :

- le mode FULL SCAN : qui sert généralement à l'identification des composés
- le mode SIR : qui sert pour des analyses quantitatives car plus spécifique et plus sensible

3.2.2.1 MODE FULL SCAN

Une méthode FULL SCAN nécessite la définition des paramètres suivants :

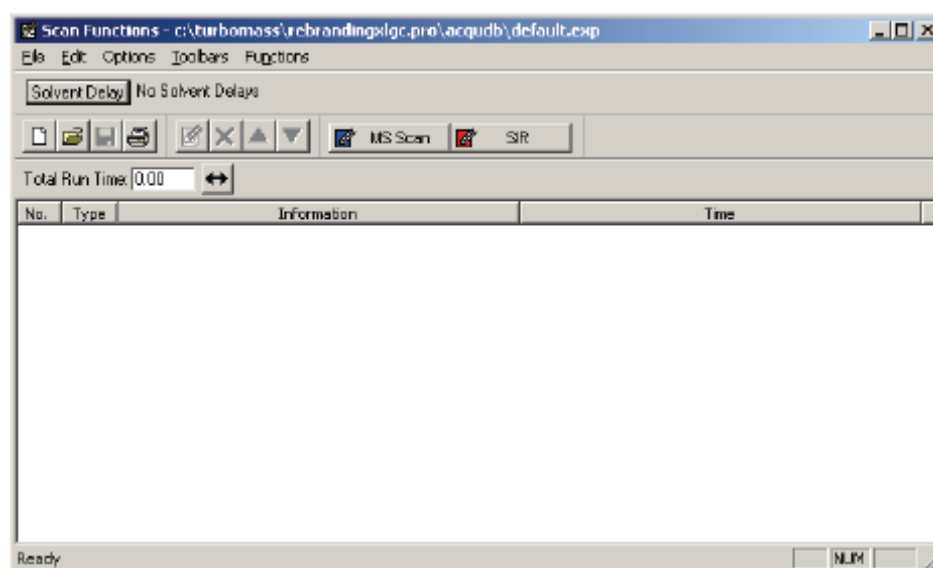
- mode d'ionisation
- plage de masse balayée
- durée du balayage
- durée entre deux balayage
- durée totale de l'analyse

1. Cliquer sur  dans le **MS** panel.

ou

Sélectionner *Method Editor* en cliquant droit sur le nom de la methode dans la *Sample List*. Cliquer sur **Open** de la list pop-up.

La fenêtre de dialogue s'ouvre.



- Afficher la fenêtre de fonction en sélectionnant **MS Scan** du menu *Functions*.

Ou

Cliquer sur le bouton **MS Scan**.

La fenêtre de dialogue s'ouvre.

- Entrer les paramètres de la méthode et cliquer sur **OK**.

Paramètre	Description
Start Mass	Masse inférieure du balayage SCAN
End Mass	Masse supérieure du balayage SCAN
Ionization Mode	Le mode et la polarité utilisés pendant l'acquisition. Ce mode de travail doit correspondre à la source installée sur l'analyseur
Data	Précise le type de données enregistrées et stockées sur le disque. <u>Centroid</u> :Stock les données masse nominale et intensité. C'est le mode normal en GC/MS <u>Continuum</u> : Stocke des données régulièrement pour fournir une image d'intensité analogique des données. Les données sont acquises continuellement, même quand aucun sommet n'est acquis. <u>Multi-Channel Analysis (MCA)</u> :

Repeats	
Retention window Start ime	Temps en minutes à partir duquel la collecte des données commence pour une fonction SCAN.
Retention window End Time	Temps en minutes au bout duquel la collecte des données est stoppée pour une fonction SCAN
Scan Time	Durée d'un scan en secondes
Inter-Scan delay	Durée en seconde entre la fin d'un scan et le début d'un autre. Pendant cette période les données sont envoyées à l'ordinateur.

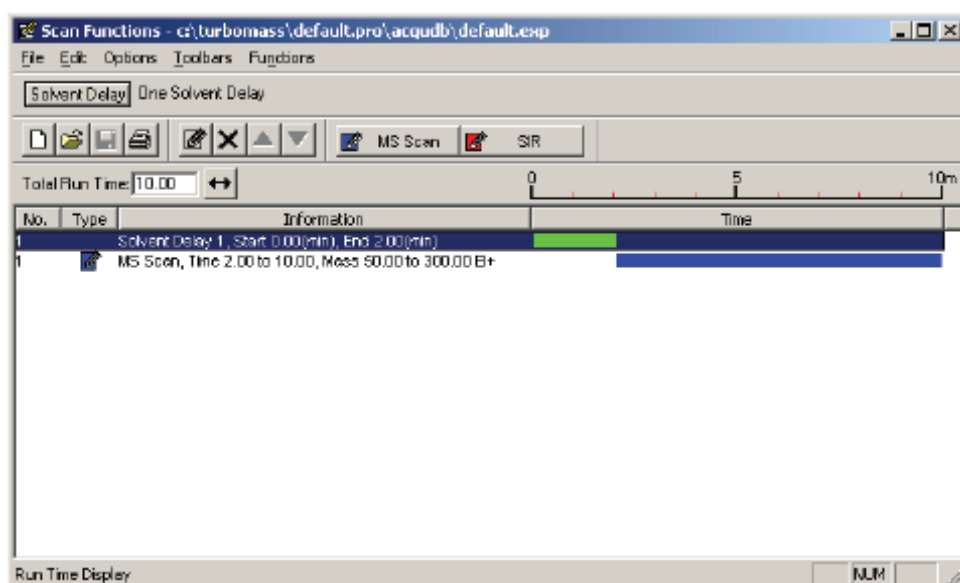
4. Cliquer sur le bouton **Solvent Delay**.

La fenêtre de dialogue Solvent Delay s'ouvre:

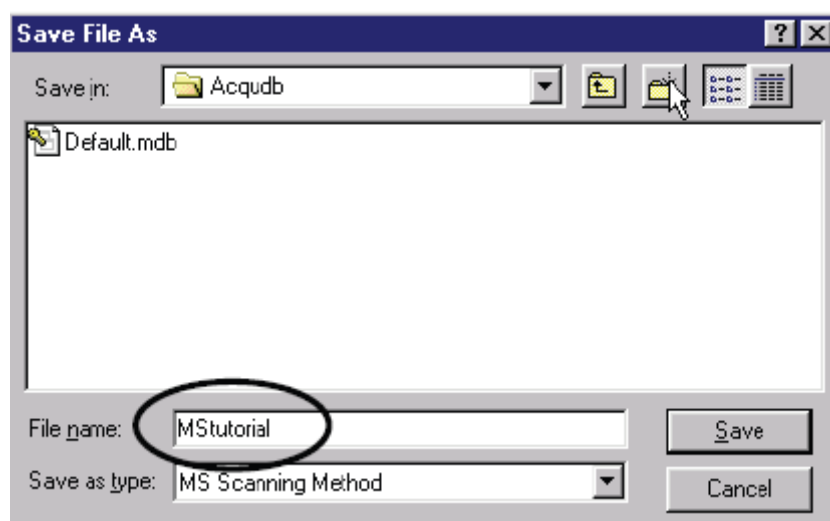
Cette fenêtre permet de stopper a ionisation durant le passage du solvant (filament éteint). Cette fonction permet de protéger le filament et d'augmenter sa durée de vie.

	Start (minutes)	End (minutes)
1	0	2
2	0	0
3	0	0
4	0	0

5. Entrer les paramètres et quitter cette boite de dialogue en cliquant sur OK.



6. Sélectionner **Save As** du menu *File*.
7. Entrer un nom de fichier ayant pour extension **.mdb**, et cliquer sur **Save**.



8. Sélectionner **Exit** du menu *File*.

3.2.2.2 MODE SIR

Cette méthode consiste à rechercher, dans une plage de temps d'analyse définie, des ions particuliers permettant de quantifier avec précision et sensibilité les composés analysés. Cette méthode nécessite de connaître le temps de rétention des composés à quantifier. Si on prend l'exemple du benzène, composés possédant un ion positif de rapport $m/z = 78$, et de temps de rétention égal à 6 min, la plage de recherche pourra être par exemple comprise entre 5 et 7 min.

La définition des paramètres est accessible en cliquant sur l'onglet SIR.

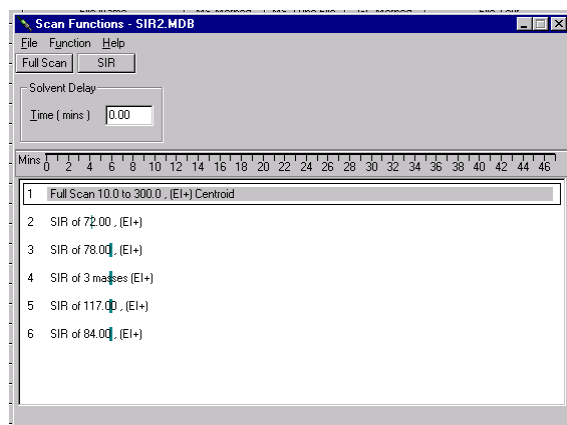


FIGURE 5 : PRESENTATION DE LA METHODE SIR
(PARTIEL) DE LA METHODE SIR

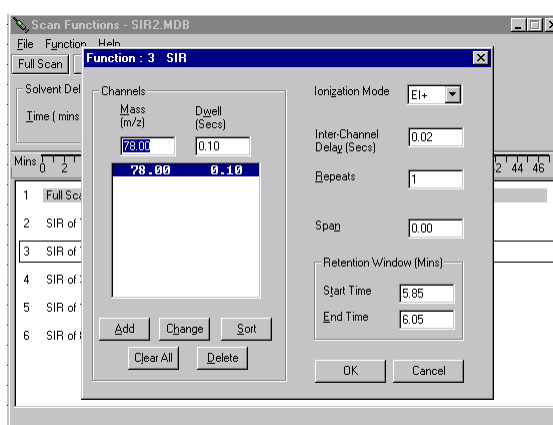


FIGURE 6 : DETAIL

3.3 CREATION DE LA SAMPLE LIST

La sample liste sert à définir les analyses qui seront effectuées et sous quelles conditions (Tune, Méthode GC, Méthode MS).

Une sample list est créée en cliquant sur la fonction **FILE** de la barre de menu puis **NEW SAMPLE LIST**. Votre sample list portera le nom composé de votre groupe et de la date (ex : CA221001).

La 1^{ère} colonne correspond au nom du fichier dans lequel seront stockées les données (1 fichier par analyse)

La 2^{ème} colonne correspond à la méthode MS utilisée. Elle est appelée en double cliquant sur le bouton gauche de la souris et en cliquant sur la méthode souhaitée.

La 3^{ème} colonne correspond au fichier de tuning. Il est appelée en double cliquant sur le bouton gauche de la souris et en cliquant sur le nom du fichier souhaité.

La 4^{ème} colonne correspond à la méthode GC utilisée. Elle est appelée en double cliquant sur le bouton gauche de la souris et en cliquant sur la méthode souhaitée.

La 5^{ème} colonne correspond à du texte décrivant l'analyse.

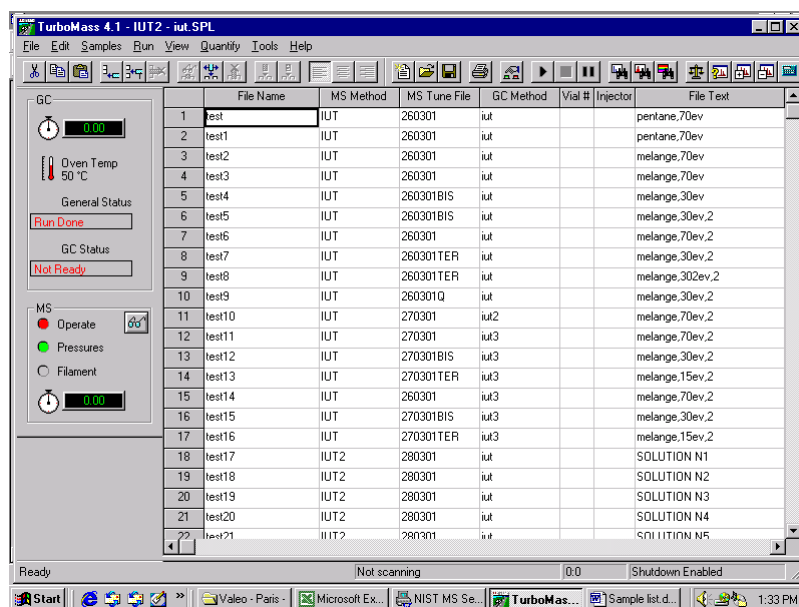


FIGURE 7 : SAMPLE LIST

4 DEMARRAGE D'UNE ANALYSE

Une fois la sample list créée, on sélectionne la ligne correspondant à l'analyse en cliquant sur le numéro de celle-ci puis en cliquant sur **RUN** et **START**. Un point vert apparaît sur la ligne, indiquant l'analyse en cours. L'analyse débutera réellement en appuyant sur le bouton **RUN** du chromatographe. Cette opération sera effectuée seulement si le message **READY** apparaît en dessous de GENERAL STATUS et GC STATUS situé sur la partie gauche de l'écran.

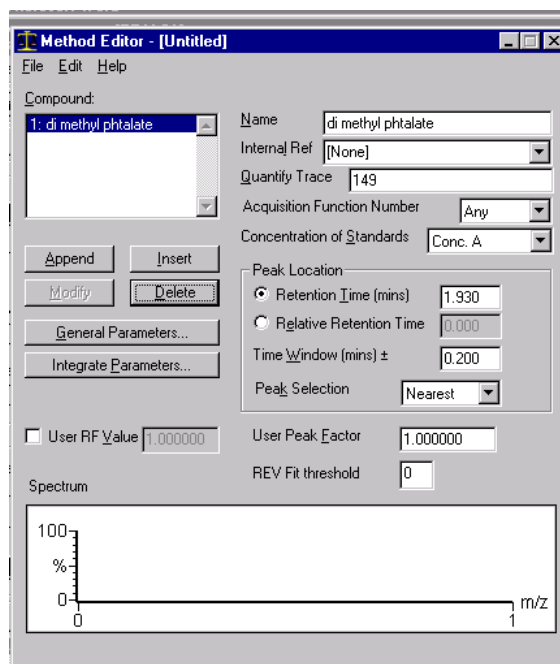
5 EXPLOITATION D'UN CHROMATOGRAMME

Le chromatogramme est visible à l'écran en sélectionnant la ligne correspondante et en cliquant sur l'icône .

Le spectre de masse d'un composé apparaît en « double cliquant » au sommet du pic chromatographique et l'identification est donnée en cliquant sur l'icône .

6 CREATION D'UNE METHODE DE QUANTIFICATION

Cliquer sur **Quantify** puis **New Method**



Saisir :

- le nom du composé,
- l'ion sur lequel doit être intégré le signal,
- le temps de rétention du composé,
- la précision sur ce temps,
- Associer une concentration puis cliquer sur Append.

Ouvrir le spectre de masse du composé, copier le en cliquant sur **Copy Spectrum List**. Revenir sur la fenêtre précédente, cliquer sur **Edit** puis **Paste**. Le spectre apparaît dans la fenêtre. Sauvegarder la méthode par Save As.

Saisir le nom du second composé et les informations relatives à celui-ci en suivant le protocole précédent. Cliquez sur Append pour valider.

Continuer pour l'ensemble des composés à analyser.

Sauvegarder la méthode. Ne pas fermer la fenêtre.

Revenir à la Sample List. Cliquer sur Sample puis