

USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

ELABORADO POR	VERIFICADO POR	APROBADO POR
Nombre y Apellido: Lic. Laura Lezcano Lic. Alba Domínguez	Nombre y Apellido: Ing. Agr. Jadiyi Torales	Nombre y Apellido: Ing. Agr. Cesar Rivas
Cargo: Técnica LRPM Jefe de DLQ	Cargo: Directora de Laboratorios.	Cargo: Director General Técnico
Firma: 	Firma: 	Firma:
Fecha: 23/03/2023	Fecha: 24/03/2023	Fecha: 03/04/2023

1. OBJETIVO

Describir el modo de operación y verificación del Cromatógrafo Líquido Ultra Performance (UPLC) con Detector de masa/masa.

2. ALCANCE

Se aplica al equipo marca Shimadzu, modelo Nexera X₂ LCMS 8060
El equipo cuenta con los siguientes módulos:

- 1- Módulo de comunicación CBM 20 A (Communication bus module)
- 2- Unidad de degasificación DGU-20A 3R(Degassing unit)
- 3- Autosampler Nexera X₂ SIL-30AC
- 4- Válvula de selección de canal de flujo de alta presión FCV-20 AH₂
- 5- Horno de columna CTO-30A
- 6- Módulo de entrega de solvente (Bomba A) LC-30AD
- 7- Módulo de entrega de solvente (Bomba B) LC-30AD
- 8- Detector LCMS 8060
- 9- Generador de Nitrógeno Peak Scientific
- 10- CPU marca DELL
- 11- Monitor marca DELL
- 12- Programa cromatográfico Lab Solutions versión 5.97.
- 13- Impresora Láser HP modelo M180nw.

3. RESPONSABILIDAD

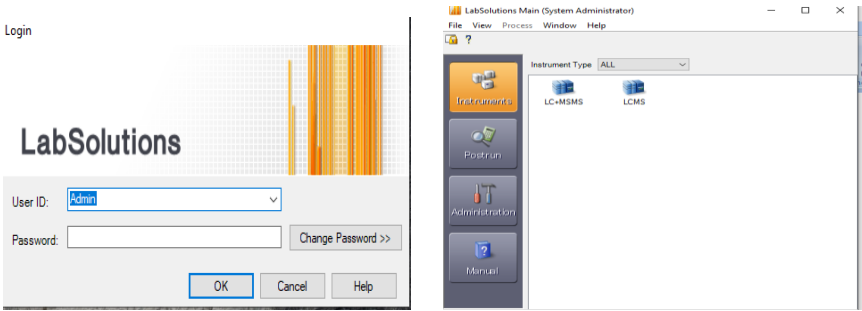
El Departamento de Laboratorios Químicos y la Unidad de Mantenimiento de Equipos de Laboratorios son responsables del cumplimiento y aplicación del presente instructivo.

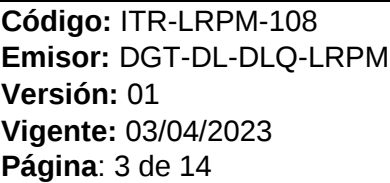
4. ACTIVIDADES

4.1. Encendido del Sistema LC

El modo de encendido se aplica antes de cada uso y se realiza como se detalla a continuación:

- 4.1.1. Encender todos los módulos del equipo con la perilla “Power”.
- 4.1.2. Agregar a las botellas las fases móviles y líquidos de lavado.
- 4.1.3. Colocar la columna adecuada dentro del porta columnas de acuerdo a la metodología.
- 4.1.4. Abrir el programa Lab Solutions → Instrument → LC+MSMS → Abrir



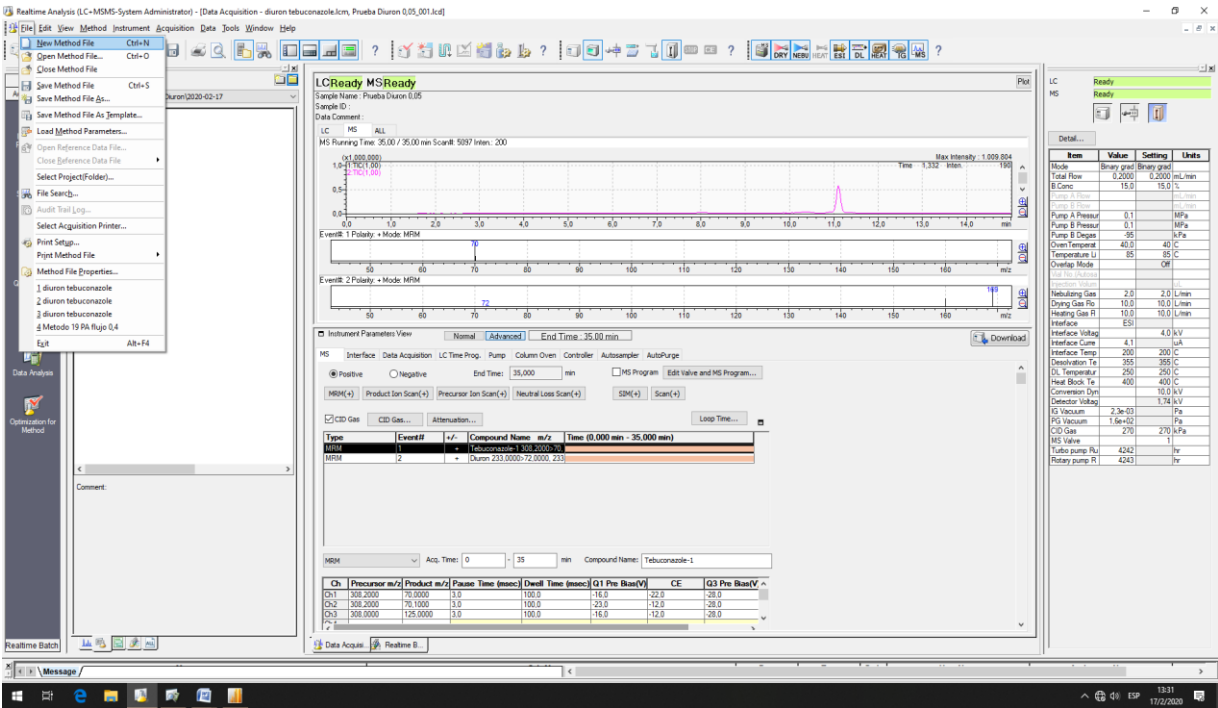


4.2.2 Ajustar parametros para MS,Interface, Data adquisition , LC time Prog, Pump, Column oven, Controller, Autosampler y Autopurge.

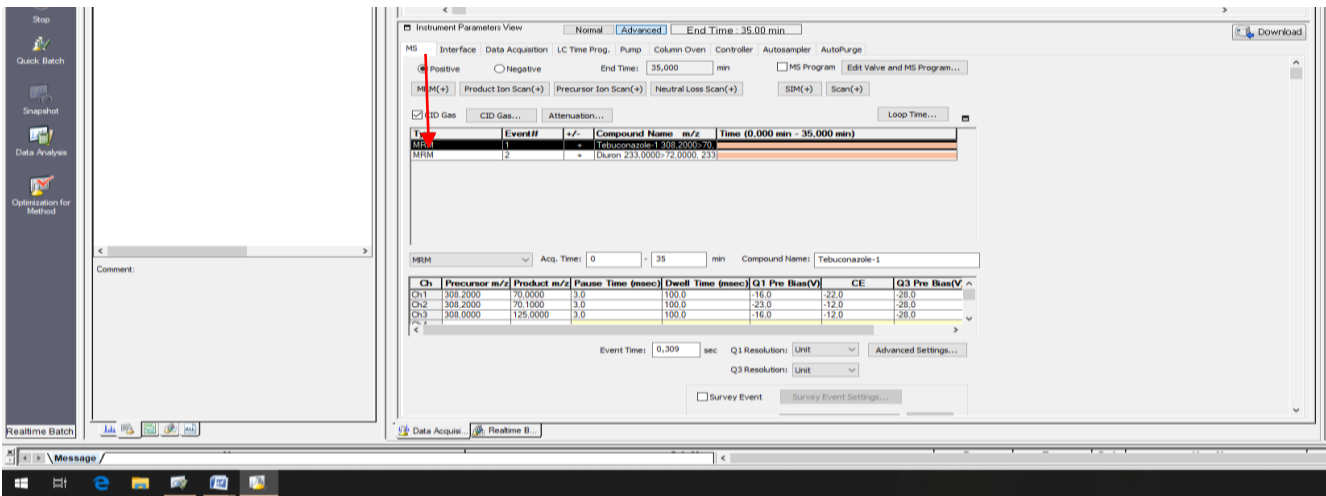


USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

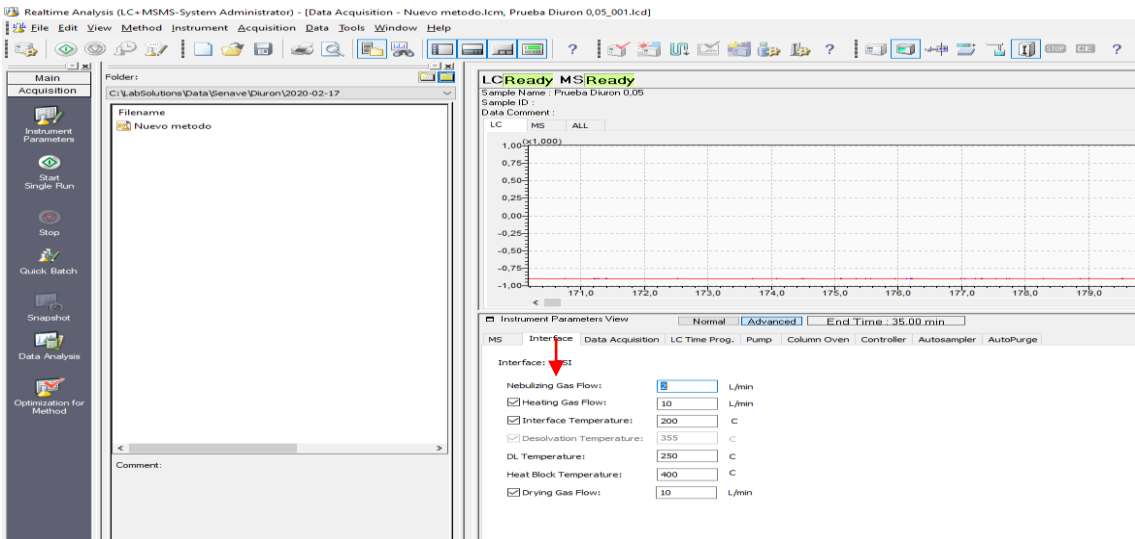
Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 4 de 14



4.2.3 Método de Masa MS: ir a MRM (+),insertar el compuesto precursor junto a los productos y energías de colisión obtenidos en la optimización.



4.2.4 Interface: Indicar las cromatográficas del detector MSMS

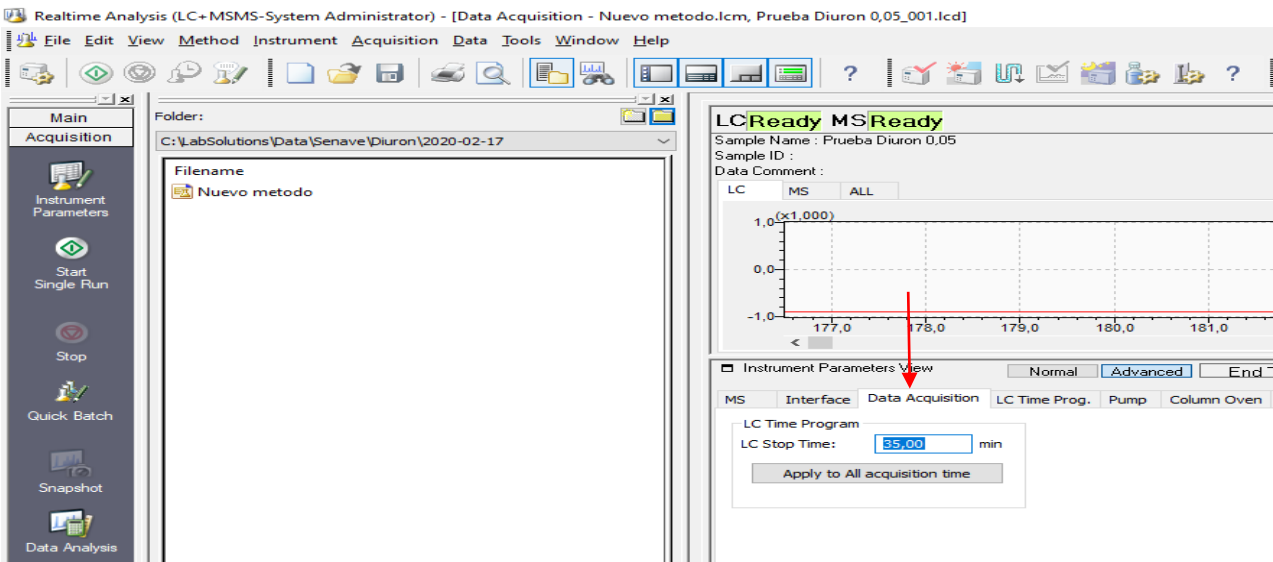


4.2.5 Data Acquisition: Se agrega el tiempo que durara la corrida.

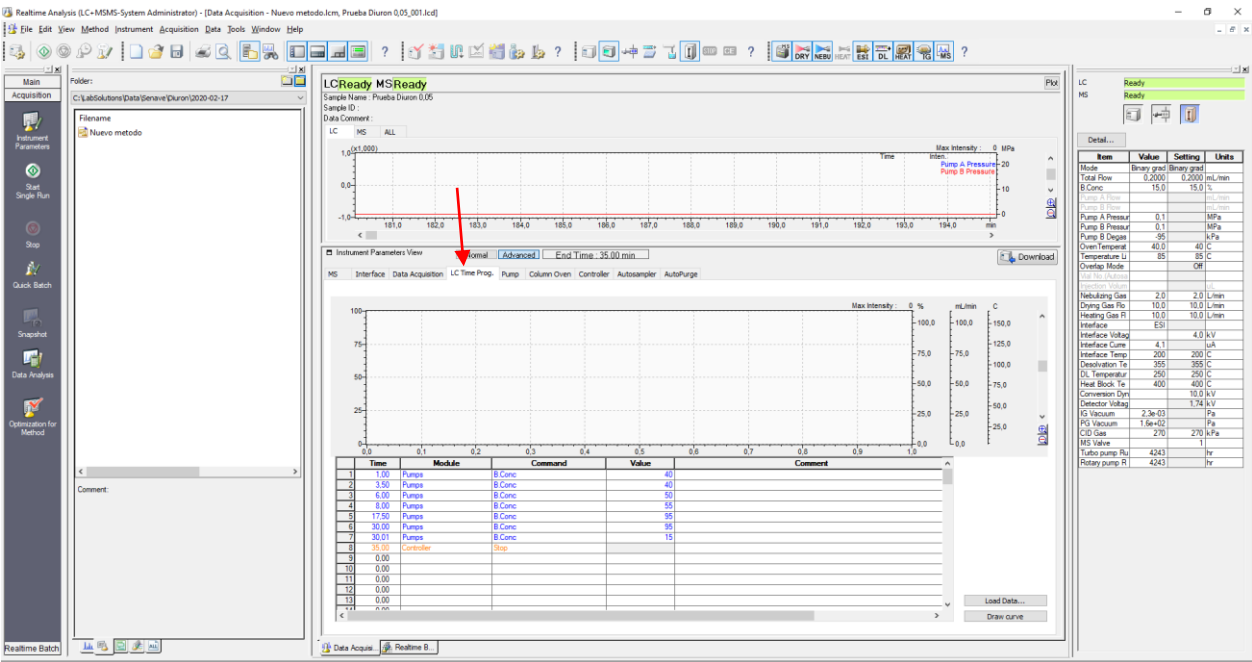


USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

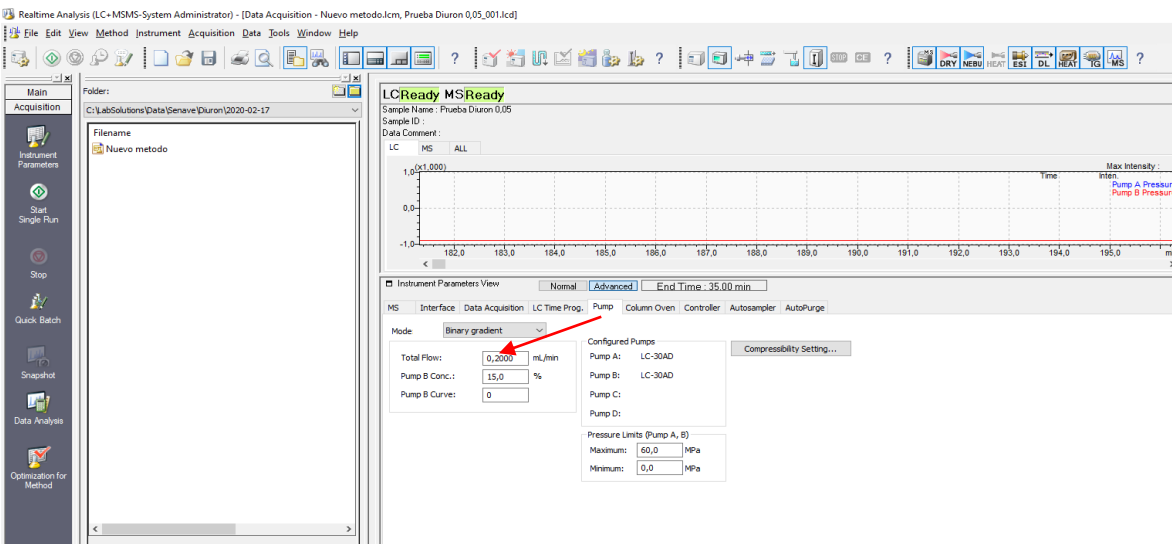
Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 5 de 14



4.2.6 Rampa LC Time Prog: Se elabora el gradiente cromatográfico.



4.2.7 Bomba: Se escoge el flujo y la proporción inicial de una de las fases móviles.

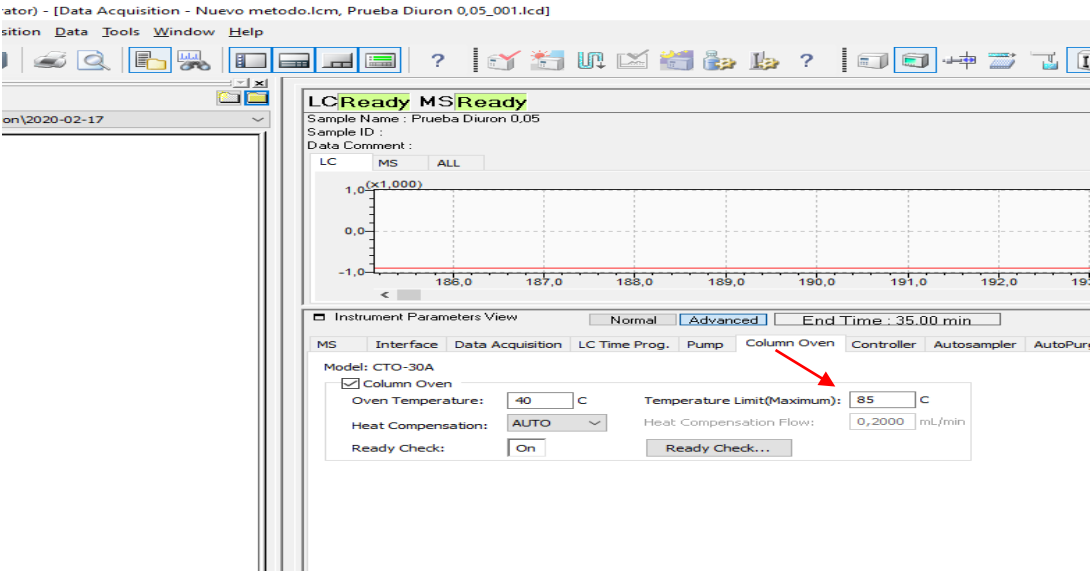


4.2.6 Horno de columna : Se agrega la temperatura de columna.

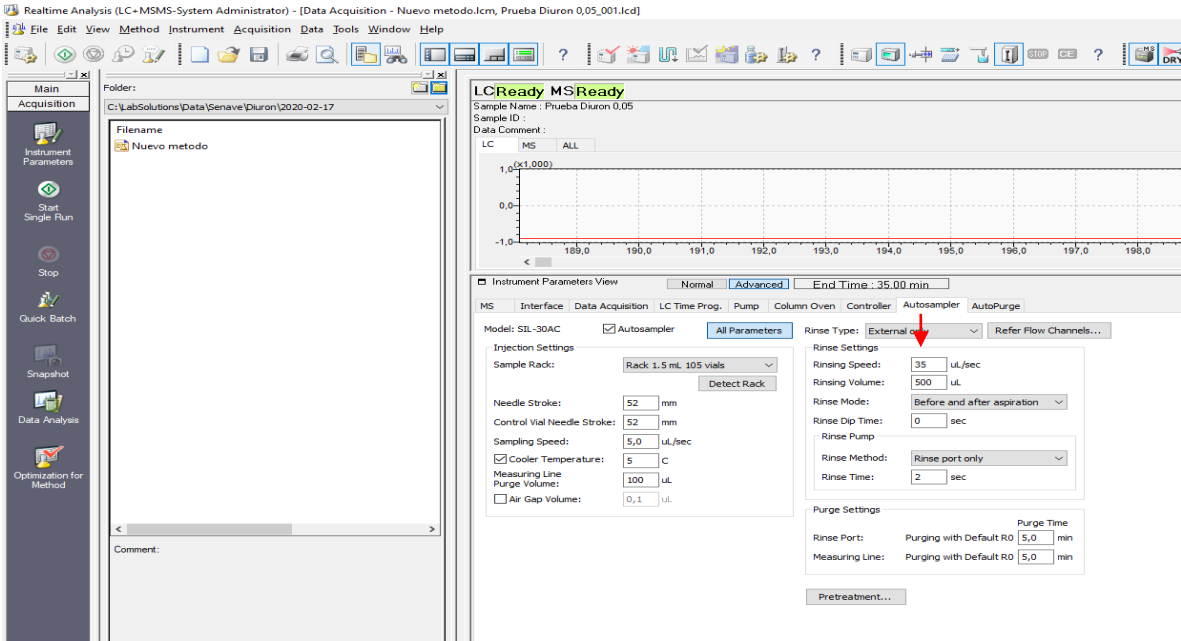


USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

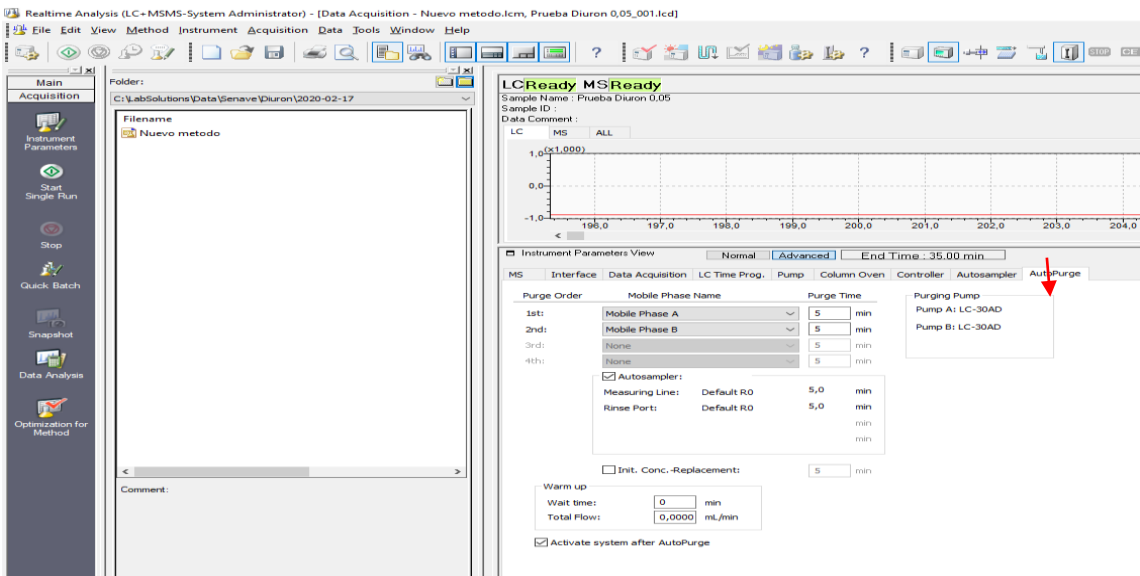
Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 6 de 14



4.2.8 Auto sampler: Se ajustan parámetros para la inyección.



4.2.9 Auto purge: Se seleccionan condiciones para purgado de las fases móviles.



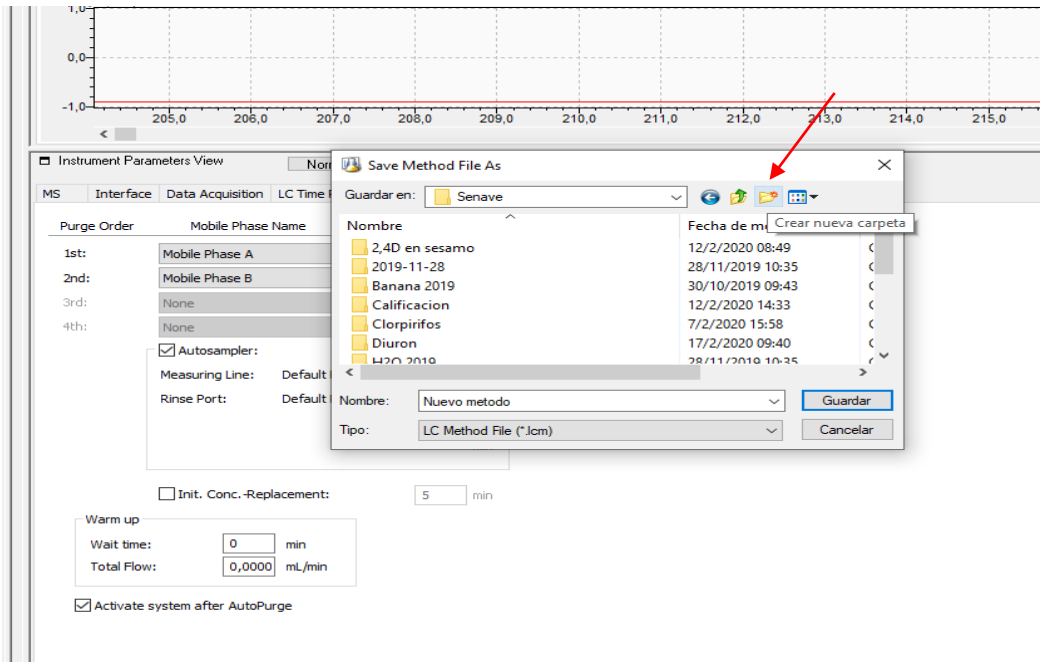
4.2.10
Para
guarda

r el método ir a File Save Method file as Dar nombre



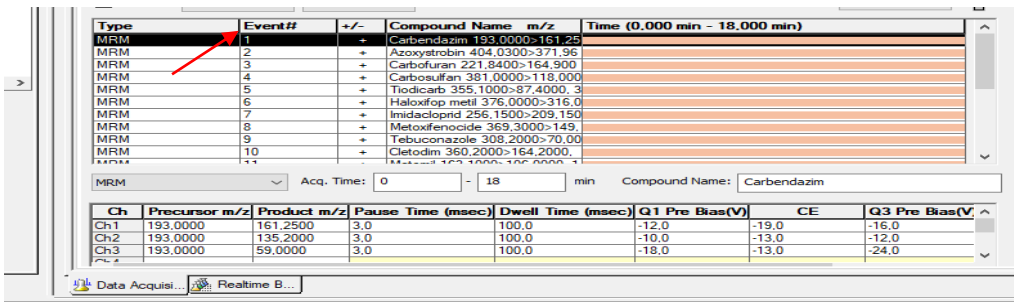
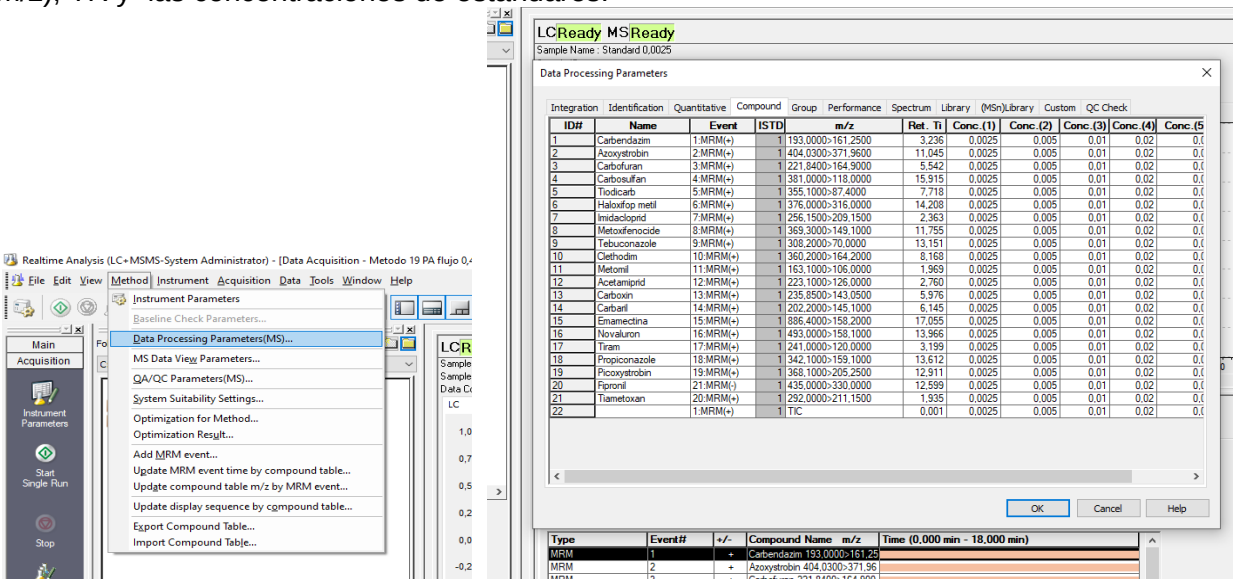
USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 7 de 14



4.2.10.1 Una vez creado el método ir en la carpeta indicada y descargar en el proyecto del día.

4.2.10.2 Para establecer los parámetros ir a Method → Data Processing Parameters (MS) comprobar si coincide los eventos en el orden que están en el método, establecer productos (m/z), TR y las concentraciones de estándares.

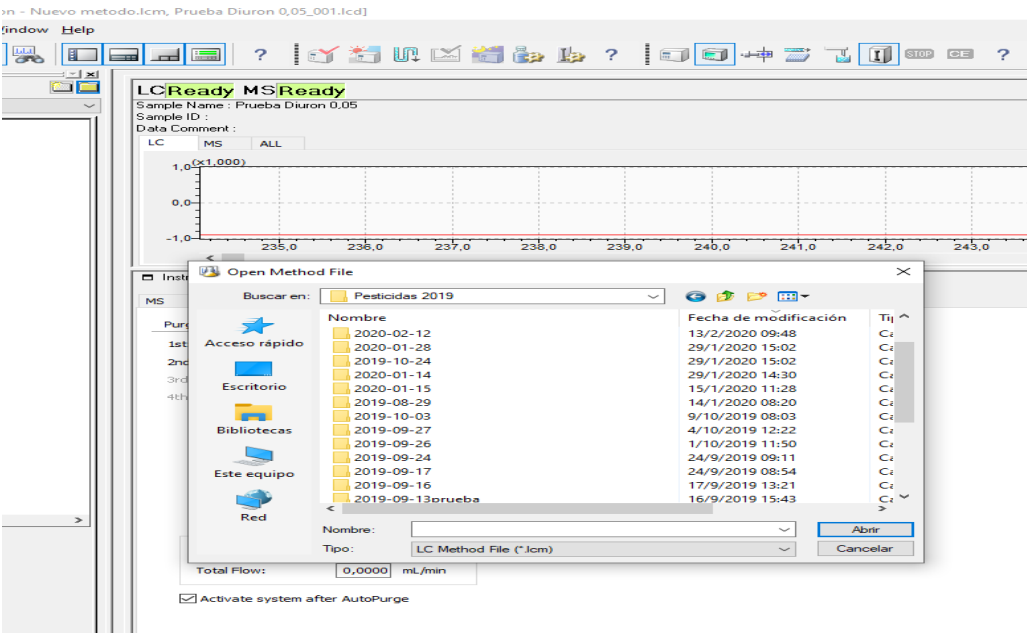
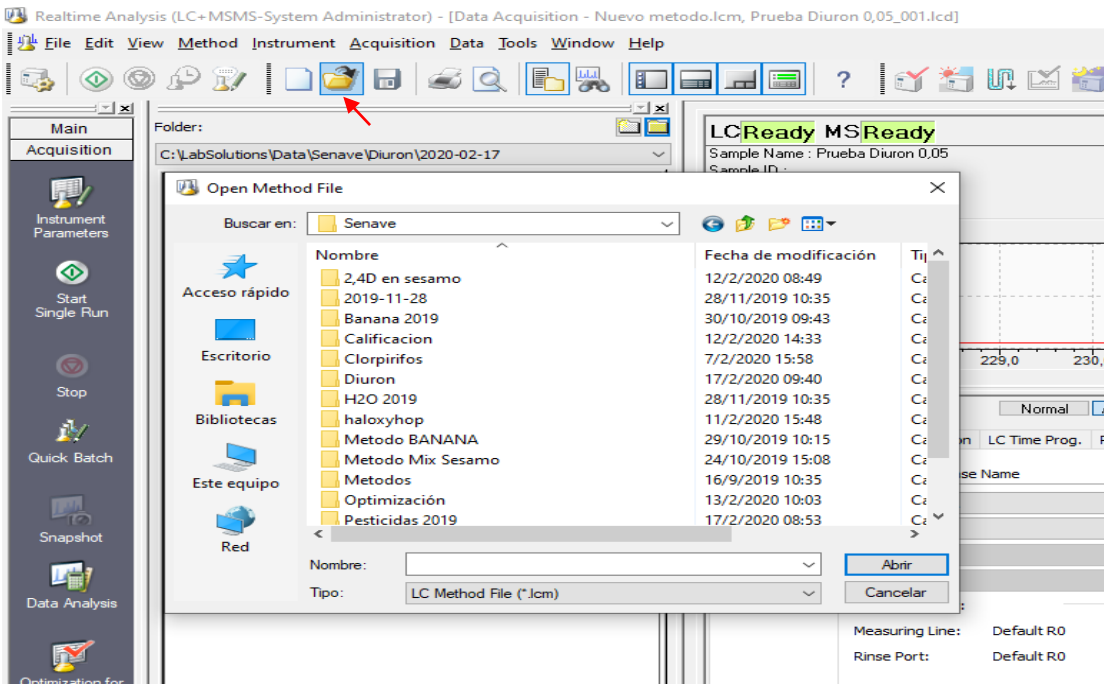


4.3 Crear proyecto: Open method file → OPEN → nueva carpeta → Abrir



USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 8 de 14

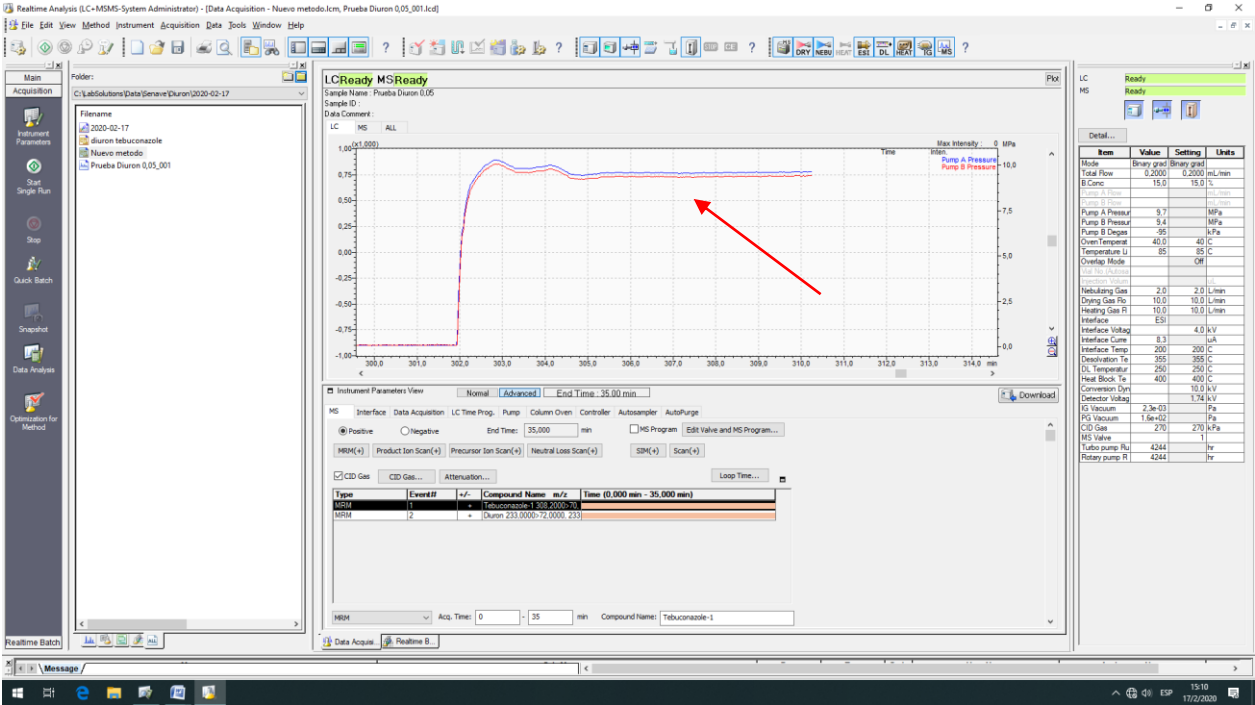


4.3.1 Descargar método: Seleccionar el método → Download → Pump On/Off para estabilización del LC, se considera estable si se observa un comportamiento lineal en las presiones de la bomba A y B transcurrido aproximadamente 15 minutos.

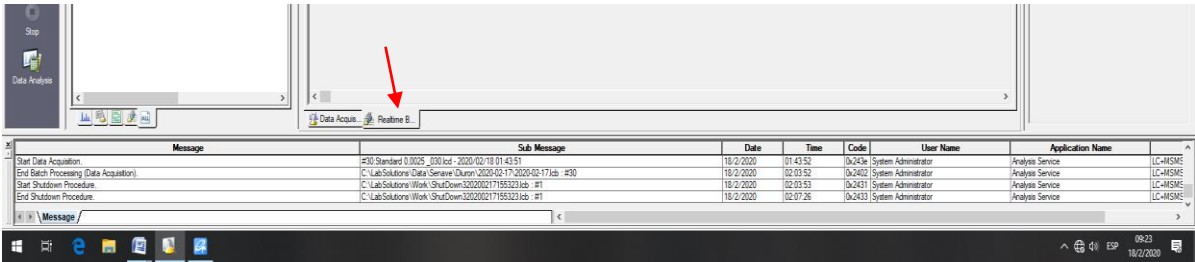


USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

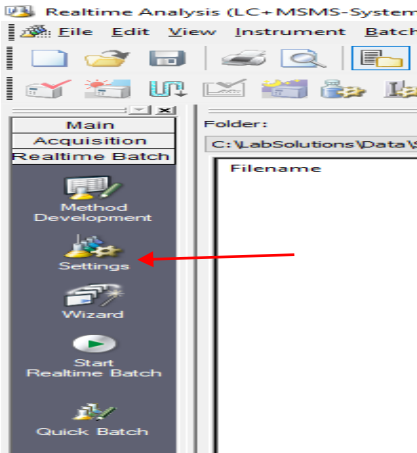
Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 9 de 14



4.4 Crear secuencia
Realtime → Batch → Realtime analysis.



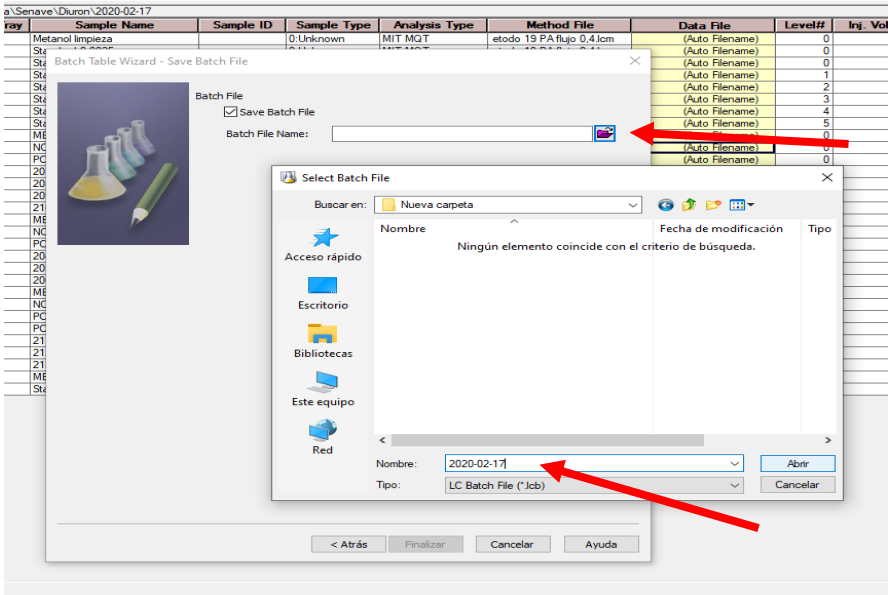
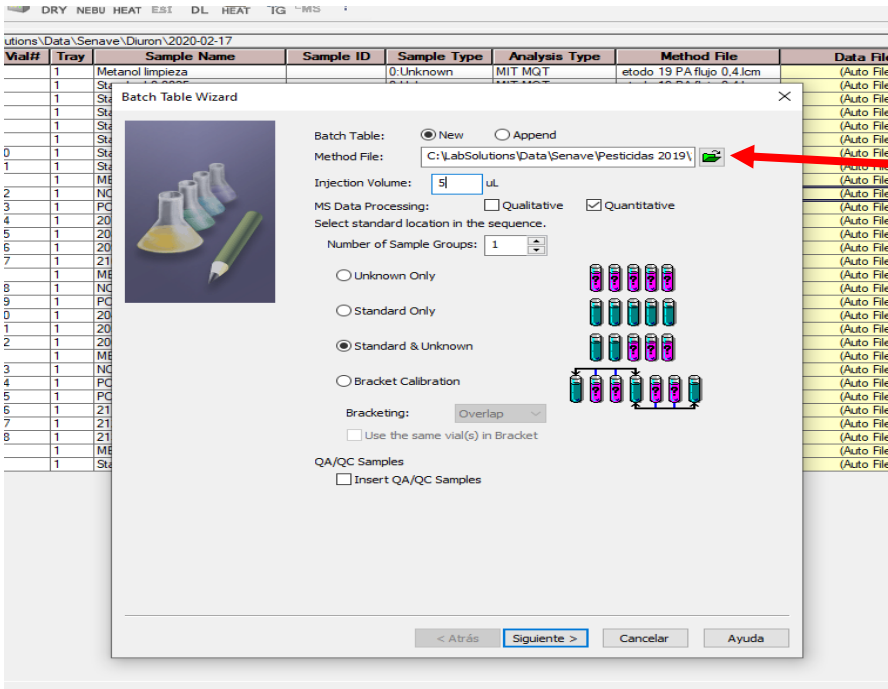
Wizard → Batch Table Wizard → New en Batch Table → Method File → Batch
File Name → Abrir → Finalizar.





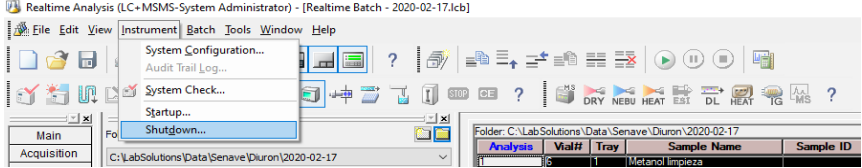
USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 10 de 14



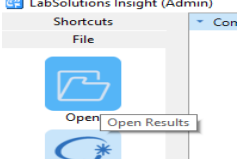
4.5 Shutdown

Realtime Analysis → Instrument → Shutdown → Aceptar.



4.6 Lab Solutions Insight

Lab Solutions Insight LCMS → File → Open Results

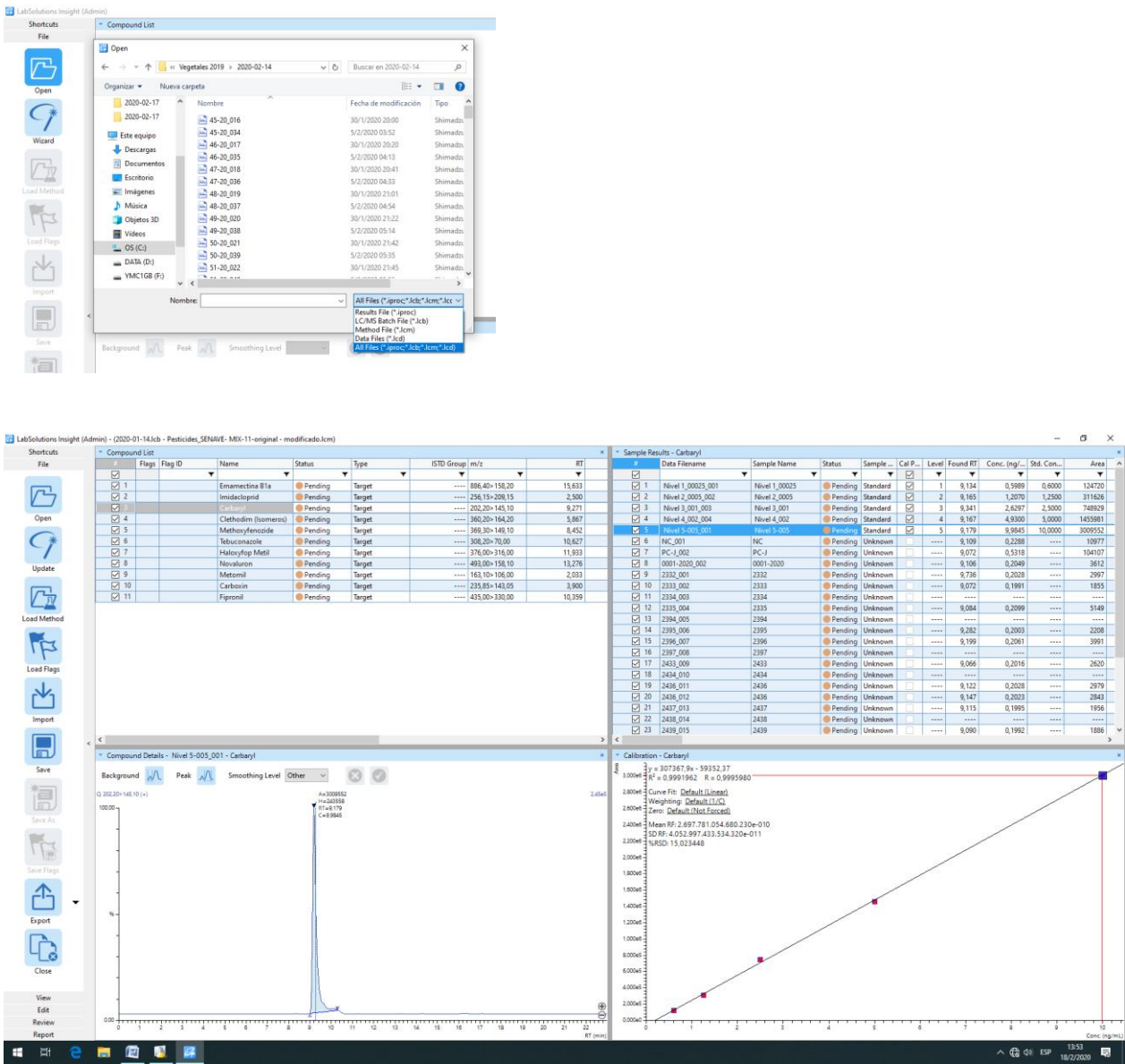


Se selecciona la carpeta de secuencia deseada → All files → abrir.

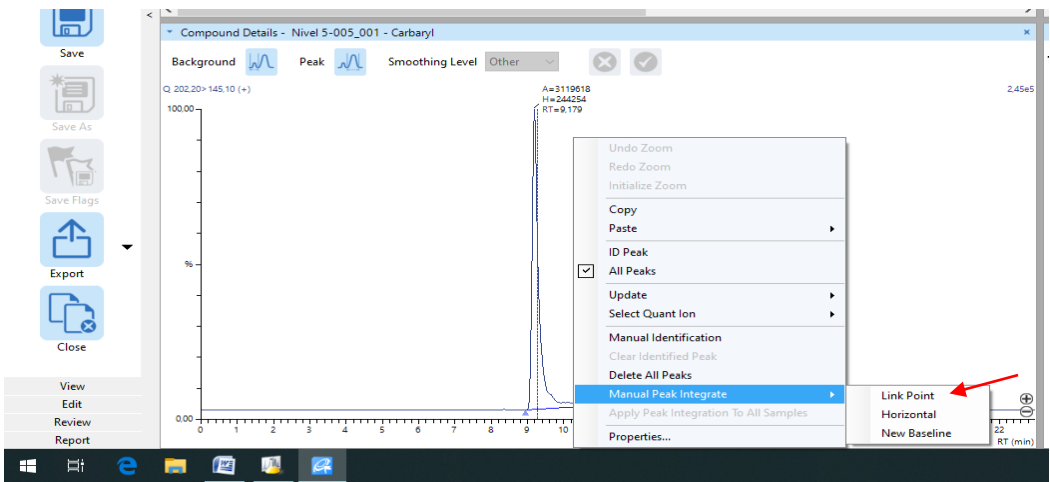


USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 11 de 14



4.6.1 Para integrar un pico, click derecho sobre el cromatograma, luego manual peak integrate, link point y se desliza el cursor desde el inicio al termino del pico sin soltar.



4.6.2 Para guardar una secuencia ir a File y seleccionar la opción Save.

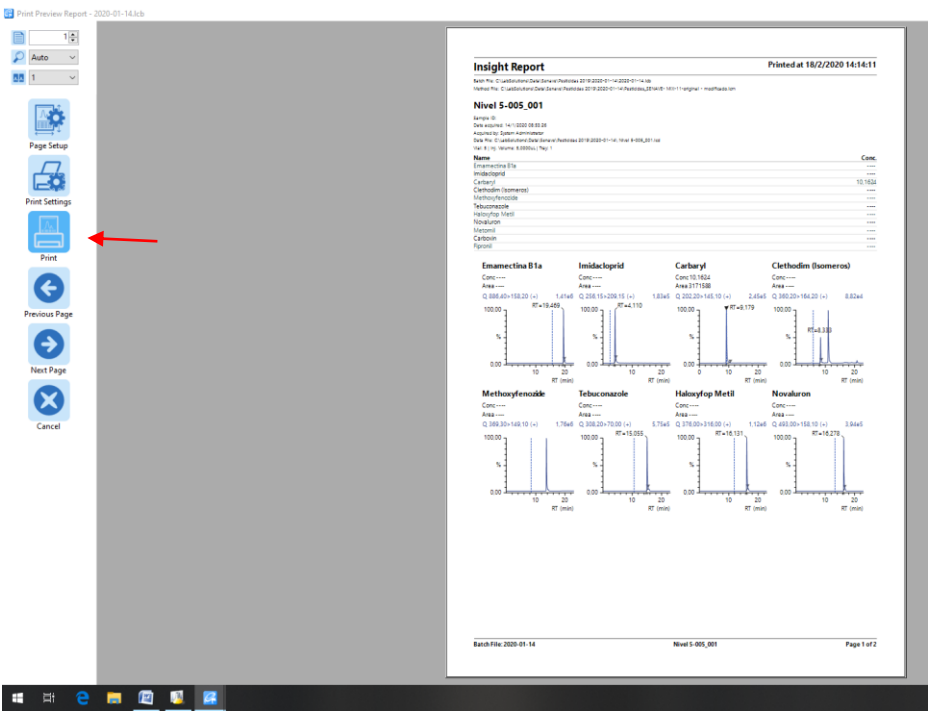
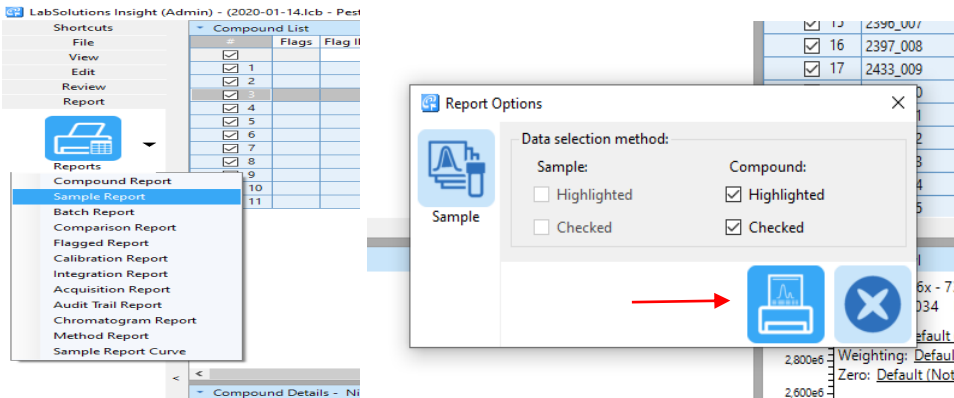
4.6.3 Impresión

Report → Sample Report → Print Summary Report. → Print



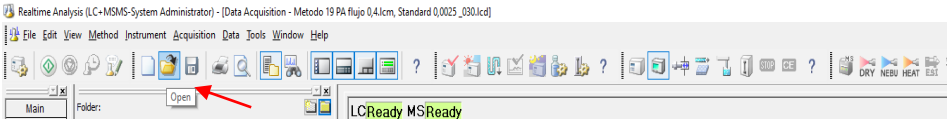
USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 12 de 14



4.7 Optimización de principios activos

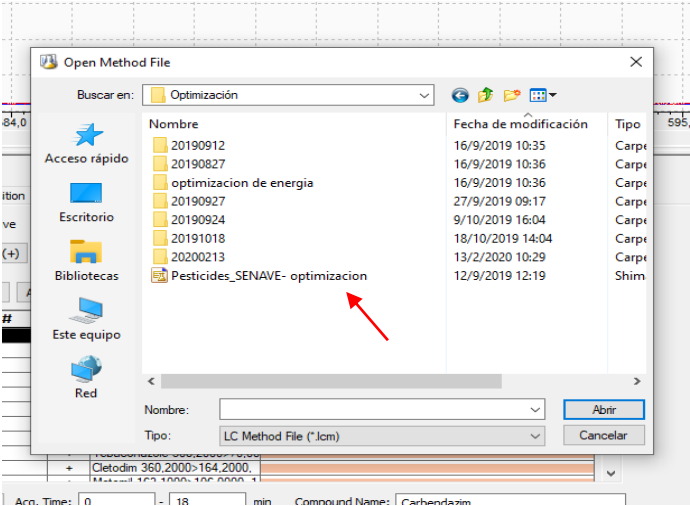
Quitar la columna cromatográfica
Open en Realtime analysis → seleccionar la carpeta Optimización con el método deseado
descargar →



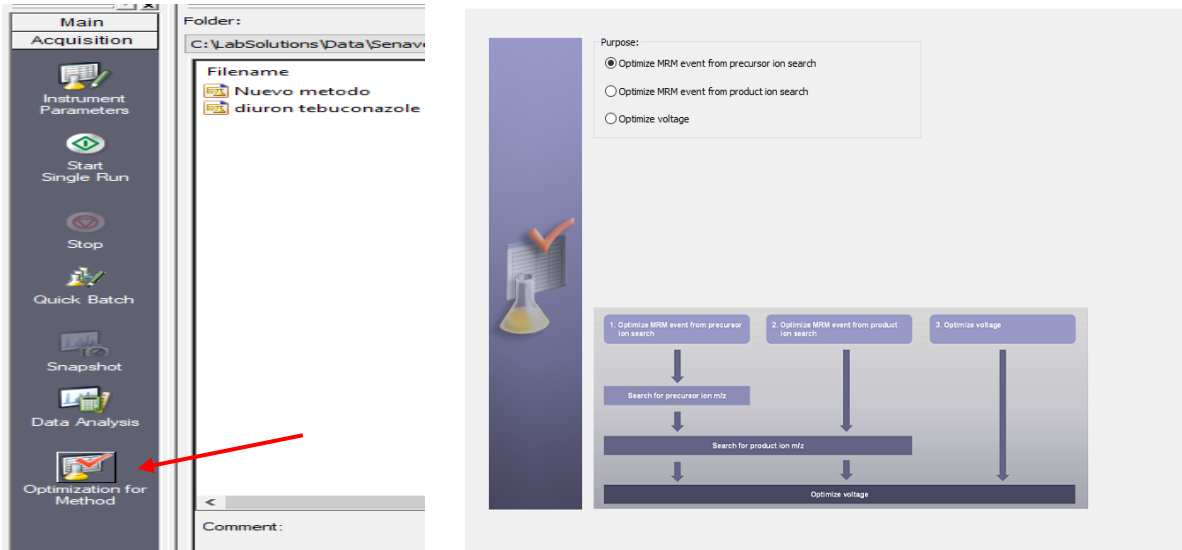


USO DEL UPLC MSMS SHIMADZU

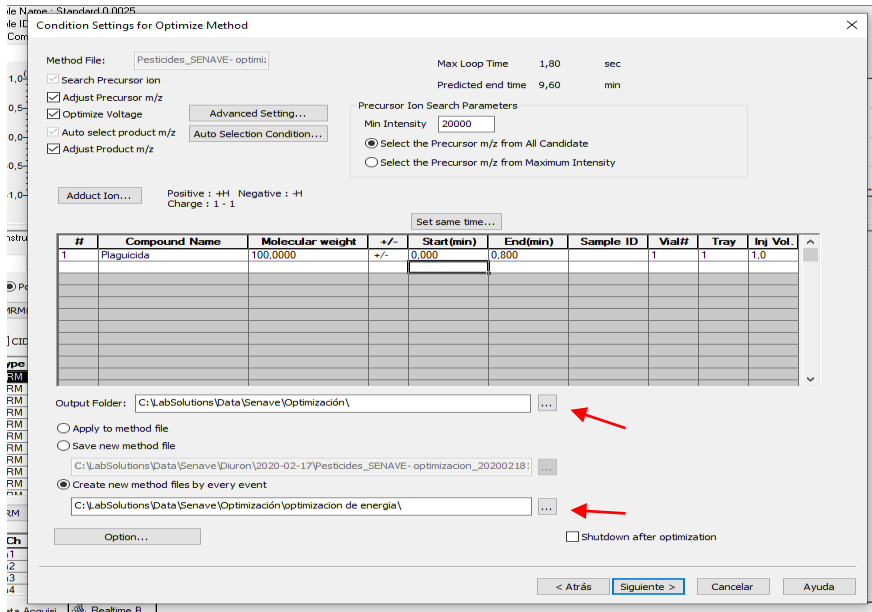
Código: ITR-LRPM-108
Emisor: DGT-DL-DLQ-LRPM
Versión: 01
Vigente: 03/04/2023
Página: 13 de 14



Acquisition → Optimization for method search → siguiente → Optimize MRM event from precursor ion



Se coloca el peso molecular, el tiempo de búsqueda de 0 a 0,8 minutos, el número del vial y el volumen de inyección.



Optimización en Output folder → Create new method file by every event

4.8 Verificación del Sistema UPLC

4.8.1. Las operaciones de verificación del estado del equipo se realizan mediante la inyección de un material de referencia certificado con columna específica e identificada para tal efecto. Con lo cual se verifica la eficacia, la precisión (repetibilidad y reproducibilidad de las áreas) y exactitud del equipo.

4.9 Calibración

4.9.1. Este equipo se verifica anualmente si requiere calibración, no está incluido dentro del Plan de Calibración.

4.9.2. Las comprobaciones para asegurar que responde a las especificaciones exigidas se realizan a través de las verificaciones, que se detallan en el punto anterior.

4.9.3 se realiza una calificación del equipo cada 5 años

4.10 Mantenimiento

La empresa representante de la marca es responsable del mantenimiento de los equipos, con el acompañamiento del UMEL de realizar el mantenimiento. La frecuencia de mantenimiento se establece en preventivo y correctivo de acuerdo a la necesidad, los registros se encuentran adjuntos a la ficha del equipo.

5. CONTROL DE CAMBIOS

Item	Página	Cambios

6. DOCUMENTOS

Nombre del Documento	Código	Área de archivo	Responsable	Tiempo de retención por dependencia	Disposición Final
Planilla de Uso del UPLC MS/MS	FOR-LRPM-163	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Eliminación
Esquema de Inyección en el UPLC MS/MS	FOR-LRPM-155	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Eliminación
Plan de manteniendo	FOR-DL-004	Sala de archivos	UMEL	5 años	Eliminación
Ficha de equipos	FOR-DL-006	Sala de archivos	UMEL	5 años	Eliminación
Protocolo de trabajo	FOR-LRPM-156	Sala de archivos	Técnicos	5 años	Eliminación

7. ANEXOS

NO APLICA