

Waters™

Alliance iS HPLC Systems

Manuale dell'utente

Sommario

1 Informazioni generali	7
1.1 Avviso di copyright	7
1.2 Informazioni sulla documentazione di Alliance iS System	7
1.2.1 Ricerca di informazioni	7
1.3 Marchi di fabbrica	8
1.4 Informazioni relative alla sicurezza	8
1.4.1 Nota sul simbolo di rischio per la sicurezza	8
1.4.2 Nota sulla sicurezza elettrica	8
1.4.3 Nota sull'uso improprio dell'apparecchiatura	9
1.4.4 Avvisi di sicurezza	9
1.5 Utilizzo del dispositivo	9
1.5.1 Simboli applicabili	9
1.5.2 Destinatari e finalità	11
1.5.3 Uso previsto del sistema	11
1.5.4 Informazioni su Alliance iS Bio HPLC System	11
1.5.5 Calibrazione	11
1.5.6 Controllo di qualità	12
1.6 Considerazioni EMC	12
1.6.1 Nota sulle emissioni FCC	12
1.6.2 Aspetti relativi alle comunicazioni di prossimità (NFC)/RFID	12
1.6.3 Classificazione ISM: Gruppo ISM 1, Classe A	12
1.6.4 Canada - nota sulle emissioni dello spettro magnetico	13
1.6.5 Altre considerazioni sulla EMC specifiche per Paese	13
1.7 Risorse aggiuntive	14
1.8 Contatti	15
1.9 Commenti dei clienti	16
2 Avvisi di sicurezza	17
2.1 Simboli di avvertenza	17
2.2 Avvisi	18
2.3 Simbolo di divieto relativo ai flaconi	18

2.4 Protezione obbligatoria.....	19
2.5 Avvertenze che riguardano tutti gli strumenti e dispositivi Waters.....	19
2.6 Simboli elettrici.....	23
2.7 Simboli di utilizzo.....	24
3 Panoramica del sistema.....	25
3.1 Caratteristiche del sistema.....	25
3.1.1 Iniettore con ago a flusso passante (FTN).....	26
3.2 Componenti del sistema.....	26
3.2.1 Funzionalità del rivelatore TUV.....	28
3.2.2 Funzionalità del rivelatore PDA.....	36
3.2.3 Caratteristiche del sistema di gestione campioni.....	46
3.2.4 Caratteristiche della pompa.....	52
3.2.5 Caratteristiche del forno/refrigeratore colonna (CHC).....	52
3.2.6 Caratteristiche del touchscreen.....	54
3.2.7 Caratteristiche del software Empower.....	59
4 Preparazione del sistema.....	61
4.1 Accensione del sistema.....	61
4.2 Spegnimento del sistema.....	62
4.3 Connettore dei segnali I/O.....	62
4.4 Installazione della colonna.....	64
4.5 Apertura della console dal software Empower.....	65
4.6 Priming del sistema.....	66
4.6.1 Priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni.....	67
4.6.2 Priming della pompa.....	69
4.6.3 Priming del sistema di gestione campioni.....	71
4.7 Scelta dei loop di prolungamento.....	71
4.8 Installazione e sostituzione dei loop di prolungamento.....	72
4.8.1 Installazione di un loop di prolungamento in un sistema a valvola singola.....	72
4.9 Modifica dei parametri di configurazione di ago e loop di prolungamento.....	74
4.10 Scelta dell'impostazione di posizionamento dell'ago.....	75

4.11 Creazione di un nuovo tipo di piastra.....	76
4.11.1 Creazione di un nuovo tipo di piastra utilizzando come modello un tipo di piastra esistente.....	76
4.12 Impostazioni avanzate.....	76
4.12.1 Scelta di una velocità di prelievo per la siringa per campioni.....	76
4.12.2 Recupero massimo di campione dai vial.....	76
4.13 Separazione dello scarico della condensa dallo scarico LC.....	77
5 Gestione dei metodi.....	83
5.1 Trasferimento di metodi.....	83
5.2 Misura del volume di sosta.....	83
6 Analisi di routine quotidiana.....	84
6.1 Accesso e disconnessione da Alliance iS HPLC System.....	84
6.2 Avvio di hardware e software.....	84
6.3 Configurazione dei solventi.....	85
6.4 Installazione o sostituzione della colonna.....	87
6.5 Equilibratura di Alliance iS HPLC System.....	87
6.6 Preparazione e caricamento dei campioni.....	88
6.7 Verifica dello stato e dell'integrità del sistema.....	91
6.7.1 Controlli dell'acquisizione dei dati.....	91
6.7.2 Monitoraggio dal touchscreen.....	92
6.7.3 Monitoraggio dal pannello di controllo del software Empower.....	92
6.7.4 Monitoraggio dalla System Console di Alliance iS HPLC System.....	93
6.7.5 Acquisizione dei dati.....	93
6.8 Esame dei risultati.....	93
6.9 Stampa del report.....	94
6.10 Preparazione per lo spegnimento di Alliance iS HPLC System.....	94
6.10.1 Spegnimento per meno di 24 ore.....	94
6.10.2 Spegnimento per più di 24 ore.....	95
7 Ottimizzazione delle prestazioni.....	96

7.1	Linee guida generali.....	96
7.1.1	Carryover.....	97
7.2	Prevenzione delle perdite.....	98
7.2.1	Consigli di installazione per i raccordi.....	99
7.3	Configurazione di un metodo.....	106
7.4	Considerazioni sulla camera del campione.....	107
7.5	Rispetto dei suggerimenti su vial e piastre.....	107
7.6	Tempo di ciclo tra le iniezioni.....	108
7.7	ottimizzazione della durata della colonna LC.....	108
8	Manutenzione.....	109
8.1	Visualizzazione delle informazioni su Alliance iS HPLC System.....	109
8.2	Sicurezza e modo d'impiego.....	109
8.3	Configurazione delle avvertenze relative alla manutenzione.....	109
8.4	Ordinazione di parti di ricambio.....	110
8.5	Pulizia delle superfici esterne dell'apparecchiatura.....	110
8.6	Sostituzione dei filtri dei flaconi dei solventi.....	111
8.7	Procedure di manutenzione della pompa.....	112
8.7.1	Programma di manutenzione della pompa.....	112
8.7.2	Manutenzione del filtro dell'aria del vano pompa.....	112
8.7.3	Sostituzione del sensore di perdita della pompa.....	113
8.7.4	Sostituzione del miscelatore della pompa.....	116
8.7.5	Sostituzione della cartuccia del filtro in linea sulla valvola di controllo primaria.....	118
8.7.6	Sostituzione della valvola di controllo dell'accumulatore.....	124
8.8	Procedure di manutenzione del sistema di gestione campioni.....	128
8.8.1	Programma di manutenzione del sistema di gestione campioni.....	128
8.8.2	Sostituzione del sensore di perdita del sistema di gestione campioni.....	128
8.8.3	Calibrazione dell'asse z dell'ago.....	131
8.8.4	Sostituzione della guarnizione dell'ago e del tubo della porta a tenuta.....	131
8.8.5	Sostituzione dell'ago per campioni.....	144
8.9	Procedure di manutenzione del rivelatore.....	156
8.9.1	Sostituzione del sensore di perdita del rivelatore.....	156
8.9.2	Sostituzione della cella di flusso del rivelatore TUV.....	159

8.9.3 Sostituzione della cella di flusso del rivelatore PDA.....	162
8.9.4 Sostituzione della lampada del rivelatore TUV.....	165
8.9.5 Sostituzione della lampada del rivelatore PDA.....	169
8.10 Procedure di manutenzione del forno colonna.....	172
8.10.1 Programma di manutenzione del forno colonna.....	172
8.10.2 Sostituzione della colonna.....	172
8.10.3 Sostituzione del sensore di perdita del forno colonna.....	175
9 Protocolli di smaltimento.....	179
9.1 Descrizione dei materiali costitutivi.....	179
9.2 Smaltimento dei componenti del sistema.....	179
10 Considerazioni sui solventi.....	180
10.1 Prevenzione della contaminazione.....	180
10.2 Qualità dei solventi.....	180
10.2.1 Solventi puliti.....	181
10.2.2 Solventi tamponati.....	181
10.2.3 Acqua.....	181
10.3 Preparazione dei solventi.....	182
10.4 Consigli per il solvente.....	182
10.4.1 Linee guida generali per i solventi.....	182
10.4.2 Linee guida relative ai solventi di lavaggio.....	188
10.5 Proprietà dei solventi comuni.....	190
10.6 Miscibilità dei solventi.....	192
10.6.1 Utilizzo dei numeri di miscibilità.....	193
10.7 Stabilizzatori dei solventi.....	194
10.8 Viscosità dei solventi.....	194
10.9 Selezione della lunghezza d'onda.....	194
10.9.1 Lunghezze d'onda limite per solventi comuni.....	194
10.9.2 Lunghezze d'onda limite per fasi mobili miscelate.....	195
11 Specifiche.....	201

1 Informazioni generali

1.1 Avviso di copyright

© 2024 WATERS CORPORATION. È VIETATA QUALSIASI RIPRODUZIONE INTEGRALE O PARZIALE DEL PRESENTE DOCUMENTO SENZA PREVIA AUTORIZZAZIONE SCRITTA DA PARTE DELL'EDITORE.

Le informazioni contenute nel presente documento sono soggette a modifiche senza alcun preavviso e non devono essere ritenute vincolanti per Waters Corporation. Waters Corporation declina ogni responsabilità in merito a eventuali errori contenuti in questo documento. Questo documento è da considerarsi completo e accurato all'atto della pubblicazione. In nessun caso Waters Corporation dovrà essere ritenuta responsabile di danni incidentali o consequenziali collegati o derivanti dall'uso del presente documento. Per ottenere la revisione più aggiornata del presente documento, consultare il sito web di Waters (www.waters.com).

1.2 Informazioni sulla documentazione di Alliance iS System

Alliance iS HPLC systems dispone di un'ampia documentazione in linea. È possibile accedere alla documentazione sfogliando www.waters.com o facendo clic sul pulsante Guida dal touchscreen del sistema.

Nel Centro Assistenza Waters (<https://help.waters.com/help/it.html>) è possibile cercare termini o espressioni all'interno dei contenuti oppure fare clic su **I need help with a product** (Mi serve aiuto per un prodotto) per accedere alla pagina Product Support (Assistenza prodotti), <https://help.waters.com/help/it/product-support.html>. In questa pagina è possibile eseguire ricerche nei contenuti o fare clic su **Alliance iS HPLC System** per accedere alla pagina Alliance iS HPLC System Support (Assistenza Alliance iS HPLC System), <https://help.waters.com/help/it/product-support/alliance-is-system-support.html>. In questa pagina è possibile eseguire ricerche nei contenuti o aprire un documento specifico.

Nota: Il CDS del software Empower dispone di documentazione online che include manuali dell'utente e di una Guida in linea a cui è possibile accedere dall'interfaccia utente.

1.2.1 Ricerca di informazioni

Viene visualizzata una casella di ricerca nella parte superiore delle pagine del Centro assistenza Waters, inclusa la pagina Alliance iS System Support (<https://help.waters.com/help/it/product-support/alliance-is-system-support.html>). In questa casella è possibile trovare informazioni specifiche necessarie eseguendo ricerche di varia complessità.

Esistono due tipi di termini di ricerca a testo semplice: singole parole e frasi. Le frasi devono essere racchiuse tra virgolette, ad esempio "acquisizione dati". L'operatore booleano AND è implicito. La funzione di ricerca esamina i titoli degli argomenti e specifiche parole chiave.

Se la ricerca non produce risultati o se i risultati non forniscono le informazioni richieste, provare a cercare termini diversi o a rimuovere le virgolette dalle frasi.

Se sono presenti troppi risultati, provare a utilizzare gli operatori booleani di esclusione OR o NOT.

1.3 Marchi di fabbrica

Alliance™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.

eConnect™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.

Empower™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.

MaxPeak™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.

MP35N® è un marchio depositato di SPS Technologies Inc.

TaperSlit™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.

Waters™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.


Waters Quality Parts™ è un marchio di fabbrica di Waters Corporation.

Tutti gli altri marchi di fabbrica sono proprietà dei rispettivi titolari.

1.4 Informazioni relative alla sicurezza

Alcuni reagenti e campioni utilizzati con gli strumenti e i dispositivi Waters possono comportare rischi di carattere chimico, biologico o radiologico (o una qualsiasi combinazione di tali rischi). Assicurarsi di essere a conoscenza degli effetti potenzialmente pericolosi delle sostanze con cui si opera. Rispettare sempre le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento alle procedure operative standard della propria organizzazione, oltre ai requisiti locali per la sicurezza.

1.4.1 Nota sul simbolo di rischio per la sicurezza

Il simbolo  indica un rischio potenziale. Consultare la documentazione per informazioni importanti sul rischio e sulle misure da adottare per prevenirlo e controllarlo.

1.4.2 Nota sulla sicurezza elettrica

Non posizionare il dispositivo in modo da ostacolare lo scollegamento del cavo di alimentazione.

1.4.3 Nota sull'uso improprio dell'apparecchiatura

L'eventuale utilizzo dell'apparecchiatura secondo modalità non previste dal produttore può compromettere la protezione offerta dall'apparecchiatura.

1.4.4 Avvisi di sicurezza








Consultare l'appendice "Avvisi di sicurezza" in questo documento per ottenere un elenco completo di avvertenze e avvisi.











1.5 Utilizzo del dispositivo

Durante l'utilizzo del dispositivo attenersi alle procedure standard per il controllo di qualità (QC) e alle linee guida descritte in questa sezione.

1.5.1 Simboli applicabili

I seguenti simboli possono essere presenti sul dispositivo, sul sistema o sull'imballaggio.

Simbolo	Definizione
	Produttore
	Data di fabbricazione
	Garantisce la conformità del prodotto a tutte le direttive della Comunità Europea applicabili al prodotto stesso.
	Il marchio UK Conformity Assessed conferma che un prodotto fabbricato è conforme ai requisiti applicabili ai prodotti venduti in Gran Bretagna.
	Conforme alla normativa australiana EMC
	Garantisce la conformità del prodotto a tutti i requisiti di sicurezza di Stati Uniti e Canada applicabili al prodotto stesso.
	Garantisce la conformità del prodotto a tutti i requisiti di sicurezza di Stati Uniti e Canada applicabili al prodotto stesso.

Simbolo	Definizione
	<p>Periodo di utilizzo rispettoso dell'ambiente (RoHS della Cina): indica il numero di anni a partire dalla data di produzione raggiunto il quale è probabile che il prodotto, o i componenti al suo interno, siano smaltiti o si degradino nell'ambiente.</p>
	<p>ACT (Accountability, Consistency, and Transparency) è un'etichetta di fattore di impatto ambientale che fornisce la verifica di terzi sugli impatti sostenibili di un prodotto di laboratorio di scienze biologiche, delle sue operazioni e del suo fine vita.</p>
	<p>Consultare le istruzioni d'uso.</p>
	<p>Corrente alternata</p>
	<p>Le apparecchiature elettriche ed elettroniche contrassegnate da questo simbolo possono contenere sostanze pericolose e non devono essere smaltite come normali rifiuti.</p> <p>Per il rispetto della conformità alla direttiva sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche, rivolgersi a Waters Corporation per ottenere istruzioni in merito alle procedure corrette di smaltimento e riciclo.</p>
	<p>Solo per uso all'interno</p>
	<p>Non spingere.</p>
	<p>Non collegare a un sistema LC</p>
	<p>Indica il carico massimo che si può applicare a tale articolo, per esempio 10 kg.</p>
	<p>Indica che la parte può essere pulita in un bagno a ultrasuoni</p>

Simbolo	Definizione
SN	Numero di serie
REF	Codice, numero di catalogo della parte

1.5.2 Destinatari e finalità

La presente guida è rivolta esclusivamente al personale di laboratorio professionalmente qualificato e incaricato dell'utilizzo e della manutenzione dei prodotti Waters.

1.5.3 Uso previsto del sistema

Gli Alliance iS HPLC Systems eseguono la cromatografia liquida per separare, identificare e quantificare i componenti di una miscela liquida. Il sistema supporta colonne con particelle di dimensioni fino a 2,7 µm e pressioni fino a 12 000 psi per le analisi di laboratorio in routine. Alliance iS HPLC System viene fornito di serie con la rivelazione dell'assorbanza UV sotto forma di rivelatore TUV o PDA.

Nota: Il forno/refrigeratore colonna (CHC) Alliance iS è un dispositivo alimentato a corrente alternata in cui è alloggiata la colonna del sistema idraulico utilizzata per eseguire le separazioni HPLC (cromatografia liquida ad alta pressione) per Alliance iS HPLC Systems. Il gruppo CHC è in grado di fornire alla colonna una temperatura compresa tra 4 °C e 90 °C. Se la colonna LC è dotata di tag NFC passivo (13,56 MHz), questo viene letto quando lo sportello anteriore del modulo CHC è chiuso. Il circuito dell'antenna normalmente non è attivo fino all'evento di assistenza di chiusura dello sportello. I dati provenienti dal tag vengono memorizzati nel sistema.

1.5.4 Informazioni su Alliance iS Bio HPLC System

Alliance iS Bio HPLC System è una soluzione HPLC bio-inerte progettata per affrontare le sfide specifiche dei laboratori di controllo qualità che eseguono applicazioni biofarmaceutiche. Il circuito idraulico del sistema è progettato con materiali biocompatibili e con la tecnologia Waters MaxPeak High Performance Surfaces (HPS).

1.5.5 Calibrazione

Per calibrare i sistemi LC, adottare metodi di calibrazione adeguati utilizzando almeno cinque standard per generare una curva di calibrazione. L'intervallo dei valori di concentrazione per gli standard deve comprendere l'intera gamma dei campioni di controllo di qualità, campioni tipici e atipici.

1.5.6 Controllo di qualità

Analizzare regolarmente tre campioni di controllo di qualità (QC) con valori di concentrazione uguali, maggiori e minori rispetto ai livelli tipici di un composto. Se i vassoi porta-campioni sono identici o molto simili, variare la posizione dei campioni QC nei vassoi. Verificare che i risultati dei campioni QC rientrino in un intervallo accettabile e valutarne la precisione quotidianamente e analisi per analisi. Se i risultati dei campioni QC non rientrano in tale intervallo, i dati acquisiti per i campioni in analisi potrebbero non essere validi. Non refertare tali dati senza aver prima verificato la validità delle prestazioni dello strumento.

1.6 Considerazioni EMC

1.6.1 Nota sulle emissioni FCC

Qualsiasi modifica o alterazione non espressamente autorizzata dai responsabili della conformità fa decadere il diritto all'utilizzo dell'apparecchiatura da parte dell'utente. Questo dispositivo è conforme alla sezione 15 delle normative FCC. L'uso è soggetto alle seguenti condizioni: (1) il dispositivo non deve provocare interferenze dannose e (2) il dispositivo deve essere in grado di funzionare in presenza di qualsiasi interferenza passiva, comprese quelle che possono provocare un funzionamento anomalo.

1.6.2 Aspetti relativi alle comunicazioni di prossimità (NFC)/RFID

Il forno/refrigeratore colonna (CHC) Alliance iS viene utilizzato con Alliance iS HPLC Systems. Il modulo CHC può essere dotato di tecnologia NFC/RFID. Le omologazioni nazionali associate a questa funzione FR si riferiscono solo al modulo CHC e non ad altre sezioni del sistema o al sistema nella sua interezza. Il lettore NFC/RFID a 13,56 MHz si trova sullo sportello del modulo CHC. Esso esegue un ciclo di lettura quando lo sportello è chiuso. La durata del ciclo di lettura è inferiore a un secondo. Il lettore resta poi inattivo fino al successivo evento di apertura/chiusura dello sportello. La potenza è inferiore a 2 W.

1.6.3 Classificazione ISM: Gruppo ISM 1, Classe A

Questa classificazione è stata assegnata in conformità alla norma CISPR 11 sui requisiti degli strumenti ISM (industriali, scientifici e medicali).

Il Gruppo 1 comprende le apparecchiature ISM in cui viene intenzionalmente generata e/o utilizzata energia a radiofrequenza accoppiata in modo conduttivo, necessaria per il funzionamento interno del dispositivo.

I prodotti di Classe A possono essere utilizzati in qualsiasi locale non residenziale e in locali direttamente collegati a una rete di alimentazione elettrica pubblica a bassa tensione destinata all'uso domestico.

In ambienti di altro tipo possono verificarsi problemi di compatibilità elettromagnetica a causa di interferenze per conduzione e radiazione.

Questa apparecchiatura è conforme ai requisiti di emissione e immunità descritti nelle sezioni pertinenti dello standard IEC/EN 61326: Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements (Apparecchi elettrici di misura, controllo e utilizzo in laboratorio - Requisiti EMC).

1.6.4 Canada - nota sulle emissioni dello spettro magnetico

Questo apparecchio digitale di classe A è conforme alla norma canadese ICES-001.

Cet appareil numérique de la classe A est conforme à la norme NMB-001.

1.6.5 Altre considerazioni sulla EMC specifiche per Paese

Le seguenti considerazioni specifiche per Paese valgono per l'utilizzo del forno/refrigeratore colonna (CHC) Alliance iS.

Brasile	Este equipamento não tem direito à proteção contra interferência prejudicial e não pode causar interferência em sistemas devidamente autorizados. Para maiores informações, consulte o site da ANATEL – www.anatel.gov.br
Corea	
Taiwan	取得審驗證明之低功率射頻器材，非經核准，公司、商號或使用者均不得擅自變更頻率、加大功率或變更原設計之特性及功能。低功率射頻器材之使用不得影響飛航安全及干擾合法通信；經發現有干擾現象時，應立即停用，並改善至無干擾時方得繼續使用。前述合法通信，指依電信管理法規定作業之無線電通信。低功率射頻器材須忍受合法通信或工業、科學及醫療用電波輻射性電機設備之干擾。

Thailandia	<div style="text-align: center;">  <p>กสทช.</p> <p>เครื่องวิทยุคมนาคมนี้ ได้รับยกเว้น ไม่ต้องได้ รับใบอนุญาตให้มี ใช้ซึ่งเครื่องวิทยุคมนาคม หรือตั้งสถานีวิทยุคมนาคมตามประกาศ กสทช. เรื่อง เครื่องวิทยุคมนาคม และสถานีวิทยุ คมนาคมที่ได้รับยกเว้นไม่ต้องได้รับใบอนุญาต วิทยุคมนาคมตามพระราชบัญญัติวิทยุคมนาคม พ.ศ. 2498</p> <div style="display: flex; justify-content: center; align-items: center;">  <div style="text-align: center;"> <p>กสทช. โทรคมนาคม</p> <p>กำกับดูแลเพื่อประชาชน</p> <p>Call Center 1200 (InSW)</p> </div> </div> </div> <p>เครื่องโทรคมนาคมและอุปกรณ์นี้มีความสอดคล้องตามมาตรฐานหรือข้อกำหนดทางเทคนิคของ กสทช.</p>
------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

1.7 Risorse aggiuntive

Waters mette a disposizione le seguenti risorse aggiuntive per garantire il successo costante dei nostri prodotti.

Knowledge Base: Risposte rapide alle domande di ricerca guasti. Note e articoli di supporto sulla strumentazione Waters, Informatics e Chemistry.

Corsi eLearning: La formazione è possibile ovunque, in qualsiasi momento e in base alle proprie esigenze con i corsi personalizzati in modalità e-learning.

Formazione per i clienti: Waters Educational Services è un Team di esperti pronto a supportare gli scienziati nel massimizzare le loro competenze relative a UPLC, HPLC, LC-MS e alla gestione dei dati.

Note applicative: È possibile consultare la nostra libreria digitale di note applicative online relative a tutte le tecnologie analitiche avanzate che includono cromatografia, spettrometria di massa, preparazione di colonne e di campioni e software per la gestione dei dati, e che ne illustrano i vantaggi scientifici e operativi di grande impatto per i laboratori.

Libreria di video dimostrativi: Possibilità di visualizzare/scaricare gli ultimi video dimostrativi dei nostri prodotti.

Graphical parts locator: Identificare e ordinare parti di ricambio usando un tool grafico interattivo. Accedere alle procedure di manutenzione e a documenti di riferimento.

Risorse e strumenti di selezione prodotti: Raccolta di procedure guidate utili per facilitare la selezione dei prodotti consumabili più idonei per soddisfare i requisiti delle analisi cromatografiche, include vial, piastre, filtri, grafici per la selettività delle colonne e molto altro.

1.8 Contatti

Rivolgersi a Waters in caso di domande di natura tecnica sull'utilizzo, il trasporto, la rimozione o lo smaltimento di qualsiasi prodotto Waters. È possibile contattare Waters tramite Internet, telefono, fax o posta tradizionale.

Metodo di contatto	Informazioni
www.waters.com	Sul sito web di Waters sono disponibili le informazioni per contattare le sedi Waters in tutto il mondo.
iRequest	iRequest è un modulo di assistenza web protetto che consente di richiedere assistenza e supporto per strumenti e software Waters o di pianificare un servizio di assistenza. Questo tipo di assistenza e supporto può essere incluso nel piano di manutenzione o di supporto. Qualora non si disponga di una copertura adeguata per il prodotto, potrebbe essere addebitato il costo del servizio richiesto. Nota: Nelle aree gestite da distributori autorizzati, iRequest potrebbe non essere disponibile. Per ulteriori informazioni, rivolgersi al distributore più vicino.
Come contattare la sede Waters locale	Per le località di tutto il mondo, sono disponibili informazioni su telefono, fax e posta tradizionale sul sito web Uffici locali .
Come contattare Waters	Waters Corporation 34 Maple Street Milford, MA 01757 USA I clienti che risiedono negli Stati Uniti e in Canada possono rivolgersi al numero 800-252-4752.

1.9 Commenti dei clienti

I commenti inviati dai clienti sono presi in seria considerazione. Waters desidera conoscere le esigenze dei clienti relativamente alla documentazione per migliorarne costantemente accuratezza e praticità di utilizzo. Per segnalare eventuali errori riscontrati in questo documento o per suggerire idee per migliorarlo in altro modo, è possibile contattarci all'indirizzo tech_comm@waters.com.

2 Avvisi di sicurezza

Nelle sezioni seguenti sono presentati gli avvisi di sicurezza per Alliance iS HPLC System.

2.1 Simboli di avvertenza

Questi simboli avvisano l'utente sui pericoli di infortuni, anche letali o di gravi reazioni fisiologiche negative associate all'uso improprio di uno strumento o di un dispositivo. Rispettare tutte le avvertenze quando si installa, ripara o utilizza un qualsiasi strumento o dispositivo Waters. Waters declina ogni responsabilità in caso di lesioni o danni patrimoniali derivanti dalla mancata osservanza delle precauzioni di sicurezza da parte dei soggetti incaricati dell'installazione, della riparazione o dell'utilizzo degli strumenti o dei dispositivi Waters.

I seguenti simboli avvisano l'utente sui pericoli che possono insorgere durante l'uso o la manutenzione di uno strumento o dispositivo Waters oppure di un componente di uno strumento o dispositivo Waters. Quando è riportato nelle sezioni descrittive o nelle procedure del manuale, ognuno di questi simboli è accompagnato da una descrizione specifica del tipo di pericolo e dalle istruzioni per evitarlo.



Avvertenza: pericolo di natura generica. Quando questo simbolo è affisso su uno strumento, consultare la documentazione dell'utente per ottenere importanti informazioni di sicurezza prima di utilizzare lo strumento.



Avvertenza: pericolo di ustione da contatto con superfici calde



Avvertenza: pericolo di scosse elettriche



Avvertenza: pericolo di incendio



Avvertenza: pericolo di puntura con punte aguzze



Avvertenza: pericolo di schiacciamento delle mani



Avvertenza: pericolo provocato da parti meccaniche in movimento



Avvertenza: pericolo di esposizione a radiazioni ultraviolette



Avvertenza: pericolo di contatto con sostanze corrosive



Avvertenza: pericolo di esposizione a sostanze tossiche



Avvertenza: pericolo di esposizione personale a radiazioni laser



Avvertenza: pericolo di esposizione ad agenti biologici gravemente nocivi per la salute



Avvertenza: pericolo di ribaltamento



Avvertenza: pericolo di esplosione



Avvertenza: pericolo di rilascio di gas ad alta pressione

2.2 Avvisi

Gli avvisi sono riportati nei casi in cui l'utilizzo corretto o improprio di uno strumento, dispositivo o componente può danneggiarlo o inficiare l'integrità di un campione. Il simbolo del punto esclamativo e la dichiarazione associata avvisano l'utente in merito a tali pericoli.



Avviso: per evitare danni alla custodia dello strumento o del dispositivo, non utilizzare abrasivi o solventi per pulirla.

2.3 Simbolo di divieto relativo ai flaconi

Il simbolo di divieto relativo ai flaconi segnala all'utente il rischio di danni alle apparecchiature provocati da fuoriuscite di solvente.



Divieto: per evitare danni alle apparecchiature provocati dalla fuoriuscita di solvente, non collocare i recipienti sopra uno strumento o dispositivo né sul ripiano anteriore dello stesso. Collocare invece i flaconi nell'apposito vassoio, che funge da dispositivo di contenimento secondario in caso di fuoriuscite.

2.4 Protezione obbligatoria

I simboli che invitano a indossare occhiali di protezione e guanti protettivi rimandano al requisito relativo all'utilizzo di dispositivi di protezione individuale. Scegliere i dispositivi di protezione appropriati in base alle procedure operative standard della propria organizzazione.



Requisito: indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Requisito: indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

2.5 Avvertenze che riguardano tutti gli strumenti e dispositivi Waters

Durante l'utilizzo del dispositivo attenersi alle procedure standard per il controllo della qualità e alle linee guida sulle apparecchiature descritte in questa sezione.



Warning: Changes or modifications to this unit not expressly approved by the party responsible for compliance could void the user's authority to operate the equipment.



Avertissement : Toute modification sur cette unité n'ayant pas été expressément approuvée par l'autorité responsable de la conformité à la réglementation peut annuler le droit de l'utilisateur à exploiter l'équipement.



Warnung: Jedwede Änderungen oder Modifikationen an dem Gerät ohne die ausdrückliche Genehmigung der für die ordnungsgemäße Funktionstüchtigkeit verantwortlichen Personen kann zum Entzug der Bedienungsbezugnis des Systems führen.



Avvertenza: Qualsiasi modifica o alterazione apportata a questa unità e non espressamente autorizzata dai responsabili per la conformità fa decadere il diritto all'utilizzo dell'apparecchiatura da parte dell'utente.



Advertencia: Cualquier cambio o modificación efectuado en esta unidad que no haya sido expresamente aprobado por la parte responsable del cumplimiento puede anular la autorización del usuario para utilizar el equipo.



警告： 未经有关法规认证部门明确允许对本设备进行的改变或改装，可能会使使用者丧失操作该设备的合法性。



警告： 未經有關法規認證部門允許對本設備進行的改變或修改，可能會使使用者喪失操作該設備的權利。



경고: 규정 준수를 책임지는 당사자의 명백한 승인 없이 이 장치를 개조 또는 변경할 경우, 이 장치를 운용할 수 있는 사용자 권한의 효력을 상실할 수 있습니다.



警告: 規制機関から明確な承認を受けずに本装置の変更や改造を行うと、本装置のユーザーとしての承認が無効になる可能性があります。



Warning: Use caution when working with any polymer tubing under pressure:

- Always wear eye protection when near pressurized polymer tubing.
- Extinguish all nearby flames.
- Do not use tubing that has been severely stressed or kinked.
- Do not use nonmetallic tubing with tetrahydrofuran (THF) or concentrated nitric or sulfuric acids.
- Be aware that methylene chloride and dimethyl sulfoxide cause nonmetallic tubing to swell, which greatly reduces the rupture pressure of the tubing.



Avertissement : Manipulez les tubes en polymère sous pression avec précaution:

- Portez systématiquement des lunettes de protection à proximité de tubes en polymère sous pression.
- Éteignez toute flamme se trouvant à proximité de l'instrument.
- Évitez d'utiliser des tubes sévèrement déformés ou endommagés.
- N'exposez pas les tuyaux non métalliques au tétrahydrofurane, ou THF, ou à de l'acide nitrique ou sulfurique concentré.
- Sachez que le chlorure de méthylène et le diméthylesulfoxyde entraînent le gonflement des tuyaux non métalliques, ce qui réduit considérablement leur pression de rupture.



Warnung: Bei der Arbeit mit Polymerschläuchen unter Druck ist besondere Vorsicht angebracht:

- In der Nähe von unter Druck stehenden Polymerschläuchen stets eine Schutzbrille tragen.
- Alle offenen Flammen in der Nähe löschen.
- Keine Schläuche verwenden, die stark geknickt oder überbeansprucht sind.
- Nichtmetallische Schläuche nicht für Tetrahydrofuran (THF) oder konzentrierte Salpeter- oder Schwefelsäure verwenden.
- Durch Methylenchlorid und Dimethylsulfoxid können nichtmetallische Schläuche quellen; dadurch wird der Berstdruck des Schlauches erheblich reduziert.



Avvertenza: Fare attenzione quando si utilizzano tubi in materiale polimerico sotto pressione:

- Indossare sempre occhiali da lavoro protettivi nei pressi di tubi di polimero pressurizzati.
- Spegnerne tutte le fiamme vive nell'ambiente circostante.
- Non utilizzare tubi eccessivamente logorati o piegati.
- Non utilizzare tubi non metallici con tetraidrofurano (THF) o acido solforico o nitrico concentrati.
- Tenere presente che il cloruro di metilene e il dimetilsolfossido provocano rigonfiamento nei tubi non metallici, riducendo notevolmente la resistenza alla rottura dei tubi stessi.



Advertencia: Se recomienda precaución cuando se trabaje con tubos de polímero sometidos a presión:

- El usuario deberá protegerse siempre los ojos cuando trabaje cerca de tubos de polímero sometidos a presión.
- Apagar cualquier llama que pueda estar encendida en las proximidades.
- No se debe trabajar con tubos que se hayan doblado o sometido a altas presiones.
- Es necesario utilizar tubos de metal cuando se trabaje con tetrahidrofurano (THF) o ácidos nítrico o sulfúrico concentrados.
- Hay que tener en cuenta que el diclorometano y el dimetilsulfóxido dilatan los tubos no metálicos, lo que reduce la presión de ruptura de los tubos.



警告： 当有压力的情况下使用聚合物管线时，小心注意以下几点：

- 当接近有压力的聚合物管线时一定要戴防护眼镜。
- 熄灭附近所有的火焰。
- 不要使用已经被压瘪或严重弯曲的管线。
- 不要在非金属管线中使用四氢呋喃或浓硝酸或浓硫酸。
- 要了解使用二氯甲烷及二甲基亚砷会导致非金属管线膨胀，大大降低管线的耐压能力。



警告： 當在有壓力的情況下使用聚合物管線時，小心注意以下幾點。

- 當接近有壓力的聚合物管線時一定要戴防護眼鏡。
- 熄滅附近所有的火焰。
- 不要使用已經被壓癟或嚴重彎曲管線。
- 不要在非金屬管線中使用四氫呋喃或濃硝酸或濃硫酸。
- 要了解使用二氯甲烷及二甲基亞砷會導致非金屬管線膨脹，大大降低管線的耐壓能力。



경고: 가압 폴리머 튜브로 작업할 경우에는 주의하십시오.

- 가압 폴리머 튜브 근처에서는 항상 보호 안경을 착용하십시오.
- 근처의 화기를 모두 끄십시오.
- 심하게 변형되거나 꼬인 튜브는 사용하지 마십시오.
- 비금속(Nonmetallic) 튜브를 테트라히드로푸란(Tetrahydrofuran: THF) 또는 농축 질산 또는 황산과 함께 사용하지 마십시오.
- 염화 메틸렌(Methylene chloride) 및 디메틸설폭사이드(Dimethyl sulfoxide)는 비금속 튜브를 부풀려 튜브의 파열 압력을 크게 감소시킬 수 있으므로 유의하십시오.



警告: 圧力のかかったポリマーチューブを扱うときは、注意してください。

- 加圧されたポリマーチューブの付近では、必ず保護メガネを着用してください。
- 近くにある火を消してください。
- 著しく変形した、または折れ曲がったチューブは使用しないでください。
- 非金属チューブには、テトラヒドロフラン (THF) や高濃度の硝酸または硫酸などを流さないでください。
- 塩化メチレンやジメチルスルホキシドは、非金属チューブの膨張を引き起こす場合があります、その場合、チューブは極めて低い圧力で破裂します。

Questa avvertenza riguarda tutti gli strumenti Waters dotati di tubi in materiale non metallico o utilizzati con solventi infiammabili.



Warning: The user shall be made aware that if the equipment is used in a manner not specified by the manufacturer, the protection provided by the equipment may be impaired.



Avertissement : L'utilisateur doit être informé que si le matériel est utilisé d'une façon non spécifiée par le fabricant, la protection assurée par le matériel risque d'être défectueuse.



Warnung: Der Benutzer wird darauf aufmerksam gemacht, dass bei unsachgemäßer Verwendung des Gerätes die eingebauten Sicherheitseinrichtungen unter Umständen nicht ordnungsgemäß funktionieren.



Avvertenza: Si rende noto all'utente che l'eventuale utilizzo dell'apparecchiatura secondo modalità non previste dal produttore può compromettere la protezione offerta dall'apparecchiatura.



Advertencia: El usuario debe saber que, si el equipo se utiliza de forma distinta a la especificada por el fabricante, las medidas de protección del equipo podrían ser insuficientes.



警告： 使用者必须非常清楚如果设备不是按照制造厂商指定的方式使用，那么该设备所提供的保护将被削弱。



警告： 使用者必須非常清楚如果設備不是按照製造廠商指定的方式使用，那麼該設備所提供的保護將被消弱。



경고: 제조업체가 명시하지 않은 방식으로 장비를 사용할 경우 장비가 제공하는 보호 수단이 제대로 작동하지 않을 수 있다는 점을 사용자에게 반드시 인식시켜야 합니다.



警告: ユーザーは、製造元により指定されていない方法で機器を使用すると、機器が提供している保証が無効になる可能性があることに注意して下さい。

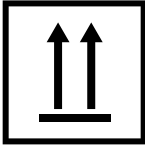



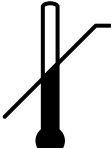
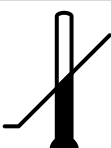

2.6 Simboli elettrici

I seguenti simboli elettrici e le relative descrizioni sono riportati nei manuali degli strumenti e sui pannelli, anteriore o posteriore, degli strumenti.

Simbolo	Descrizione
	Strumento acceso
○	Strumento spento
⏻	Standby (In attesa)
≡	Corrente continua
~	Corrente alternata
3~	Corrente alternata (trifase)
⊕	Messa a terra di sicurezza
⏏	Connessione del terminale del telaio
⏏	Fusibile
⏚	Messa a terra funzionale
⤴	Ingresso
⤵	Uscita
⚡	Indica che il dispositivo o il gruppo è soggetto ai danni causati dalle scariche elettrostatiche (ESD).

2.7 Simboli di utilizzo

I seguenti simboli e le dichiarazioni a essi associate sono riportati sulle etichette affisse sull'imballaggio di spedizione di strumenti, dispositivi e componenti.

Simbolo	Descrizione
	Tenere in posizione verticale!
	Tenere all'asciutto!
	Fragile!
	Non utilizzare ganci!
	Limite superiore della temperatura
	Limite inferiore della temperatura
	Limitazione della temperatura

3 Panoramica del sistema

Alliance iS HPLC System è il primo sistema HPLC appositamente progettato per il sistema di gestione dei dati cromatografici (CDS) del software Waters Empower, incentrato sul miglioramento dei risultati per i laboratori QC.

Grazie a funzionalità appositamente progettate, questo sistema consente di ridurre le inefficienze e la complessità, migliorare le percentuali di successo del trasferimento dei metodi e della migrazione e garantire risultati tempestivi attraverso:

- Prevenzione intuitiva di molti errori comuni
- Una guida rapida e semplice in caso di necessità
- Aumento della produttività e della capacità attraverso un utilizzo efficace delle risorse e un funzionamento affidabile
- Incremento di efficienza del workflow e miglioramento della qualità
- Miglioramento della data integrity

Alliance iS Bio HPLC System è progettato specificamente per i laboratori QC biofarmaceutici. Il circuito idraulico è progettato utilizzando materiali biocompatibili come MP35N e titanio (Ti), insieme alla tecnologia bio-inerte MaxPeak HPS, che garantisce prestazioni resilienti e durature anche per le applicazioni biofarmaceutiche più complesse. In combinazione con la tecnologia HPS MaxPeak, Alliance iS Bio HPLC System offre:

- Riduzione dell'adsorbimento non specifico
- Materiali resistenti alla corrosione
- Riduzione degli errori come standard
- Una guida rapida e semplice in caso di necessità
- Risultati più rapidi e riproducibili
- Migliore integrità dei dati

3.1 Caratteristiche del sistema

Le caratteristiche principali del sistema includono un touchscreen intuitivo e funzionalità intelligenti della colonna.

Il sistema Alliance iS offre una serie di funzionalità nuove ed esclusive:

- Un sistema realizzato per Waters Empower Software Suite (software Empower); fare riferimento a [Caratteristiche del software Empower \(Pagina 59\)](#)
- Un touchscreen avanzato e di facile utilizzo integrato con il software Empower; fare riferimento a [Caratteristiche del touchscreen \(Pagina 54\)](#)
- Illuminazione di stato del sistema tramite il touchscreen
- Fermi per i tubi dei solventi codificati a colori per garantire organizzazione e tracciabilità
- L'applicazione Intelligent Method Translator App (iMTA); fare riferimento a [Intelligent Method Translator \(Pagina 60\)](#)
- Colonne eConnect HPLC; fare riferimento a [Tecnologia eConnect \(Pagina 53\)](#)
- waters_connect System Monitoring tramite waters_connect Cloud Platform
- Tecnologia intelligente integrata collegata al nuovo Centro assistenza Waters
- Resistenza alla corrosione e caratteristiche bio-inerti (solo Alliance iS Bio HPLC System)

3.1.1 Iniettore con ago a flusso passante (FTN)

Il meccanismo FTN facilita il trasferimento dei metodi LC e migliora la precisione di iniezione.

Il meccanismo FTN del sistema di gestione campioni aspira il campione e lo trattiene nell'ago per campioni, in preparazione all'iniezione del campione nella colonna. L'ago viene utilizzato come elemento del circuito idraulico d'iniezione quando il campione viene trasferito nella colonna.

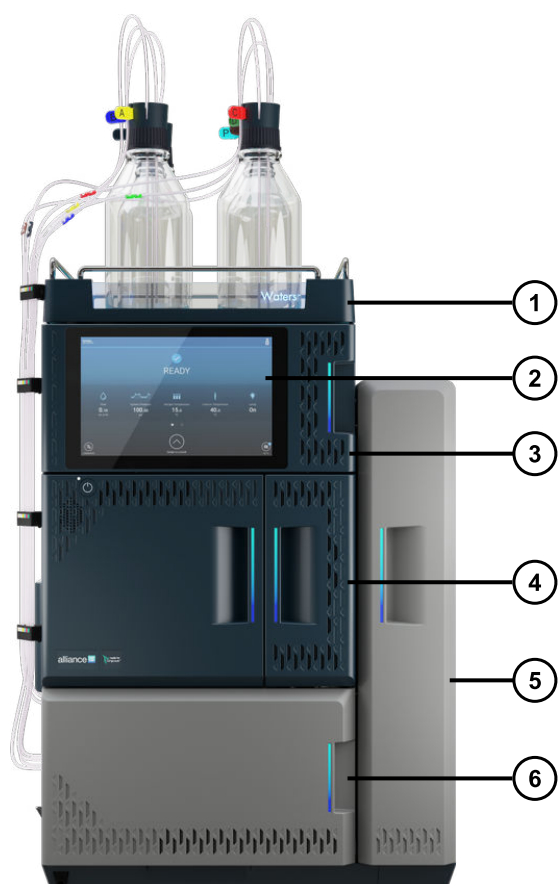
Il meccanismo FTN riduce il tempo di ciclo per le iniezioni di piccoli volumi e non richiede l'apprendimento di nuove modalità di iniezione. I gradienti di fase mobile attraversano l'ago durante l'iniezione, garantendo il recupero completo del campione.

3.2 Componenti del sistema

I moduli principali del sistema sono un sistema di gestione campioni, una pompa e un vano colonna.

Nell'immagine che segue è mostrato il sistema che include i moduli principali e un rivelatore.

Figura 3–1: Componenti del sistema Alliance iS



- ① Vassoio per flaconi
- ② Touchscreen
- ③ Rivelatore
- ④ Sistema di gestione campioni
- ⑤ Vano colonna
- ⑥ Pompa

Nello specifico, il sistema include i seguenti moduli principali:

Nota: L'area all'interno del telaio del sistema in cui sono alloggiati il sistema di gestione campioni e la pompa è nota come gruppo IFM, ovvero Integrated Fluidics Module (modulo del sistema idraulico integrato).

- Sistema di gestione campioni: ago a flusso passante (SM-FTN); fare riferimento a [Caratteristiche del sistema di gestione campioni \(Pagina 46\)](#)
- Pompa: sistema quaternario di gestione degli eluenti (QSM); fare riferimento a [Caratteristiche della pompa \(Pagina 52\)](#)
- Vano colonna: forno/refrigeratore colonna (CHC); fare riferimento a [Caratteristiche del forno/refrigeratore colonna \(CHC\) \(Pagina 52\)](#)

Oltre ai moduli principali, il sistema include un rivelatore regolabile nell'ultravioletto (TUV) o un rivelatore a serie di fotodiodi (PDA). Fare riferimento a [Funzionalità del rivelatore TUV \(Pagina 28\)](#) o a [Funzionalità del rivelatore PDA \(Pagina 36\)](#).

3.2.1 Funzionalità del rivelatore TUV

Il rivelatore funziona come parte integrante di un sistema cromatografico Waters.

Il rivelatore ottico regolabile nell'ultravioletto (TUV) Alliance iS è un rivelatore di assorbanza ultravioletto/visibile (UV/Vis) a due canali. Il rivelatore è controllato dal software Empower e offre una cella di flusso analitica con un volume di 16,3 µL e un cammino ottico di 10 mm.

Il design della cella di flusso rispecchia la tecnologia Waters TaperSlit.

Il rivelatore offre:

- Migliore equilibratura e tempo di riscaldamento
- Sensibilità superiore grazie alla cella di flusso brevettata TaperSlit, che dirige la luce all'interno della cella migliorando la trasmissione di energia luminosa
- Ottimizzazione della lampada per ottenere le migliori prestazioni per l'intera durata di vita di una lampada al deuterio
- Prestazioni a basso rumore di fondo (<5 µAU)
- Funzionalità nuove e migliorate per mitigare gli effetti delle variazioni della temperatura ambiente (vedere la seguente tabella delle funzionalità)
- Velocità di campionamento flessibili (comprese tra 1 e 160 Hz) per separazioni LC normali e rapide
- Ottimizzazione indipendente delle velocità di campionamento e delle costanti temporali dei filtri, con la possibilità di regolare il rivelatore in base agli obiettivi di separazione

Tabella 3–1: Funzionalità del rivelatore TUV

Funzionalità	Descrizione
Due modalità operative	A lunghezza d'onda singola o doppia (Fare riferimento alla sezione Modalità a lunghezza d'onda singola (Pagina 33) o Modalità a lunghezza d'onda doppia (Pagina 35) .)

Tabella 3–1: Funzionalità del rivelatore TUV (continua)

Funzionalità	Descrizione
Filtro di secondo ordine automatico	Supporta l'assorbanza standard, la funzionalità UV/Vis e la funzione di scansione dello spettro
Funzionalità diagnostica completa	Supporta strumenti diagnostici integrati per ottimizzare funzionalità e prestazioni
Gestione dell'oscillazione termica (migliorata) e controllo termico attivo (nuovo)	Riduzione dei problemi relativi alle prestazioni dovuti a variazioni della temperatura ambiente (Fare riferimento a Gestione dell'oscillazione termica e controllo termico attivo del rivelatore TUV (Pagina 35).)
Per la cella della cuvetta opzionale:	
Limitazione: È necessario rimuovere la cella di flusso del rivelatore prima di inserire una cella cuvetta.	
Qualifica della cuvetta	Facilita la qualifica del rivelatore tramite l'inserimento di uno standard in una cuvetta. Questa funzione è supportata dai kit di qualifica Waters disponibili per l'acquisto (cuvetta opzionale venduta separatamente).
Analisi dei campioni mediante cuvetta	Consente di registrare lo spettro di un campione contenuto nella cuvetta

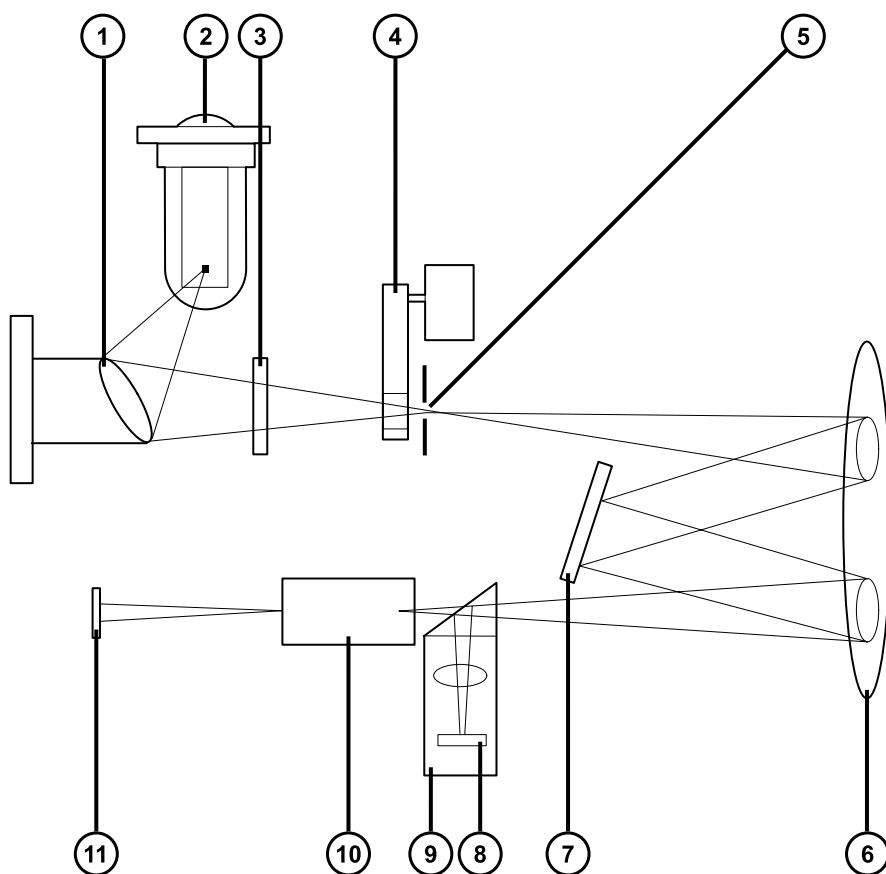
3.2.1.1 Gruppo dei componenti ottici del rivelatore TUV

I componenti ottici del rivelatore si basano su un monocromatore Fastie-Ebert.

La seguente figura mostra i componenti che fanno parte del gruppo ottico del rivelatore.

Nota: Oltre a quanto mostrato nella figura, i componenti ottici del rivelatore comprendono anche un otturatore, un filtro di calibrazione della lunghezza d'onda e un filtro di secondo ordine.

Figura 3-2: Gruppo dei componenti ottici del rivelatore



- ① Specchio
- ② Lampada al deuterio ad alta luminosità (D2)
- ③ Finestra
- ④ Ingranaggio del filtro
- ⑤ Fenditura
- ⑥ Specchio
- ⑦ Reticolo di diffrazione
- ⑧ Fotodiodo di riferimento
- ⑨ Divisore di fascio
- ⑩ Cella di flusso TaperSlit

⑪ Fotodiode del campione

3.2.1.1.1 Cammino ottico del gruppo di componenti del sistema ottico PDA

Il rivelatore TUV è dotato di un design estremamente efficiente, che consente di ottenere una trasmissione luminosa particolarmente elevata.

Il rivelatore TUV funziona nel seguente modo:

1. Uno specchio raccoglie la luce emessa dalla lampada e, facendole attraversare l'ingranaggio del filtro, la concentra sulla fenditura di entrata. Un altro specchio dirige la luce verso il reticolo di diffrazione, mentre una porzione diversa di questo specchio concentra la luce dispersa di una particolare banda di lunghezze d'onda, determinata dall'angolo del reticolo di diffrazione, sull'ingresso della cella di flusso. La luce esce dalla cella di flusso per raggiungere il fotodiode del campione.
2. Il divisore di fascio, situato in posizione immediatamente precedente alla cella di flusso, devia parte della luce nella direzione del fotodiode di riferimento.
3. Quando si specifica una nuova lunghezza d'onda tramite il touchscreen del sistema (o mediante il software Empower), il rivelatore ruota il reticolo di diffrazione nella posizione opportuna.
4. Le correnti provenienti dai fotodiodi sono integrate e digitalizzate per il processamento da parte dell'elettronica di processamento del segnale e inviate a un computer o integratore.

3.2.1.1.2 Filtraggio del rumore

Per ridurre al minimo il rumore, il rivelatore è dotato di un filtro di Hamming.

Il filtro di Hamming del rivelatore è un filtro di risposta digitale a numero finito di impulsi che degrada l'altezza dei picchi e migliora il filtro del rumore ad alta frequenza.

Il comportamento del filtro dipende dall'apposita costante temporale selezionata dall'utilizzatore. Le opzioni di programmazione dei filtri in Method Editor sono No Filter (Nessun filtro), Slow (Lento), Normal (Normale), Fast (Veloce) e Custom (Personalizzato). Quando si seleziona Slow (Lento), Normal (Normale) o Fast (Veloce), non è necessario specificare un valore. In questo caso la costante del filtro è determinata dalla velocità di campionamento. Se si seleziona Custom (Personalizzato) è possibile specificare un valore, che però viene arrotondato in base alla velocità di campionamento. Se si seleziona No Filter (Nessun filtro) o Custom (Personalizzato) e si specifica un valore pari a 0.0, tutti i filtri vengono disattivati.

La costante temporale del filtro regola l'intervallo temporale durante il quale vengono filtrati i dati, controllando quindi il livello di smoothing della linea di base e l'incidenza sulla degradazione dell'altezza dei picchi. L'ottimizzazione di questo parametro del metodo consente di ottenere i valori più elevati del rapporto segnale/rumore per una specifica applicazione.

L'utilizzo di valori più elevati della costante temporale provoca i seguenti effetti:

- Si ottiene la formazione di picchi stretti con distorsione e tempo di attesa minimi.
- I picchi di dimensioni estremamente ridotte sono più difficili da distinguere dal rumore di fondo.
- La rimozione del rumore di fondo è meno efficace.

L'utilizzo di valori più bassi della costante temporale provoca i seguenti effetti:

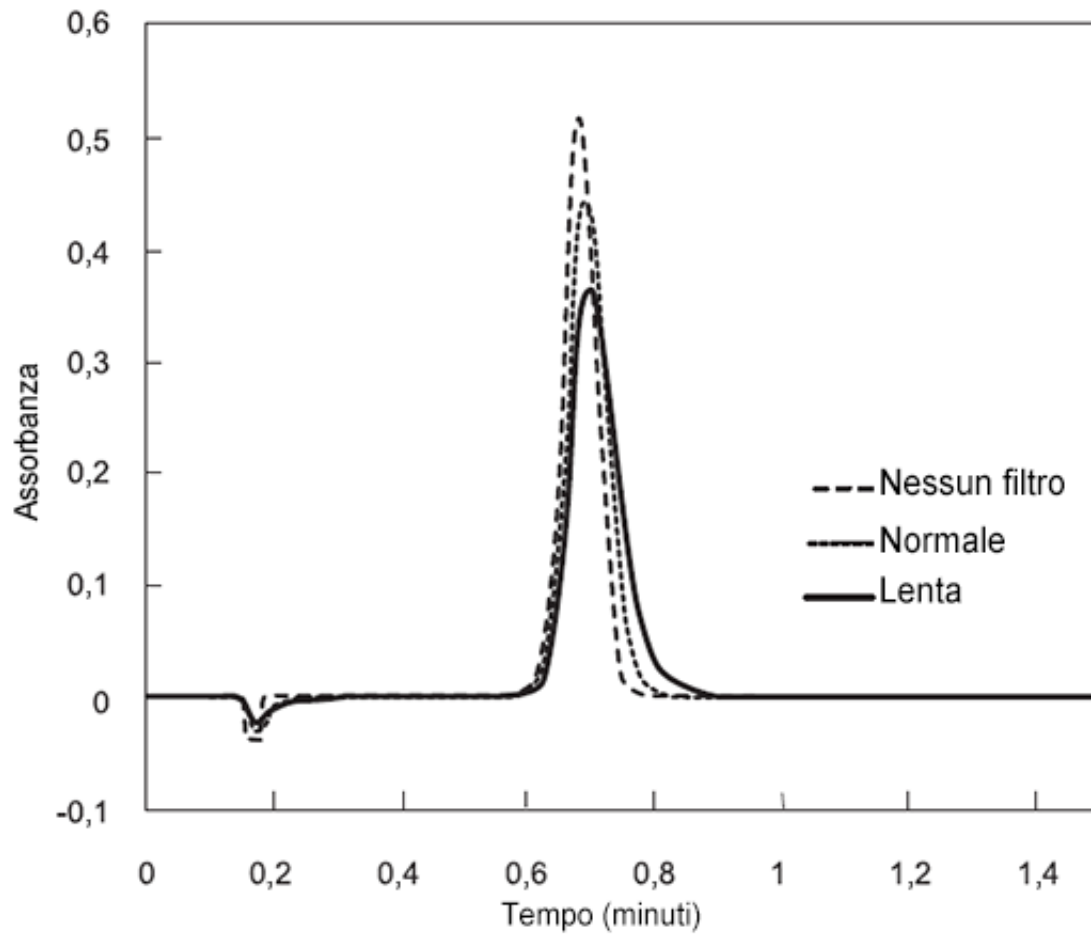
- Netta riduzione del rumore di fondo
- Allargamento e riduzione dell'altezza dei picchi

Suggerimento: la modifica del valore della costante temporale provoca una parziale distorsione della forma del picco e il ritardo dell'uscita del segnale, ma non comporta alcuna variazione dell'area del picco.

A ciascuna velocità di campionamento il software include costanti di filtraggio rapide o normali, adatte rispettivamente ad applicazioni ad alta velocità o ad alta sensibilità.

La seguente figura illustra la relazione che intercorre tra l'aumento della costante temporale del filtro e l'assorbanza:

Figura 3-3: Confronto tra costanti temporali del filtro



3.2.1.2 Verifica e test della lunghezza d'onda del rivelatore TUV

Se il rivelatore funziona in continuo, si raccomanda di eseguire la verifica della lunghezza d'onda con cadenza settimanale.

La lampada ad arco al deuterio e il filtro all'erbio integrato del rivelatore presentano picchi in corrispondenza di lunghezze d'onda note nello spettro di trasmissione. All'avvio, il rivelatore verifica la calibrazione confrontando la posizione di questi picchi con le lunghezze d'onda previste in base ai dati di calibrazione archiviati nella memoria del rivelatore. Se i risultati della verifica differiscono dalla calibrazione memorizzata di oltre 1,0 nm, il rivelatore visualizza il messaggio `Wavelength Verification Failure` (Impossibile verificare le lunghezze d'onda). Se necessario, all'avvio il rivelatore esegue la verifica anziché la ricalibrazione per evitare errori che possono verificarsi a causa della presenza di residui nella cella di flusso.

È possibile avviare una calibrazione manuale delle lunghezze d'onda in qualsiasi momento. La calibrazione manuale sostituisce i dati di calibrazione precedenti con nuovi dati.

Gli algoritmi di verifica e calibrazione sono praticamente identici. L'algoritmo di verifica può tuttavia visualizzare un messaggio di errore indicante che i dati correnti non corrispondono ai dati archiviati, mentre l'algoritmo di calibrazione semplicemente sostituisce i dati archiviati con nuovi dati.

Le procedure di verifica delle lunghezze d'onda del rivelatore determinano una posizione iniziale approssimata utilizzando un sensore di posizionamento del reticolo di diffrazione. Una volta determinata la posizione iniziale, il rivelatore individua e utilizza come riferimento il picco a 656,1 nm dello spettro di emissione della lampada al deuterio.

Il filtro all'erbio integrato viene inserito nel cammino ottico comune in posizione precedente alla fenditura di entrata della cella di flusso, consentendo al rivelatore di individuare tre ulteriori caratteristiche spettrali alle seguenti lunghezze d'onda:

- 256,7 nm (UV)
- 379,0 nm
- 521,5 nm

I test di verifica del rivelatore prevedono il riscaldamento della lampada per un periodo di cinque minuti per consentire la stabilizzazione della lampada.

3.2.1.3 Modalità di funzionamento

Le funzionalità del rivelatore includono due modalità operative.

Il rivelatore funziona in modalità a lunghezza d'onda singola o doppia e consente di eseguire la scansione spettrale utilizzando una cella di flusso o, opzionalmente, una cuvetta.

Fare riferimento a *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)* per informazioni sul controllo in questo ambiente software.

3.2.1.3.1 Modalità a lunghezza d'onda singola

La modalità a lunghezza d'onda singola è la modalità di funzionamento predefinita del rivelatore.

Il rivelatore supporta il controllo di una lunghezza d'onda singola nell'intervallo compreso tra 190 nm e 700 nm; la lunghezza d'onda può essere impostata con incrementi di 1 nm sul canale A.

In questa modalità il rivelatore attiva automaticamente il filtro ottico di secondo ordine per le lunghezze d'onda pari o superiori a 370 nm e lo disattiva per le lunghezze d'onda inferiori a 370 nm. Questo filtro impedisce alla luce UV non desiderata di colpire il reticolo di diffrazione e di interferire con la rivelazione dell'assorbanza per le lunghezze d'onda superiori a 370 nm.

Quando si utilizza il rivelatore in questa modalità, è possibile configurare i parametri aggiuntivi elencati nella seguente tabella e impostare una tabella Events (Eventi) per il rivelatore.

Tabella 3–2: Modalità a lunghezza d'onda singola, parametri configurabili

Parametro	Descrizione
Lamp (Lampada)	Consente di impostare l'accensione o lo spegnimento della lampada del rivelatore.
Data rate (Hz) (Velocità di trasmissione dati [Hz])	Consente di specificare una frequenza di campionamento massima pari a 160 Hz (canale singolo, 2 Hz per canale doppio).
Wavelength A (nm) (Lunghezza d'onda A [nm])	Consente di specificare una lunghezza d'onda per il canale A impostandola tra 190 nm e 700 nm con incrementi di 1 nm. Nota: Se il rivelatore si trova in modalità di funzionamento a lunghezza d'onda doppia, è visualizzato anche il valore Wavelength B (nm) (Lunghezza d'onda B [nm]).
Filter time constant (s) (Costante temporale del filtro [s])	Consente di programmare un tempo per il filtro. Le opzioni sono No Filter (Nessun filtro), Slow (Lento), Normal (Normale), Fast (Veloce) e Custom (Personalizzato); per informazioni dettagliate su questo parametro, sulle presenti opzioni e sui diversi effetti prodotti, fare riferimento alla sezione Filtraggio del rumore (Pagina 31) .
Autozero (Azzeramento automatico), due opzioni: <ul style="list-style-type: none"> • Autozero on Inject Start (Azzeramento automatico ad avvio iniezione) • Autozero on Wavelength Change (Azzeramento automatico alla modifica della lunghezza d'onda) 	Consente di impostare quando eseguire l'azzeramento automatico (reimposta gli offset del rivelatore)

3.2.1.3.2 Modalità a lunghezza d'onda doppia

Nella modalità Dual-Wavelength (Lunghezza d'onda doppia) il rivelatore può controllare due lunghezze d'onda, una sul canale A e una sul canale B.

Poiché la frequenza di campionamento è ridotta a 1 o 2 Hz, l'uso della modalità a lunghezza d'onda doppia è limitato a una cromatografia più standard in cui le ampiezze dei picchi sono di almeno 20 secondi per consentire la caratterizzazione completa di un picco.

Questa modalità è soggetta alle seguenti condizioni:

- Se entrambe le lunghezze d'onda selezionate sono superiori a 370 nm, il rivelatore applica il filtro di secondo ordine per bloccare la luce UV non desiderata.
- Se entrambe le lunghezze d'onda selezionate sono pari o inferiori a 370 nm, il rivelatore rimuove il filtro di secondo ordine.
- Se le lunghezze d'onda selezionate sono a cavallo della soglia dei 370 nm, il rivelatore non applica il filtro di secondo ordine e visualizza un messaggio di allarme per indicare che i dati raccolti per la lunghezza d'onda superiore a 370 nm possono essere inaccurati a causa delle possibili interferenze dovute alla luce UV (effetti UV).

3.2.1.4 Operazioni eseguite con la cuvetta

La cuvetta opzionale del rivelatore consente di misurare lo spettro di assorbanza di un campione contenuto in una cuvetta.

Nota: Questa sezione riguarda esclusivamente l'uso della cuvetta opzionale.

Per generare e archiviare uno spettro:

1. Acquisire una scansione del bianco, che misura l'assorbanza del contenuto della cuvetta nell'intervallo di lunghezze d'onda desiderato.
2. Acquisire una scansione del campione (assorbanza), che misura l'assorbanza dell'analita disciolto nella soluzione.

Risultato: Il rivelatore sottrae la scansione del bianco dalla scansione del campione per creare uno spettro del campione.

3.2.1.5 Gestione dell'oscillazione termica e controllo termico attivo del rivelatore TUV

Queste funzionalità integrate del rivelatore riducono i rischi alle prestazioni dovuti a variazioni della temperatura ambiente.

Gestione dell'oscillazione termica (migliorata): per separare le prestazioni di base dalle variazioni della temperatura ambiente, il rivelatore utilizza isolamento, ventole, riscaldatore, deflettori e controllo termico attivo.

Controllo termico attivo (nuovo): per garantire la stabilità della linea di base in presenza di variazioni della temperatura ambiente, il rivelatore controlla attivamente la temperatura del sistema ottico.

3.2.2 Funzionalità del rivelatore PDA

Il rivelatore funziona come parte integrante di un sistema cromatografico Waters.

Il rivelatore a serie di fotodiodi PDA Alliance iS è un rivelatore ottico in grado di eseguire simultaneamente operazioni 2D e 3D. Il rivelatore è controllato dal software Empower e offre una cella di flusso analitica con un volume di 8,4 µL e un cammino ottico di 10 mm.

Il design della cella di flusso rispecchia la tecnologia Waters TaperSlit.

Il rivelatore offre:

- Migliore equilibratura e tempo di riscaldamento
- Sensibilità superiore grazie alla cella di flusso brevettata TaperSlit, che dirige la luce all'interno della cella migliorando la trasmissione di energia luminosa
- Fessura variabile controllata da attuatore
- Lampada, cella di flusso e DI filtro ottico
- Opzioni della cuvetta
- Allineamento del reticolo di diffrazione di precisione
- Isolamento termico e controllo
- Conferma della posizione iniziale
- Ottimizzazione della lampada per ottenere le migliori prestazioni per l'intera durata di vita di una lampada al deuterio
- Prestazioni a basso rumore di fondo (<10 µAU)
- Funzionalità nuove e migliorate per mitigare gli effetti delle variazioni della temperatura ambiente (vedere la seguente tabella delle funzionalità)
- Velocità di campionamento flessibili (comprese tra 1 e 160 Hz) per separazioni LC normali e rapide
- Ottimizzazione indipendente delle velocità di campionamento e delle costanti temporali dei filtri, con la possibilità di regolare il rivelatore in base agli obiettivi di separazione

Tabella 3–3: Funzionalità del rivelatore PDA

Funzionalità	Descrizione
Filtro di secondo ordine automatico	Supporta l'assorbanza standard, la funzionalità UV/Vis e la funzione di scansione dello spettro
Funzionalità diagnostica completa	Supporta strumenti diagnostici integrati per ottimizzare funzionalità e prestazioni
Gestione dell'oscillazione termica (migliorata) e controllo termico attivo (nuovo)	Riduce i problemi relativi alle prestazioni dovuti a variazioni della temperatura ambiente

Tabella 3–3: Funzionalità del rivelatore PDA (continua)

Funzionalità	Descrizione
	(Fare riferimento a Gestione dell'oscillazione termica e controllo termico attivo del rivelatore PDA (Pagina 41).)
Qualifica della cuvetta	Facilita la qualifica del rivelatore tramite l'inserimento di uno standard in una cuvetta. Questa funzione è supportata dai kit di qualifica Waters disponibili per l'acquisto (cuvetta opzionale venduta separatamente).
Analisi dei campioni mediante cuvetta	Consente di registrare lo spettro di un campione contenuto nella cuvetta

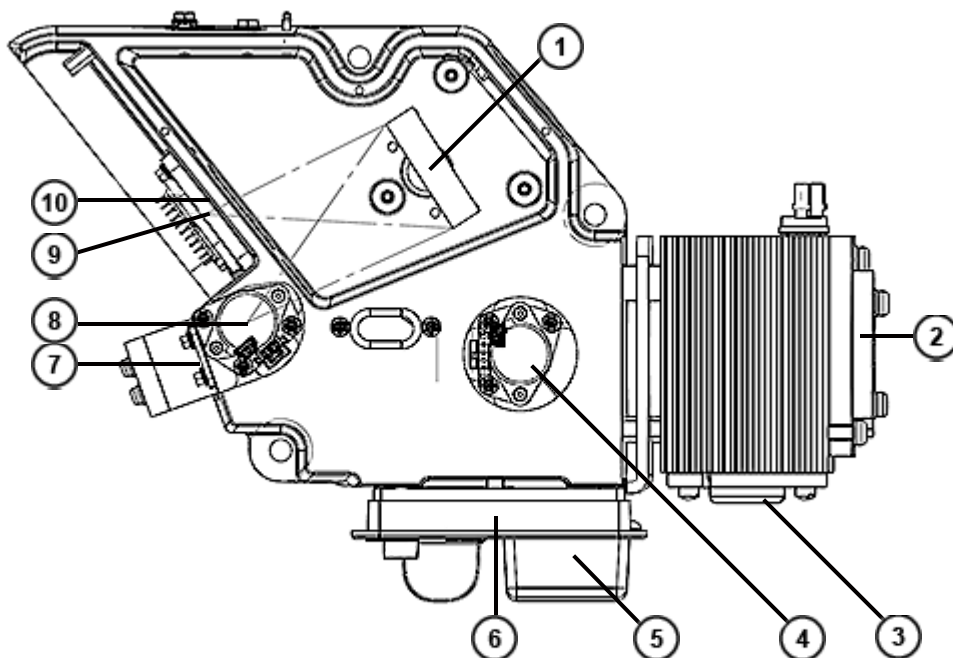
3.2.2.1 Gruppo dei componenti ottici del rivelatore PDA

Il banco del sistema ottico del rivelatore PDA fa passare il cammino ottico attraverso la soluzione in esame, quindi separa il rivelatore.

Il rivelatore è uno spettrofotometro a luce ultravioletta/visibile (UV/Vis). Con una serie di 518 fotodiodi, il rivelatore funziona in un intervallo compreso tra 190 e 800 nm.

Il cammino ottico tra i componenti del sistema ottico del rivelatore è illustrato nella seguente figura:

Figura 3–4: Cammino ottico del gruppo di componenti del sistema ottico



- ① Reticolo di diffrazione: disperde la luce in bande di lunghezze d'onda e le fa convergere sul piano della serie di fotodiodi.
- ② Specchio M1: fa convergere la luce emessa dalla lampada al deuterio.
- ③ Lampada: lampada al deuterio.
- ④ Indicatore/otturatore del filtro: indica le posizioni per misurare le energie del fascio aperto (energia del campione) e bloccato (energia oscura) e una terza energia utilizzata per la verifica delle lunghezze d'onda.
- ⑤ Supporto per cuvette: mantiene la cuvetta stabile e allineata correttamente nel rivelatore e consente alla luce di passare attraverso il campione per un'analisi precisa.
- ⑥ Cella di flusso: contiene il segmento del circuito idraulico (contenente l'eluente e il campione) attraverso il quale passa il fascio di luce policromatica.
- ⑦ Specchio e maschera dello spettrografo: lo specchio fa convergere la luce trasmessa attraverso la cella di flusso sulla fenditura situata all'ingresso della sezione spettrografica del sistema ottico. La maschera definisce le dimensioni del fascio sul reticolo di diffrazione.

- ⑧ Larghezza della fenditura variabile: determina la risoluzione e la quantità di luce che colpisce il sensore PDA. Fenditure di ampiezza inferiore consentono di ottenere un'immagine più piccola e nitida, con conseguente miglioramento della risoluzione, ma con una minore velocità di trasmissione luminosa. Fenditure di ampiezza maggiore comportano una maggiore trasmissione luminosa, che può migliorare la sensibilità e il rumore a scapito di una risoluzione inferiore. L'ampiezza della fenditura è variabile, ma il valore predefinito è 50 μm .
- ⑨ Sensore a serie di fotodiodi (PDA): matrice lineare di 518 fotodiodi di 50 μm di larghezza che misura l'intensità della luce dispersa in funzione della posizione sul sensore. La calibrazione consente di convertire i dati di posizione in lunghezza d'onda per ottenere dati spettrali.
- ⑩ Filtro ordine: riduce il contributo della diffrazione di secondo ordine della luce UV (meno di 370 nm) all'intensità luminosa osservata a lunghezze d'onda visibili (maggiori di 345 nm).

3.2.2.1.1 Cammino ottico del gruppo di componenti del sistema ottico PDA

Il rivelatore è dotato di un design estremamente efficiente, che consente di ottenere una trasmissione luminosa particolarmente elevata.

Il rivelatore funziona nel seguente modo:

1. La luce emessa dalla lampada al deuterio viene rifocalizzata da uno specchio ellittico nella cella di flusso.
2. Il fascio luminoso si espande quindi fino a riempire il reticolo di diffrazione, che separa il fascio nelle lunghezze d'onda che lo compongono e lo rifocalizza sul sensore PDA.

3.2.2.1.2 Filtraggio del rumore

Per ridurre al minimo il rumore, il rivelatore è dotato di un filtro di Hamming.

Il filtro di Hamming del rivelatore è un filtro di risposta digitale a numero finito di impulsi che degrada l'altezza dei picchi e migliora il filtro del rumore ad alta frequenza.

Il comportamento del filtro dipende dall'apposita costante temporale selezionata dall'utilizzatore. Le opzioni di programmazione dei filtri in Method Editor sono No Filter (Nessun filtro), Slow (Lento), Normal (Normale), Fast (Veloce) e Custom (Personalizzato). Quando si seleziona Slow (Lento), Normal (Normale) o Fast (Veloce), non è necessario specificare un valore. In questo caso la costante del filtro è determinata dalla velocità di campionamento. Se si seleziona Custom (Personalizzato) è possibile specificare un valore, che però viene arrotondato in base alla velocità di campionamento. Se si seleziona No Filter (Nessun filtro) o Custom (Personalizzato) e si specifica un valore pari a 0.0, tutti i filtri vengono disattivati.

La costante temporale del filtro regola l'intervallo temporale durante il quale vengono filtrati i dati, controllando quindi il livello di smoothing della linea di base e l'incidenza sulla degradazione dell'altezza dei picchi. L'ottimizzazione di questo parametro del metodo consente di ottenere i valori più elevati del rapporto segnale/rumore per una specifica applicazione.

L'utilizzo di valori più elevati della costante temporale provoca i seguenti effetti:

- Si ottiene la formazione di picchi stretti con distorsione e tempo di attesa minimi.
- I picchi di dimensioni estremamente ridotte sono più difficili da distinguere dal rumore di fondo.
- La rimozione del rumore di fondo è meno efficace.

L'utilizzo di valori più bassi della costante temporale provoca i seguenti effetti:

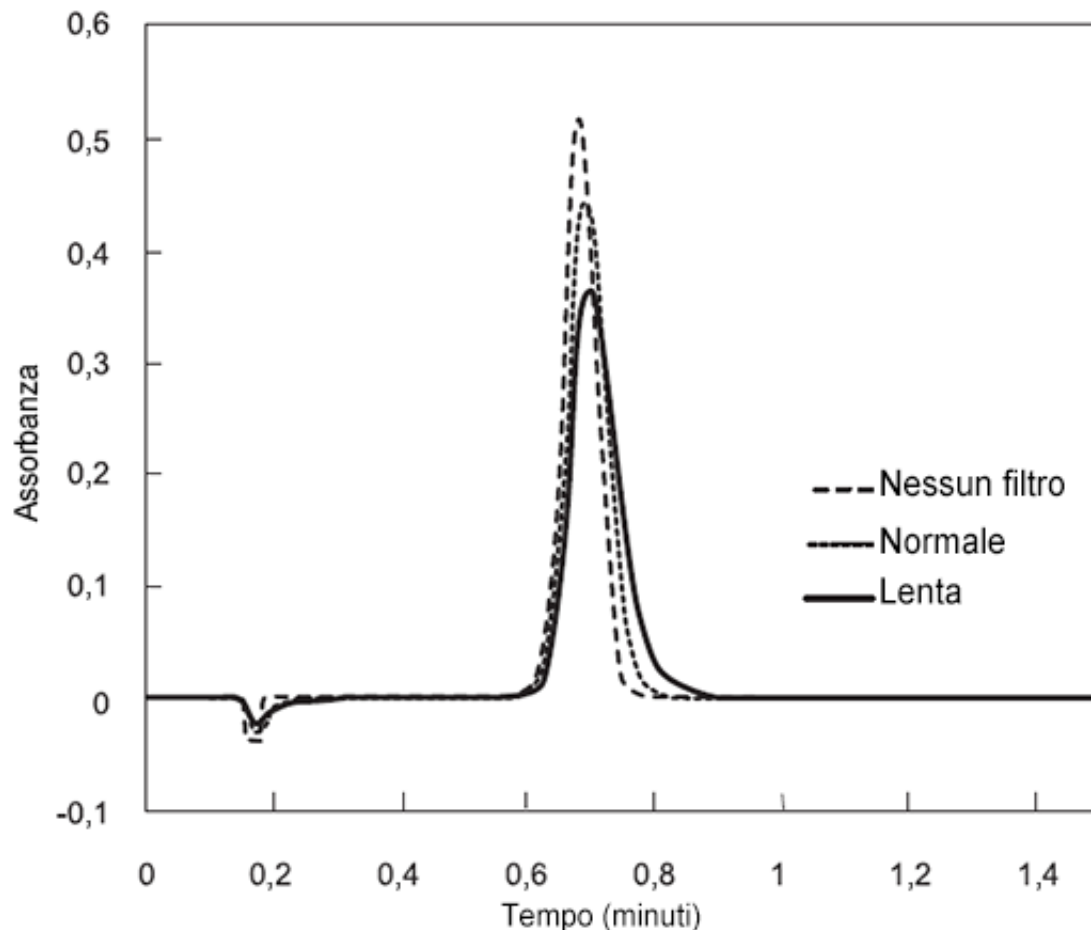
- Netta riduzione del rumore di fondo
- Allargamento e riduzione dell'altezza dei picchi

Suggerimento: la modifica del valore della costante temporale provoca una parziale distorsione della forma del picco e il ritardo dell'uscita del segnale, ma non comporta alcuna variazione dell'area del picco.

A ciascuna velocità di campionamento il software include costanti di filtraggio rapide o normali, adatte rispettivamente ad applicazioni ad alta velocità o ad alta sensibilità.

La seguente figura illustra la relazione che intercorre tra l'aumento della costante temporale del filtro e l'assorbanza:

Figura 3–5: Confronto tra costanti temporali del filtro



3.2.2.2 Verifica e test della lunghezza d'onda del rivelatore PDA

Se il rivelatore funziona in continuo, si raccomanda di eseguire la verifica della lunghezza d'onda con cadenza settimanale.

La calibrazione del rivelatore PDA viene verificata utilizzando due picchi spettrali della lampada al deuterio e tre picchi di assorbimento del filtro all'erbio integrato. All'avvio, il rivelatore verifica la calibrazione confrontando la posizione di questi picchi con le lunghezze d'onda previste in base ai dati di calibrazione archiviati nella memoria del rivelatore. Se i risultati della verifica differiscono dalla calibrazione memorizzata di oltre 1,0 nm, il rivelatore visualizza il messaggio `Wavelength Verification Failure` (Impossibile verificare le lunghezze d'onda).

La verifica della lunghezza d'onda in genere richiede un percorso ottico pulito attraverso la cella di flusso per garantire che il segnale venga trasmesso al sensore. Una cella di flusso rimasta inattiva per un po' di tempo potrebbe presentare bolle o contaminanti che possono ostruire il cammino ottico e interferire con la verifica della lunghezza d'onda. Per motivi di sicurezza, il flusso non viene avviato all'avvio dello strumento; se la verifica della lunghezza d'onda all'avvio non riesce, si consiglia di eseguire nuovamente il workflow di verifica con la cella di flusso lavata e con il flusso equilibrato.

Nel caso in cui la verifica successiva abbia esito negativo, è possibile ricalibrare il PDA. Tenere presente che la ricalibrazione può invalidare la corrispondenza della libreria spettrale e le analisi di purezza del picco eseguite con una calibrazione precedente.

3.2.2.3 Operazioni eseguite con la cuvetta

La cuvetta opzionale del rivelatore consente di misurare lo spettro di assorbimento di un campione contenuto in una cuvetta.

Nota: Questa sezione riguarda esclusivamente l'uso della cuvetta opzionale.

Per generare e archiviare uno spettro:

1. Acquisire una scansione del bianco, che misura l'assorbimento del contenuto della cuvetta nell'intervallo di lunghezze d'onda desiderato.
2. Acquisire una scansione del campione (assorbimento), che misura l'assorbimento dell'analita disciolto nella soluzione.

Risultato: Il rivelatore sottrae la scansione del bianco dalla scansione del campione per creare uno spettro del campione.

3.2.2.4 Gestione dell'oscillazione termica e controllo termico attivo del rivelatore PDA

Queste funzionalità integrate del rivelatore riducono i rischi alle prestazioni dovuti a variazioni della temperatura ambiente.

Gestione dell'oscillazione termica (migliorata): per separare le prestazioni della linea di base dalle variazioni della temperatura ambiente, il rivelatore utilizza isolamento, ventole, riscaldatore, deflettore, zone termiche isolate e controllo termico attivo.

Controllo termico attivo (nuovo): per garantire la stabilità della linea di base di base in presenza di variazioni della temperatura ambiente, il rivelatore controlla attivamente la temperatura del sistema ottico e della lampada.

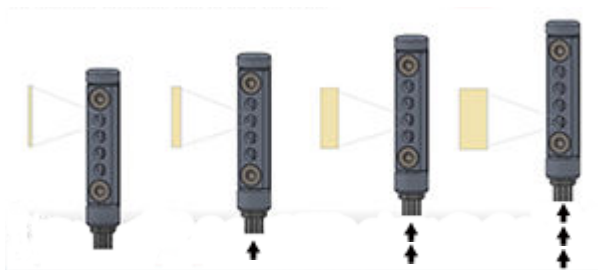
3.2.2.5 Larghezza della fenditura variabile

La larghezza della fenditura variabile consente all'utente di bilanciare risoluzione e produttività per ottimizzare le proprie analisi.

Questo rivelatore PDA Alliance iS è dotato di una fenditura variabile controllata da attuatore. Le dimensioni della larghezza della fenditura sono:

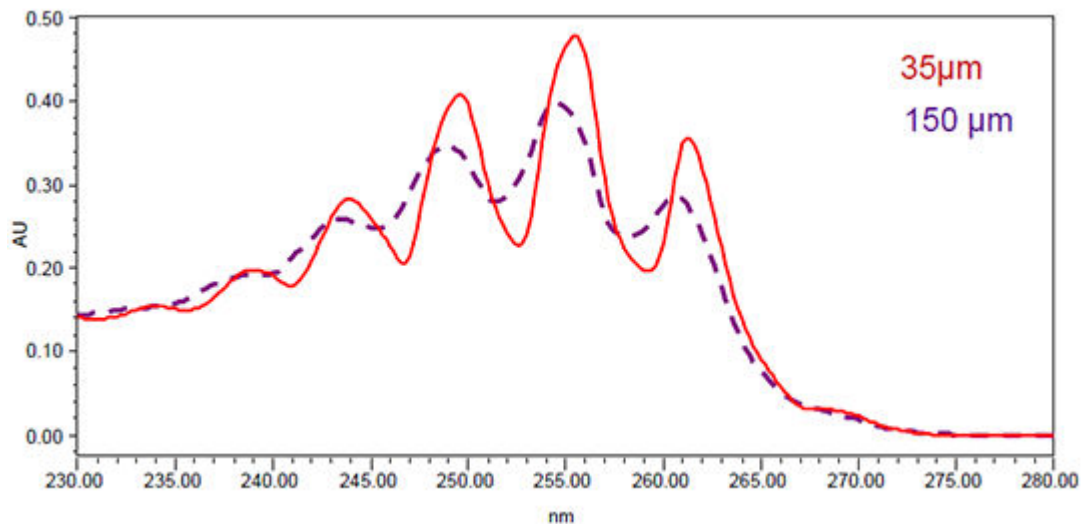
- 35 μm
- 50 μm (predefinita)
- 100 μm
- 150 μm

Figura 3–6: Fenditure variabili per PDA Alliance iS



Una fenditura piccola fornisce la risoluzione più nitida del picco spettrale mentre una fenditura grande fornisce il segnale migliore rispetto al rumore per una maggiore sensibilità.

Figura 3–7: Impatto dell'ampiezza della fenditura sulla risoluzione del benzene



Le fenditure sono progettate per fornire livelli di energia proporzionali alle rispettive aree.

3.2.2.6 Verifica della calibrazione del rivelatore PDA

Verificare la calibrazione del rivelatore dopo aver rimosso e sostituito una cella di flusso o se la verifica ha esito negativo all'avvio del sistema.

Per verificare la calibrazione del rivelatore PDA, eseguire il priming del sistema e avviare il flusso per dieci minuti per lavare la cella di flusso con il solvente e assicurarsi che sia completamente bagnata. Si consiglia di utilizzare una miscela acqua/acetonitrile 90:10 a 0,5 mL/min. Riscaldare la lampada al deuterio per almeno cinque minuti e assicurarsi che sia nello stato ON (Accesa) prima della verifica.

Se di recente sono stati utilizzati tamponi nella cella di flusso, si consiglia di lavare prima con 10 mL di acqua di grado HPLC, seguiti da 10 mL di un solvente a bassa tensione superficiale come il metanolo (purché sia miscibile con la fase mobile precedente).

Per verificare la calibrazione del rivelatore:

1. Sul touchscreen, toccare **Maintain > Verify Calibration** (Manutenzione > Verifica calibrazione). Seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo per completare il processo di verifica. Al termine della verifica, viene visualizzata la schermata *Verify Calibration Passed* (Verifica calibrazione superata).
2. Toccare **RE-VERIFY** (Verifica di nuovo) per eseguire nuovamente il processo di verifica oppure fare clic su **DONE** (Fine).

3.2.2.7 Calibrazione del rivelatore PDA

Calibrare il rivelatore se la verifica della lunghezza d'onda non riesce con una cella di flusso lavata correttamente.

Per eseguire la calibrazione del rivelatore, procedere al priming del sistema e far andare il flusso per 10 minuti per lavare la cella di flusso con il solvente e assicurarsi che sia completamente bagnata. Si consiglia di utilizzare una miscela acqua/acetonitrile 90:10 a 0,5 mL/min. La lampada deve essere riscaldata per almeno 5 minuti e nello stato "ON" (Accesa) prima della calibrazione.

Se di recente sono stati utilizzati tamponi nella cella di flusso, si consiglia di lavare prima con 10 mL di acqua di grado HPLC, seguiti da 10 mL di un solvente a bassa tensione superficiale come il metanolo (purché sia miscibile con la fase mobile precedente).

3.2.2.7.1 Calibrazione dell'erbio

La calibrazione dell'erbio utilizza il filtro all'erbio integrato nell'unità per ricalibrare lo strumento. La calibrazione dell'erbio viene in genere eseguita dopo la sostituzione di un componente ottico.

È possibile eseguire una calibrazione dell'erbio per il rivelatore PDA dal touchscreen del sistema.

Importante:

- Una precedente calibrazione al mercurio è un prerequisito per eseguire la calibrazione dell'erbio.
- Le impurezze presenti nella cella di flusso possono incidere sulla calibrazione delle lunghezze d'onda. Prima di eseguire la calibrazione, accertarsi che la cella di flusso sia pulita.
- Questa procedura può incidere negativamente sul confronto con la libreria spettrale e sulle analisi della purezza dei picchi.
 1. Sul touchscreen, toccare **HEALTH > Troubleshoot** (Integrità > Risoluzione dei problemi).
 2. Toccare l'icona del rivelatore.
 3. Toccare **Erbium Calibration** (Calibrazione dell'erbio), seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo, quindi toccare **START** (Avvia) per avviare il processo di calibrazione. La schermata visualizza i valori di calibrazione.
 4. Toccare **DONE** (Fine).

3.2.2.7.2 Calibrazione al mercurio

La calibrazione al mercurio utilizza una lampada di calibrazione spettrale al mercurio-argon per calibrare o ricalibrare lo strumento. La calibrazione al mercurio viene in genere eseguita in fabbrica, ma può essere eseguita da tecnici del servizio di assistenza Waters qualificati, se necessario. Tenere presente che la ricalibrazione al mercurio deve essere eseguita solo se la calibrazione dell'erbio non riesce o se i parametri di calibrazione al mercurio precedenti sono stati cancellati o danneggiati.

Un tecnico del servizio di assistenza Waters può eseguire una calibrazione al mercurio per il rivelatore PDA dal touchscreen del sistema.

Importante:

- La calibrazione al mercurio deve essere eseguita esclusivamente da un tecnico del servizio di assistenza Waters.
- Le impurezze presenti nella cella di flusso possono incidere sulla calibrazione delle lunghezze d'onda. Prima di eseguire la calibrazione, accertarsi che la cella di flusso sia pulita.
- Questa procedura può incidere negativamente sul confronto con la libreria spettrale e sui calcoli della purezza dei picchi.

3.2.2.8 Test del rivelatore PDA per rilevare rumore di fondo e deriva

Una cella di flusso sporca o con presenza di bolle può causare rumore e deriva eccessivi.

È possibile eseguire un test del rumore di fondo e della deriva sul rivelatore PDA dal touchscreen del sistema.

1. Sul touchscreen, toccare **HEALTH > Troubleshoot** (Integrità > Risoluzione dei problemi).
2. Toccare l'icona del rivelatore.
3. Toccare **Noise and Drift Test**(Test del rumore e della deriva), seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo, quindi toccare **START** (Avvia).

Nella schermata viene visualizzato Noise and Drift Test Completed (Test di rumore e deriva completato) e vengono visualizzati i risultati del test.

4. Toccare **DONE** (Fine).

3.2.2.9 Acquisizione 2D e 3D

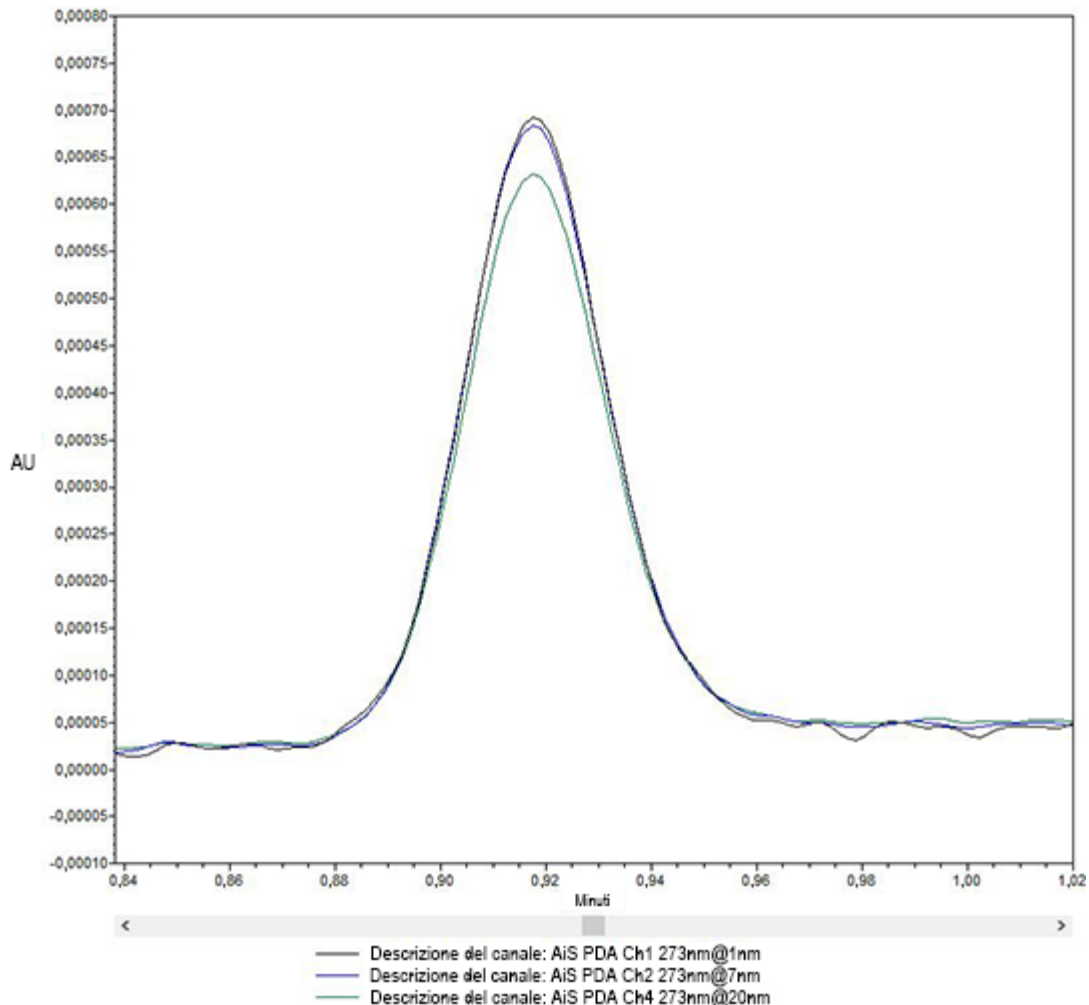
Il rivelatore PDA di Alliance iS System è in grado di eseguire acquisizioni sia 2D che 3D.

Il rivelatore PDA è in grado di acquisire simultaneamente due tipi di canali di dati: spettri (3D) e cromatogrammi (2D). Per ottenere risultati ottimali di confronto con la libreria spettrale e analisi della purezza dei picchi, impostare la risoluzione 3D su 1 nm.

Per i cromatogrammi (dati 2D) selezionare un valore di risoluzione che consenta di ottimizzare l'ampiezza del segnale, il rumore di fondo e l'intervallo dinamico lineare. Se la lunghezza d'onda di monitoraggio di un analita corrisponde alla lambda massima di un picco, l'aumento dell'ampiezza di banda tende a ridurre simultaneamente l'altezza del picco, il rumore di fondo e l'intervallo dinamico lineare.

Suggerimento: Un valore di risoluzione pari a 4 nm è adeguato per numerosi analiti.

Figura 3–8: Confronto della risoluzione per la caffeina



3.2.3 Caratteristiche del sistema di gestione campioni

Il sistema di gestione campioni utilizza un meccanismo di iniezione diretta per iniettare i campioni prelevati dai vial e dalle piastre in una colonna cromatografica.

Il sistema di gestione campioni Alliance iS mantiene la temperatura dei campioni, aspira campioni precisi e quindi li inietta nella fase mobile utilizzando un ago a flusso passante (FTN). L'ago viene utilizzato come elemento del circuito idraulico quando il campione viene iniettato nella colonna. La fase mobile pulisce l'ago durante l'analisi, garantendo il recupero completo del campione e riducendo al minimo il carryover. Inoltre, il meccanismo di posizionamento del campione controlla la posizione delle piastre per campioni rispetto all'ago per campioni, riducendo il volume aggiuntivo del sistema.

La configurazione standard supporta volumi di iniezione dei campioni compresi tra 0,1 e 100 µL. I loop di prolungamento opzionali consentono di estendere il volume di iniezione fino a 2000 µL. La temperatura del campione è regolata in un intervallo compreso tra 4 °C (39,2 °F) e 40 °C (104 °F).

Nota: Un loop di prolungamento da 100 µL è incluso nella configurazione standard.

Il sistema di gestione campioni offre:

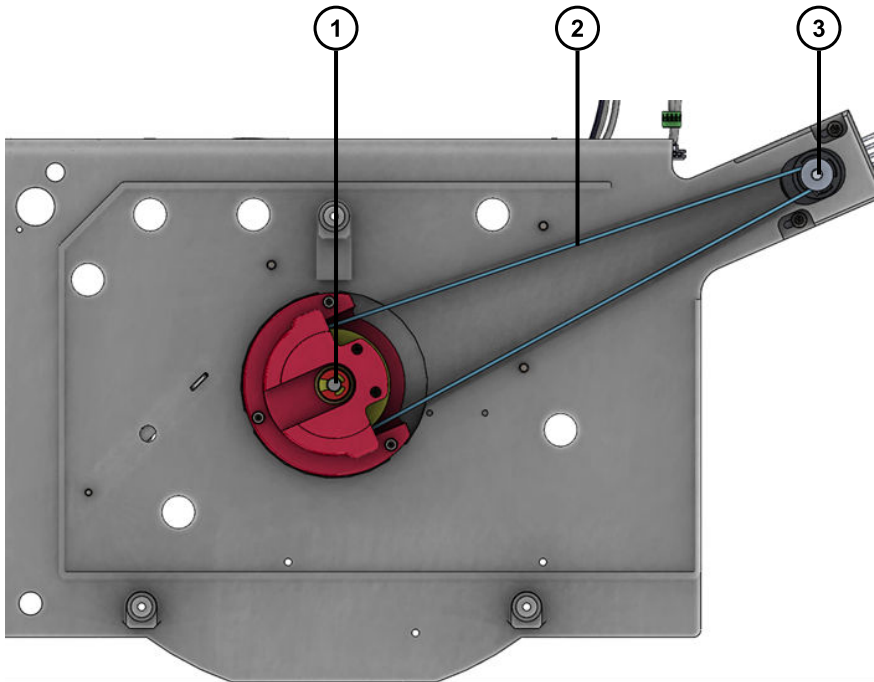
- Capacità di tre piastre per campioni
- Misurazione precisa del campione
- Controllo accurato della temperatura del campione
- Prestazioni eccezionali di riduzione del carryover (al massimo 0,002%)
- Consumo di solvente costante
- Robustezza all'iniezione

3.2.3.1 Meccanismo di posizionamento dell'ago

Un meccanismo di posizionamento dell'ago a doppio asse preleva i campioni dai vial nelle piastre per campioni che verranno iniettati dal sistema di gestione campioni in una colonna cromatografica.

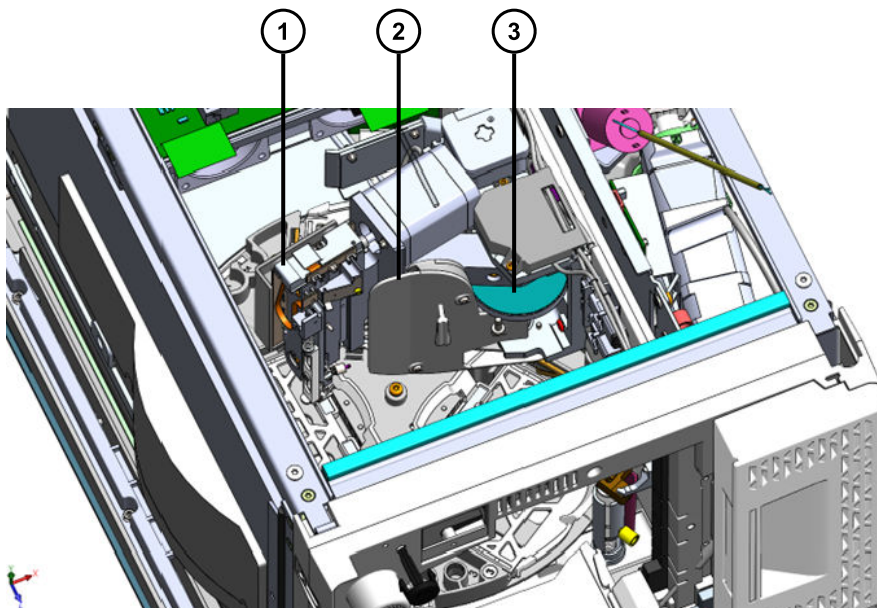
Per allineare l'ago con i vial nei pozzetti delle piastre per campioni all'interno del vano campioni, i due assi rotatori del meccanismo di posizionamento dell'ago controllano l'orientamento delle piastre per campioni e la posizione relativa del trasportatore dell'ago per campioni. I due assi rotatori mettono in rotazione un albero utilizzando una cinghia e un motore. Il trasportatore dell'ago ruota di circa 90° dalla porta di iniezione mentre le piastre per campioni si trovano su un asse rotatorio continuo di 360°.

Figura 3–9: Assi rotatori doppi del meccanismo di posizionamento dell'ago, situati sotto il vano campioni



- ① Asse rotatorio del piatto
- ② Cinghia
- ③ Asse del motore

Figura 3–10: Asse rotatorio del trasportatore dell'ago, situato all'interno del vano campioni



- ① Trasportatore dell'ago
- ② Cartuccia dell'ago
- ③ Asse rotatorio del trasportatore dell'ago

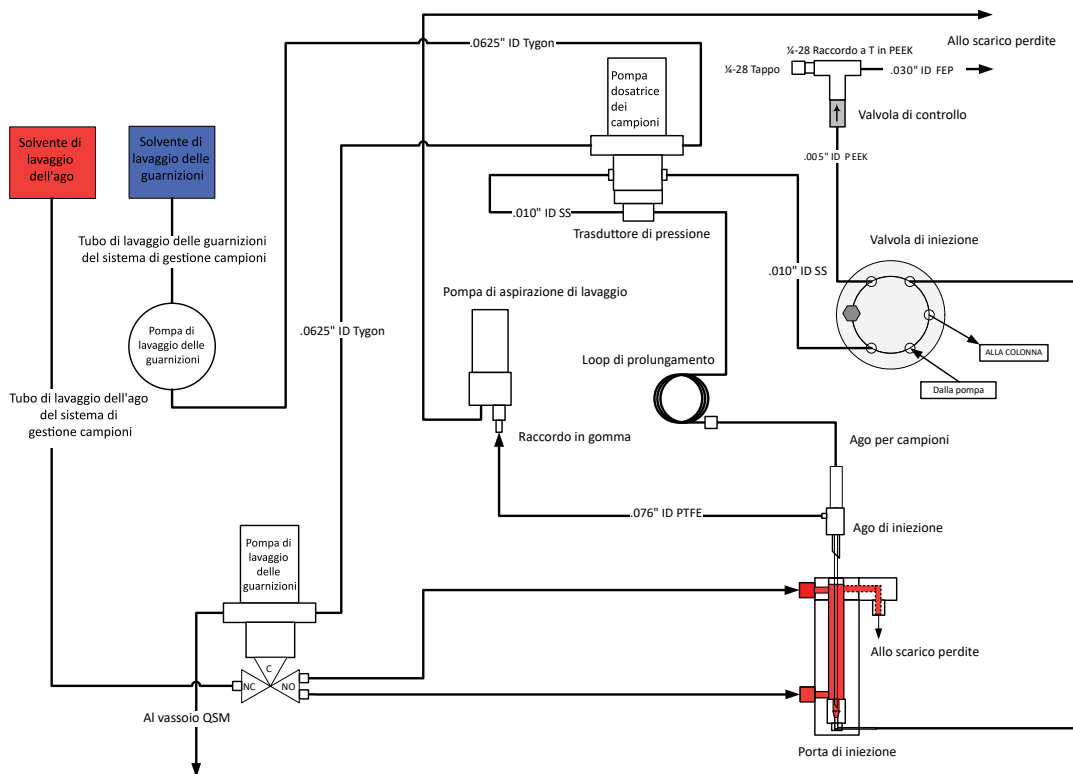
3.2.3.2 Sistema di iniezione

Il circuito idraulico d'iniezione comprende i gruppi necessari per prelevare il campione ed erogarlo alla colonna.

Il processo di iniezione coinvolge l'ago, il loop di prolungamento opzionale, la pompa dosatrice dei campioni, la valvola di iniezione e la porta di iniezione/lavaggio.

Nota: Per una configurazione del sistema ad aspirazione multipla è disponibile una valvola multi-prelievo opzionale.

Figura 3–11: Circuito idraulico del sistema di gestione campioni per aspirazione e iniezione a prelievo singolo



3.2.3.3 Meccanica dell'iniezione

L'ago per campioni esegue una sequenza specifica per ciascuna iniezione.

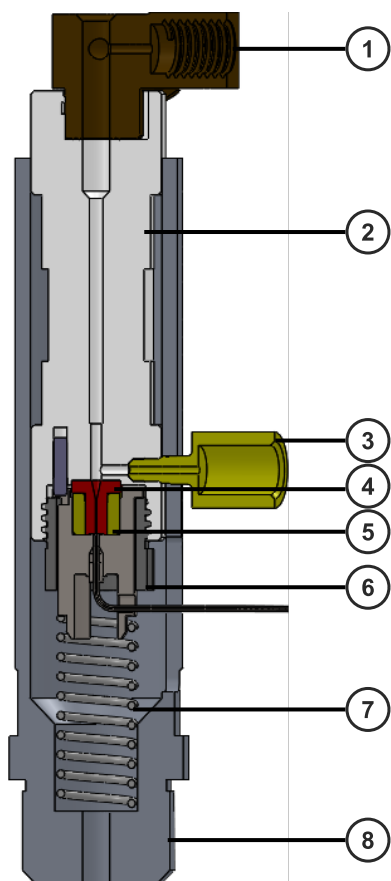
Durante un'iniezione si verifica la seguente sequenza:

1. L'ago si sposta nel vial del campione e aspira il campione.
2. Il trasportatore dell'ago inserisce l'ago nella porta di iniezione/lavaggio.

Nota: L'intero gruppo della porta di iniezione poggia su una molla e si sposta all'interno di un alloggiamento in metallo.

3. Quando l'ago viene inserito nella porta di iniezione/lavaggio, esercita pressione sulla sede e forma una guarnizione ad alta pressione.
4. La valvola di iniezione si attiva per avviare l'iniezione.
5. La pompa di lavaggio esegue il lavaggio dell'esterno dell'ago durante l'iniezione.

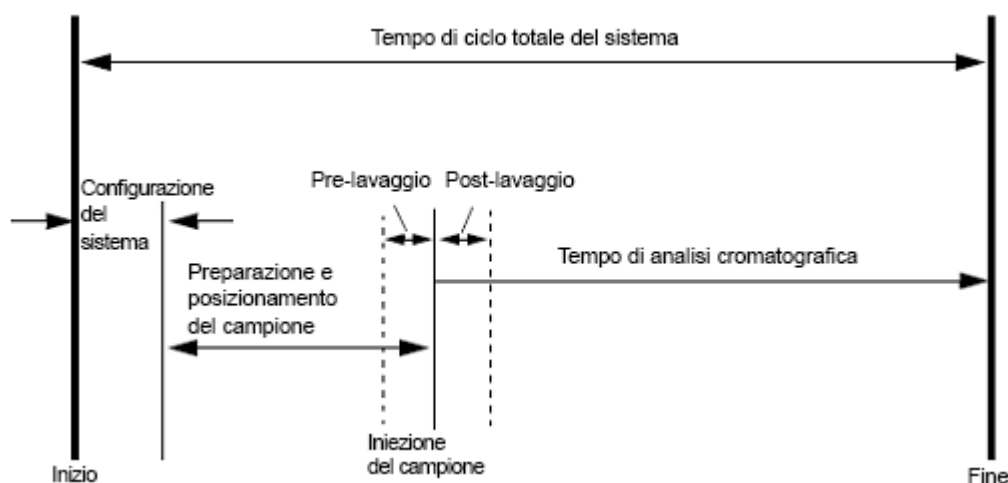
Figura 3-12: Gruppo della sede dell'ago, vista trasversale



- ① Collettore di lavaggio ad angolo
- ② Manicotto di supporto dell'ago per campioni
- ③ Raccordo
- ④ Sede
- ⑤ Gruppo della porta della sede
- ⑥ Dado di bloccaggio della coppa della guarnizione
- ⑦ Molla di compressione
- ⑧ Alloggiamento di lavaggio dell'ago

Nella figura che segue è mostrato il tempo di ciclo standard della modalità di iniezione.

Figura 3–13: Definizione del tempo di ciclo standard della modalità di iniezione



3.2.3.3.1 Sistema di lavaggio

La sequenza di lavaggio non consente al solvente di lavaggio di penetrare nel flusso del campione.

Il sistema di lavaggio pulisce l'esterno dell'ago per campioni mentre questo si trova all'interno della porta d'iniezione/lavaggio.

3.2.3.3.2 Modalità di priming

Il sistema di gestione campioni dispone di tre modalità di priming.

- Needle Wash Solvent (Solvente di lavaggio dell'ago): il solvente di lavaggio scorre attraverso la pompa di lavaggio dell'ago
- Sample Metering Pump (Pompa dosatrice dei campioni): utilizza il sistema di gestione degli eluenti per eseguire il priming della pompa dosatrice dei campioni (questa si trova a valle delle pompe del sistema di gestione degli eluenti)
- Seal Wash Solvent (Solvente di lavaggio delle guarnizioni): il priming si verifica nell'area del sistema di gestione campioni del modulo IFM anziché nell'area della pompa

3.2.3.3.3 Sistema termico

Il sistema termico mantiene la temperatura specificata per il vano campioni (intervallo di temperatura impostabile da 4 a 40 °C con incrementi di 0,1 °C).

Suggerimenti:

- Le ventole del sistema di gestione campioni cessano di far circolare l'aria tutte le volte che viene aperto lo sportello del vano campioni.
- Quando il dispositivo controlla la temperatura, il vassoio porta-campioni ruota lentamente per consentire di mantenere le piastre a una temperatura uniforme.

3.2.4 Caratteristiche della pompa

Il sistema utilizza una pompa per la miscelazione a bassa pressione.

Il sistema quaternario di gestione degli eluenti (QSM) Alliance iS è in grado di miscelare fino a quattro solventi degassificati (A, B, C e D). Una valvola dosatrice del gradiente (GPV) viene utilizzata per miscelare dinamicamente i solventi in qualsiasi combinazione specificata, producendo segmenti di gradiente ripetibili e riproducibili indipendentemente dalla comprimibilità del solvente e dalla contro-pressione del sistema. Le camere del degassatore integrate (una per linea del solvente) rimuovono automaticamente i gas disciolti da un massimo di quattro solventi di eluizione.

La pompa offre:

- Compensazione automatizzata e continua della comprimibilità per un'erogazione accurata e precisa a pressioni fino a 12 000 psi
- Capacità dei sensori di perdita di identificare e gestire le perdite di solvente durante il funzionamento non presidiato
- Velocità di flusso programmabili comprese tra 0,001 e 10 000 mL/min, con incrementi pari a 0,001 mL/min

3.2.4.1 Intervallo pressione/flusso

Il modulo pompe è costituito da una pompa singola e da una valvola dosatrice.

La pompa fornisce un flusso di solvente a velocità di flusso analitiche fino a 5 mL/min a 12 000 psi e variazione lineare fino a 4000 psi a 10 mL/min.

3.2.5 Caratteristiche del forno/refrigeratore colonna (CHC)

Questo modulo gestisce e mantiene la temperatura della colonna del sistema.

Il forno/refrigeratore colonna (CHC) Alliance iS è un vano del sistema che controlla l'ambiente termico della colonna utilizzando un riscaldatore/raffreddatore combinato conduttivo. Quando si imposta la temperatura del vano, direttamente dalla console o all'interno di un metodo, al CHC viene inviato un comando per accendere o spegnere il motore di riscaldamento/raffreddamento del vano. Il CHC continua a scaldare o raffreddare finché il vano non raggiunge il valore nominale della temperatura specificato.

Il modulo CHC offre:

- Preriscaldamento passivo integrato
- Intervallo di impostazione della temperatura da 4 °C (39,2 °F) a 90 °C (194 °F)
- Tecnologia Column eConnect
- Fermi per colonna per una facile rimozione e sostituzione della colonna
- Raccordi senza attrezzi (TFF)

Specifiche delle colonne supportate:

- Lunghezza: 300 mm (massimo)
- Diametro interno: 8,0 mm (massimo)
- Pre-colonna o filtro in linea: 30 mm (massimo)

3.2.5.1 Funzionamento del forno/refrigeratore colonna (CHC)

Questo modulo è un riscaldatore/raffreddatore combinato conduttivo.

Quando si imposta la temperatura del vano colonna, direttamente dalla console o all'interno di un metodo, al CHC viene inviato un comando per accendere o spegnere il motore di riscaldamento/raffreddamento del vano. A seconda del feedback inviato dal termistore del vano, il dispositivo termoelettrico continua a riscaldare, o raffreddare, il vano finché quest'ultimo non raggiunge la temperatura impostata specificata.

Consiglio: se la temperatura di campioni e colonne è importante per un'applicazione, oltre a specificare temperature impostate esplicite nel metodo, indicare limiti di temperatura appropriati. Combinate insieme, queste impostazioni fanno sì che il sistema funzioni soltanto entro i limiti definiti e che ogni eventuale deviazione inaccettabile rispetto ai valori impostati sia contrassegnata da un messaggio di errore che conferma la varianza.

3.2.5.2 Configurazione delle colonne

Sebbene non siano incluse nel sistema, le colonne possono essere acquistate sul sito web Waters.

Il vano colonna CHC può contenere una singola colonna LC, con dimensioni massime pari a 8,0 mm ID e 300 mm di lunghezza, e un singolo materiale di consumo di pre-colonna, con dimensioni massime pari a 8,0 mm ID e 30 mm di lunghezza.

3.2.5.3 Tecnologia eConnect

Le funzionalità delle colonne intelligenti eConnect garantiscono la completa tracciabilità delle colonne e facilitano la risoluzione dei problemi post-analisi.

La nuova tecnologia Waters eConnect è una funzionalità standard del modulo CHC che può essere utilizzata acquistando versioni abilitate per eConnect delle colonne cromatografiche Waters (Colonne HPLC eConnect). Pronte per l'uso, le colonne eConnect vengono fabbricate dotandole di un tag del dispositivo eConnect abilitato per la comunicazione di prossimità (NFC), in modo che vengano sempre identificate, verificate e tracciate automaticamente dal sistema.

Dopo aver installato una colonna con tag eConnect nel modulo CHC e aver chiuso lo sportello del componente, il tag viene rilevato automaticamente. Quindi, la tecnologia eConnect del tag interagisce con una versione compatibile del software Empower che permette di leggere gli identificatori di dispositivo univoci della colonna, visualizzare queste informazioni sul touchscreen del sistema e registrare tali dati per ciascuna iniezione.

3.2.6 Caratteristiche del touchscreen

Il touchscreen di Alliance iS HPLC System consente all'utilizzatore di eseguire molte attività e di risparmiare tempo riducendo al minimo gli spostamenti tra il chiosco e la workstation Empower. Il pannello di navigazione sul lato sinistro del touchscreen fornisce i pulsanti per accedere alle viste ed eseguire attività specifiche. Nella tabella seguente sono elencate le vite.

Tabella 3–4: Viste/pulsanti del touchscreen

Vista	Descrizione
Home (Pagina iniziale) (Pagina 55)	Visualizza le informazioni sullo stato in tempo reale.
Setup (Configurazione) (Pagina 55)	Prepara il sistema all'avvio o allo spegnimento. Gestisce i solventi.
Plots (Grafici) (Pagina 56)	Visualizza i grafici disponibili.
Maintain (Manutenzione) (Pagina 57)	Fornisce le procedure di sostituzione e calibrazione dei componenti.
Health (Integrità) (Pagina 57)	Fornisce le procedure per la ricerca dei guasti, la risoluzione e la segnalazione dei problemi.
System (Sistema) (Pagina 58)	Fornisce le azioni per la configurazione del sistema, la creazione o l'esame dei registri, l'esecuzione di attività di amministrazione, la visualizzazione dei contatori delle prestazioni, la configurazione dei sensori di perdita e la visualizzazione della schermata About (Informazioni).
Commands (Comandi) (Pagina 57)	Fornisce azioni con effetto immediato, quali l'accensione/spegnimento della lampada e la reimpostazione del sistema.

Nella tabella seguente sono descritti i controlli nella parte superiore della finestra del touchscreen.

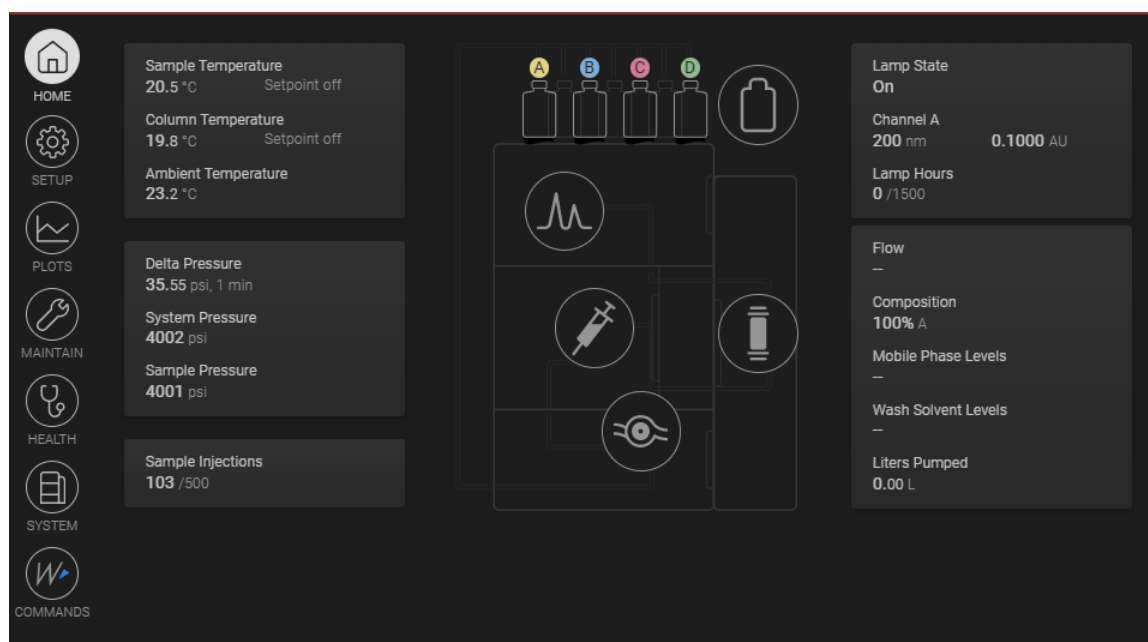
Tabella 3–5: Controlli aggiuntivi del touchscreen

Controllo	Descrizione
System status (Stato del sistema)	IDLE (Inattivo), RUNNING (In esecuzione) o ERROR (Errore)
Preferences (Preferenze)	Consente di accedere alle seguenti impostazioni: Display and Themes (Visualizzazione e temi), Instrument Name (Nome dello strumento), Lock Screen (Schermata di blocco) e User Note (Nota dell'utilizzatore).

3.2.6.1 Vista iniziale del touchscreen

Nella vista Home (Pagina iniziale) è visualizzato lo stato del sistema in tempo reale. Nella figura seguente è mostrata la vista iniziale.

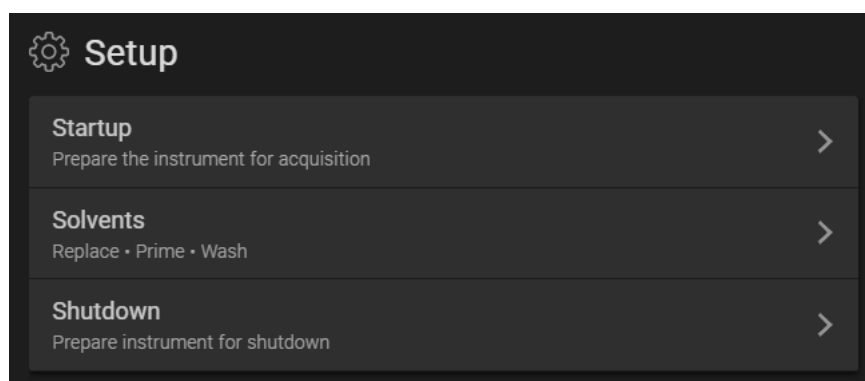
Figura 3–14: Vista iniziale



3.2.6.2 Vista Setup (Configurazione) del touchscreen

La vista Setup (Configurazione) fornisce le azioni utilizzate per preparare il sistema per l'acquisizione dei dati. Nella figura seguente è mostrata la vista Setup (Configurazione).

Figura 3–15: Vista di Setup (Configurazione) (principale)



Fare riferimento a:

- [Priming di un sistema di gestione degli eluenti asciutto tramite il touchscreen \(Pagina 69\)](#)
- [Equilibratura di Alliance iS HPLC System \(Pagina 87\)](#)
- [Preparazione per lo spegnimento di Alliance iS HPLC System \(Pagina 94\)](#)

3.2.6.3 Vista Grafici del touchscreen

Alliance iS HPLC System genera continuamente grafici dei dati da visualizzare sul touchscreen. È possibile configurare fino a quattro grafici diagnostici per un massimo di 96 ore. Nella tabella che segue sono descritti i grafici disponibili.

Tabella 3–6: Grafici dei dati prodotti dal sistema

Grafico	Descrizione
Sample manager diagnostics (Diagnostica del sistema di gestione campioni)	Fornisce la temperatura ambiente e del campione in °C e la pressione del campione in psi o nell'unità selezionata dall'utilizzatore.
Column module diagnostics (Diagnostica del modulo colonna)	Visualizza i canali quali Column Temperature (Temperatura della colonna).
Detector diagnostics (Diagnostica del rivelatore)	Visualizza i canali quali l'assorbanza e la lunghezza d'onda (solo TUV).
Pump diagnostics	Visualizza canali quali System Pressure (Pressione del sistema) e Flow and Composition (Flusso e composizione).

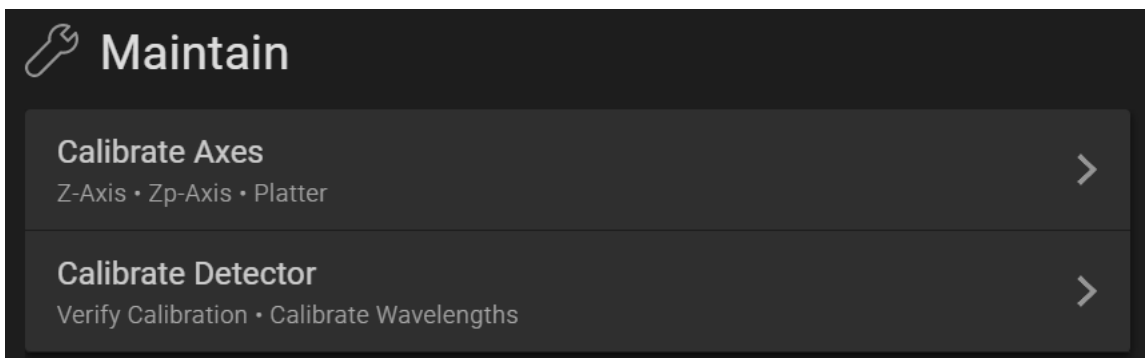
Tabella 3–6: Grafici dei dati prodotti dal sistema (continua)

Grafico	Descrizione
(Diagnostica della pompa)	

3.2.6.4 Vista Maintain (Manutenzione) del touchscreen

La visualizzazione Maintain (Manutenzione) fornisce i workflow utilizzati per sostituire i componenti e calibrare il sistema. Nella figura seguente è mostrata la vista Maintain (Manutenzione).

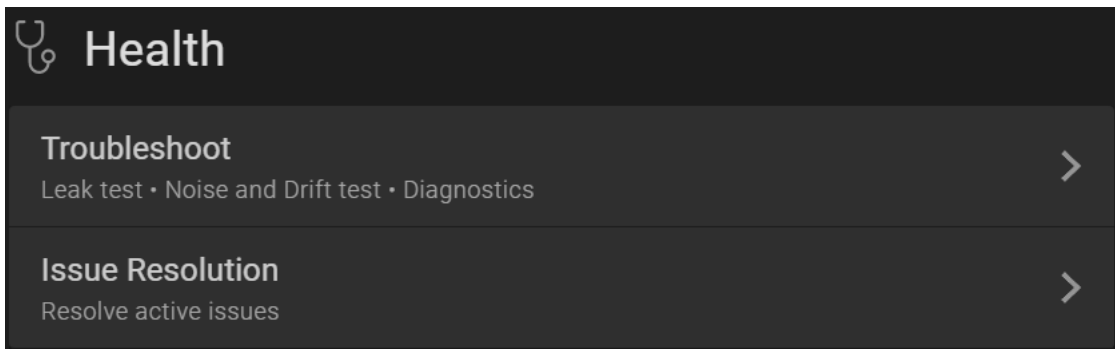
Figura 3–16: Vista Maintain (Manutenzione) (principale)



3.2.6.5 Vista Health (Integrità) del touchscreen

La vista Health (Integrità) presenta i workflow utilizzati per risolvere i problemi che possono essere presenti nel sistema. Nella figura seguente è mostrata la vista Health (Integrità).

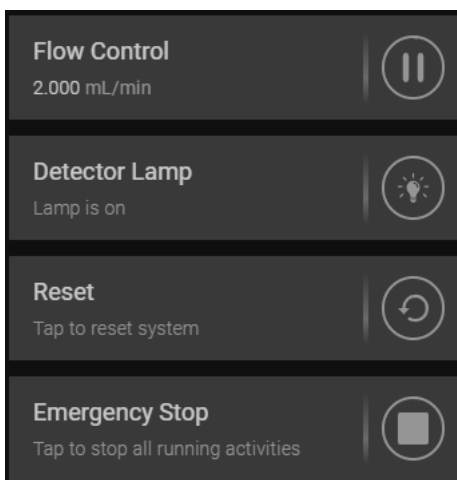
Figura 3–17: Vista Health (Integrità) (principale)



3.2.6.6 Vista Comandi del touchscreen

La vista Commands (Comandi) fornisce azioni con effetti immediati. Nella figura seguente è mostrata la vista Commands (Comandi).

Figura 3–18: Vista Commands (Comandi)



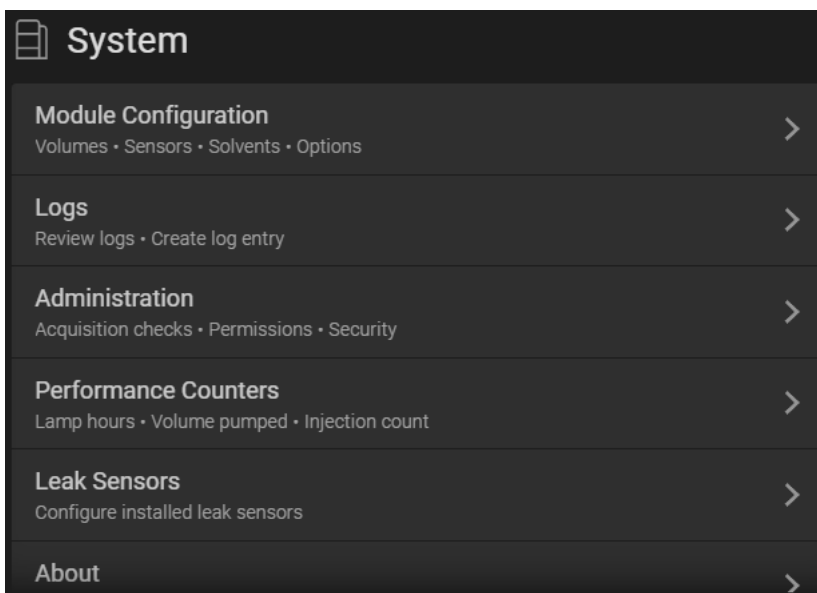
Fare riferimento a:

- [Equilibratura di Alliance iS HPLC System \(Pagina 87\)](#)

3.2.6.7 Vista System (Sistema) del touchscreen

La vista System (Sistema) fornisce varie azioni utilizzate per configurare il sistema e fornisce informazioni a livello di sistema. Nella figura seguente è mostrata la vista System (Sistema).

Figura 3–19: Vista System (Sistema) (principale)



3.2.6.8 Vista Preferences (Preferenze) del touchscreen




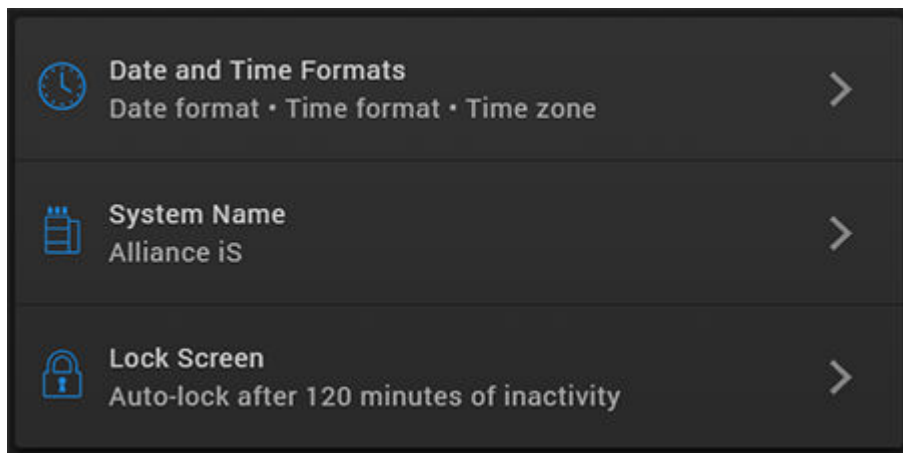
Nella schermata iniziale toccare l'icona delle preferenze  per accedere alla vista Preferences (Preferenze). Nella vista Preferences (Preferenze) sono disponibili impostazioni che incidono sull'interfaccia utente del touchscreen, ma non sul funzionamento del sistema. Nella figura seguente è mostrata la vista Preferences (Preferenze). I pulsanti **LOCK** (Blocco) e **DONE** (Fine) si trovano sotto le preferenze.

Figura 3–20: Vista Preferences (Preferenze)



3.2.6.9 Selezione della lingua del touchscreen

È possibile selezionare la lingua del display del sistema sul touchscreen.

Nota: È possibile selezionare la lingua del display del sistema sul touchscreen.

1. Toccare il pulsante **LANGUAGE** (LINGUA) nell'angolo in basso a sinistra della schermata di blocco del sistema.
2. Toccare per selezionare la lingua appropriata. Dall'alto verso il basso, le opzioni disponibili sono: inglese, cinese semplificato, giapponese e coreano.

3.2.7 Caratteristiche del software Empower

Il CDS del software Empower fornisce funzionalità specifiche di Alliance iS HPLC System. Per ulteriori informazioni, fare riferimento ai seguenti argomenti, [Usò previsto del sistema \(Pagina 11\)](#) e *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)*.

3.2.7.1 Caratteristiche di Alliance iS HPLC System con il software Empower

Il software Empower fornisce le seguenti caratteristiche per il sistema:

- System Audit Trail (Audit trail del sistema) include le azioni eseguite sul sistema.
- Il sistema invia le informazioni sull'utilizzo della colonna al software Empower, che memorizza le informazioni nelle tabelle di cronologia delle colonne.
- Il software Empower invia al sistema informazioni sul campione corrente e sulla system suitability affinché vengano visualizzate sul touchscreen.
- Gli utilizzatori possono richiedere al sistema di effettuare i controlli di validazione dei campioni prima dell'invio e della conduzione. I problemi risultanti vengono visualizzati in Message Center (Centro messaggi).

3.2.7.2 System Console di Alliance iS HPLC System

È possibile accedere alla System Console di Alliance iS HPLC System dal pannello di controllo del software Empower. Per comodità, la console fornisce alcune delle informazioni visualizzate nella [Home view \(Pagina 55\)](#) (Vista iniziale) del touchscreen sulla workstation Empower.

3.2.7.3 Intelligent Method Translator

Intelligent Method Translator App (iMTA) converte i metodi non Alliance iS HPLC System in metodi Alliance iS HPLC System. Il processo di traduzione del metodo mappa i parametri memorizzati nei metodi strumentali del software Empower alle impostazioni dello strumento del sistema. I metodi strumentali tradotti sono visualizzabili in Method Editor dello strumento di Empower.

Per ulteriori informazioni su Intelligent Method Translator App, fare riferimento al documento *Intelligent Method Translator App User's Guide* Intelligent Method Translator App Manuale dell'utente (715008502IT).

4 Preparazione del sistema

Questa sezione fornisce informazioni utili alla preparazione per l'uso del sistema Waters. Una configurazione adeguata è fondamentale per il funzionamento corretto del sistema.

4.1 Accensione del sistema

Il pulsante di accensione si trova sullo sportello anteriore del sistema di gestione campioni.

Dopo aver collegato il sistema, il LED del pulsante di accensione lampeggia.

Per accendere il sistema:

1. Premere il pulsante di accensione situato sullo sportello anteriore del sistema di gestione campioni.
Il LED del pulsante di accensione emette una luce fissa e il sistema si accende. Al termine del processo di accensione, viene visualizzata la schermata Idle (Sistema inattivo).

Figura 4-1: Alliance iSPulsante di accensione di Alliance iS



2. Accedere ad Alliance iS HPLC System Consultare la sezione [Accesso e disconnessione da Alliance iS HPLC System \(Pagina 84\)](#).

4.2 Spegnimento del sistema

Il pulsante di accensione si trova sullo sportello anteriore del sistema di gestione campioni.

Per spegnere il sistema:

Premere il pulsante di accensione situato sullo sportello anteriore del sistema di gestione campioni.

Il sistema si spegnerà.

Figura 4–2: Alliance iSPulsante di accensione di Alliance iS



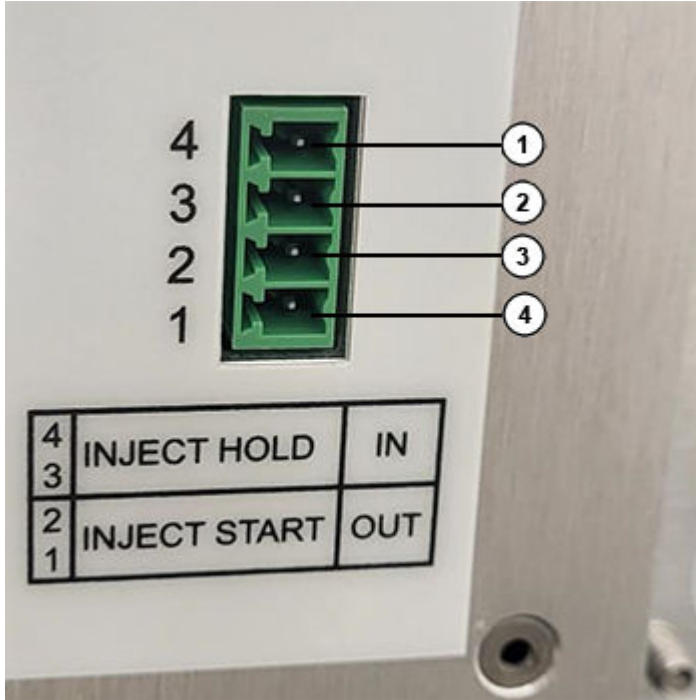
4.3 Connettore dei segnali I/O

Il connettore dei segnali I/O consente di comunicare tra il sistema e i componenti LC esterni.

Nota: Il connettore dei segnali I/O è stato implementato con il Alliance iS HPLC System versione 1.1. Queste informazioni si applicano ai sistemi a partire dalla versione 1.1.

Il pannello posteriore del modulo IFM è dotato di un connettore rimovibile nel quale sono alloggiati i terminali a vite per i segnali I/O. La struttura del connettore consente di alloggiare il cavo del segnale solo nel modo corretto.

Figura 4–3: Connettore dei segnali I/O di Alliance iS



- ① Inject Hold (Sospendi iniezione)
- ② Inject Hold (Sospendi iniezione)
- ③ Inject Start (Avvio iniezione)
- ④ Inject Start (Avvio iniezione)

Tabella 4–1: Collegamenti analogici/eventi di Alliance iS

Collegamenti dei segnali	Descrizione
Inject Hold (Sospendi iniezione)	Riservato per un utilizzo futuro
Inject Start (Avvio iniezione)	Un'uscita che attiva altri componenti LC in modo che si avviino al momento dell'iniezione di Alliance iS HPLC System.

4.4 Installazione della colonna

Installare la colonna nel modulo CHC prima di analizzare i campioni.

I raccordi e i fermi per colonna sono progettati per essere intuitivi durante l'installazione di una colonna nel forno/refrigeratore colonna (CHC) Alliance iS.

Nota: Accendere il sistema prima di installare la colonna per garantire la corretta identificazione FR della colonna quando lo sportello del modulo CHC è chiuso. Fare riferimento alla sezione [Accensione del sistema \(Pagina 61\)](#).

1. Aprire lo sportello del vano colonna.
2. Spostare il fermo colonna inferiore secondo necessità in modo da adattarlo alle dimensioni della colonna.
3. Rimuovere i tappi dalle estremità di ingresso e di uscita della colonna.
4. Orientare la colonna in modo che l'uscita sia rivolta verso l'alto (vedere la freccia sulla colonna) e l'ingresso verso il basso.
5. Avvitare i raccordi senza attrezzi presenti sul tubo del vano colonna all'ingresso e all'uscita della colonna.
6. Inserire la colonna nel fermo superiore e inferiore in modo che il fermo afferri le filettature esposte sul raccordo.

Figura 4–4: Colonna inserita nell'apposito fermo



7. Chiudere lo sportello del vano colonna.

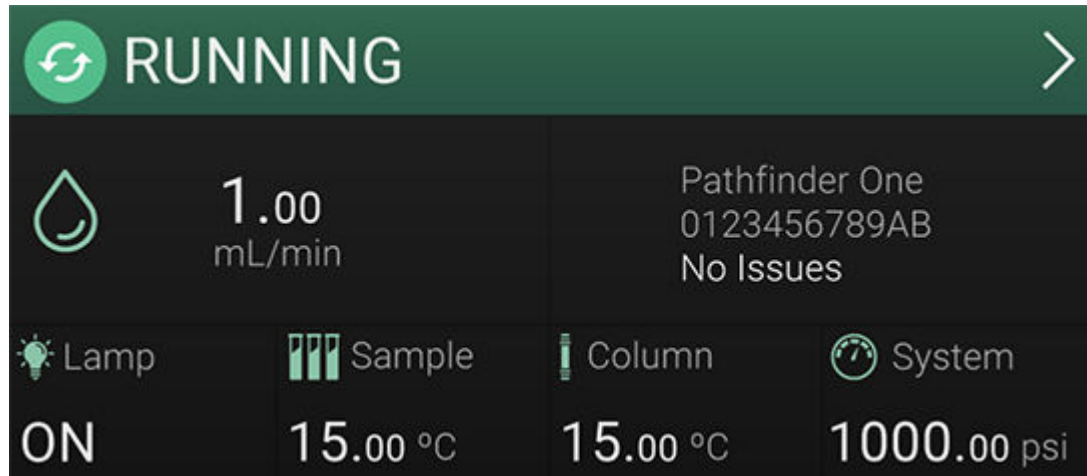
4.5 Apertura della console dal software Empower

Dopo aver acceso il sistema, aprire la console dal software Empower.

È possibile accedere alla console dal pannello di stato del sistema Empower.

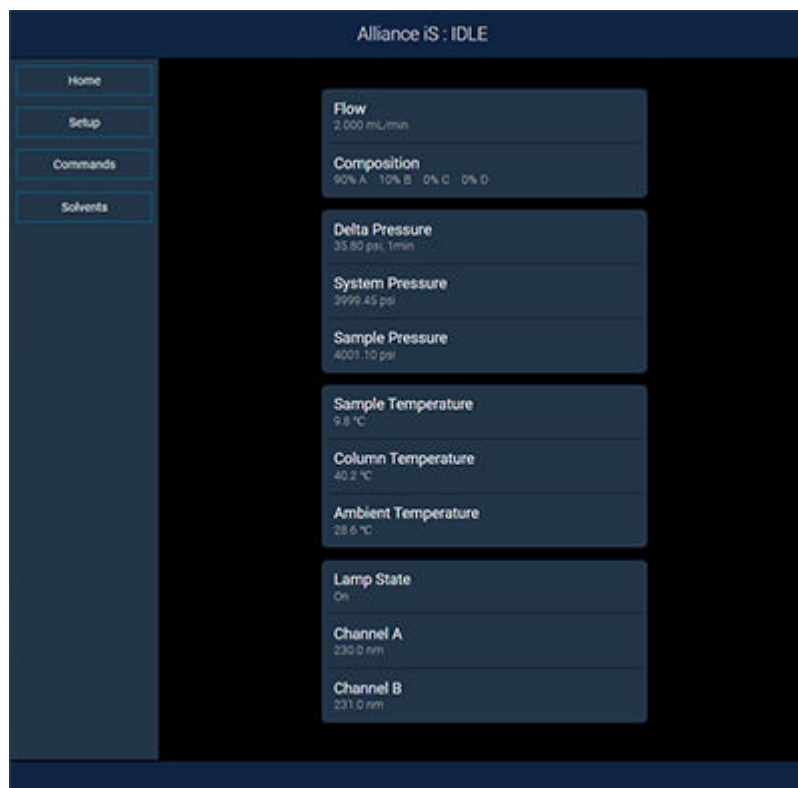
1. Dal menu Run Samples (Analisi dei campioni) del software Empower, fare clic sulla freccia nell'angolo in alto a destra del pannello di controllo del sistema.

Figura 4–5: Avvio di System Console



2. Nella console è possibile accedere alla configurazione e agli stati dettagliati di tutte le parti del sistema.

Figura 4–6: System Console



4.6 Priming del sistema

Dopo aver acceso il sistema, è necessario sottoporlo a priming prima che possa essere pronto per l'uso.

Requisito: È necessario eseguire il priming del sistema dopo averlo avviato, così come dopo aver sostituito la fase mobile, dopo aver sostituito l'ago per campioni e dopo che il sistema rimane inattivo per almeno quattro ore.

Requisito: È necessario installare una colonna prima di eseguire il priming del sistema. Vedere [Installazione della colonna \(Pagina 64\)](#).

Consiglio: Se si introducono solventi nuovi, sottoporli a priming a 4 mL/min per sette minuti. In alternativa, eseguire il priming dei solventi a 4 mL/min per tre minuti. Assicurarsi che le quantità di solvente disponibile per il priming siano sufficienti.

Esistono diversi modi per eseguire il priming del sistema dal touchscreen:

- Toccare **SETUP > Startup** (Configurazione > Avvio) per eseguire il priming di tutti i solventi, della linea di lavaggio dell'ago e della linea di lavaggio delle guarnizioni, così come per

specificare la composizione e la velocità di flusso del solvente, le temperature della colonna e dei campioni e la caratterizzazione dell'ago per il successivo avvio del sistema.

- Toccare **SETUP > Solvents > Prime Mobile Phase Solvents** (Configurazione > Solventi > Priming dei solventi della fase mobile) per eseguire il priming della pompa.
- Toccare **HOME** (Pagina iniziale), toccare l'icona del flacone di solvente e poi la scheda delle condizioni di una fase mobile; quindi toccare **Prime Solvent** (Priming delle linee dei solventi) per eseguire il priming di una singola fase mobile.
- Toccare **SETUP > Solvents > Prime Sample Metering Pump** (Configurazione > Solventi > Priming della pompa dosatrice dei campioni) per eseguire il priming della pompa dosatrice dei campioni.

Suggerimento: Dal touchscreen è possibile selezionare la funzionalità **Setup > Startup** (Configurazione > Avvio) per eseguire il priming di tutti i solventi, della linea di lavaggio dell'ago e della linea di lavaggio delle guarnizioni, specificare la composizione e la velocità di flusso del solvente, le temperature della colonna e dei campioni e la caratterizzazione dell'ago per l'avvio successivo del sistema. Per ottenere informazioni dettagliate, vedere il touchscreen.

4.6.1 Priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni

Il priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni fa parte del workflow di avvio del sistema sul touchscreen.

Effettuare il priming del lavaggio delle guarnizioni di Alliance iS QSM per riempire di solvente i circuiti dei tubi.

Suggerimento: una volta effettuato il priming, il sistema di lavaggio delle guarnizioni viene utilizzato per lubrificare gli stantuffi ed eliminare i residui di solvente e di eventuali precipitati salini passati attraverso le guarnizioni degli stantuffi e provenienti dal lato ad alta pressione delle camere dei pistoni.

Effettuare il priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni in tutte le situazioni descritte di seguito:

- Dopo l'utilizzo di una fase mobile tamponata
- Quando la pompa è rimasta inattiva per alcune ore o per periodi più lunghi
- Quando la pompa è a secco



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Avviso: per evitare di danneggiare le sedi e le guarnizioni delle valvole a solenoide nel circuito del solvente, non utilizzare un tampone non volatile come solvente di lavaggio delle guarnizioni.



Avviso: per non intasare i tubi del sistema, accertarsi che il solvente di lavaggio delle guarnizioni sia compatibile con le condizioni della fase mobile.



Avviso: per evitare di contaminare i componenti del sistema, non riciclare il lavaggio delle guarnizioni.

Suggerimento: Il sistema di lavaggio delle guarnizioni è autoadescente. In condizioni idrauliche normali non è possibile sottoporlo a priming con una siringa.

Consigli:

- Utilizzare un solvente di lavaggio delle guarnizioni completamente miscibile con tutti i solventi cromatografici e contenente almeno 10% di solvente organico. Con questa concentrazione si evita la proliferazione microbica e si assicura che il solvente di lavaggio delle guarnizioni solubilizzi la fase mobile.
- Prima di eseguire il priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni, assicurarsi che il volume di lavaggio delle guarnizioni sia adeguato per il priming.
- Il titanio è soggetto a corrosione nel metanolo anidro, che può essere evitato aggiungendo una piccola quantità di acqua (~3 %). Una leggera corrosione è possibile con ammoniaca >10 %. Se si utilizza Alliance iS Bio HPLC System, è possibile, in alternativa, rimuovere filtri a piombo in titanio (il sistema perde la prima linea di protezione dal particolato) o sostituirli con filtri a piombo in acciaio inossidabile se le considerazioni di biocompatibilità non incidono sull'analisi.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Soluzione di lavaggio delle guarnizioni
- Adattatore per tubi (kit di avvio)

Per eseguire il priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni:

1. Verificare che il tubo d'ingresso del solvente di lavaggio sia immerso nel solvente di lavaggio.

2. Sul touchscreen, toccare **HOME** (Pagina iniziale), toccare l'icona del flacone del solvente e poi la scheda delle condizioni di lavaggio delle guarnizioni; quindi toccare **Prime Solvent** (Priming delle linee dei solventi) per eseguire il priming della linea di lavaggio delle guarnizioni.

Nota: È anche possibile eseguire il priming della linea di lavaggio delle guarnizioni nell'ambito del processo di avvio del sistema.

3. Sul touchscreen, toccare **Setup > Startup** (Configurazione > Avvio).
4. Seguire il resto delle istruzioni visualizzate per completare la procedura di avvio del sistema.

4.6.2 Priming della pompa

Il priming della pompa fa parte del workflow di avvio del sistema sul touchscreen.

Il priming consente di predisporre il nuovo sistema per l'uso o per la sostituzione di recipienti o solventi. Consente inoltre di preparare un sistema per il riavvio dopo che è rimasto inattivo per più di quattro ore. Durante il priming, la valvola di sfiato si sposta nella posizione di sfiato, consentendo al flusso di confluire nello scarico. Durante il priming la velocità di flusso è pari a 10 mL/min.

Consiglio: Assicurarsi che tutti i solventi presenti negli appositi recipienti A, B, C e D siano pieni e miscibili.

! **Avviso:** Per evitare la formazione di precipitati salini nel sistema, introdurre un solvente intermedio, per esempio acqua, quando si passa dai tamponi a solventi ad alto contenuto organico. Consultare le tabelle di miscibilità dei solventi nella sezione Considerazioni sui solventi della guida del sistema.

Verificare che gli appositi recipienti contengano una quantità di solvente sufficiente per la procedura di priming e il successivo funzionamento del sistema, e che il recipiente di scarico sia in grado di contenere tutto il solvente usato. Per esempio, a 10 mL/min, per due minuti di priming occorrono circa 20 mL di ciascun solvente.



Avvertenza: Per evitare fuoriuscite, svuotare con regolarità il contenitore di scarico.

Requisito: Eseguire il priming di tutte le linee del solvente per garantire il funzionamento corretto del degassatore e della valvola dosatrice del gradiente.

4.6.2.1 Priming di una pompa a secco tramite il touchscreen

Il priming della pompa fa parte del workflow di avvio del sistema sul touchscreen.

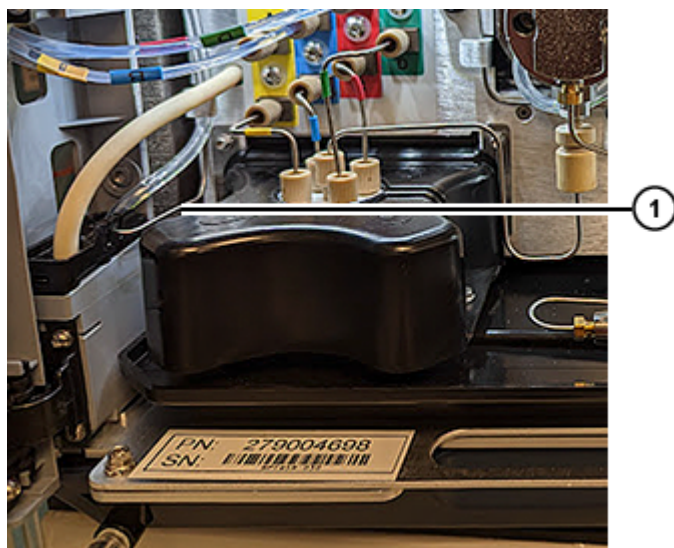
Per effettuare il priming di una pompa a secco tramite il touchscreen:

1. Aprire lo sportello anteriore della pompa.

Nota: Lo sportello della pompa è lo sportello inferiore del sistema.

2. Individuare la linea di scarico dei solventi della valvola di sfiato da 0,062 pollici situata sul lato sinistro dell'alloggiamento della pompa, contenuta nella cornice di sinistra. Per il momento, lasciare la linea di scarico dei solventi della valvola di sfiato da 0,062 pollici immersa nello scarico di processo.

Figura 4–7: Posizione del tubo di sfiato del solvente



① Tubo di sfiato del solvente

3. Sul touchscreen toccare **Setup > Solvents > Prime Mobile Phase Solvents** (Configurazione > Solventi > Priming dei solventi della fase mobile) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo.
4. Dalla schermata Prime Solvent by Solvent Line (Priming dei solventi per linea di solventi), toccare **Prime Solvent A** (Priming delle linee dei solventi A), **Prime Solvent B** (Priming delle linee dei solventi B), **Prime Solvent C** (Priming delle linee dei solventi C) e/o **Prime Solvent D** (Priming delle linee dei solventi D).
5. Seguire il resto delle istruzioni visualizzate per completare la procedura di priming.
6. Durante il priming, sollevare il tubo di scarico della valvola di sfiato da 0,062 pollici dal collettore di scarico del processo, esponendone l'estremità. Dopo cinque minuti si dovrebbe vedere un flusso costante di solvente. Dirigere l'eventuale flusso nella parte superiore del coperchio di scarico del processo (collettore) per evitare fuoriuscite. In assenza di flusso, monitorare le linee di ingresso del solvente A, B, C e D per stabilire se sono piene di solvente.

Suggerimento: quando il solvente fuoriesce continuamente dal tubo di sfiato, il priming del circuito è completo.

Requisito: assicurarsi che nei recipienti del solvente rimanga solvente sufficiente per eseguire i metodi successivi.

4.6.3 Priming del sistema di gestione campioni

Il priming del sistema di gestione campioni fa parte del workflow di avvio del sistema sul touchscreen.

Il priming consente di riempire il sistema di lavaggio con solvente di lavaggio o il circuito d'iniezione con fase mobile. Con il priming del sistema si intende raggiungere i seguenti scopi:

- Preparazione di un nuovo sistema di gestione campioni per il funzionamento
- Preparazione di un sistema di gestione campioni per il funzionamento dopo che è rimasto inattivo per più di 24 ore
- Cambio del solvente di lavaggio
- Rimozione delle bolle d'aria dalle linee

Assicurarsi che il solvente di lavaggio abbia la composizione corretta, che sia di grado LC-MS e che sia miscibile con altri solventi utilizzati nel sistema. Utilizzare i filtri in tutti i recipienti di solvente e verificare che i volumi dei solventi siano sufficienti per il priming.

Nota: È possibile eseguire il priming del lavaggio delle guarnizioni o del lavaggio dell'ago toccando la rispettiva scheda di condizione sulla dashboard di stato del sistema. È anche possibile eseguire il priming della linea di lavaggio delle guarnizioni, della linea di lavaggio dell'ago e della pompa dosatrice dei campioni nell'ambito del workflow di avvio del sistema. Toccare **Setup > Startup** (Configurazione > Avvio) e seguire il resto delle istruzioni visualizzate per completare la procedura di avvio del sistema.

Per eseguire il priming della pompa dosatrice dei campioni e del solvente di lavaggio:

1. Sul touchscreen, toccare **Setup > Solvents > Prime Sample Metering Pump** (Configurazione > Solventi > Priming della pompa dosatrice dei campioni) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo.
2. Seguire il resto delle istruzioni visualizzate per completare la procedura di avvio del sistema.

4.7 Scelta dei loop di prolungamento

Un loop di prolungamento influisce sul volume di iniezione e sulla pressione del sistema. Assicurarsi di selezionare il loop corretto per l'applicazione in uso.

I loop di prolungamento, che permettono di incrementare il volume di campione che può essere prelevato e trattenuto per l'iniezione, sono componenti opzionali del sistema di iniezione e vanno installati tra l'ago e il trasduttore di pressione.

Tabella 4–2: Sono disponibili i seguenti loop di prolungamento da utilizzare nel sistema di gestione campioni

Dimensioni del loop ^a
50 µL
100 µL - standard

a. Le dimensioni del loop indicate sono le dimensioni massime di iniezione supportate dal loop. Per esempio, il loop da 100 µL supporta dimensioni di iniezione fino a 100 µL.

4.8 Installazione e sostituzione dei loop di prolungamento

Inserire un loop di prolungamento nel sistema di gestione campioni per aggiungere ulteriore volume di iniezione per campioni di dimensioni maggiori. Sostituire un loop di prolungamento secondo necessità per compensare un volume di iniezione totale diverso.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

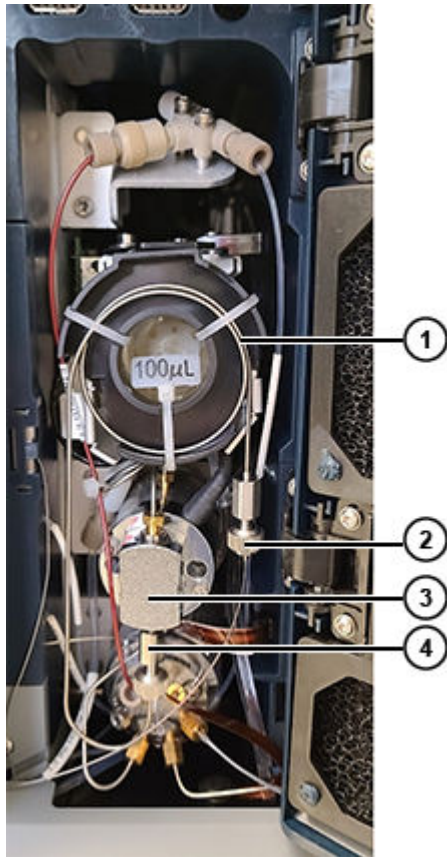
- Kit del loop di prolungamento
- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione

4.8.1 Installazione di un loop di prolungamento in un sistema a valvola singola

In un sistema a valvola singola, il loop di prolungamento è installato tra il trasduttore di pressione e l'ago per campioni.

1. Se il flusso del sistema è in esecuzione, arrestarlo. Sul touchscreen, toccare **COMMANDS** (Comandi); quindi toccare il pulsante di pausa accanto a **Flow is On** (Flusso attivo).
2. Aprire lo sportello del sistema idraulico del sistema di gestione campioni.

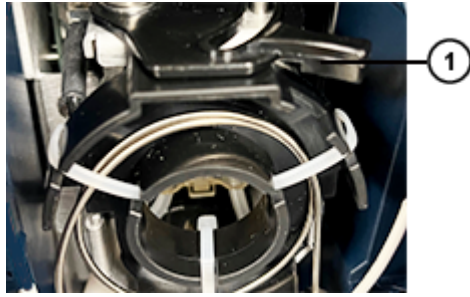
Figura 4–8: Sistema a valvola singola



- ① Loop di prolungamento con supporto
- ② Raccordo senza attrezzi dell'ago per campioni
- ③ Trasduttore di pressione
- ④ Raccordo adattatore TFF

3. Scollegare il raccordo senza attrezzi (TFF) ② collegato al loop di prolungamento e all'ago per campioni. Non è necessario rimuovere il raccordo adattatore TFF ④ dal trasduttore di pressione.

Figura 4–9: Levetta di fissaggio del loop di prolungamento



① Levetta di fissaggio del loop di prolungamento

4. Spingere la levetta di fissaggio del loop di prolungamento ① all'indietro per rilasciare il supporto del loop di prolungamento e rimuoverlo dal sistema di gestione campioni.
5. Installare un loop di prolungamento di dimensioni diverse tra il raccordo dell'adattatore TFF ④ e l'ago per campioni. Non è necessario rimuovere il raccordo adattatore TFF ④ dal trasduttore di pressione.
6. Spingere in avanti la levetta di fissaggio del loop di prolungamento per fissare il supporto del loop di prolungamento nel sistema di gestione campioni.
7. Sul touchscreen, toccare **System > Module configuration** (Sistema > Configurazione del modulo) e seguire le istruzioni visualizzate per specificare la configurazione del volume del loop di prolungamento.
8. Sul touchscreen, toccare **Setup > Startup** (Configurazione > Avvio) e seguire le istruzioni visualizzate per eseguire il priming e preparare il sistema per l'uso.

4.9 Modifica dei parametri di configurazione di ago e loop di prolungamento

L'ago e il loop di prolungamento devono essere configurati correttamente nel touchscreen per evitare errori o problemi di prestazioni del sistema.

Per modificare l'impostazione del volume del loop di prolungamento o dell'ago:

1. Sul touchscreen, toccare **System > Module configuration** (Sistema > Configurazione

moduli), quindi toccare il pulsante del sistema di gestione campioni



2. Seguire le altre istruzioni visualizzate sullo schermo per selezionare la corretta configurazione delle dimensioni del loop di prolungamento.

4.10 Scelta dell'impostazione di posizionamento dell'ago

Se l'ago è posizionato troppo in alto, potrebbe non prelevare una quantità sufficiente di campione. Se l'ago è posizionato troppo in basso, aumenta il rischio di introduzione di detriti o precipitati nel sistema idraulico.

Per il posizionamento dell'ago si intende la distanza verticale dalla punta dell'ago per campioni al fondo del vial. L'impostazione predefinita del posizionamento dell'ago impedisce che l'ago raggiunga il fondo del vial.

! **Avviso:** per evitare di danneggiare l'ago, attenersi alle linee guida descritte in questa sezione, assicurarsi che l'ago sia calibrato e utilizzare l'impostazione di posizionamento dell'ago adeguata per le piastre per campioni o i vial in uso.

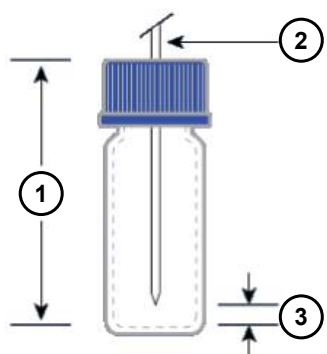
Il software consente di modificare l'impostazione predefinita del posizionamento dell'ago in due modi diversi: nella scheda **Dilution** (Diluizione) dell'editor del metodo strumentale del sistema di gestione campioni e nella finestra di dialogo **Advanced Settings** (Impostazioni avanzate).

Tabella 4-3: Impostazioni predefinite per il posizionamento dell'ago

Tipo di piastra	Impostazione predefinita
48 vial	4,0 mm (automatica)
Tutte le altre piastre	2,0 mm

Nota: I valori predefiniti di posizionamento dell'ago elencati nella tabella riportata sopra rappresentano la dimensione specificata da ③ nella seguente figura.

Figura 4-10: Ago per campioni nel vial



- ① Profondità del vial
- ② Ago per campioni
- ③ Distanza tra la punta dell'ago per campioni e il fondo del vial

4.11 Creazione di un nuovo tipo di piastra

Creare piastre per campioni standard o personalizzate da utilizzare nei metodi con sequenze di campioni. Impostare correttamente i tipi di piastra nel software Empower per evitare di piegare gli aghi.

Fare riferimento a *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)* per ottenere istruzioni sulla creazione di un nuovo tipo di piastra.

4.11.1 Creazione di un nuovo tipo di piastra utilizzando come modello un tipo di piastra esistente

L'utilizzo di un tipo di piastra esistente come modello consente di risparmiare tempo rispetto alla creazione di un tipo di piastra completamente nuovo.

Fare riferimento a *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)* per ottenere istruzioni su come creare un nuovo tipo di piastra utilizzando come modello un tipo di piastra esistente.

4.12 Impostazioni avanzate

Il sistema dispone di una serie di impostazioni configurabili adatte agli utilizzatori esperti.

In questa sezione sono descritte una serie di impostazioni avanzate disponibili con Alliance iS HPLC System.

4.12.1 Scelta di una velocità di prelievo per la siringa per campioni

*Se la velocità di prelievo scelta è troppo elevata, può causare la visualizzazione del messaggio *Drawing sample rate excessive (Velocità di prelievo campione eccessiva)*.*

È possibile modificare le impostazioni della velocità di prelievo nell'editor del metodo strumentale.

4.12.2 Recupero massimo di campione dai vial

Impostazioni errate del sistema possono influire negativamente sulla quantità di campione prelevata dal vial.

Il sistema è dotato di una funzione opzionale di rilevamento del fondo del vial. Quando è attivata, il sistema sonda il fondo del vial, quindi arretra leggermente in modo che l'ago sia molto vicino al fondo.

Con la definizione predefinita per le piastre ANSI (48 vial) per i vial Maximum Recovery da 2 mL è possibile che parte del campione rimanga nel vial. Se è necessario recuperare la massima quantità possibile di campione, attivare la funzione di rilevamento del fondo del vial.

Fare inoltre riferimento a: per informazioni sull'attivazione della funzione di rilevamento del fondo del vial, consultare [Configurazione di un metodo \(Pagina 106\)](#).

Fare inoltre riferimento a: Brochure Waters Sample Vials and Accessories (Vial per campioni e accessori Waters) sul sito web www.waters.com.

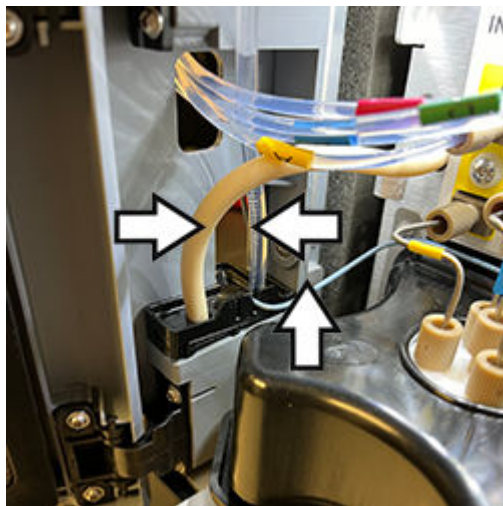
4.13 Separazione dello scarico della condensa dallo scarico LC

La separazione dello scarico della condensa dallo scarico LC consente all'utilizzatore di smaltire separatamente i rifiuti chimici.

I sistemi Alliance iS vengono forniti con lo scarico della condensa e lo scarico LC indirizzati a un'unica porta di scarico sul lato anteriore del sistema.

1. Aprire lo sportello del vano pompa.
2. Rimuovere il tubo della linea di scarico (vedere le frecce) dalla coppa di drenaggio.

Figura 4-11: Tubo nella coppa di drenaggio del vano pompa



3. Sollevare la coppa di drenaggio.

Figura 4–12: Sollevamento della coppa di drenaggio



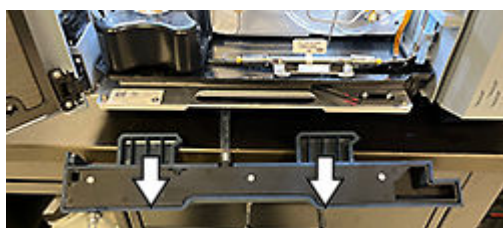
4. Rimuovere la vite (vedere la freccia) sul lato sinistro che fissa il vassoio di drenaggio.

Figura 4–13: Vite del vassoio di drenaggio



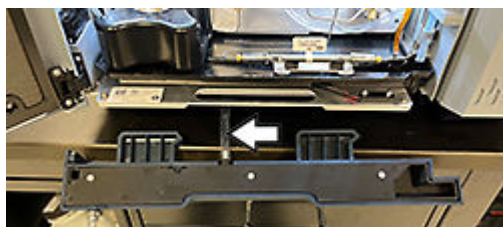
5. Tirare in avanti il vassoio di drenaggio.

Figura 4–14: Spostamento in avanti del vassoio di drenaggio



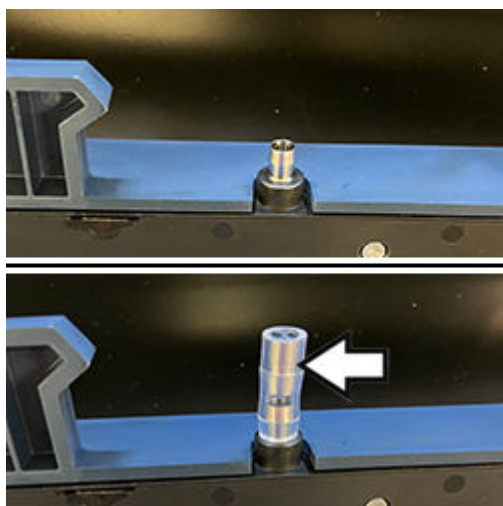
6. Rimuovere il tubo dal vassoio di drenaggio.

Figura 4–15: Scollegamento del tubo dal vassoio di drenaggio



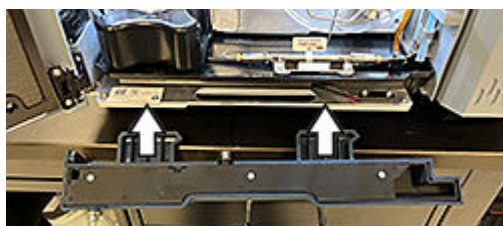
7. Installare il tappo (vedere la freccia) sul raccordo in gomma del vassoio di drenaggio.

Figura 4–16: Installazione del tappo del vassoio di drenaggio



8. Estrarre il tubo del vassoio di drenaggio dal retro del sistema e reindirizzarlo in avanti intorno all'esterno del sistema.
9. Reinserire il vassoio di drenaggio.

Figura 4–17: Reinserimento del vassoio di drenaggio



10. Reinstallare la coppa di drenaggio.

Figura 4–18: Reinstallazione della coppa di drenaggio



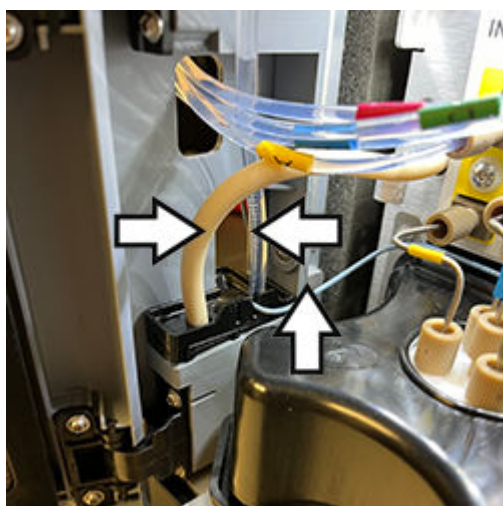
11. Inserire la vite (vedere la freccia) sul lato sinistro che fissa il vassoio di drenaggio.

Figura 4–19: Vite del vassoio di drenaggio



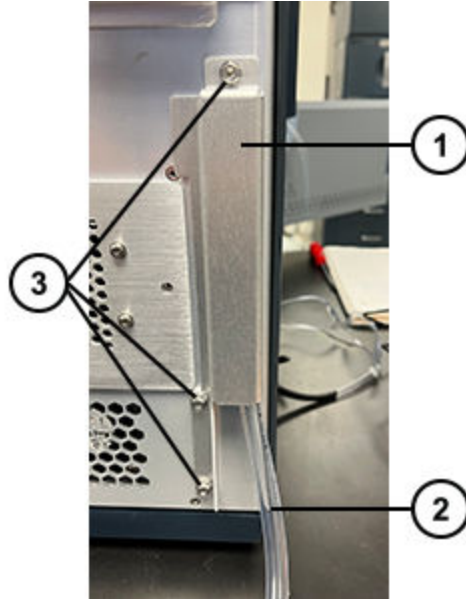
12. Reinscrivere il tubo della linea di scarico (vedere le frecce) nella coppa di drenaggio.

Figura 4–20: Tubo nella coppa di drenaggio del vano pompa



13. Se la linea di scarico della condensa non è sufficientemente lunga da raggiungere il contenitore di scarico:
- Rimuovere le tre viti e il coperchio sul retro del sistema che copre la linea di scarico della condensa.

Figura 4-21:



- ① Coperchio della linea di scarico della condensa
- ② Linea di scarico della condensa
- ③ Viti

- Rimuovere la linea di scarico della condensa (vedere la freccia) dalla coppa di drenaggio del sistema SHC (riscaldatore/raffreddatore del campione).

Figura 4-22: Scollegamento della linea di scarico della condensa



- c. Creare e installare una nuova linea di lunghezza sufficiente per il collegamento allo scarico e collegarla al retro del sistema.
- d. Reinserire le tre viti e il coperchio sul retro del sistema che copre la linea di scarico della condensa.
- e. Collegare la nuova linea a un contenitore di scarico della condensa dedicato. Per evitare di intrappolare aria nella linea, assicurarsi che il tubo sia dritto.

5 Gestione dei metodi

Alliance iS HPLC System può eseguire metodi strumentali nei progetti del software Empower che sono tradotti dall'app Intelligent Method Translator (iMTA). Fare riferimento alla sezione [Intelligent Method Translator \(iMTA\) \(Pagina 60\)](#) che specifica i sistemi per i quali è possibile convertire i metodi.

5.1 Trasferimento di metodi

Alliance iS HPLC System è in grado di produrre risultati paragonabili a quelli ottenuti con molti altri sistemi HPLC. Tuttavia, quando si sposta un metodo regolato da un sistema a un altro, in genere non è possibile apportare modifiche al metodo strumentale. Per esempio, non è possibile modificare il tipo di colonna (diametro) specificato per un metodo trasferito. Anche con lo stesso tipo di colonna, i risultati potrebbero non essere sempre identici. Se è presente una differenza significativa nel tempo di ritenzione, il volume di permanenza può essere compensato regolando l'inizio del gradiente rispetto all'iniezione. È inoltre possibile modificare gli effetti della colonna aggiuntiva.

Consultare il white paper *Dwell Volume and Extra-Column Volume: What Are They and How Do They Impact Method Transfer* (Volume di sosta e volume della colonna aggiuntiva: di cosa si tratta e che impatto hanno sul trasferimento dei metodi) (720005723EN) alla pagina www.waters.com.

5.2 Misura del volume di sosta

Quando si trasferisce un metodo LC a gradiente, è possibile ottenere tempi di ritenzione paragonabili misurando il volume di sosta su entrambi i sistemi. Il volume di sosta è il volume del sistema tra il punto in cui si forma il gradiente e l'ingresso della colonna.

È possibile misurare il volume di sosta utilizzando il punto di mezzo di un gradiente 0-100%. A tale scopo, eseguire un gradiente tra due solventi identici A e B con l'aggiunta di un marcatore al solvente B. Eseguire la misurazione dopo aver configurato il sistema senza la colonna per il metodo strumentale da trasferire, [sostituendo la colonna \(Pagina 172\)](#) con un limitatore a basso volume per garantire che la pompa funzioni correttamente.

Fare inoltre riferimento a: "Measuring system volume for methods transfer" (Misura del volume del sistema per il trasferimento di metodi) in *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)*.

6 Analisi di routine quotidiana

Alliance iS HPLC System consente di eseguire in modo efficiente le analisi in routine quotidiane fornendo funzionalità hardware avanzate, un touchscreen intuitivo e la connettività con il CDS del software Empower. Questa sezione fornisce le istruzioni.

6.1 Accesso e disconnessione da Alliance iS HPLC System

È possibile sbloccare il sistema dal chiosco o bloccarlo senza spegnerlo eseguendo l'accesso o la disconnessione.

Per eseguire l'accesso al sistema, quindi bloccarlo e disconnettersi:

1. Osservare la schermata Idle (Sistema inattivo), che mostra che il sistema è bloccato.
2. Scorrere verso l'alto sul touchscreen. Viene visualizzata la [Home view \(Pagina 55\)](#) (Vista iniziale).
3. Eseguire il lavoro finché non si è pronti per la disconnessione.
4. Toccare il pulsante **Preferences** (Preferenze) nell'angolo in alto a destra del touchscreen.
5. Toccare il pulsante **Lock** (Blocca) in fondo alla schermata Preferences (Preferenze).
6. Toccare il pulsante **SIGN OUT** (Disconnessione).
Viene visualizzato il messaggio di notifica "SIGN OUT displays the lock page. You will be signed out in *n* seconds" (Disconnessione visualizza la pagina di blocco. Disconnessione tra *n* secondi). Al termine, il sistema viene bloccato e passa allo stato IDLE (Inattivo).

6.2 Avvio di hardware e software

Quando l'hardware di Alliance iS HPLC System è in esecuzione, avviare il software Empower.

Per avviare l'hardware e il software:

1. Sbloccare o accendere Alliance iS HPLC System. (Se il sistema è spento, fare riferimento alla sezione [Accensione del sistema \(Pagina 61\)](#).)
2. Dal touchscreen, toccare il pulsante **Commands** (Comandi) nel riquadro a sinistra.
Viene visualizzata la [Commands view \(Pagina 57\)](#) (Vista comandi).
3. Verificare che lo stato di **Detector Lamp** (Lampada rivelatore) sia `Lamp is on` (Lampada accesa) o `Lamp is warming` (Riscaldamento lampada in corso).
Se lo stato è `Lamp is off` (Lampada spenta), toccare il pulsante della lampadina e tenerlo premuto durante il conto alla rovescia del timer. Attendere quindi che lo stato passi

da `Lamp is warming` (Riscaldamento lampada in corso) a `Lamp is on` (Lampada accesa).

Nota: Attendere 30-60 minuti affinché la lampada del rivelatore si riscaldi. Per questo motivo, per accendere la lampada è preferibile utilizzare il comando **Detector Lamp** (Lampada del rivelatore) anziché accenderla durante il processo di configurazione.

4. Avviare il software Empower sulla workstation.
5. Aprire Run Samples (Acquisizione dei campioni).
Il pannello di controllo del software Empower si avvia automaticamente nel riquadro di stato.
6. Dal pannello di controllo, avviare la System Console di Alliance iS HPLC System facendo clic sulla freccia destra nell'angolo in alto a destra.
Dalla console è possibile accedere alla configurazione, alla diagnostica e agli stati dettagliati per tutte le parti del sistema.
7. Se necessario, aprire il progetto del software Empower necessario per l'analisi.

6.3 Configurazione dei solventi

I solventi della fase mobile e i solventi di lavaggio delle guarnizioni, di lavaggio dell'ago e di spurgo vengono configurati prima di eseguire l'equilibratura.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Flaconi dei solventi puliti

Per configurare i solventi:

1. Preparare i solventi nei flaconi puliti come richiesto per il metodo.

Nota: Possono essere presenti fino a quattro linee di solventi della fase mobile, identificate dal sistema come A, B, C e D. Prestare particolare attenzione alla sigla dei solventi nel progetto perché i loro identificatori determinano quale linea di solvente collegare a ciascun flacone. I solventi di lavaggio delle guarnizioni, di lavaggio dell'ago

e di spurgo sono dotati di linee dedicate, ma è possibile che un metodo specifichi il riempimento di un flacone con la stessa preparazione di un flacone della fase mobile. Se necessario, ottenere le specifiche dei solventi per il metodo dalle SOP o dal progetto del software Empower.

2. Ruotare ciascuno dei flaconi di solvente:
 - a. Rimuovere il tappo e il tubo della linea del solvente dal flacone da sostituire.
 - b. Rimuovere il flacone dal vassoio.
 - c. Far passare il tubo il cui cartellino identificativo corrisponde al solvente attraverso l'apertura del tappo di ricambio e installare il tappo sul flacone.
 - d. Collocare il flacone sul vassoio come mostrato nella seguente figura.

Figura 6–1: Flaconi dei solventi collegati



3. Dal touchscreen impostare il priming iniziale delle linee del solvente come descritto in [Equilibrare di Alliance iS HPLC System \(Pagina 87\)](#).

Nota: Se è necessario eseguire il priming delle linee dei solventi al di fuori del workflow di equilibrare, tornare alla schermata iniziale e selezionare il workflow appropriato nella schermata Setup > Solvents (Configurazione > Solventi).

Fare riferimento a:

- [Priming del sistema di lavaggio delle guarnizioni \(Pagina 67\)](#)
- [Priming della pompa \(Pagina 69\)](#)
- [Priming del sistema di gestione campioni \(Pagina 71\)](#)
- [Considerazioni sui solventi \(Pagina 180\)](#)
- [Sostituzione dei filtri dei flaconi dei solventi \(Pagina 111\)](#)

6.4 Installazione o sostituzione della colonna

Installare o sostituire la colonna richiesta per il metodo dopo aver posizionato sul vassoio i flaconi dei solventi pieni, in modo che la vecchia fase mobile non possa passare attraverso la nuova colonna.

Per installare la colonna, seguire le istruzioni fornite in [Installazione della colonna \(Pagina 64\)](#).

Per sostituire la colonna, seguire le istruzioni fornite in [Sostituzione della colonna \(Pagina 172\)](#).

6.5 Equilibratura di Alliance iS HPLC System

L'equilibratura prepara il sistema per un'acquisizione accurata dei dati. Eseguire il workflow di equilibratura quando il sistema è inattivo da almeno quattro ore o dopo aver sostituito la fase mobile o l'ago del campione.

Per equilibrare il sistema:

1. Dal touchscreen fare click su **Commands** (Comandi) per visualizzare la vista [Commands \(Pagina 57\)](#).
2. Assicurarsi che lo stato di **Detector Lamp** (Lampada del rivelatore) sia `Lamp is on` (Lampada accesa). Attendere quanto necessario.
Nota: Attendere 30-60 minuti affinché la lampada del rivelatore si riscaldi. Per questo motivo, per accendere la lampada è preferibile utilizzare il comando **Detector Lamp** (Lampada del rivelatore) anziché accenderla durante il seguente processo di configurazione.
3. Quando lo stato della lampada cambia in `Lamp is on` (Lampada accesa), tornare alla [Home view \(Pagina 55\)](#) (Vista iniziale) e toccare **Setup** (Configurazione) per visualizzare la [Setup view \(Pagina 55\)](#) (Vista configurazione).
4. Toccare **Startup** (Avvio) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo. Le azioni includono:
 - a. Priming della fase mobile
 - b. Priming dei solventi di lavaggio
 - c. Impostazione delle temperature dei campioni e dei punti di controllo
 - d. Accensione della lampada del rivelatore
 - e. Impostazione della velocità di flusso, della composizione e della durata
5. Esaminare le impostazioni nella schermata Summary (Riepilogo) e toccare **Start** (Avvia) per proseguire con l'equilibratura.
Durante l'esecuzione dell'equilibratura, nella schermata Status (Stato) viene visualizzato il messaggio `System Startup In progress` (Avvio del sistema in corso). Al termine dell'equilibratura, il sistema è pronto per il lavoro in routine.

6.6 Preparazione e caricamento dei campioni

Nel sistema di gestione campioni è possibile alloggiare tre vassoi o piastre conformi allo standard ANSI/SBS che si caricano attraverso lo sportello del vano campioni. Per l'uso con il sistema, sono stati approvati e sono richiesti elementi specifici conformi agli standard ANSI, quali piastre a pozzetti, vassoi per vial, vial e cap mat o tappi sigillanti. Il caricamento errato delle piastre o dei vassoi può causare un errore.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione

Per preparare e caricare i campioni:

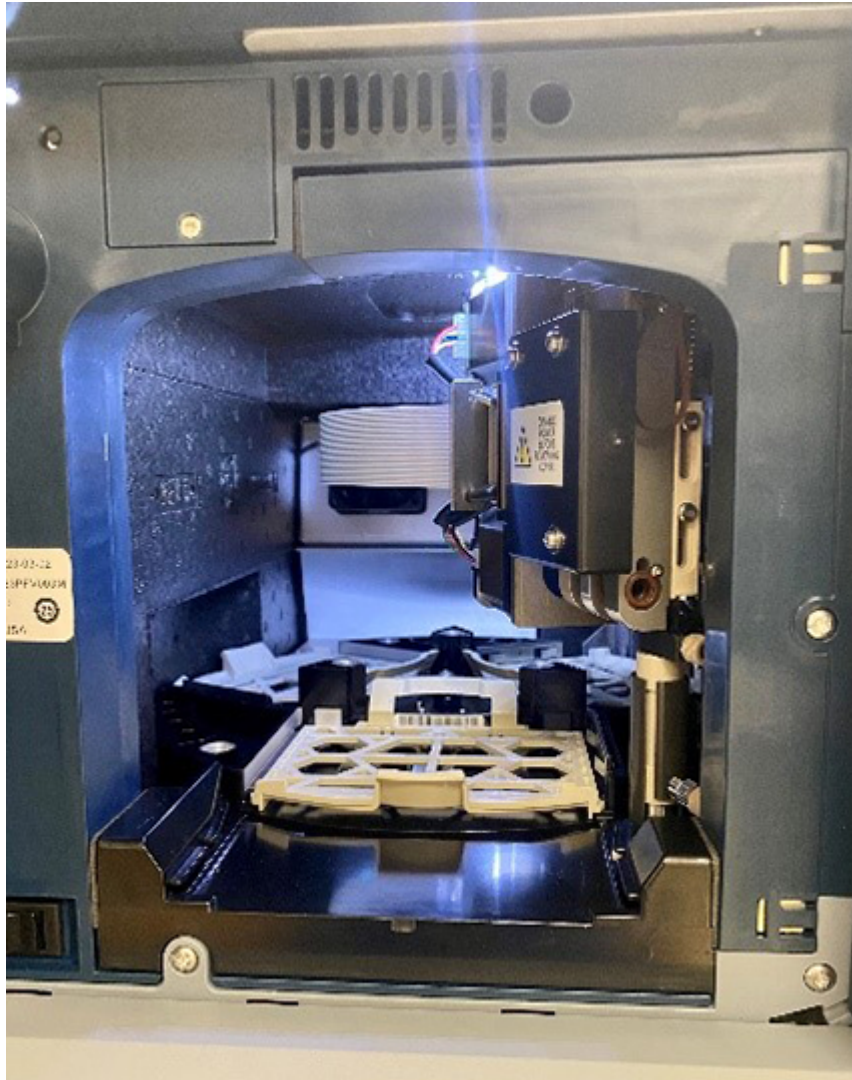
1. Preparare i campioni come specificato per il metodo.
2. Riempire le piastre o i vassoi per campioni come specificato per il metodo. Sono preferibili i vial Waters.

Consultare [Rispetto dei suggerimenti su vial e piastre \(Pagina 107\)](#).

Suggerimento: Le posizioni dei vial da V1 a V12, sui lati destro e sinistro del vassoio porta-campioni, sono compatibili con vial da 4 mL. Contattare Waters per ottenere gli inserti che consentono di alloggiare vial da 2 mL in queste posizioni.

3. Aprire lo sportello del vano del sistema di gestione campioni per accedere al piatto come mostrato nella figura.

Figura 6–2: Piatto del sistema di gestione campioni



4. Premere il selettore della piastra/vassoio nell'angolo inferiore sinistro del sistema di gestione campioni secondo necessità per selezionare la posizione 1, 2 o 3.

Eccezione: Se si preme il selettore mentre è in esecuzione una funzione di diagnostica, durante il priming del sistema di gestione campioni o mentre l'ago per campioni accede al vassoio porta-campioni, effettua un'iniezione o viene pulito, la spia del vano del sistema di gestione campioni lampeggia continuamente e la posizione della piastra non cambia. L'interruttore funziona nuovamente dopo che il sistema di gestione campioni ha completato l'attività in corso.

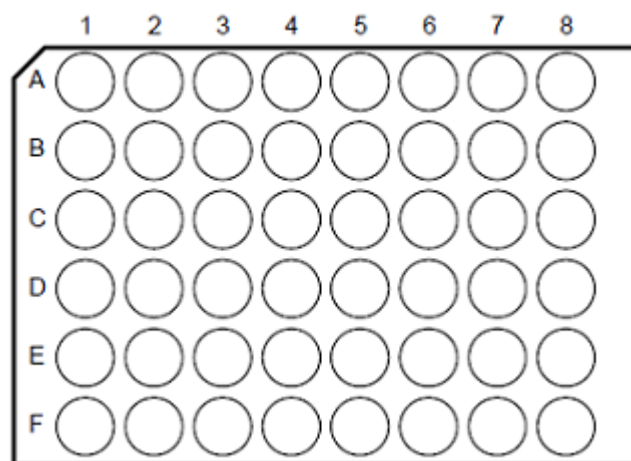
5. Estrarre il telaio per la posizione selezionata afferrandone la maniglia.
6. Caricare la piastra o il vassoio sul telaio esteso. Il vassoio deve essere collocato in posizione orizzontale.

Suggerimento: Per i vassoi, "A" indica la riga, mentre "1" indica la posizione del vial.

Figura 6–3: Vassoi caricati sul piatto per campioni



Figura 6–4: Posizioni dei vial sulla piastra per campioni



7. Far scivolare la piastra o il vassoio all'indietro fino a farli scattare in sede.



Avviso: per evitare danni all'ago per campioni, le piastre per campioni devono essere posizionate correttamente e il vassoio porta-campioni deve essere completamente inserito.

8. Ripetere i passaggi precedenti per ciascuna piastra o vassoio.

9. Chiudere lo sportello del vano campioni.

6.7 Verifica dello stato e dell'integrità del sistema

Verificare lo stato e l'integrità del sistema prima di iniziare ad acquisire i dati, periodicamente durante il giorno e in caso di problemi.

6.7.1 Controlli dell'acquisizione dei dati

I responsabili del laboratorio possono impostare controlli dell'acquisizione dei dati di pre-analisi e durante il tempo di analisi per ridurre al minimo gli errori comuni. L'interfaccia del touchscreen consente di impostare i controlli. Dalla schermata iniziale, il percorso per i workflow è **System > Administration > Acquisition Checks** (Sistema > Administration > Controlli di acquisizione). Nella schermata Acquisition Checks (Controlli di acquisizione) sono disponibili le opzioni **Pre-Run Checks** (Controlli pre-analisi) e **Run-Time Checks** (Controlli in fase di analisi).

Nota: Questa funzionalità è compatibile con il software Empower 3.8.0 e versioni successive.

L'acquisizione dei dati può proseguire una volta superati tutti i controlli pre-analisi attivi. I controlli possono includere:

- **Column must be installed** (È necessario installare la colonna): Verifica se nel forno colonna è installata una colonna, ma solo se si utilizza una colonna Waters con un tag leggibile.
- **Column must match method** (La colonna deve corrispondere al metodo): Verifica se la colonna installata è appropriata per il metodo selezionato, ma solo se si utilizza una colonna Waters con un tag leggibile.
- **No pending preventative maintenance** (Nessuna manutenzione preventiva in sospenso): Verifica la data impostata in **Preventative Maintenance > Set Preventative Maintenance** (Manutenzione preventiva > Imposta manutenzione preventiva).
- **System is qualified** (Il sistema è qualificato): Verifica la data impostata in **Administration > System Qualification > Set the System Qualification** (Administration > Qualifica del sistema > Imposta la qualifica del sistema). Questa data deve essere supportata da documentazione e risultati dei test validi e in genere viene aggiornata quando un tecnico Waters riqualifica il sistema. L'acquisizione dei dati non può proseguire se la qualifica è scaduta.
- **Mobile phase is not expired** (La fase mobile non è scaduta): Controlla la data di ciascuno dei solventi della fase mobile (A, B, C, D) utilizzati dal metodo.

- **Sample plates must be installed (È necessario installare le piastre per campioni)**
- **Sample plates must match method (Le piastre per campioni devono corrispondere al metodo)**
- **All vials present (Tutte le vial sono presenti)**

L'acquisizione dei dati si interrompe quando i controlli in fase di analisi rilevano problemi selezionati durante l'analisi delle sequenze di campioni. I controlli possono includere:

- **Mobile phase is low** (Basso livello della fase mobile): Quando un flacone di solvente della fase mobile è pieno per meno del 10%.
- **Wash solvent is low** (Basso livello del solvente di lavaggio): Quando un flacone del solvente di lavaggio è pieno per meno del 10%.
- **Leak is detected** (È stata rilevata una perdita): Sempre attivato. Il controllo dei sensori di perdita della pompa, della colonna, del rivelatore o del sistema di gestione campioni è controllato da **System > Leak Sensors** (Sistema > Sensori di perdita).
- **Vial is missing** (Vial mancante): Sempre attivato. Il controllo della presenza di vial nelle posizioni specificate per la sequenza di campioni è automatico.

6.7.2 Monitoraggio dal touchscreen

Il touchscreen fornisce informazioni su stato e integrità del sistema. Per esempio, la barra di stato nella parte superiore della finestra mostra se Alliance iS HPLC System sta attualmente eseguendo l'analisi di campioni. Quando il sistema è acceso, ma non in funzione, sulla dashboard viene visualizzato lo stato Idle (Inattivo) e la schermata è di colore blu. Quando il sistema è in funzione, la dashboard mostra lo stato Running (In esecuzione) e la schermata è di colore verde. Il colore rosso indica lo stato di errore.

La [Home view \(Pagina 55\)](#) (Vista iniziale) del touchscreen mostra le condizioni correnti del sistema, quali temperature, pressioni e conteggi delle iniezioni.

La [Health view \(Pagina 57\)](#) (Vista integrità) del touchscreen fornisce alcuni strumenti per la risoluzione dei problemi.

6.7.3 Monitoraggio dal pannello di controllo del software Empower

È possibile monitorare Alliance iS HPLC System dal pannello di controllo del CDS del software Empower, visualizzato nella parte inferiore della finestra Run Samples (Analisi dei campioni); è possibile inoltre lanciarlo dal menu di QuickStart. Nel pannello di controllo sono visualizzate le condizioni principali del sistema, quali stato, temperatura e pressione.

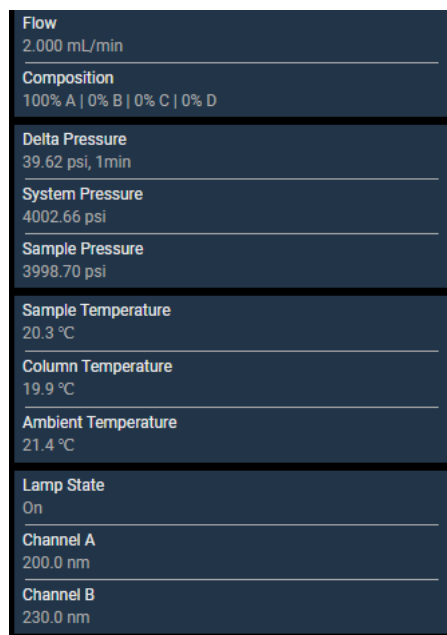
Nota: I valori nel pannello di controllo del software Empower sono di sola lettura.

6.7.4 Monitoraggio dalla System Console di Alliance iS HPLC System

È possibile accedere alla System Console di Alliance iS HPLC System dal pannello di controllo del software Empower. La console visualizza i valori correnti (o più recenti) dei parametri, comprese le temperature e le pressioni, come segue:

Nota: Non è possibile modificare le impostazioni tramite la console. Le impostazioni vengono modificate dal touchscreen o caricando un metodo.

Figura 6–5: System Console



Flow	2.000 mL/min
Composition	100% A 0% B 0% C 0% D
Delta Pressure	39.62 psi, 1min
System Pressure	4002.66 psi
Sample Pressure	3998.70 psi
Sample Temperature	20.3 °C
Column Temperature	19.9 °C
Ambient Temperature	21.4 °C
Lamp State	On
Channel A	200.0 nm
Channel B	230.0 nm

6.7.5 Acquisizione dei dati

Per acquisire dati cromatografici dal sistema Alliance iS, preparare ed analizzare la sequenza di campioni nel software Empower. Fare riferimento alla sezione relativa all'acquisizione dei dati presente in *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)*.

6.8 Esame dei risultati

Esaminare i risultati della sequenza di campioni nel software Empower. Fare riferimento alla sezione Analisi dei dati in *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)*.

6.9 Stampa del report

Generare e stampare il report per i dati della sequenza di campioni nel software Empower. Fare riferimento alla sezione Generazione di report in *Empower online Information System (Guida in linea del software Empower)*.

6.10 Preparazione per lo spegnimento di Alliance iS HPLC System

Nota: Per ulteriori informazioni relative allo spegnimento, fare riferimento a [Spegnimento del sistema \(Pagina 62\)](#).

1. Sul touchscreen, toccare **SETUP** (Configurazione) per visualizzare la vista [Setup \(Pagina 55\)](#).
2. Toccare **Shutdown** (Spegnimento) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo per completare i passaggi successivi. Le azioni includono:
 - a. Impostazione della temperatura del campione e del valore nominale
 - b. Impostazione della temperatura della colonna e del valore nominale
 - c. Impostazione della velocità di flusso e della composizione
 - d. Impostazione dello stato della lampada
3. Esaminare le impostazioni nella schermata Summary (Riepilogo) e toccare **Start** (Avvia) per proseguire.
4. Toccare **Done** (Fine).

Lo spegnimento prosegue in background a meno che non si verifichi un errore.

6.10.1 Spegnimento per meno di 24 ore

Per periodi di inattività di breve durata (inferiori a 24 ore), mantenere il flusso di solvente per preservare la pulizia della cella di flusso.

Se si prevede che trascorrano alcune ore prima dell'iniezione successiva, ridurre la velocità di flusso ad alcuni decimi di mL/min per evitare sprechi di solvente. Durante questo periodo mantenere il rivelatore in funzione e il forno colonna alla temperatura operativa.

Per spegnere il sistema per meno di 24 ore:

1. Continuare a pompare la miscela iniziale di fase mobile attraverso la colonna. In questo modo si evita l'accumulo di contaminanti nella cella di flusso e si mantiene l'equilibrio di colonna necessario per una buona riproducibilità del tempo di ritenzione.
2. Per prolungare la lampada, spegnere la lampada del rivelatore toccando **COMMANDS > UV Detector Lamp** (COMANDI > Lampada rivelatore UV).

Sullo schermo viene visualizzato il messaggio `Power off Lamp` (Spegnimento lampada).

6.10.2 Spegnimento per più di 24 ore

Il mancato lavaggio del sistema/rivelatore prima dello spegnimento può causare l'ostruzione della cella di flusso.

Per spegnere il rivelatore per più di 24 ore:

1. Spegnere la lampada del rivelatore toccando **COMMANDS > UV Detector Lamp** (COMANDI > Lampada rivelatore UV).

Sullo schermo viene visualizzato il messaggio `Power off Lamp` (Spegnimento lampada).

2. Rimuovere sali e additivi del tampone lavando con acqua.
3. Lavare la colonna e la cella di flusso con solvente organico puro al 100%.

7 Ottimizzazione delle prestazioni

Esaminare i seguenti argomenti correlati all'ottimizzazione delle prestazioni di Alliance iS HPLC System:

- [Linee guida generali \(Pagina 96\)](#)
- [Prevenzione delle perdite \(Pagina 98\)](#)
- [Configurazione di un metodo \(Pagina 106\)](#)
- [Considerazioni sulla camera del campione \(Pagina 107\)](#)
- [Rispetto dei suggerimenti su vial e piastre \(Pagina 107\)](#)
- [Tempo di ciclo tra le iniezioni \(Pagina 108\)](#)
- [Ottimizzazione della durata della colonna \(Pagina 108\)](#)

7.1 Linee guida generali

Quando si esegue un'analisi HPLC, attenersi alle seguenti raccomandazioni generali.

- Utilizzare solventi, tamponi e additivi di alta qualità (di grado HPLC o MS).
- Utilizzare acqua di alta qualità (di grado HPLC o MS).
- Utilizzare sempre filtri per solventi sui tubi immersi nei flaconi dei solventi.
- Filtrare i tamponi con un filtro a membrana da 0,45 µm.
- Conservare le soluzioni madre concentrate da utilizzare per la preparazione delle soluzioni di lavoro e, per prolungarne al massimo la durata, riporle in frigorifero quando non vengono utilizzate.
- Non aggiungere un tampone fresco a uno vecchio (una pratica nota come "rabbocco"), che può favorire la proliferazione microbica.
- Mantenere il priming di tutte le linee dei solventi.
- Eliminare i tamponi dal sistema quando non vengono utilizzati, assicurandosi di evitare l'uso di solventi che possono dare luogo a precipitazione o altre reazioni.
- Utilizzare il 10%-20% di solvente organico in acqua come solvente di stoccaggio se si prevede che il sistema rimarrà inattivo per più di 24 ore.
- Mantenere il priming dei tubi di lavaggio delle guarnizioni.
- Controllare il livello del liquido nel recipiente di scarico per assicurarsi che la capacità residua sia sufficiente per il volume di liquido di scarico previsto.

Per informazioni su come prevenire ed eliminare la contaminazione, consultare *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS)* (715001307IT) sul sito web Waters (www.waters.com).

7.1.1 Carryover

Si osserva carryover nei sistemi cromatografici quando un analita iniettato in precedenza compare tra i picchi nei cromatogrammi dei campioni successivi.

Il fenomeno del carryover tende a verificarsi quando una quantità ridotta di analita rimane nel sistema dopo che è stato iniettato un campione. È possibile misurare il carryover osservando i picchi di analita che appaiono quando si acquisisce un bianco subito dopo un campione analitico.

Secondo le specifiche Waters, il carryover di campione in Alliance iS System è al massimo pari a 0,002%.

Una causa comune di carryover è il lavaggio inadeguato del sistema, in particolare dell'ago per campioni. La scelta di un solvente di lavaggio appropriato può ridurre al minimo il carryover per una particolare analisi (fare riferimento a [Linee guida per la scelta dei solventi di lavaggio e di spurgo \(Pagina 188\)](#)). Il solvente di lavaggio deve essere abbastanza forte da sciogliere qualsiasi residuo del campione sull'ago e la durata del lavaggio deve essere sufficiente a rimuovere tale residuo dal sistema.

Anche le condizioni del metodo incidono sul carryover. È possibile che un tempo di mantenimento troppo breve alle condizioni di gradiente finali non sia sufficiente a rimuovere tutti gli analiti dal sistema o dalla colonna, in particolare se il gradiente è ripido. È importante eseguire un lavaggio completo del sistema e riequilibrare la colonna prima di procedere all'analisi successiva.

Quando si tenta di ridurre al minimo il carryover, l'idrofobicità e la solubilità dei campioni, le condizioni di pulizia durante la preparazione del campione e la contaminazione derivante dagli strumenti utilizzati per preparare il campione sono ulteriori fattori da tenere in considerazione.

Suggerimento:

- Analizzare il campione nel solvente di lavaggio per assicurarsi che non causi la precipitazione dell'analita o della matrice.

7.1.1.1 Riduzione del carryover

Il mancato rispetto delle linee guida specificate può portare a un carryover indesiderato tra le iniezioni.

In un sistema cromatografico ogni sostanza che produce picchi non desiderati o rumore di fondo eccessivo è un contaminante. Il carryover, un tipo specifico di contaminazione, si verifica quando del campione rimasto nel sistema dopo un'iniezione dà luogo alla presenza di picchi nelle iniezioni successive, causando problemi di quantificazione. Per ottimizzare le prestazioni del sistema, il carryover deve essere ridotto al minimo e mantenuto a un livello accettabile (in genere inferiore ai limiti di rivelazione).

Nota: Il carryover può verificarsi a causa delle interazioni della colonna o nel sistema. È possibile identificare il carryover della colonna eseguendo un doppio gradiente sulla colonna. Se si osserva un carryover nel secondo gradiente, si consiglia di lavare la colonna con un solvente forte.

La persistenza può essere causata da tubi, raccordi o altri componenti fisici installati in maniera errata o da solventi di lavaggio inadeguati. Eseguire le seguenti operazioni per ridurre il carryover:

- Limitare l'utilizzo del loop di prolungamento a un unico sistema.
- Assicurarsi che tutti i collegamenti del tubo siano alloggiati correttamente. Prima di stringere le viti a pressione di raccordo, il tubo deve essere alloggiato correttamente (senza spazi interni) all'interno di tutte le porte di collegamento. Se l'alloggiamento dei collegamenti è inadeguato si creano spazi superflui che trattengono il campione, provocando quindi un aumento del carryover. Consultare [Prevenzione delle perdite \(Pagina 98\)](#).
- Ispezionare la guida dell'ago per verificare l'eventuale presenza di residui di campione, che possono dare luogo a carryover. Se necessario, pulire o sostituire la guida.
- Evitare sistemi di sigillatura di piastre o vial che utilizzano sostanze aderenti che possono dare luogo a carryover.
- Se si ritiene che il campione interagisca con il materiale di costruzione dell'ago, aumentare la forza del solvente di lavaggio o la durata del lavaggio.
- Quando si selezionano i solventi di lavaggio, attenersi alle seguenti [Linee guida per la scelta dei solventi di lavaggio e di spurgo \(Pagina 188\)](#).

Fare inoltre riferimento a: Per ottenere ulteriori informazioni sul controllo della contaminazione nei sistemi cromatografici, consultare il documento *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS) (715001307IT)* sul sito web Waters (www.waters.com).

7.2 Prevenzione delle perdite

La prevenzione delle perdite durante un'analisi consente di mantenere valori adeguati di pressione del flusso nel sistema e protegge l'integrità del campione.

Le perdite si possono verificare indifferentemente sui raccordi dei tubi, sulle guarnizioni o sulle tenute, ma il caso più comune riguarda i raccordi dei tubi. Perdite a bassa pressione (dal lato di aspirazione della pompa del sistema di gestione degli eluenti) causano perdite di solvente e infiltrazione d'aria durante il ciclo di aspirazione. Le perdite sui raccordi ad alta pressione (a valle delle valvole di controllo) possono provocare fuoriuscita di solvente, ma non danno luogo a infiltrazione d'aria.

Per evitare le perdite, seguire le raccomandazioni di Waters per il corretto serraggio dei raccordi del sistema. Tenere presente che le tecniche di serraggio di raccordi già montati differiscono dalle tecniche di installazione di raccordi nuovi.

7.2.1 Consigli di installazione per i raccordi

Ridurre il rischio di perdite nei collegamenti dei tubi attenendosi alle raccomandazioni Waters. Verificare inoltre di utilizzare raccordi appropriati e serrati correttamente come descritto.

I gruppi dei raccordi utilizzati con il sistema sono di tre tipi:

- Polietereeterchetone (PEEK), a base polimerica
- Acciaio inossidabile (SST), placcato oro
- Raccordi senza attrezzi (TFF)



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da materiali pericolosi che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Chiave a forcella da 1/4 in, per serrare o allentare i raccordi SST (placcati oro) con boccole a due pezzi
- Pennarello indelebile

Quando si collegano i tubi, tenere presente i consigli di installazione e serraggio dei raccordi riportati di seguito:

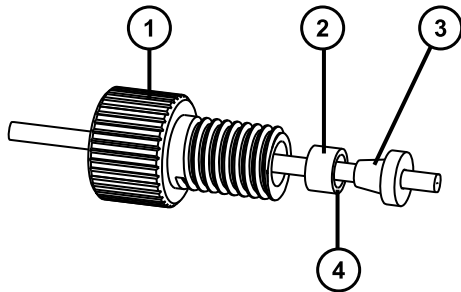
- Prima di stringere le viti a pressione, assicurarsi che il tubo sia completamente inserito nella relativa porta di collegamento.
- Per una migliore accessibilità, utilizzare viti a pressione lunghe per collegare i tubi all'iniettore e alla valvola di sfiato.
- Ogni volta che si allentano i raccordi durante le operazioni di manutenzione, controllare che non siano presenti incrinature, filettature danneggiate e deformazioni.
- Ogni volta che si allentano o si sostituiscono i raccordi durante le operazioni di manutenzione, eseguire il test di perdita del sistema di gestione degli eluenti (consultare la guida in linea del sistema).
- A eccezione di quelli privi di attrezzi, riutilizzare i raccordi SST al massimo sei volte.

7.2.1.1 Raccordo 1/4-28 corto o lungo con boccola senza flange e anello di blocco in acciaio inossidabile

Stringere a mano il raccordo.

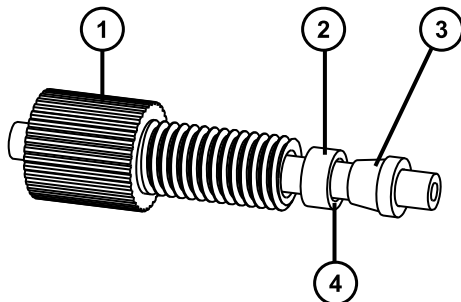
Importante: I raccordi corti sono destinati all'uso con un tubo di diametro esterno pari a 1/16 in. I raccordi lunghi sono destinati all'uso con un tubo di diametro esterno pari a 1/8 in.

Figura 7–1: Raccordo 1/4-28 corto con boccola senza flange e anello di blocco in SST, primo utilizzo o reinstallazione



- ① Vite a pressione
- ② Anello di blocco
- ③ Boccola
- ④ Estremità dell'anello di blocco con diametro interno superiore

Figura 7–2: Raccordo 1/4-28 lungo con boccola senza flange e anello di blocco in SST, primo utilizzo o reinstallazione



- ① Vite a pressione
- ② Anello di blocco
- ③ Boccola
- ④ Estremità dell'anello di blocco con diametro interno superiore

7.2.1.2 Tappo ad alta pressione

Questo tipo di raccordo viene utilizzato perappare una porta inutilizzata o, in alcuni casi, per controllare la pressione del sistema.

Serrare il tappo a mano, quindi effettuare all'incirca 1/6 di giro con una chiave.

Figura 7-3: Tappo ad alta pressione, primo utilizzo o reinstallazione

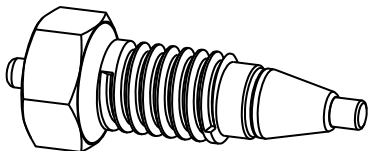
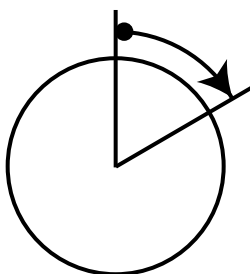


Figura 7-4: Serraggio del tappo ad alta pressione, primo utilizzo o reinstallazione



7.2.1.3 Raccordo metallico con lati piatti corti o lunghi e boccola metallica a due pezzi (V-detail)

La procedura di serraggio dei raccordi metallici è diversa per i raccordi nuovi rispetto a quelli riutilizzati.

Per evitare perdite, fare riferimento ai seguenti consigli indicati nel manuale:

- Fare riferimento alle sezioni [Prevenzione delle perdite \(Pagina 98\)](#) e [Consigli di installazione per i raccordi \(Pagina 99\)](#).
- Per istruzioni dettagliate sul montaggio dei nuovi raccordi, vedere [Montaggio dei nuovi raccordi metallici \(Pagina 103\)](#).



Avviso: Prima di stringere le viti a pressione, assicurarsi che il tubo sia completamente inserito nella relativa porta di collegamento.



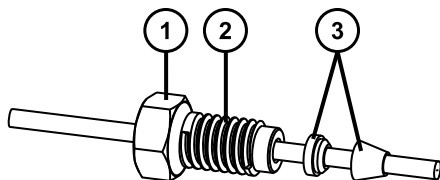
Avviso: Per l'installazione di raccordi nuovi e per stringere nuovamente i raccordi utilizzati in precedenza, si applicano tecniche diverse.

Primo utilizzo



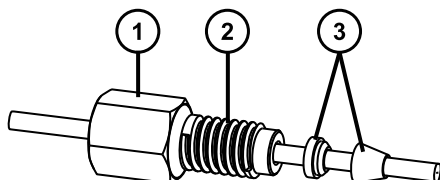
Avviso: Serrare il raccordo a mano, quindi ulteriormente di 3/4 di giro con una chiave a forcilla da 1/4 in.

Figura 7-5: Raccordo metallico con lati piatti corti e boccola metallica a due pezzi, primo utilizzo



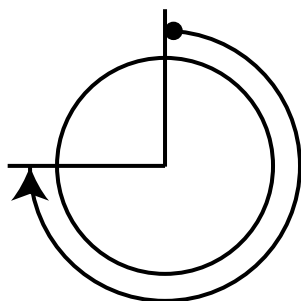
- ① Lati piatti corti
- ② Vite a pressione
- ③ Boccola metallica a due pezzi

Figura 7-6: Raccordo metallico con lati piatti lunghi e boccola metallica a due pezzi, primo utilizzo



- ① Lati piatti lunghi
- ② Vite a pressione
- ③ Boccola a due pezzi

Figura 7-7: Raccordo metallico con lati piatti corti o lunghi e boccola metallica a due pezzi, serraggio per il primo utilizzo

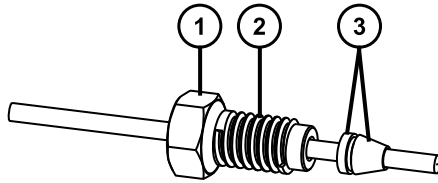


Reinstallazione

- ! **Avviso:** Per ottenere prestazioni ottimali, reinstallare questo collegamento esclusivamente nella stessa porta da cui era stato rimosso.

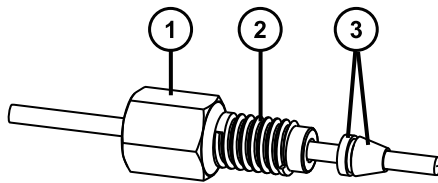
Serrare il raccordo a mano, quindi ulteriormente per non più di 1/6 di giro con una chiave a forcella da 1/4 in.

Figura 7–8: Raccordo metallico con lati piatti corti e boccola metallica a due pezzi, reinstallazione



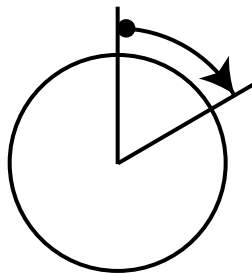
- ① Lati piatti corti
- ② Vite a pressione
- ③ Boccola metallica a due pezzi

Figura 7–9: Raccordo metallico con lati piatti lunghi e boccola metallica a due pezzi, reinstallazione



- ① Lati piatti lunghi
- ② Vite a pressione
- ③ Boccola a due pezzi

Figura 7–10: Raccordo metallico con lati piatti corti o lunghi e boccola metallica a due pezzi, serraggio per la reinstallazione



7.2.1.3.1 Montaggio dei nuovi raccordi metallici

Per garantire un montaggio corretto, è necessario contrassegnare i nuovi raccordi metallici prima di serrarli.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Avviso: per evitare di contaminare i componenti del sistema, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Chiave a forcella da 1/4 in, per raccordi metallici con boccole a due pezzi
- Pennarello indelebile

Per montare un nuovo raccordo metallico:

1. Inserire l'estremità di un tubo nell'estremità esagonale della vite a pressione.
2. Inserire il tubo nell'estremità più grande della boccola.
3. Inserire il tubo nella porta di collegamento.
4. Ruotare in senso orario la vite a pressione nella porta di collegamento finché la vite è stretta a mano.



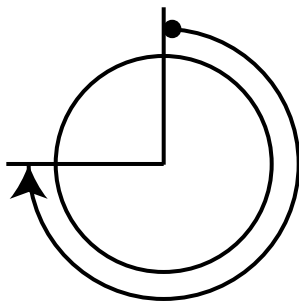
Avviso: Prima di stringere le viti a pressione, assicurarsi che il tubo sia completamente inserito nella relativa porta di collegamento.

5. Utilizzare il pennarello indelebile per contrassegnare la vite a pressione in posizione a ore 12.
6. Utilizzare il pennarello indelebile per contrassegnare la porta di collegamento in posizione a ore 9.
7. Assicurarsi che il tubo sia a contatto con il fondo della porta di collegamento; quindi utilizzare la chiave a forcella da 1/4 in per ruotare in senso orario la vite a pressione di 3/4 di giro fino ad allineare i due riferimenti.



Avviso: Prima di stringere le viti a pressione, assicurarsi che il tubo sia completamente inserito nella relativa porta di collegamento.

Figura 7-11: Raccordo nuovo, serraggio per il primo utilizzo



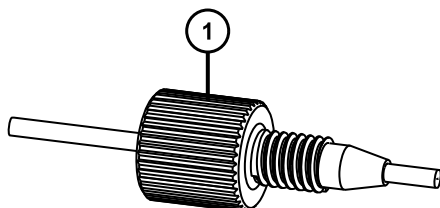
7.2.1.4 Raccordo in PEEK a pezzo singolo

Stringere a mano il raccordo.

Suggerimento: L'utilizzo della prolunga di serraggio per dadi senza flangia in alluminio (inclusa nel kit di avvio del sistema) consente di ottenere il corretto serraggio di questo raccordo.

! **Avviso:** Prima di stringere le viti a pressione, assicurarsi che il tubo sia completamente inserito nella relativa porta di collegamento.

Figura 7–12: Raccordo in PEEK a pezzo singolo, primo utilizzo o reinstallazione



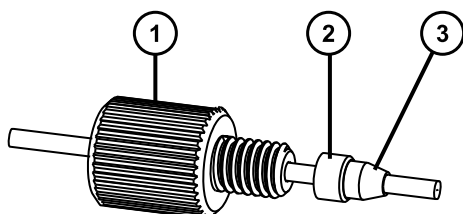
① Vite a pressione

7.2.1.5 Raccordo in PEEK con boccia in PEEK e anello di blocco in acciaio inossidabile

Stringere a mano il raccordo.

! **Avviso:** Prima di stringere le viti a pressione, assicurarsi che il tubo sia completamente inserito nella relativa porta di collegamento.

Figura 7–13: Raccordo in PEEK con boccia in PEEK e anello di blocco in acciaio inossidabile, primo utilizzo o reinstallazione



① Vite a pressione

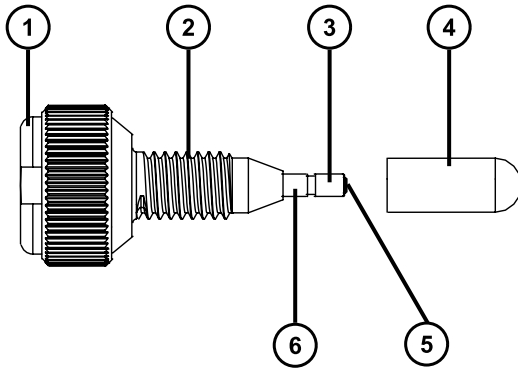
② Anello di blocco

③ Boccia

7.2.1.6 Raccordo senza attrezzi

Stringere a mano il raccordo.

Figura 7-14: TFF, primo utilizzo o reinstallazione



- ① Tappo di ritegno
- ② Vite a pressione
- ③ Manicotto aderente
- ④ Cappuccio di protezione
- ⑤ Guarnizione anteriore
- ⑥ Gruppo del tubo saldato

7.3 Configurazione di un metodo

È possibile creare un nuovo metodo utilizzando il software Empower del sistema.

Per informazioni sulla misurazione del volume di sosta e sul trasferimento di metodi, fare riferimento alla sezione [Gestione dei metodi \(Pagina 83\)](#).

Dalla finestra di avvio del software Empower:

1. Fare click su **Browse Projects** (Esplora progetti).
2. Nel menu principale, fare click su **File > New Method** (File > Nuovo metodo); quindi fare click su **Instrument Method** (Metodo strumentale), **Processing Method** (Metodo di processamento) o **Method Set** (Sequenza di metodi).
3. Specificare le impostazioni del metodo.

7.4 Considerazioni sulla camera del campione

Quando lo sportello del sistema di gestione campioni è aperto, esiste il rischio di lesioni. Prestare attenzione.



Avvertenza: Per evitare di pungersi, tenere mani e indumenti a distanza dal meccanismo del gruppo dell'ago durante lo spostamento dello stesso. La spia interna del sistema di gestione campioni lampeggia se lo sportello del vano campioni è aperto e il meccanismo del gruppo dell'ago sta per spostarsi.

7.5 Rispetto dei suggerimenti su vial e piastre

La selezione errata di vial e piastre per campioni può causare problemi di funzionamento e prestazioni del sistema.

Si raccomanda di rispettare le seguenti linee guida relative all'utilizzo di vial e piastre per campioni nel sistema di gestione campioni:

- Vial
 - Utilizzare esclusivamente vial certificati da Waters.
 - Assicurarsi che i porta-vial siano conformi agli standard ANSI/SBS.
- Piastre
 - Utilizzare esclusivamente piastre e cap mat approvate da Waters.
 - Se si scelgono piastre di un altro fornitore, in particolare piastre a 384 pozzetti, misurarne le dimensioni per verificare la compatibilità con le specifiche Waters per il sistema di gestione campioni.
 - Non centrifugare le piastre per non deformarle.
 - Tenere presente che le piastre contenenti campioni ad alta concentrazione di solvente organico possono generare risultati non uniformi a temperature pari o superiori a quella ambiente a causa dell'evaporazione del solvente.
- Coperchi
 - Coprire le piastre per campioni con cap mat, se possibile.
 - Utilizzare cappucci per vial e cap mat/fogli per sigillatura a caldo pre-incisi. L'utilizzo di cappucci per vial e cap mat non pre-incisi può provocare l'ostruzione delle linee di drenaggio del lavaggio.
 - Per evitare la fuoriuscita del campione o danni all'ago, utilizzare sui vial per campioni esclusivamente coperchi per campioni approvati da Waters.

Fare inoltre riferimento a: *Brochure Waters Sample Vials and Accessories (Vial per campioni e accessori Waters) (720001818IT)* o visitare il sito

web https://www.waters.com/nextgen/it/it/products/vials--plates--and-certified-containers.html?icid=hm-fea_00512 per informazioni su piastre e vial.

7.6 Tempo di ciclo tra le iniezioni

La velocità di prelievo del campione influisce sul tempo di ciclo.

È possibile ridurre il tempo di ciclo impostando una velocità di prelievo adeguata in modo da ottimizzare prestazioni e velocità di analisi.

7.7 ottimizzazione della durata della colonna LC

Per ottenere la massima durata della colonna, attenersi sempre alle raccomandazioni del produttore.

Importante: Per migliorare notevolmente la durata e le prestazioni della colonna, si consiglia di ottenere e attenersi alle linee guida del produttore e agli intervalli di esercizio della temperatura della colonna, del pH della fase mobile e degli additivi del tampone.

! **Attenzione:** Quando si utilizza Alliance iS Bio HPLC System a valori di pH superiori a 10, assicurarsi di utilizzare il kit opzionale per pH elevato. Per ulteriore assistenza, rivolgersi a Waters.

8 Manutenzione

In questo capitolo sono descritte le procedure di manutenzione per Alliance iS HPLC System che possono eseguire gli utilizzatori o il personale del servizio di assistenza Waters.

8.1 Visualizzazione delle informazioni su Alliance iS HPLC System

Sul touchscreen, toccare **System > About** (Sistema > Informazioni). Dalla schermata About (Informazioni) è possibile selezionare le informazioni **HARDWARE** o **SOFTWARE**.

8.2 Sicurezza e modo d'impiego



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: per evitare scosse elettriche, non rimuovere i pannelli di protezione dal dispositivo. All'interno non sono presenti componenti che richiedono manutenzione da parte dell'utente.



Avviso: per evitare danni alla circuiteria e ai componenti elettrici, non scollegare un gruppo elettrico quando il modulo è alimentato. Per interrompere completamente l'alimentazione, impostare l'interruttore di accensione/spegnimento su **Off** (Spento); quindi scollegare il cavo di alimentazione dalla presa di corrente AC. Attendere 10 s prima di scollegare un gruppo.

8.3 Configurazione delle avvertenze relative alla manutenzione

Le avvertenze relative alla manutenzione preventiva e le date di qualifica del sistema sono configurabili.

Alliance iS HPLC System può essere configurato per avvisare gli utilizzatori che si stanno avvicinando le scadenze per la manutenzione preventiva o la qualifica del sistema.

Il responsabile del laboratorio può impostare la scadenza e un promemoria per la manutenzione preventiva tramite l'UI del touchscreen. Toccare **System > Administration > Preventative Maintenance > Set Preventative Maintenance** (Sistema > Administration > Manutenzione preventiva > Imposta manutenzione preventiva).

Analogamente, il responsabile del laboratorio può impostare la scadenza annuale e un promemoria per la qualifica del sistema. Toccare **System > Administration > System Qualifications > Set the System Qualification** (Sistema > Administration > Qualifiche del sistema > Imposta la qualifica del sistema).

8.4 Ordinazione di parti di ricambio

Per garantire il corretto funzionamento del sistema, utilizzare esclusivamente Waters Quality Parts. Visitare il sito <https://www.waters.com/nextgen/nl/en/c/promo/spare-parts.html> per ottenere informazioni su Waters Quality Parts e su come effettuare gli ordini.

8.5 Pulizia delle superfici esterne dell'apparecchiatura



Avvertenza: Per evitare scosse elettriche:

- Assicurarsi di aver interrotto l'alimentazione elettrica all'apparecchiatura.
- Durante la pulizia delle superfici dell'apparecchiatura, inumidire con acqua un panno; quindi pulire lo strumento o il dispositivo. Non spruzzare né applicare direttamente l'acqua sulle superfici dell'apparecchiatura.



Avvertenza: Per evitare lesioni, indossare guanti e occhiali di protezione durante la pulizia.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione

Per pulire le superfici esterne dell'apparecchiatura:

- Utilizzare esclusivamente un panno pulito e morbido o una salvietta di carta inumiditi con acqua e che non lasciano residui per pulire le superfici dell'apparecchiatura.

8.6 Sostituzione dei filtri dei flaconi dei solventi

Sostituire i filtri dei flaconi dei solventi quando si osservano risultati imprevisti causati dalla contaminazione.

I filtri per solventi sono parti essenziali e pulite che proteggono il sistema dalla contaminazione. Un filtro del flacone di solvente intasato può causare una perdita debole o intermittente di priming, un profilo del gradiente errato, variazioni del tempo di ritenzione e picchi ampi. Un filtro del flacone di solvente contaminato può causare un picco di contaminazione.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Filtri dei flaconi dei solventi, confezione da 6 (700013884)

Per sostituire i filtri dei flaconi di solvente:

1. Estrarre l'estremità del tubo del solvente con il filtro dal flacone del solvente.
2. Rimuovere il vecchio filtro dal tratto corto di tubo in fluoropolimero.

Nota: Non rimuovere il tubo del solvente dal tappo del flacone del solvente.

3. Inserire il nuovo filtro nel tubo in fluoropolimero, spingendolo fino a farlo venire a contatto con il tubo del solvente.

Note:

- I filtri per solventi in titanio sono identificati dall'indicazione "Ti" sulla superficie superiore del filtro.
 - Il titanio è soggetto a corrosione nel metanolo anidro, che può essere evitato aggiungendo una piccola quantità di acqua (circa il 3%). Una leggera corrosione è possibile con ammoniacca >10%. Se si utilizza Alliance iS Bio HPLC System, è possibile, in alternativa, rimuovere filtri a piombo in titanio (il sistema perde la prima linea di protezione dal particolato) o sostituirli con filtri a piombo in acciaio inossidabile se le considerazioni di biocompatibilità non incidono sull'analisi.
4. Inserire l'estremità del tubo del solvente con il filtro nel flacone.
 5. Scuotere il tubo del solvente per far uscire completamente l'aria dal filtro.
 6. Immergere l'intero filtro nel solvente.
 7. Eseguire il priming della pompa. Fare riferimento a [Priming della pompa \(Pagina 69\)](#).

8.7 Procedure di manutenzione della pompa

In questa sezione sono descritte le procedure di manutenzione per la pompa di Alliance iS HPLC System che possono essere eseguite dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters. Le procedure includono:

- Manutenzione del filtro dell'aria del vano pompa
- Sostituzione del sensore di perdita della pompa
- Sostituzione del miscelatore della pompa
- Sostituzione della cartuccia del filtro in linea sulla valvola di controllo primaria
- Sostituzione della valvola di controllo dell'accumulatore

8.7.1 Programma di manutenzione della pompa

Per la pompa è previsto un programma di manutenzione consigliato.

Gli utilizzatori possono eseguire le seguenti procedure di manutenzione in routine della pompa.

Procedura di manutenzione	Frequenza
Sostituzione dei filtri dei flaconi dei solventi (Pagina 111)	Secondo necessità; durante la manutenzione in routine programmata
Manutenzione del filtro dell'aria del vano pompa (Pagina 112)	Secondo necessità; durante la manutenzione in routine programmata
Sostituzione del sensore di perdita della pompa (Pagina 113)	Secondo necessità
Sostituzione del miscelatore della pompa (Pagina 116)	Secondo necessità; durante la manutenzione in routine programmata
Sostituzione della cartuccia del filtro in linea sulla valvola di controllo primaria (Pagina 118)	Secondo necessità; durante la manutenzione in routine programmata
Sostituzione della valvola di controllo dell'accumulatore (Pagina 124)	Secondo necessità; durante la manutenzione in routine programmata

8.7.2 Manutenzione del filtro dell'aria del vano pompa

È possibile pulire o sostituire il filtro dell'aria del vano pompa.

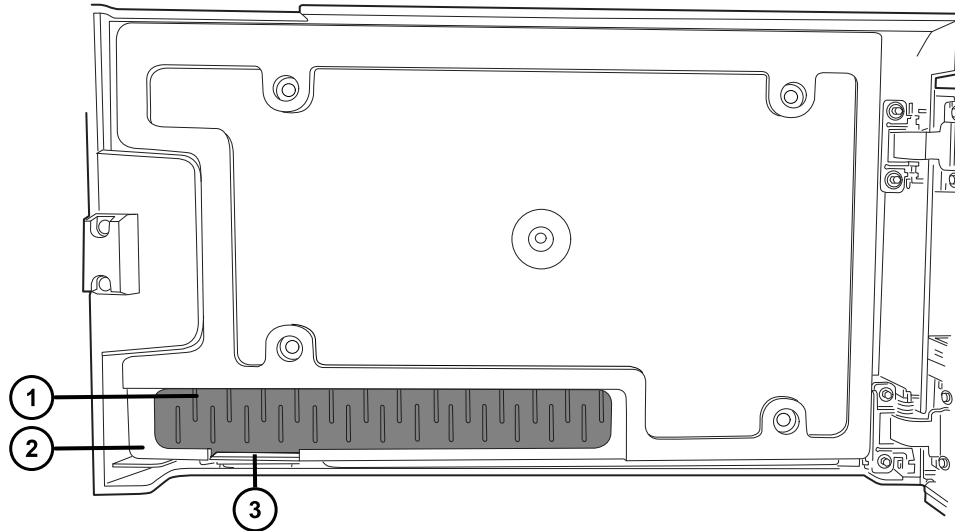
Attrezzi e materiali richiesti

- Detergente delicato e acqua
- Filtro dell'aria (in caso di sostituzione)

Per eseguire la manutenzione del filtro dell'aria:

1. Aprire lo sportello del vano pompa.
2. Comprimere il filtro dell'aria verso l'alto sopra l'area di scarico del telaio. Quindi schiacciare il filtro ed estrarlo dal telaio.

Figura 8–1: Filtro dell'aria del vano pompa



- ① Filtro dell'aria
- ② Telaio del filtro dell'aria
- ③ Area di scarico del telaio

3. Eseguire una delle seguenti operazioni:
 - Pulire il filtro dell'aria utilizzando un detergente delicato e acqua; quindi asciugare il filtro.
 - Rimuovere il vecchio filtro dell'aria.
4. Comprimere leggermente il filtro dell'aria e ricollegarlo all'interno del telaio.
5. Chiudere lo sportello del vano pompa.

8.7.3 Sostituzione del sensore di perdita della pompa

La sostituzione del sensore di perdita della pompa può essere eseguita dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Requisito: indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

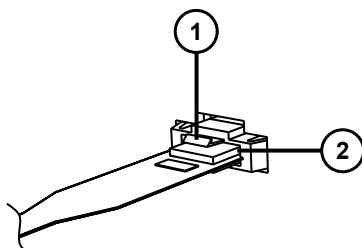
Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Sostituzione del sensore di perdita

Per sostituire il sensore di perdita:

1. Aprire lo sportello del vano pompa.
2. Premere verso il basso l'aletta del connettore del sensore di perdita e rimuovere il connettore dalla sede.

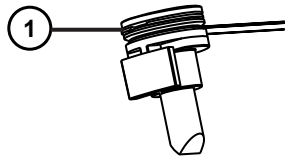
Figura 8-2: Connettore del sensore di perdita



- ① Linguetta
- ② Connettore del sensore di perdita

3. Afferrare il sensore di perdita per la parte dentata e tirarlo verso l'alto per separarlo dal relativo recipiente.

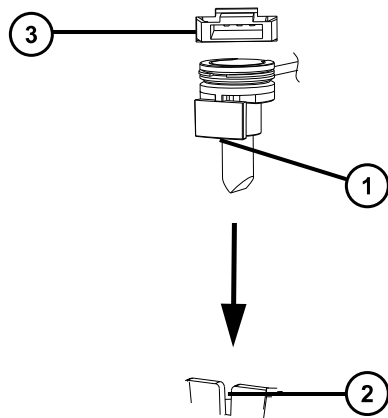
Figura 8–3: Sensore di perdita (parte dentata)



① Parte dentata

4. Disimballare il nuovo sensore di perdita.
5. Allineare la barra a T del sensore di perdita all'alloggiamento sulla parte anteriore del vassoio della pompa e far scorrere il sensore di perdita fino a inserirlo in posizione.

Figura 8–4: Allineamento della barra a T con l'alloggiamento



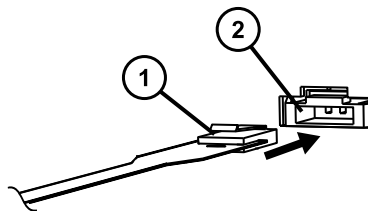
① Barra a T

② Fessura nel recipiente del sensore di perdita

③ Porta del sensore di perdita sulla sede

6. Collegare il connettore del sensore di perdita sul lato anteriore del dispositivo.

Figura 8–5: Collegamento del connettore del sensore di perdita



① Connettore del sensore di perdita

② Sede del sensore di perdita sul lato anteriore della piastra del vassoio della pompa

7. Chiudere lo sportello del vano pompa.
8. Dalla [Commands view \(Pagina 57\)](#) (Vista comandi) del touchscreen, toccare **Reset** (Reimpostazione).
9. Dalla [System view \(Pagina 58\)](#) (Vista sistema) del touchscreen, toccare **Leak Sensors** (Sensori di perdita) e attivare **QSM Leak Sensor** (Sensore di perdita QSM).

8.7.4 Sostituzione del miscelatore della pompa

La sostituzione del miscelatore della pompa può essere eseguita dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avviso: per evitare di contaminare i componenti del sistema, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Chiave a forcella da 1/4 in
- Chiave a forcella da 3/8 in
- Miscelatore di ricambio

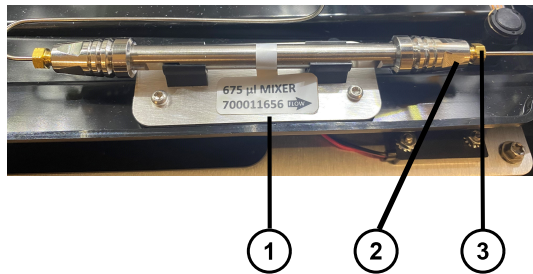
Nota: È disponibile un kit di miscelazione con fase legata per diffusione da 690 µL opzionale che offre prestazioni di miscelazione notevolmente migliori rispetto ai kit di miscelazione tradizionali da 675 µL o 680 µL, con conseguente riduzione del rumore di composizione e una linea di base più silenziosa in alcune applicazioni. Per ottenere informazioni sull'installazione del kit di miscelazione con fase legata per diffusione da 690 µL, fare riferimento a *Ti Diffusion Bonded Mixer - 690 µL Kit Installation Guide (Kit miscelatore Ti con fase legata per diffusione da 690 µL Guida all'Installazione)* (7150092511T).

Per sostituire il miscelatore:

1. Lavare la pompa con un solvente non pericoloso.
2. Arrestare il flusso di solvente.
3. Aprire lo sportello del vano pompa.
4. Rimuovere il miscelatore dal relativo fermo.

- Utilizzando la chiave a forcella da 3/8 in per tenere in posizione il miscelatore, scollegare il raccordo a pressione di uscita con una chiave a forcella da 1/4 in.

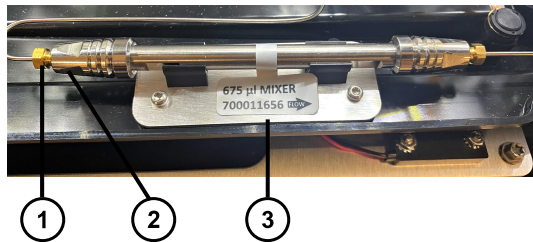
Figura 8–6: Posizione del raccordo a pressione di uscita del miscelatore



- Miscelatore
- Lati piatti per la chiave
- Raccordo a pressione di uscita

- Utilizzando la chiave a forcella da 3/8 in per tenere in posizione il miscelatore, scollegare il raccordo a pressione di entrata con la chiave a forcella da 1/4 in.

Figura 8–7: Posizione del raccordo a pressione di entrata del miscelatore



- Raccordo a pressione di entrata
- Lati piatti per la chiave
- Miscelatore

- Disimballare il miscelatore di ricambio.

Nota: Assicurarsi che la freccia sul miscelatore punti da sinistra a destra.

- Ricollegare i raccordi a pressione al miscelatore e stringerli a mano; quindi stringere ulteriormente con la chiave di 1/6 di giro i raccordi già usati e di 1/2 di giro quelli nuovi.
- Inserire il corpo del miscelatore nei fermi.
- Chiudere lo sportello del vano pompa.
- Sulla schermata [Commands view \(Pagina 57\)](#) (Vista comandi) del touchscreen, toccare **Reset** (Reimpostazione).

8.7.5 Sostituzione della cartuccia del filtro in linea sulla valvola di controllo primaria

La sostituzione della cartuccia del filtro in linea sulla valvola di controllo primaria della pompa può essere eseguita dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avviso: per evitare di contaminare i componenti del sistema, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

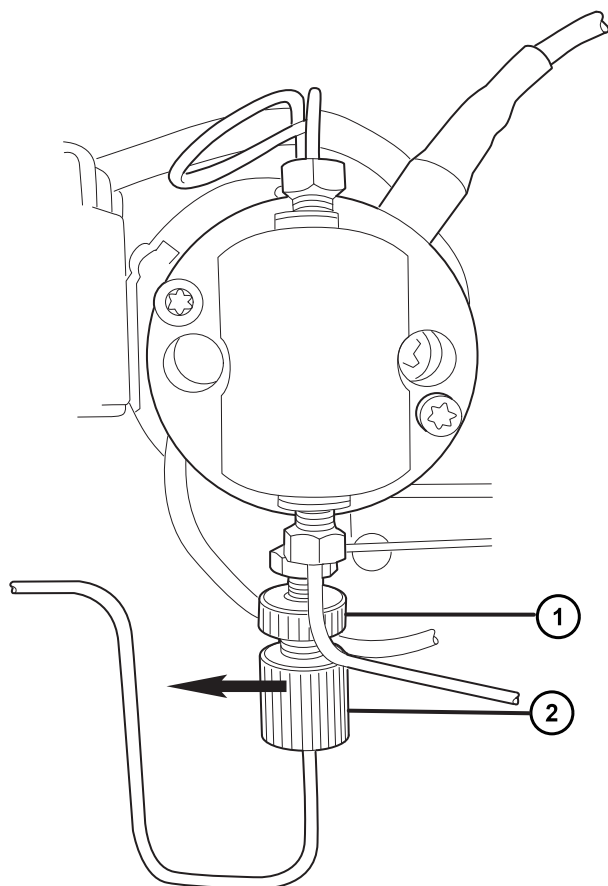
Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Sostituzione della cartuccia del filtro in linea

Per sostituire la cartuccia del filtro in linea sulla valvola di controllo primaria:

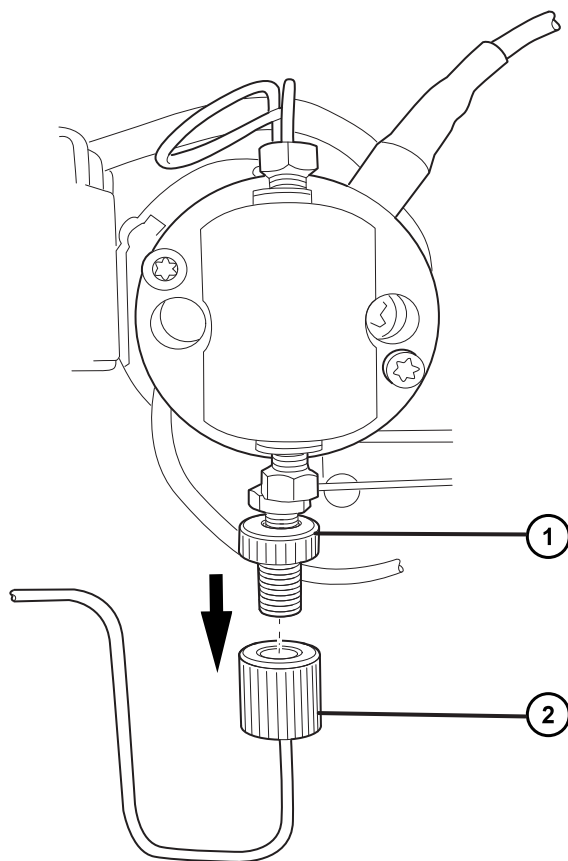
1. Lavare la pompa con un solvente non pericoloso.
2. [Spegnere il sistema \(Pagina 62\)](#).
3. Aprire lo sportello del vano pompa.
4. Tenere il raccordo del supporto della boccola mentre lo si svita e rimuovere il dado cieco dal raccordo.

Figura 8-8: Svitamento del dado cieco e del supporto della boccola



- ① Raccordo del supporto della boccola
- ② Dado cieco

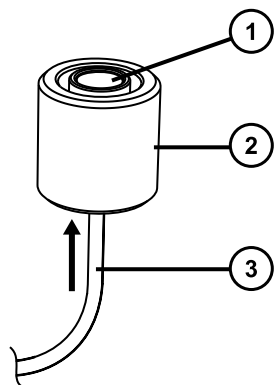
Figura 8–9: Rimozione del dado cieco dal supporto della boccola



- ① Raccordo del supporto della boccola
- ② Dado cieco

5. Far scorrere il dado cieco nel tubo e scollegare il filtro dal raccordo del supporto della boccola.

Figura 8–10: Estrazione del dado cieco dal tubo

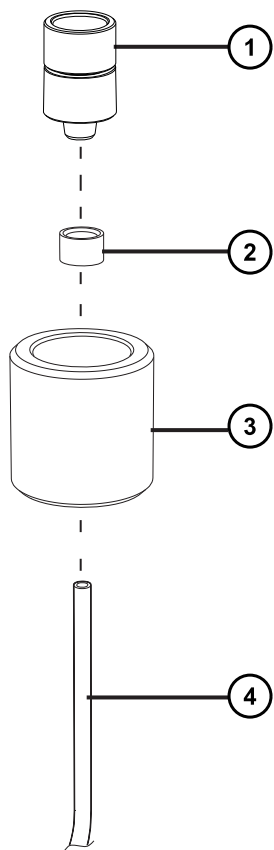


- ① Cartuccia del filtro in linea

② Dado cieco

③ Tubo

Figura 8–11: Cartuccia del filtro in linea, anello di bloccaggio e dado cieco



① Cartuccia del filtro in linea

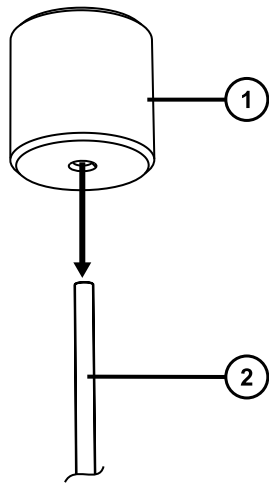
② Anello di bloccaggio in metallo

③ Dado cieco

④ Tubo

6. Far scorrere l'anello di blocco in metallo verso il basso per separarlo dalla cartuccia del filtro in linea ed estrarre la cartuccia dal tubo.
7. Ispezionare la cartuccia del filtro per determinare se è in acciaio inossidabile o in titanio (Ti) e accertarsi di disporre della cartuccia di ricambio corretta. L'assenza di marcatura indica che la cartuccia del filtro è in acciaio inossidabile, mentre "Ti" indica che è di titanio.
8. Far scorrere il dado cieco sull'estremità del tubo.

Figura 8–12: Scorrimento del dado cieco sul tubo

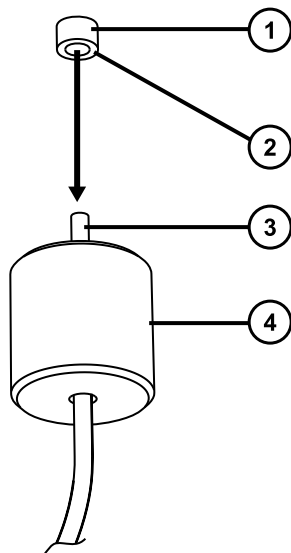


① Dado cieco

② Tubo

9. Far scorrere l'anello di bloccaggio in metallo sul tubo, facendo in modo che l'estremità più spessa dell'anello di bloccaggio in metallo sia rivolta verso il dado cieco.

Figura 8–13: Scorrimento dell'anello di bloccaggio in metallo sul tubo



① Anello di bloccaggio in metallo

② Estremità più spessa dell'anello di bloccaggio in metallo rivolta verso il dado cieco

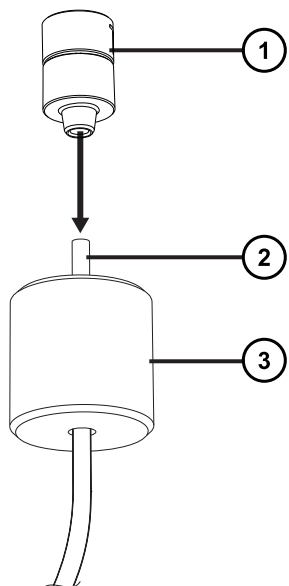
③ Tubo

④ Dado cieco

10. Disimballare la nuova cartuccia del filtro in linea.

11. Posizionare la nuova cartuccia del filtro in linea sull'estremità del tubo.

Figura 8–14: Posizionamento della cartuccia del filtro in linea sull'estremità del tubo



① Cartuccia del filtro in linea

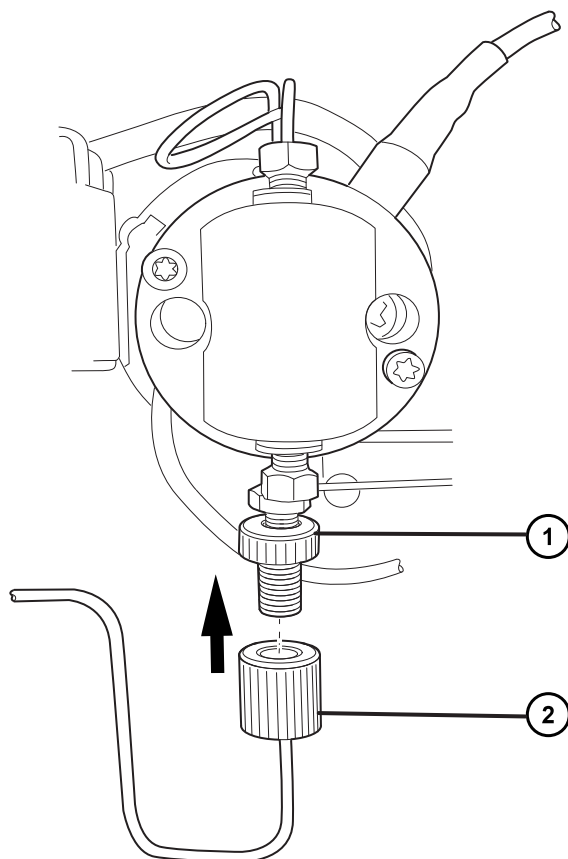
② Tubo

③ Dado cieco

12. Verificare che la cartuccia sia rivolta verso l'esterno nel tubo, quindi far scorrere l'anello di bloccaggio in metallo sul raccordo sul fondo della cartuccia del filtro in linea, assicurandosi che il tubo rimanga completamente rivolto verso l'esterno.

13. Inserire la cartuccia del filtro in linea con il tubo nel raccordo del supporto della boccola, stringere a mano il dado cieco finché non raggiunge il fondo; quindi stringere di 1/4 di giro.

Figura 8–15: Installazione del dado cieco sul raccordo del supporto della boccola



① Raccordo del supporto della boccola

② Dado cieco

14. Chiudere lo sportello del vano pompa.
15. [Accendere il sistema \(Pagina 61\)](#).
16. [Eseguire il priming della pompa \(Pagina 69\)](#).

8.7.6 Sostituzione della valvola di controllo dell'accumulatore

La sostituzione della valvola di controllo dell'accumulatore della pompa può essere eseguita dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Avviso: per evitare di contaminare i componenti del sistema, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

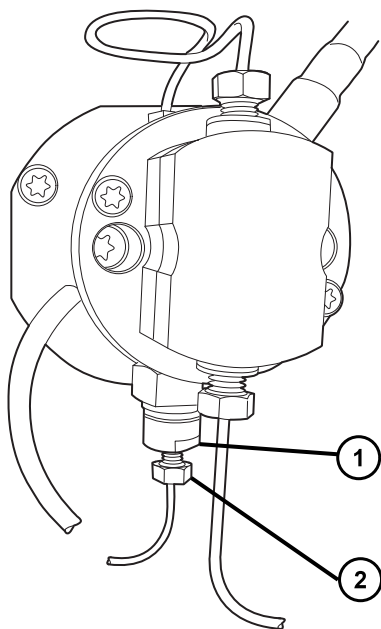
Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Chiave a forcella da 1/4 in
- Chiave a forcella da 5/16 in
- Chiave a forcella da 1/2 in
- Gruppo della valvola di controllo dell'accumulatore sostitutivo

Per sostituire la valvola di controllo dell'accumulatore:

1. Lavare la pompa con un solvente non pericoloso.
2. Spegnerne il sistema di gestione degli eluenti.
3. Aprire lo sportello del vano pompa.
4. Utilizzando la chiave a forcella da 5/16 in per tenere in posizione la valvola di controllo, scollegare il raccordo a pressione con una chiave a forcella da 1/4 in.

Figura 8–16: Raccordo a pressione sulla valvola di controllo



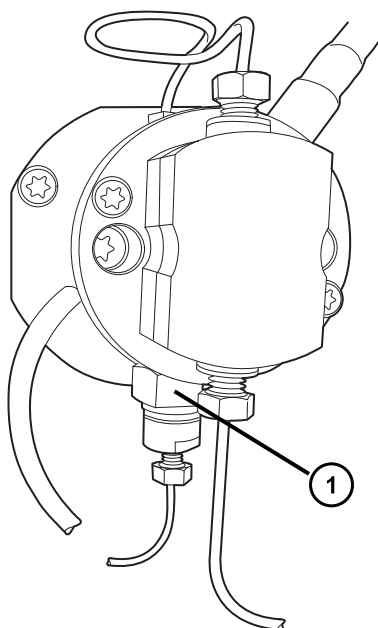
- ① Posizionare qui la chiave a forcella da 5/16 in

② Raccordo a pressione

5. Utilizzare la chiave a forcella da 1/2 in per allentare la valvola di controllo; quindi rimuovere l'intero gruppo dalla testa della pompa.

! **Avviso:** quando si rimuove il gruppo della valvola, accertarsi che la rondella in PEEK, che normalmente si trova sulla superficie superiore della valvola di controllo, non rimanga nella testa della pompa.

Figura 8–17: Gruppo della valvola di controllo sulla testa della pompa dell'accumulatore

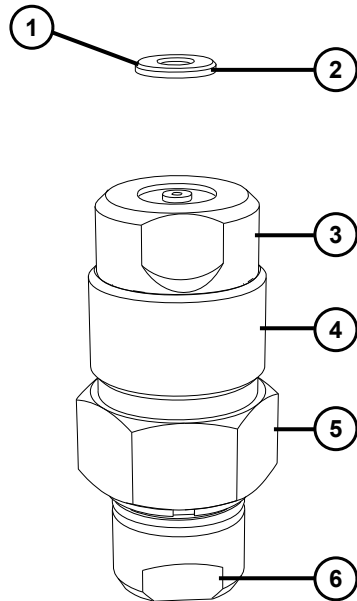


① Posizionare qui la chiave a forcella da 1/2 in

6. Disimballare la nuova valvola di controllo.

7. Assicurarsi che la nuova rondella in PEEK sia inserita nella nuova valvola di controllo in modo che il bordo smussato sia rivolto dalla parte opposta alla valvola di controllo.

Figura 8–18: Valvola di controllo dell'accumulatore



- ① Bordo smussato
- ② Rondella in PEEK
- ③ Valvola di controllo
- ④ Alloggiamento della valvola di controllo
- ⑤ Dado esagonale da 1/2 in
- ⑥ Sede per chiave a forcina da 5/16 in

8. Inserire il gruppo della valvola di controllo nella testa della pompa e stringere a mano il più possibile il dado della valvola di controllo; quindi utilizzare la chiave a forcina da 1/2 in per stringere ulteriormente il dado di 1/8 di giro.
9. Utilizzando la chiave a forcina da 5/16 in per tenere in posizione la valvola di controllo, ricollegare il raccordo a pressione alla valvola di controllo.
10. Stringere a mano il più possibile il raccordo a pressione; quindi utilizzare la chiave a forcina da 1/4 in per stringere ulteriormente il raccordo per non più di 1/6 di giro nel caso dei raccordi già usati o per non più di 1/2 giro nel caso dei raccordi nuovi.
11. Chiudere lo sportello del vano pompa.
12. Accendere il sistema di gestione degli eluenti.
13. Eseguire il priming del sistema di gestione degli eluenti; fare riferimento a [Priming della pompa \(Pagina 69\)](#).

8.8 Procedure di manutenzione del sistema di gestione campioni

In questa sezione sono descritte le procedure di manutenzione per il sistema di gestione campioni di Alliance iS HPLC System che gli utilizzatori o il personale del servizio di assistenza Waters possono eseguire.

Le procedure comprendono:

- Sostituzione del sensore di perdita
- Calibrazione dell'asse z dell'ago
- Sostituzione della guarnizione dell'ago e del tubo della porta a tenuta
- Sostituzione dell'ago

8.8.1 Programma di manutenzione del sistema di gestione campioni

Il sistema di gestione campioni dispone di un programma di manutenzione consigliato.

Le seguenti procedure di manutenzione in routine del sistema di gestione campioni possono essere eseguite dagli utilizzatori.

Procedura di manutenzione	Frequenza
Sostituire il sensore di perdita del sistema di gestione campioni (Pagina 128)	Secondo necessità
Calibrare l'asse z dell'ago (Pagina 131)	Dopo la sostituzione dell'ago o secondo necessità
Sostituire la guarnizione dell'ago e del tubo della porta a tenuta (Pagina 131)	Durante la manutenzione in routine programmata o quando necessario
Sostituire l'ago (Pagina 144)	Durante la manutenzione in routine programmata o quando necessario

8.8.2 Sostituzione del sensore di perdita del sistema di gestione campioni

La sostituzione dei sensori di perdita del sistema di gestione campioni può essere eseguita dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.

Il sistema di gestione campioni è dotato di sensori di perdita inferiore e superiore. I sensori di perdita controllano la presenza di perdite di liquidi sul forno colonna e sul sistema di gestione campioni e arrestano il flusso del sistema quando uno dei sensori rileva circa 1,5 mL di liquido accumulato. Se i sensori di perdita sono difettosi potrebbero non rilevare le fuoriuscite di liquidi.

Le procedure di sostituzione sono identiche per entrambi i sensori di perdita.



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da materiali pericolosi che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Avviso: per evitare danni alla circuiteria e ai componenti elettrici, non scollegare un gruppo elettrico quando il modulo è alimentato. Per interrompere completamente l'alimentazione, impostare l'interruttore di accensione/spegnimento su **Off** (Spento); quindi scollegare il cavo di alimentazione dalla presa di corrente AC. Attendere 10 s prima di scollegare un gruppo.

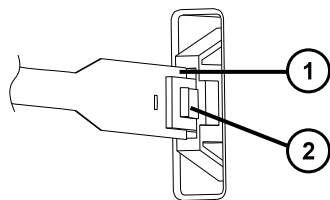
Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Sostituzione del sensore di perdita

Per sostituire il sensore di perdita:

1. [Spegnere il sistema \(Pagina 62\)](#).
2. Aprire lo sportello del vano del sistema di gestione campioni.
3. Premere verso il basso la linguetta per scollegare il connettore del sensore di perdita dal lato anteriore del dispositivo.

Figura 8–19: Connettore del sensore di perdita

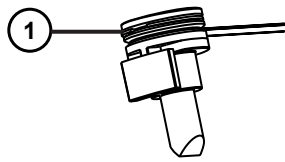


① Connettore

② Linguetta

4. Afferrare il sensore di perdita per la parte dentata e tirarlo verso l'alto per staccarlo dal relativo serbatoio.

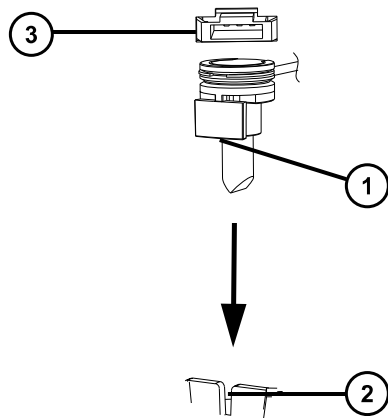
Figura 8–20: Sensore di perdita (parte dentata)



① Parte dentata

5. Disimballare il nuovo sensore di perdita.
6. Allineare la barra a T del sensore di perdita all'alloggiamento sul lato del recipiente e far scorrere il sensore di perdita fino a inserirlo in posizione.

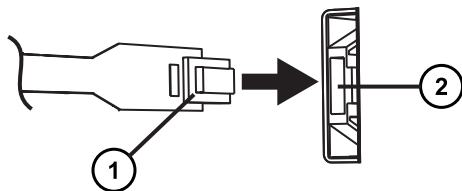
Figura 8–21: Allineamento della barra a T del sensore di perdita con la fessura



- ① Barra a T del sensore di perdita
- ② Fessura nel recipiente del sensore di perdita
- ③ Porta del sensore di perdita sul lato anteriore del dispositivo

7. Collegare il connettore del sensore di perdita al lato anteriore del sistema di gestione campioni.

Figura 8–22: Collegamento del connettore del sensore di perdita



① Connettore del sensore di perdita

- ② Porta del sensore di perdita sul lato anteriore del dispositivo
8. Chiudere lo sportello del vano del sistema di gestione campioni.
9. [Accendere il sistema \(Pagina 61\)](#).
10. Dalla [Commands view \(Pagina 57\)](#) (Vista comandi) del touchscreen, toccare **Reset** (Reimpostazione).
11. Dalla [System view \(Pagina 58\)](#) (Vista sistema) del touchscreen, toccare **Leak Sensors** (Sensori di perdita) e attivare **SM Leak Sensor** (Sensore di perdita SM).

8.8.3 Calibrazione dell'asse z dell'ago

Gli utenti o il personale del servizio di assistenza Waters possono calibrare l'asse z dell'ago del sistema di gestione campioni.

La calibrazione dell'ago deve essere eseguita prima di utilizzare il sistema di gestione campioni per la prima volta e ogni volta che si sostituisce l'ago per campioni. La mancata calibrazione può causare danni all'ago. La procedura di calibrazione è identica per tutti gli aghi.

Per eseguire la calibrazione dell'asse z dell'ago, procedere come segue:

1. Dal touchscreen, toccare **Maintain > Calibrate needle Z axis** (Manutenzione > Calibrazione dell'asse z dell'ago).
2. Seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo.

8.8.4 Sostituzione della guarnizione dell'ago e del tubo della porta a tenuta

Per evitare interruzioni del workflow, sostituire la guarnizione dell'ago e il tubo della porta a tenuta una volta l'anno durante il programma di manutenzione preventiva (PM) prescritto oppure ogni volta che la guarnizione appare sporca, contaminata oppure ostruita. Sostituire anche la guarnizione ogni volta che è necessario sostituire l'ago.

La sostituzione della guarnizione dell'ago e del tubo della porta a tenuta comporta la rimozione dei seguenti elementi:

- Gruppo della stazione di lavaggio
- Controdado che alloggia la guarnizione dell'ago
- Guarnizione dell'ago esistente
- Tubo della porta a tenuta esistente (in cui è alloggiato il dado di bloccaggio) e collegato al gruppo della stazione di lavaggio



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.

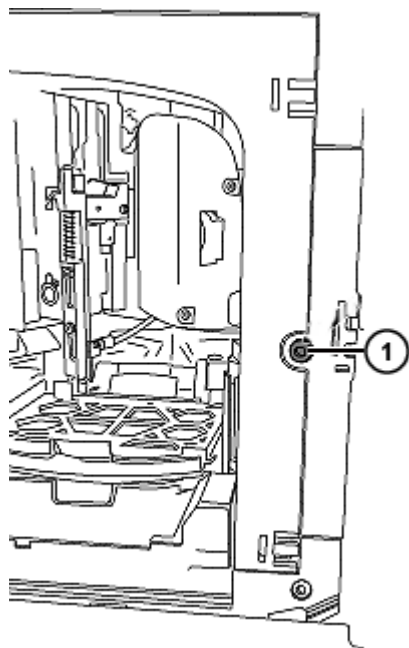
Attrezzi e materiali richiesti

- Kit delle guarnizioni
- Tubo della porta a tenuta (nome componente Waters: gruppo, porta a tenuta, SST, ID 0,007)
- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Chiave a forcella da 7/16 in (la procedura richiede due chiavi)
- Cacciavite TORX T10
- Cacciavite TORX T20

Per sostituire la guarnizione dell'ago:

1. Assicurarsi che il sistema sia acceso.
2. Aprire lo sportello del vano campioni e lo sportello del vano del sistema idraulico.
3. Rimuovere le eventuali piastre per campioni dal vano campioni.
4. Portare l'ago per campioni nella posizione di assistenza:
 - a. Toccare **MAINTAIN** > **Service** > **Prepare to Replace the Needle** (MANUTENZIONE > Assistenza > Prepara la sostituzione dell'ago).
5. Utilizzando il cacciavite TORX T20, rimuovere le due viti prigioniere che fissano il pannello di accesso, quindi rimuoverlo.

Figura 8–23: Vite prigioniera sul pannello di accesso



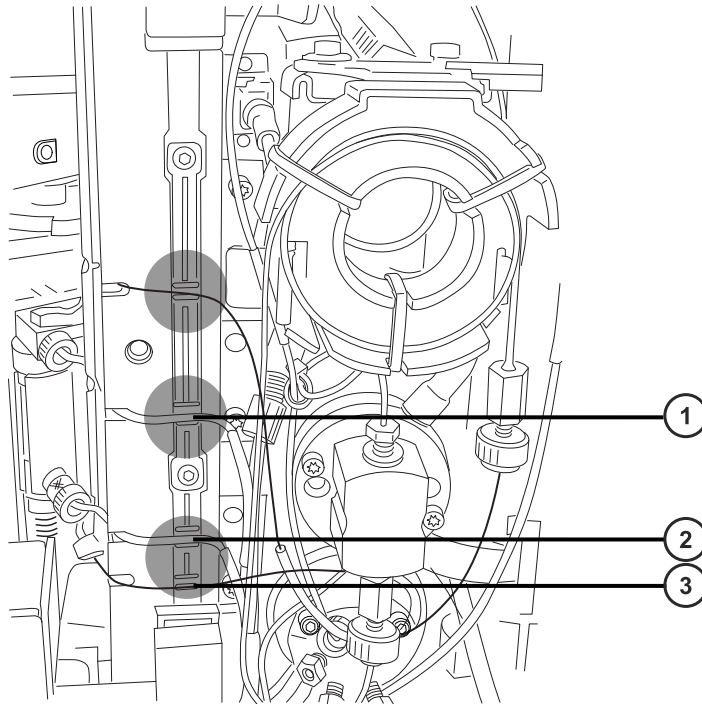
① Vite prigioniera

6. Per estrarre il gruppo della stazione di lavaggio dal relativo supporto:

Nota: Il gruppo della stazione di lavaggio non viene rimosso, ma viene temporaneamente separato dal supporto.

- a. Individuare i tubi di lavaggio e il tubo della porta a tenuta fissati sulla base da tre fermi. Scollegare i tubi dai tre fermi.

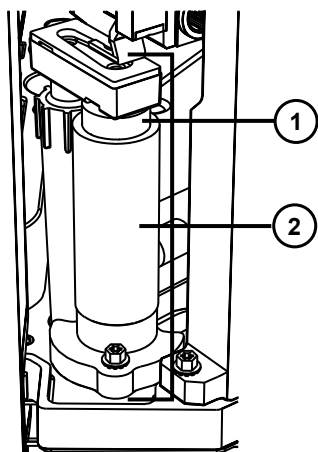
Figura 8–24: Posizione dei tubi di lavaggio e del tubo della porta a tenuta nei fermi



- ① Primo tubo di lavaggio nel fermo
- ② Secondo tubo di lavaggio nel fermo
- ③ Tubo della porta a tenuta nel fermo

b. Premere verso il basso il gruppo della stazione di lavaggio; quindi ruotarlo in senso orario per rimuoverlo temporaneamente dal supporto della stazione di lavaggio.

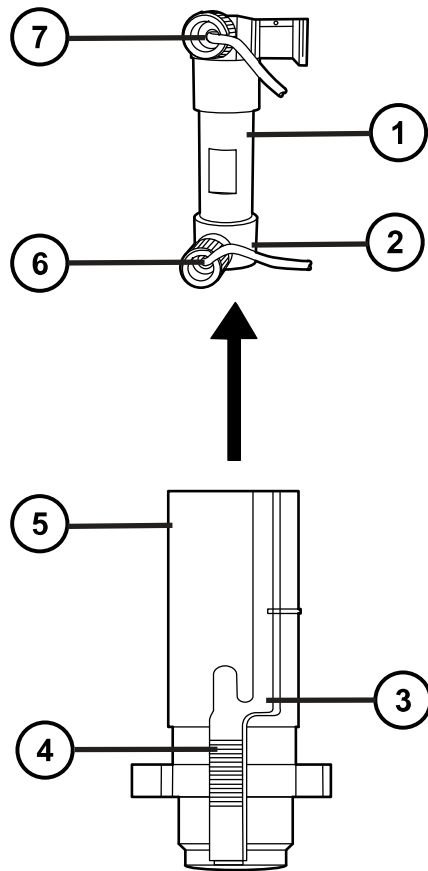
Figura 8–25: Staccare il gruppo della stazione di lavaggio dal relativo supporto



- ① Gruppo della stazione di lavaggio (all'interno del supporto della stazione di lavaggio)
- ② Supporto della stazione di lavaggio

7. Estrarre il gruppo della stazione di lavaggio dal relativo supporto.

Figura 8–26: Separazione del gruppo della stazione di lavaggio dal relativo supporto



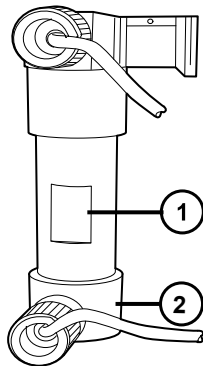
- ① Manicotto di supporto
- ② Posizione del dado di bloccaggio (dado non visibile)
- ③ Fessura
- ④ Molla
- ⑤ Supporto della stazione di lavaggio
- ⑥ Raccordo in PEEK della porta a tenuta (nell'immagine il tubo è più corto di quanto sia effettivamente)
- ⑦ Raccordo in PEEK della porta a tenuta (nell'immagine il tubo è più corto di quanto sia effettivamente)

Requisito: Assicurarsi che il dado di bloccaggio rimanga alloggiato all'interno della molla.

8. Individuare il dado di bloccaggio fissato alla parte inferiore del gruppo della stazione di lavaggio in cui è alloggiata la guarnizione dell'ago. Per accedere alla guarnizione dell'ago,

rimuovere il controdado utilizzando due chiavi a forcella da 7/16 in per garantire una presa adeguata.

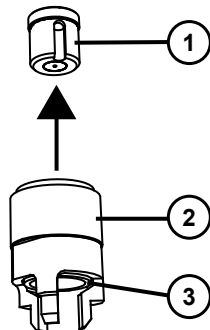
Figura 8–27: Posizioni in cui collocare le chiavi per rimuovere il controdado



- ① Collocare una chiave a forcella da 7/16 in qui sul manicotto di supporto
- ② Collocare l'altra chiave a forcella da 7/16 in qui vicino al dado di bloccaggio (non visibile)

9. Sollevare il bordo (o orlo) esterno del controdado. Inclinare il dado di bloccaggio per rimuovere la guarnizione dell'ago; quindi smaltirla.

Figura 8–28: Rimozione della guarnizione dell'ago dal dado di bloccaggio

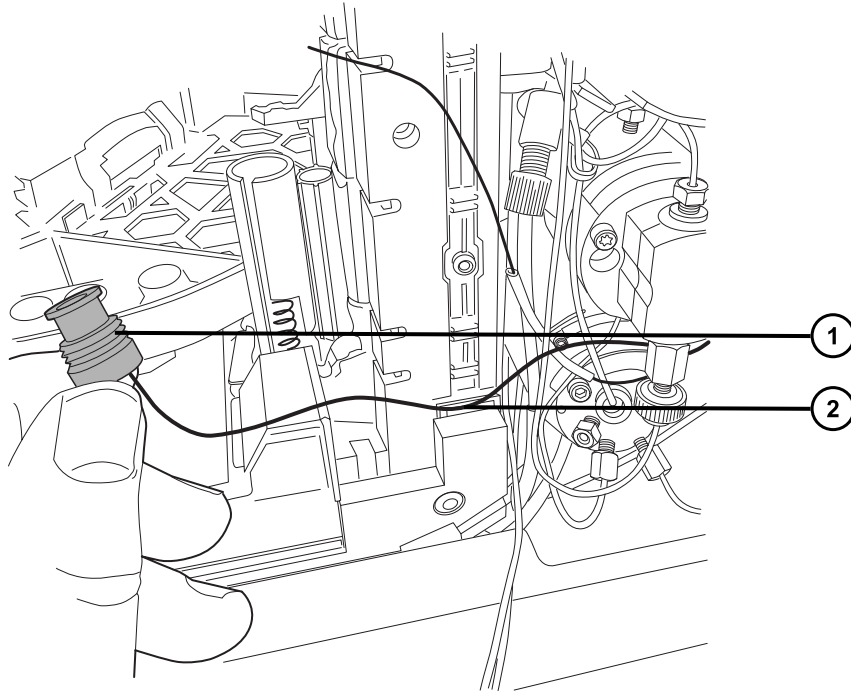


- ① Guarnizione
- ② Dado di bloccaggio (il dado effettivo è stato aggiornato in modo da non mostrare i denti)
- ③ Porta a tenuta

10. Quando si sostituisce la guarnizione dell'ago è consigliabile sostituire anche il tubo della porta a tenuta. Per rimuovere il tubo della porta a tenuta:

- a. Svitare il raccordo senza attrezzi collegato al tubo della porta a tenuta; quindi rimuovere un'estremità del tubo della porta a tenuta dalla porta 1 nella valvola di iniezione.
- b. Far passare il tubo della porta a tenuta attraverso il dado di bloccaggio, quindi rimuoverlo.

Figura 8–29: Rimozione del tubo della porta a tenuta



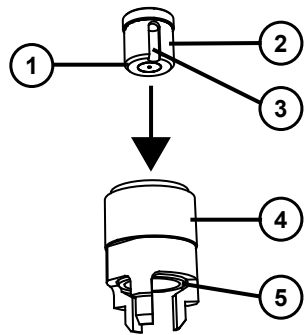
- ① Dado di bloccaggio
- ② Tubo della porta a tenuta

11. Inserire la guarnizione di ricambio nel dado di bloccaggio. La struttura della guarnizione ne consente l'installazione corretta, come indicano le due figure riportate di seguito.

! **Avviso:** per evitare di contaminare i componenti del sistema, lavorare su una superficie pulita e indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si sostituisce la guarnizione.

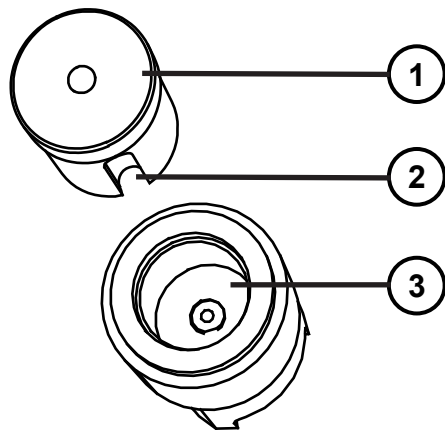
Nota: Anche se il dado di bloccaggio non è dotato di denti, nella seguente immagine vengono mostrati.

Figura 8–30: Inserimento della guarnizione di ricambio nel dado di bloccaggio



- ① Estremità a diametro minore
- ② Guarnizione
- ③ Tacca
- ④ Dado di bloccaggio
- ⑤ Porta a tenuta

Figura 8–31: Posizione della tacca della guarnizione



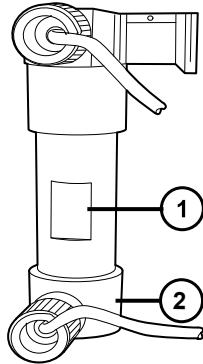
- ① Guarnizione
- ② Tacca
- ③ Coppa della guarnizione

12. Stringere a mano il dado di bloccaggio sul fondo del gruppo della stazione di lavaggio.
13. Posizionare le due chiavi a forcella da 7/16 in sul manicotto di supporto della stazione di lavaggio e procedere al serraggio.



Avviso: per evitare danni al tubo della porta a tenuta, non torcerlo in maniera eccessiva.

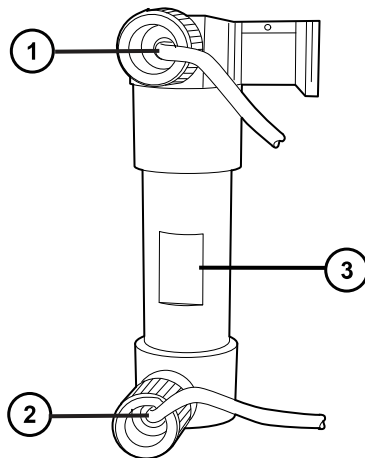
Figura 8–32: Posizioni in cui collocare le chiavi



- ① Collocare una chiave a forcella da 7/16 in qui sul manicotto di supporto
- ② Posizionare qui l'altra chiave a forcella da 7/16 in

14. Assicurarsi che il tubo della porta di tenuta rimanga in linea con il raccordo in PEEK presente nel manicotto di supporto.

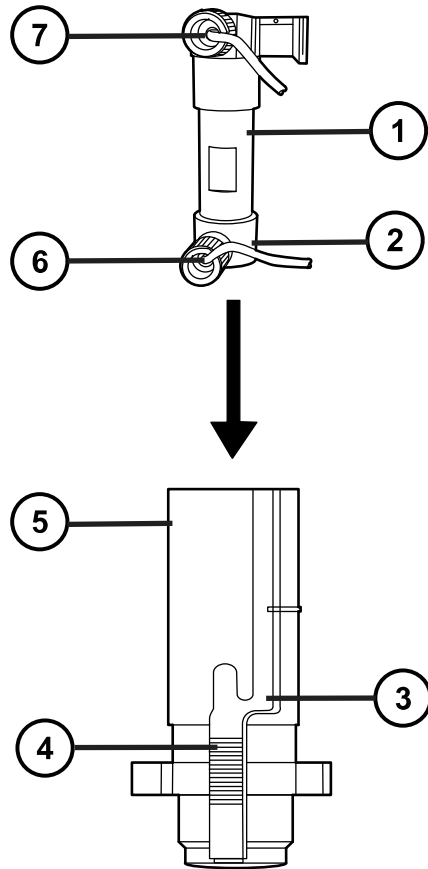
Figura 8–33: Tubo della porta a tenuta nel raccordo in PEEK



- ① Tubo della porta a tenuta nella parte superiore del raccordo in PEEK
- ② Tubo della porta a tenuta nella parte inferiore del raccordo in PEEK
- ③ Manicotto di supporto

15. Inserire il tubo della porta a tenuta nella fessura sul lato dell'alloggiamento.

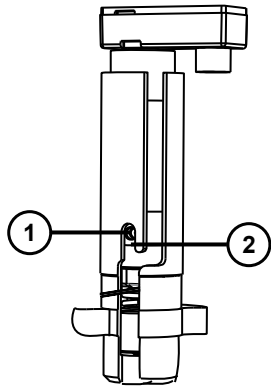
Figura 8–34: Inserimento del tubo della porta a tenuta nella fessura



- ① Manicotto di supporto
- ② Posizione del dado di bloccaggio (dado non visibile)
- ③ Fessura
- ④ Molla
- ⑤ Supporto della stazione di lavaggio
- ⑥ Raccordo in PEEK della porta a tenuta (nell'immagine il tubo è più corto di quanto sia effettivamente)
- ⑦ Raccordo in PEEK della porta a tenuta (nell'immagine il tubo è più corto di quanto sia effettivamente)

16. Inserire il manicotto di supporto nell'alloggiamento, assicurandosi che il foro di montaggio sul manicotto di supporto sia allineato con la fessura sull'alloggiamento.

Figura 8–35: Inserimento del manicotto di supporto nell'alloggiamento



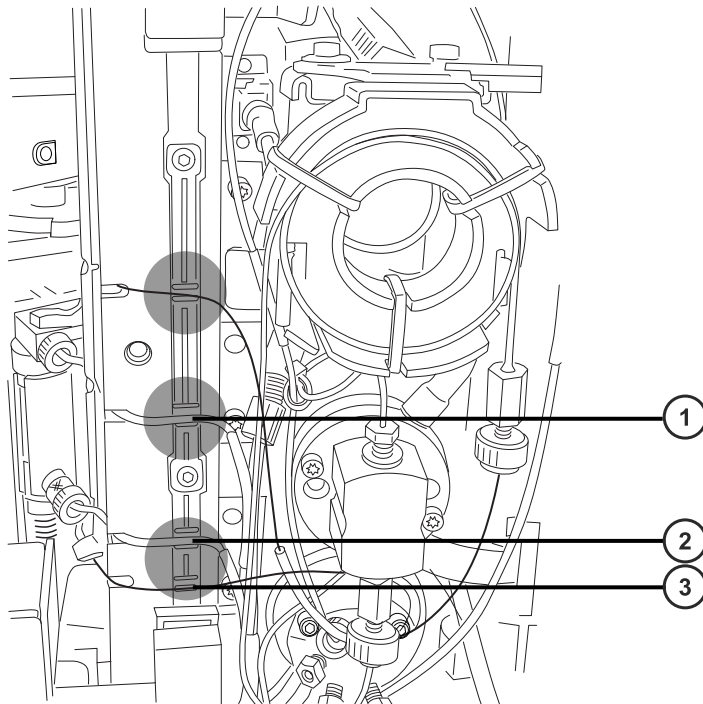
① Foro di montaggio

② Fessura

17. Reinscrivere i tubi nei fermi sul lato del vano campioni. Per esempio, far passare i tubi di lavaggio e il tubo della porta a tenuta attraverso i fermi.

Requisito: I tubi sono fissati alla parete e non deve interferire con il funzionamento del vassoio porta-campioni né con il movimento in verticale della porta di lavaggio.

Figura 8–36: Sostituire i tubi di lavaggio e il tubo della porta a tenuta nei fermi sulla parete del vano campioni



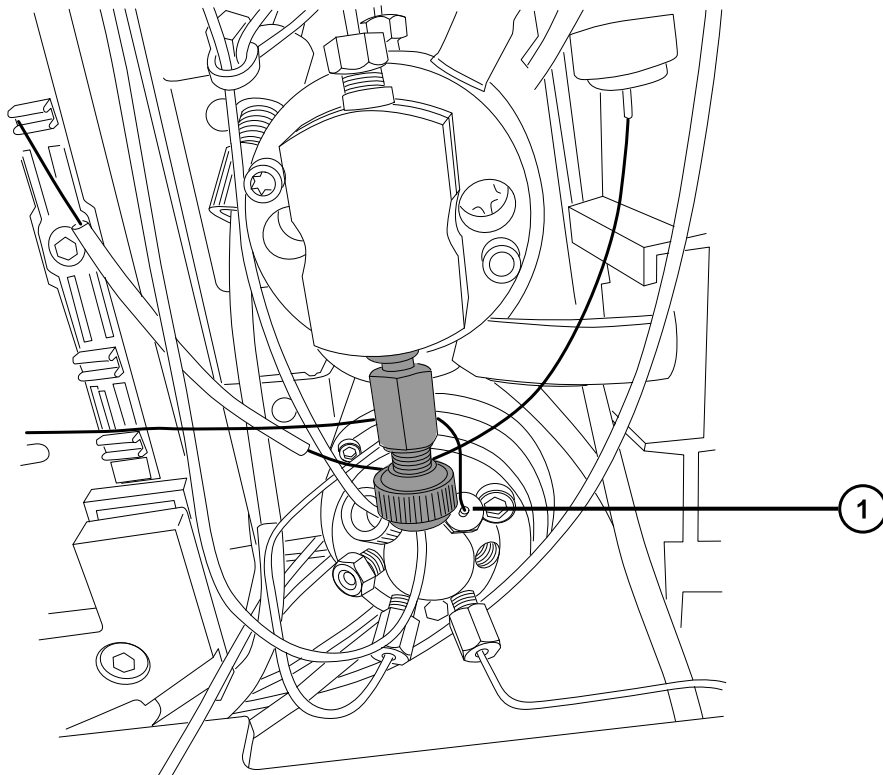
① Primo tubo di lavaggio nel fermo

② Secondo tubo di lavaggio nel fermo

③ Tubo della porta a tenuta nel fermo

18. Avvitare l'estremità del tubo della porta a tenuta nella porta 1 della valvola di iniezione; quindi utilizzare la chiave a forcella da 1/4 in per serrare il raccordo di 1/4 di giro dopo averlo stretto a mano.

Figura 8–37: Collegare il tubo della porta a tenuta alla valvola di iniezione



① Porta 1 sulla valvola di iniezione

19. Rimontare il pannello di accesso, quindi utilizzare il cacciavite TORX T20 per la singola vite che lo fissa alla parte anteriore dell'unità.

Requisito: Assicurarsi che il tubo della porta a tenuta e il tubo dell'ago per campioni passino attraverso l'apertura nel pannello di accesso e che non si incrocino.

20. Chiudere lo sportello del vano campioni e lo sportello del vano del sistema idraulico.

21. Toccare **COMMANDS > Reset** (COMANDI > Reimposta) per riaccendere i motori e riportare in posizione iniziale il trasportatore dell'ago.

22. Completare il test di disponibilità della guarnizione dell'ago per verificare che funzioni correttamente.

8.8.5 Sostituzione dell'ago per campioni

Sostituire l'ago ogni anno durante la manutenzione preventiva (PM) prescritta oppure ogni volta che l'ago appare danneggiato o piegato.

Consiglio: il servizio di assistenza tecnica Waters consiglia di sostituire la guarnizione dell'ago ogni volta che si sostituisce l'ago. Dopo aver completato questa procedura, consultare [Sostituzione della guarnizione dell'ago e del tubo della porta a tenuta \(Pagina 131\)](#).



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.

Attrezzi e materiali richiesti

- Gruppo dell'ago, noto anche come cartuccia dell'ago per campioni (700013880)
- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Cacciavite TORX T20

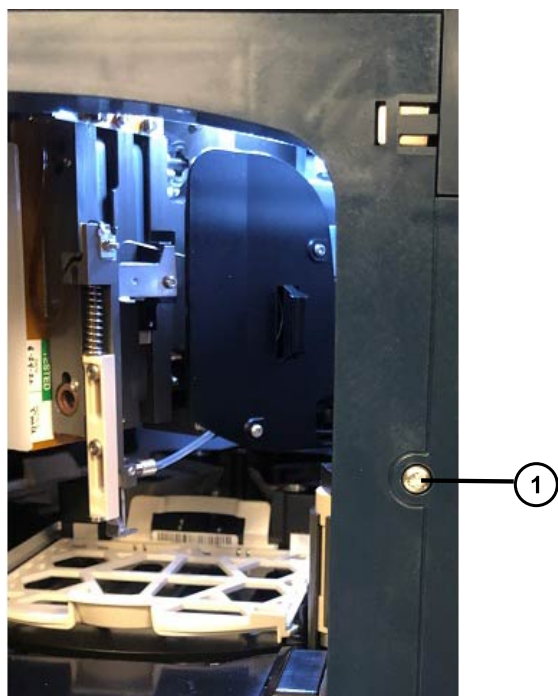
Per sostituire l'ago per campioni:



Attenzione: Assicurarsi di installare la cartuccia dell'ago come descritto nella procedura che segue. L'ago viene fornito assemblato nella cartuccia dell'ago e può rompersi facilmente se viene maneggiato in modo errato.

1. Assicurarsi che il sistema sia acceso.
2. Rimuovere le eventuali piastre per campioni dal vano campioni.
3. Portare l'ago per campioni nella posizione di assistenza:
 - a. Toccare **MAINTAIN** > **Service** > **Prepare to Replace the Needle** (MANUTENZIONE > Assistenza > Prepara la sostituzione dell'ago).
4. Aprire lo sportello del vano campioni e lo sportello del vano del sistema idraulico.
5. Utilizzando il cacciavite TORX T20, allentare le due viti prigioniere che fissano il pannello di accesso, quindi rimuoverlo.

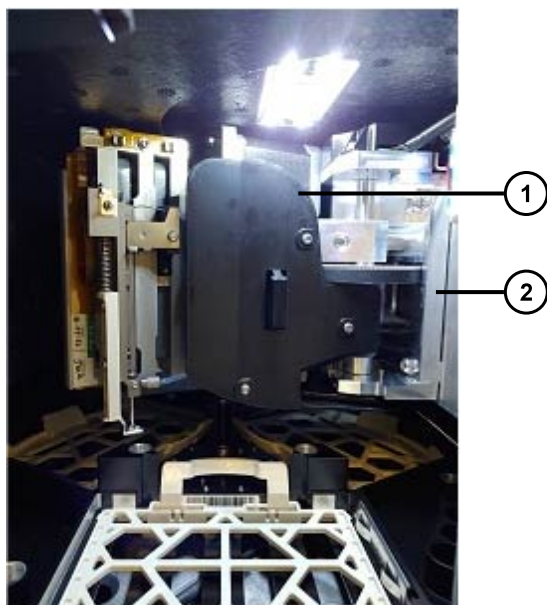
Figura 8–38: Vite prigioniera sul pannello di accesso



① Vite prigioniera

6. Posizionare la cartuccia dell'ago nel vano campioni. La cartuccia dell'ago alloggia l'ago e consente di fissarlo in posizione.

Figura 8–39: Posizione della cartuccia dell'ago nel vano campioni

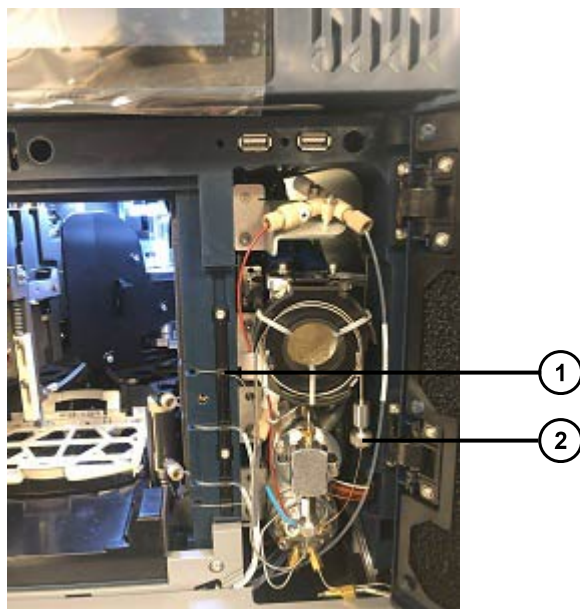


① Cartuccia dell'ago

② Area del vano campioni

7. Dal vano del sistema idraulico svitare il raccordo senza attrezzi che collega il loop del campione all'estremità dell'ago. Una volta svitato, rimuovere il tubo dell'ago dal fermo superiore nel punto in cui l'ago attraversa il vano del sistema idraulico e il vano campioni.

Figura 8–40: Raccordo senza attrezzi e fermo

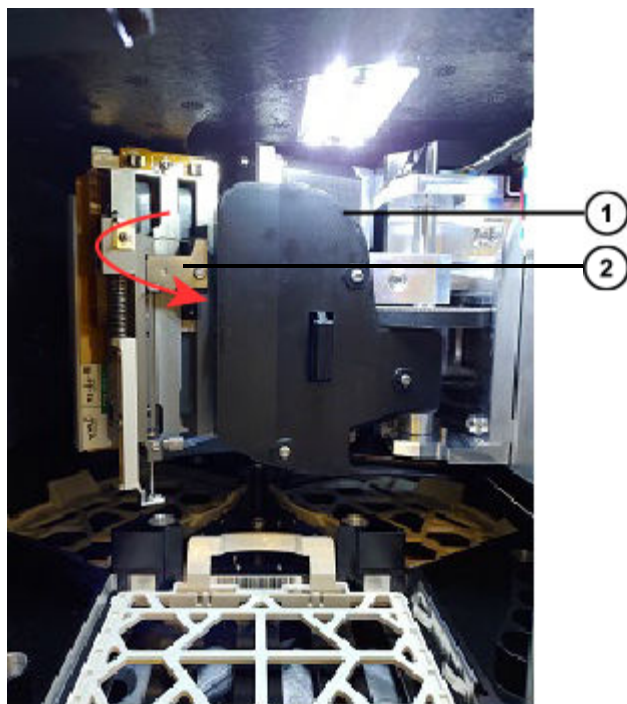


① Fermo superiore

② Raccordo senza attrezzi

8. Ruotare la leva girevole sul trasportatore dell'ago per rilasciare la cartuccia dell'ago.

Figura 8–41: Levetta girevole sul trasportatore dell'ago (la freccia rossa indica che l'apertura è in senso antiorario)

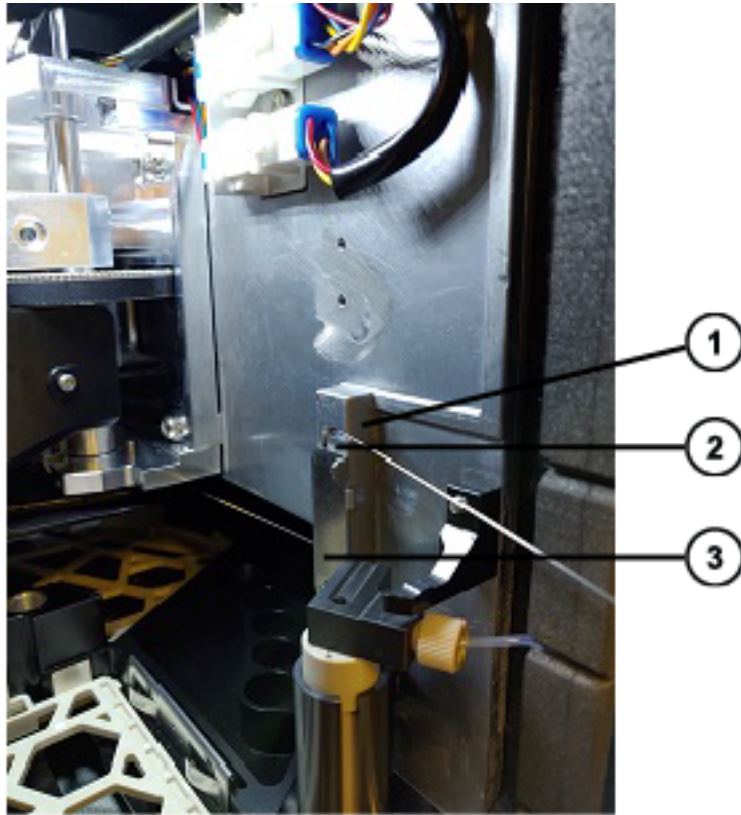


① Cartuccia dell'ago

② Leva girevole

9. Individuare il blocco con una piccola tacca che fissa l'ago per campioni sul lato destro della parete del vano campioni. Aprire la leva girevole ruotandola in senso orario; quindi rimuovere la parte a gradino dell'ago per campioni dalla tacca.

Figura 8–42: Seconda levetta di fissaggio girevole e tacca sulla parete del vano campioni



- ① Blocco sulla parete del vano campioni
- ② Inserire la parte a forma di gradino dell'ago per campioni nella piccola tacca
- ③ Seconda levetta girevole sulla parete del vano

10. Spingere in avanti l'ago per campioni; quindi, estrarlo dal gruppo dell'ago di iniezione nella parte inferiore dell'area del trasportatore dell'ago. Successivamente, rimuovere la cartuccia dell'ago dal vano campioni.



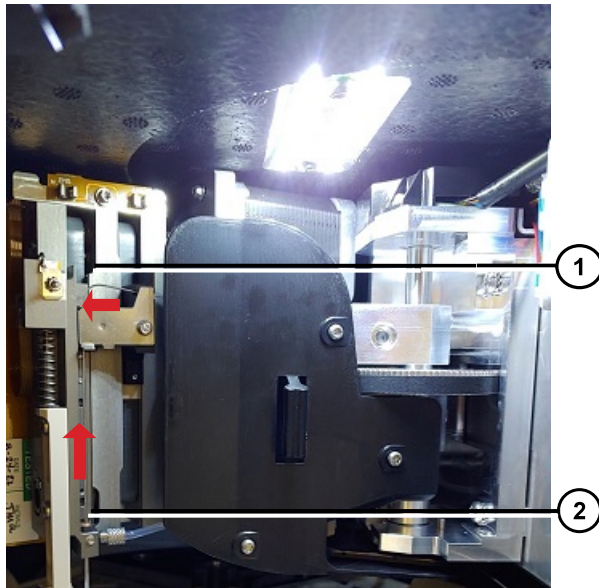
Avvertenza: per evitare di pungersi, maneggiare con estrema cura aghi per campioni, siringhe, linee in vetro di silice e punte in borosilicato.



Avviso: per evitare danni all'estremità dell'ago, non toccare e non premere l'estremità dell'ago per campioni.

Nota: Il gruppo dell'ago di iniezione è costituito dall'ago di iniezione, dal vespel e dall'alloggiamento in PEEK.

Figura 8–43: Rimozione dell'ago per campioni dal gruppo dell'ago di iniezione



- ① Ago per campioni
- ② Gruppo dell'ago di iniezione

11. Procurarsi l'ago di iniezione sostitutivo. Rimuovere il manicotto di protezione dalla punta dell'ago.
12. Individuare il magnete nella sezione incassata del braccio del trasportatore dell'ago. Montare la cartuccia dell'ago sul magnete.



Avvertenza: per evitare di pungersi, maneggiare con estrema cura aghi per campioni, siringhe, linee in vetro di silice e punte in borosilicato.



Avviso: per evitare danni all'estremità dell'ago, non toccare e non premere l'estremità dell'ago per campioni.

Figura 8–44: Posizione del magnete nel braccio del trasportatore dell'ago

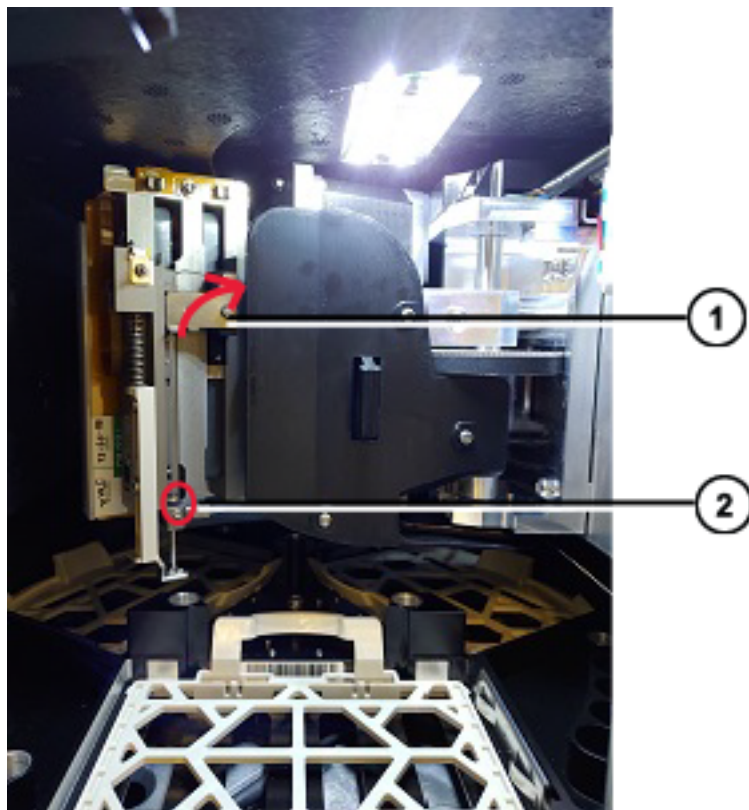


① Braccio del trasportatore dell'ago

② Magnete nella sezione incassata

13. Per installare l'ago per campioni nel gruppo del trasportatore dell'ago:
 - a. Inserire l'ago per campioni nella guida del vespel sul fondo del gruppo dell'ago di iniezione, come mostrato nella seguente figura.
 - b. Inserire la boccia nella parte superiore dell'ago nel fermo dell'ago in alto.
 - c. Dopo aver inserito la boccia nel fermo dell'ago, inserire il tubo nella tacca situata sopra la levetta di fissaggio.
 - d. Chiudere la levetta di fissaggio girevole ruotandola in senso orario.

Figura 8–45: Installazione dell'ago per campioni nel gruppo del trasportatore dell'ago

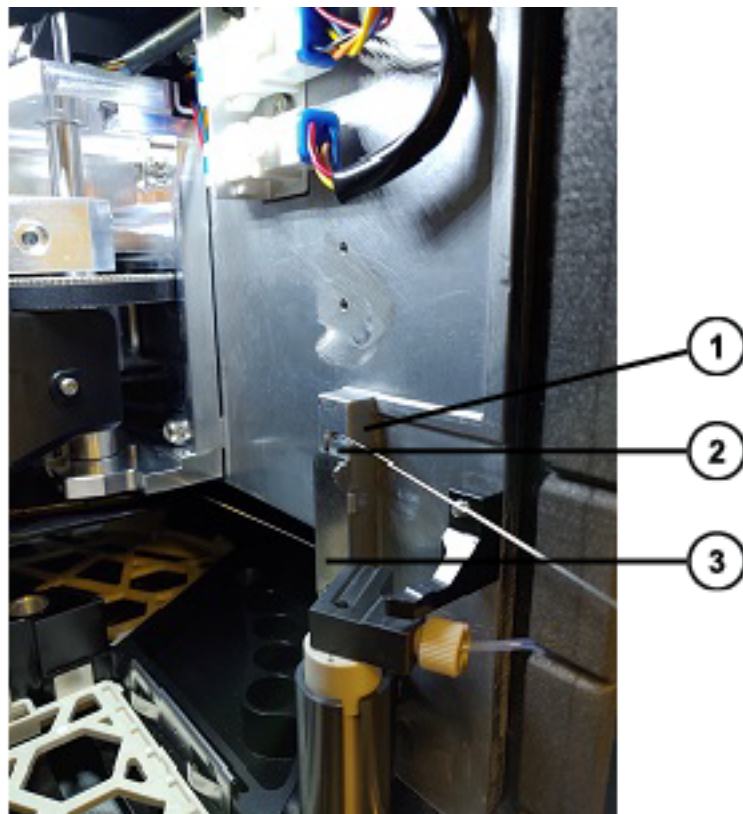


① Levetta girevole (la boccia si trova dietro la levetta girevole)

② Guida vespel

14. Far passare il tubo dell'ago attraverso la tacca nel blocco sulla parete del vano campioni. Ruotare quindi la leva girevole in senso antiorario per fissare il tubo dell'ago nella tacca.

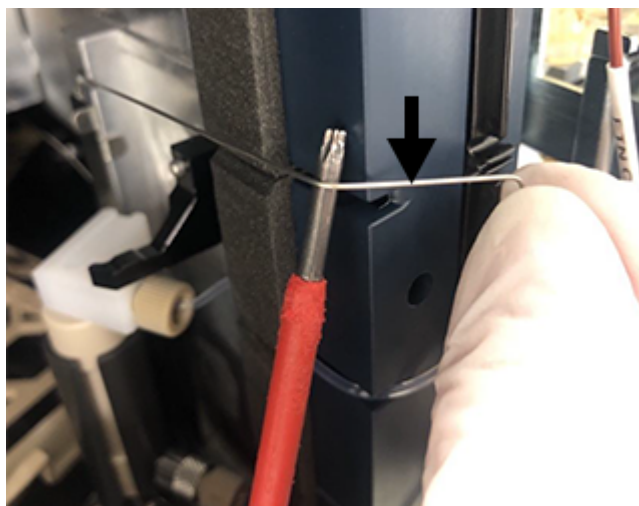
Figura 8–46: Fissaggio del tubo dell'ago nella tacca (seconda leva girevole sulla parete del vano)



- ① Piccolo blocco sulla parete del vano campioni
- ② Tubo dell'ago nella tacca
- ③ Levetta girevole sulla parete del vano campioni

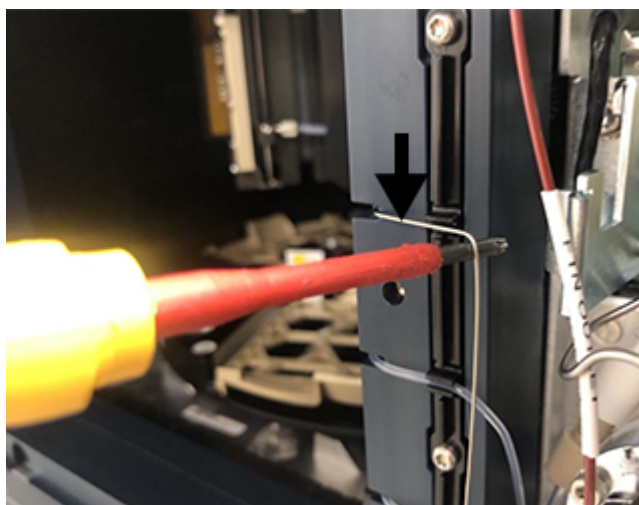
15. Piegare il tubo dell'ago (freccia) verso destra attorno alla cornice con un cacciavite TORX T20.

Figura 8–47: Piegatura del tubo dell'ago intorno alla cornice del vano



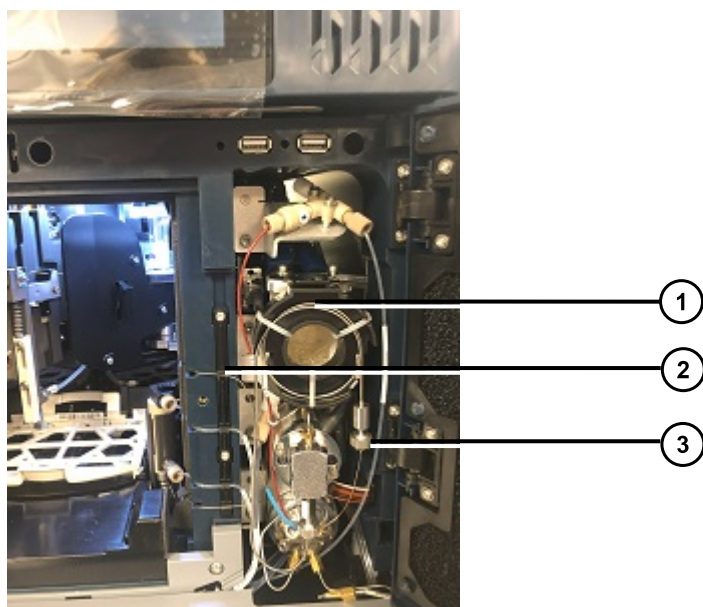
16. Piegare il tubo dell'ago (freccia) verso il basso come mostrato con un cacciavite TORX T20.

Figura 8–48: Piegatura del tubo dell'ago verso il basso



17. Collegare l'ago per campioni al loop di prolungamento utilizzando il raccordo senza attrezzi. Fissare quindi il tubo dell'ago nel fermo superiore.

Figura 8–49: Ricollegamento dell'ago per campioni al loop di prolungamento

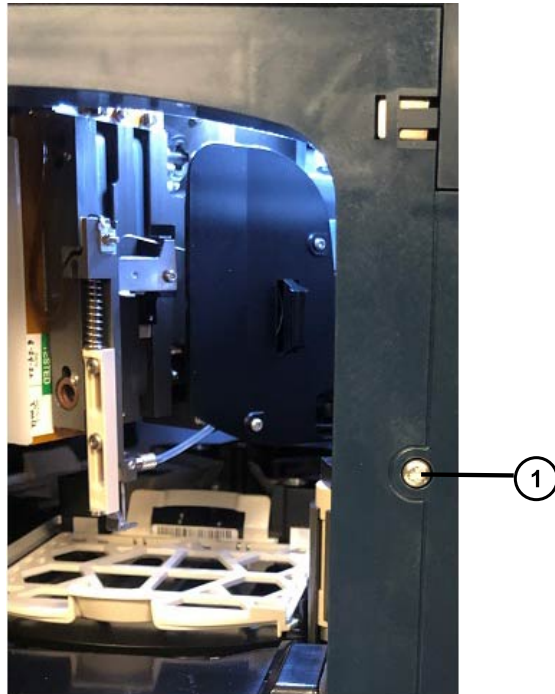


- ① Loop di prolungamento
- ② Tubo dell'ago nel fermo superiore.
- ③ Raccordo senza attrezzi

18. Reinstallare il pannello di accesso e allineare le linguette nella parte superiore del pannello di accesso alle fessure nella cornice. Installare quindi il pannello di accesso e utilizzare il cacciavite TORX T20 per la vite prigioniera che lo fissa alla parte anteriore del sistema.

Requisito: Assicurarsi che il tubo dell'ago sia inserito nel fermo superiore come indicato nella fase precedente.

Figura 8–50: Vite prigioniera sul pannello di accesso



① Vite prigioniera

19. Chiudere lo sportello del vano campioni e lo sportello del vano del sistema idraulico.

Consiglio: Waters raccomanda di sostituire la guarnizione dell'ago ogni volta che si sostituisce l'ago.

20. Calibrare l'ago:

- a. Toccare **MAINTAIN** > **Calibrate Axes** > **Calibrate Z-Axis** (Manutenzione > Calibrazione degli assi > Calibrazione dell'asse Z) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo finché non viene visualizzato il messaggio **Z-Axis Calibration Passed** (Calibrazione dell'asse Z superata). Toccare **DONE** (Fine).
- b. Toccare **MAINTAIN** > **Calibrate Axes** > **Calibrate Zp-Axis** (Manutenzione > Calibrazione degli assi > Calibrazione dell'asse Zp) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo finché non viene visualizzato il messaggio **Zp-Axis Calibration Passed** (Calibrazione dell'asse Zp superata). Toccare **DONE** (Fine).
- c. Toccare **MAINTAIN** > **Calibrate Axes** > **Calibrate B Θ -Axis** (Manutenzione > Calibrazione degli assi > Calibrazione dell'asse B Θ) e seguire le istruzioni visualizzate sullo schermo finché non viene visualizzato il messaggio **B Θ -Axis Calibration Passed** (Calibrazione dell'asse B Θ superata). Toccare **NEXT** > **HOME** > **DONE** (Avanti > Home > Fine).

8.9 Procedure di manutenzione del rivelatore

In questa sezione sono descritte le procedure di manutenzione per i rivelatori TUV e PDA di Alliance iS HPLC System che possono essere eseguite dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.

Le procedure comprendono:

- Sostituzione del sensore di perdita
- Sostituzione del sensore della cella di flusso
- Sostituzione della lampada

8.9.1 Sostituzione del sensore di perdita del rivelatore

Un sensore di perdita nel vassoio di raccolta gocce controlla ininterrottamente il rivelatore per riscontrare eventuali perdite.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

Il sensore di perdita del rivelatore interrompe il flusso del sistema quando rileva una perdita di liquido accumulatasi nel recipiente. Quando il sensore rileva una perdita, sul touchscreen del sistema viene visualizzato un messaggio di allarme.

Attrezzi e materiali richiesti

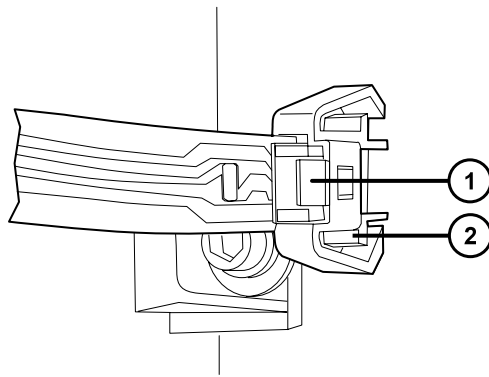
- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Sostituzione del sensore di perdita

Per sostituire il sensore di perdita del rivelatore:

1. Aprire lo sportello del rivelatore tirando delicatamente verso di sé il bordo destro.
2. Rimuovere il vecchio sensore di perdita:
 - a. Per scollegare il connettore del sensore di perdita dal lato anteriore dello strumento, premere verso il basso l'aletta di rilascio.

Nota: La seguente figura è riportata solo a scopo illustrativo. L'hardware in uso potrebbe differire leggermente da quello mostrato.

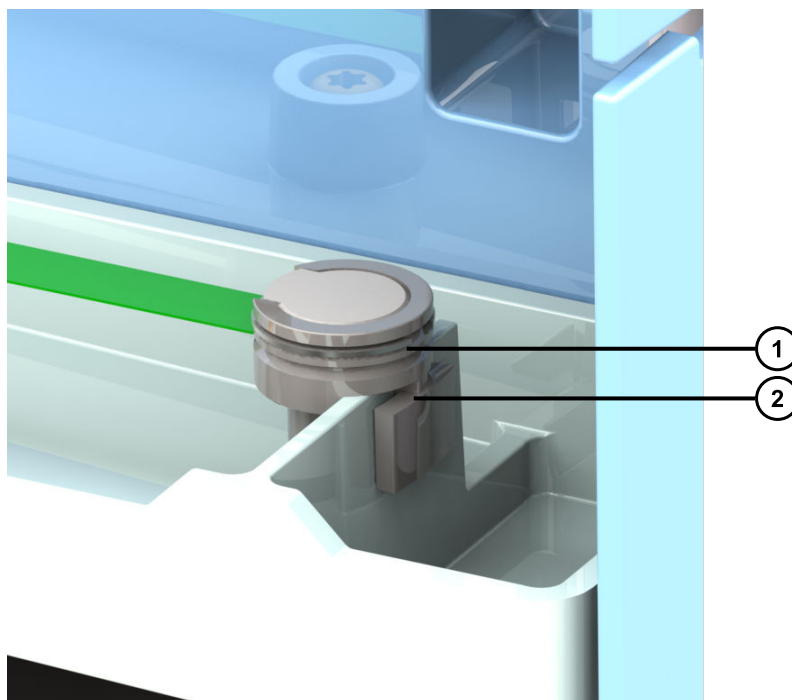
Figura 8–51: Scollegamento del sensore di perdita



- ① Aletta di rilascio
- ② Connettore del sensore di perdita

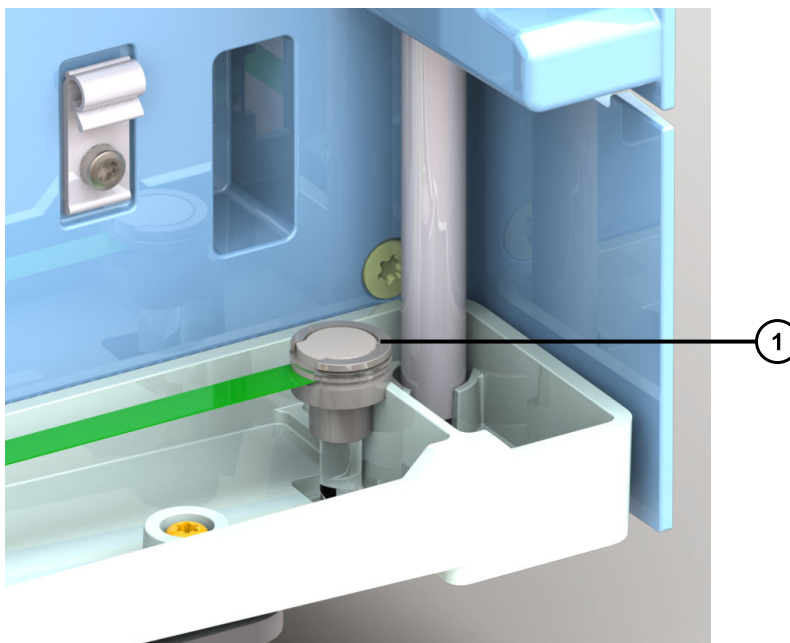
- b. Per rimuovere il sensore di perdita dal recipiente, afferrarlo per la parte dentata intorno alla parte superiore e tirarlo verso l'alto (vedere la Figura "Sensore di perdita installato, vista posteriore").
3. Installare il nuovo sensore di perdita:
- a. Tenendo il sensore di perdita per la parte dentata, allineare la barra a T alla fessura sul lato del recipiente e farlo scorrere fino a inserirlo in posizione (vedere la Figura "Sensore di perdita installato, vista posteriore").

Figura 8–52: Sensore di perdita installato, vista posteriore



- ① Parte dentata
- ② Barra a T innestata nella fessura del recipiente

Figura 8–53: Sensore di perdita installato, vista frontale



① Sensore di perdita

- b. Collegare il connettore del sensore di perdita sul lato anteriore dello strumento.
4. Chiudere lo sportello del rivelatore.
5. Dalla [Commands view \(Pagina 57\)](#) (Vista comandi) del touchscreen del sistema, toccare **Reset** (Reimpostazione).

8.9.2 Sostituzione della cella di flusso del rivelatore TUV

Per evitare errori di sistema, sostituire la cella di flusso del rivelatore TUV ogni volta che appare sporca, contaminata o ostruita.

Fare inoltre riferimento a: *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS) (715001307IT).*

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Cacciavite a testa piatta da 4,8 mm (1/4 in)
- Metanolo di grado HPLC
- Acqua di grado HPLC
- Cella di flusso di ricambio

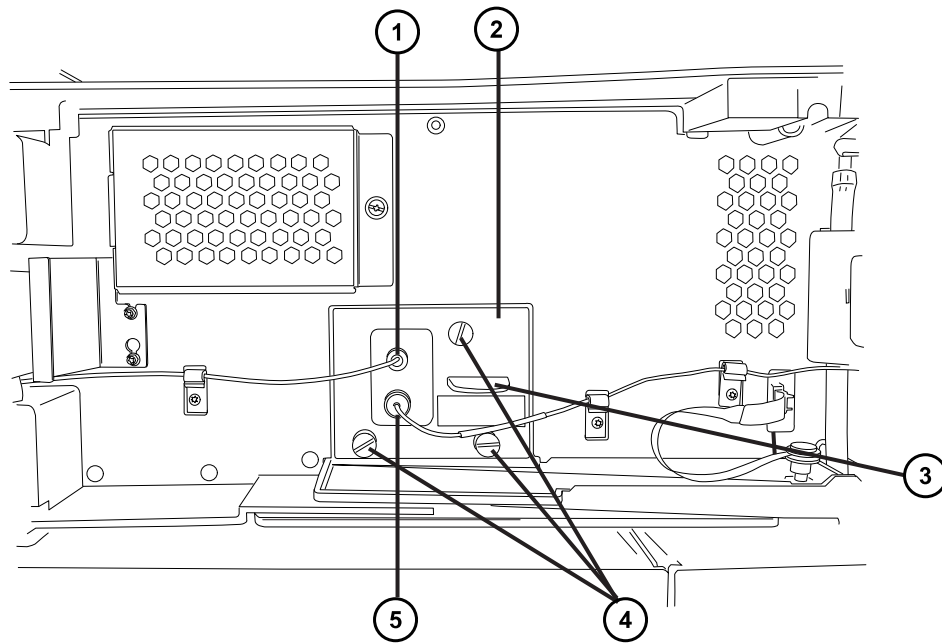
Per sostituire la cella di flusso del rivelatore TUV:

! Avviso:

- Per evitare di contaminare la cella di flusso, durante l'utilizzo, la rimozione o la sostituzione della stessa, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici.
- Per evitare di danneggiare la cella di flusso, maneggiarla con cautela. Non smontare la cella di flusso.

1. Aprire lo sportello del rivelatore TUV tirando delicatamente verso di sé il bordo destro.
2. Scollegare i tubi di ingresso e uscita del rivelatore TUV.

Figura 8–54: Individuazione della cella di flusso (vista sportello del rivelatore TUV aperto)



- ① Tubo di uscita
- ② Gruppo della cella di flusso
- ③ Impugnatura della cella di flusso
- ④ Viti a testa zigrinata (3)
- ⑤ Tubi di ingresso

3. Rimuovere e, successivamente, lavare la cella di flusso prima di stoccarla:

- a. Con un cacciavite, allentare le tre viti a testa zigrinata presenti sulla piastra anteriore del gruppo della cella di flusso.
- b. Rimuovere la cella di flusso afferrandone la maniglia e tirando delicatamente il gruppo verso di sé.
- c. Waters consiglia di lavare la vecchia cella di flusso prima dello stoccaggio. Selezionare un solvente compatibile con i campioni e le fasi mobili utilizzati. Se sono stati utilizzati tamponi, eseguire il lavaggio della cella con 10 mL di acqua di grado HPLC; quindi eseguire il lavaggio con 10 mL di un solvente a bassa tensione superficiale, per esempio metanolo.

Requisito: Accertarsi che il solvente utilizzato sia miscibile con la fase mobile precedente.

4. Disimballare e ispezionare la nuova cella di flusso, assicurandosi che sia di tipo corretto per l'applicazione specifica.

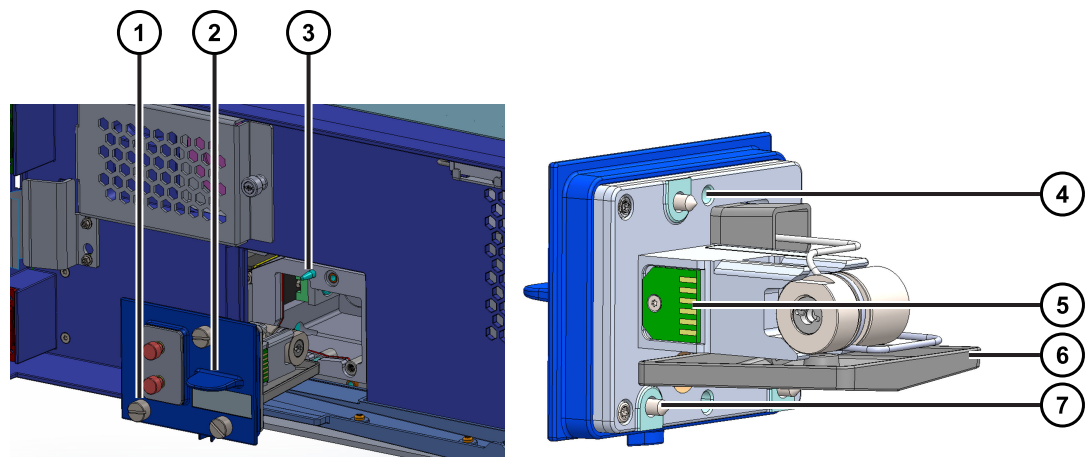
Nota: Quando si sostituisce la cella di flusso, sostituire il relativo tubo di ingresso con quello fornito con la nuova cella di flusso.

5. Installare la nuova cella di flusso.

- a. Allineare il gruppo della cella di flusso con la parte anteriore all'apertura, quindi inserirlo lentamente in modo che le due sedi di allineamento (sul lato posteriore della parte anteriore della flangia della cella) si innestino nei perni del vano della cella.

Suggerimento: Quando si inserisce la cella, il relativo vassoio di raccolta gocce garantisce il corretto allineamento dei perni del vano e delle sedi della flangia della cella.

Figura 8–55: Installazione del gruppo della cella di flusso del rivelatore TUV



- ① Vite a testa zigrinata (3)
- ② Maniglia della cella di flusso (l'etichetta sottostante varia a seconda del tipo di cella)
- ③ Perno di allineamento del vano (2)

④ Sede di allineamento della flangia della cella (2)

⑤ Chip ID cella di flusso

⑥ Vassoio di raccolta gocce

⑦ Vite a testa zigrinata (3, vista posteriore)

b. Continuare a inserire la cella di flusso finché le tre viti a testa zigrinata sono allineate ai rispettivi fori nel blocco di fissaggio.

c. Stringere a mano le viti a testa zigrinata e verificare che siano fissate utilizzando un cacciavite.

6. Collegare il tubo di ingresso al collegamento della colonna principale e all'ingresso della cella di flusso, quindi collegare il tubo di uscita all'uscita della cella di flusso.

7. Assicurarsi che la cella di flusso sia stata riempita con solvente degassificato e trasparente (acetone nitrile o acqua) e che sia priva di bolle d'aria.

8. Spegnerne e riaccendere il sistema.

9. Dopo aver acceso il sistema, sul touchscreen, toccare **Maintain > Calibrate Detector > Verify Calibration** (Manutenzione > Calibrazione del rivelatore > Verifica calibrazione).

Nota: Se la verifica ha esito negativo, risolvere i problemi e ripetere la verifica.

Se la verifica continua a fallire, toccare **Maintain > Calibrate Detector > Calibrate**

Wavelengths (Manutenzione > Calibrazione del rivelatore > Calibra lunghezze d'onda).

8.9.3 Sostituzione della cella di flusso del rivelatore PDA

Per evitare errori di sistema, sostituire la cella di flusso del rivelatore PDA ogni volta che appare sporca, contaminata o ostruita.

Fare inoltre riferimento a: *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS) (715001307IT).*

Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Cacciavite a testa piatta da 4,8 mm (1/4 in)
- Metanolo di grado HPLC
- Acqua di grado HPLC
- Cella di flusso di ricambio

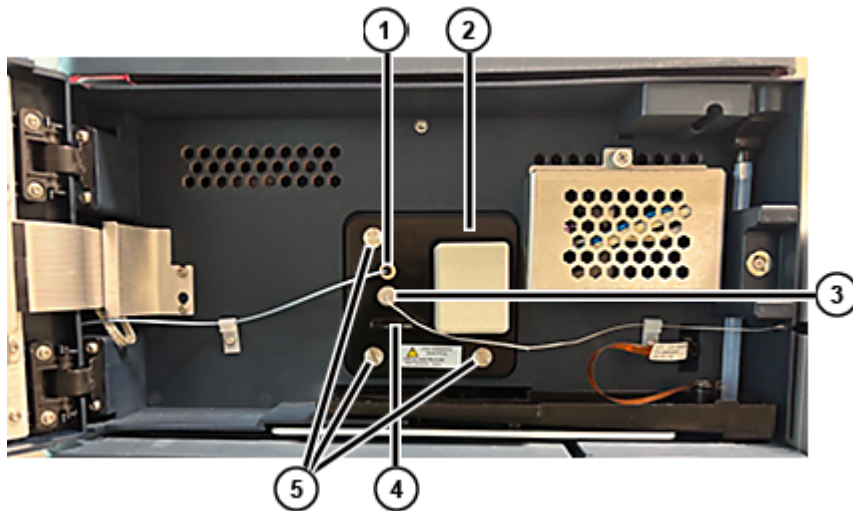
Per sostituire la cella di flusso del rivelatore PDA:

! Avviso:

- Per evitare di contaminare la cella di flusso, durante l'utilizzo, la rimozione o la sostituzione della stessa, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici.
- Per evitare di danneggiare la cella di flusso, maneggiarla con cautela. Non smontare la cella di flusso.

1. Aprire lo sportello del rivelatore PDA tirando delicatamente verso di sé il bordo destro.
2. Scollegare i tubi di ingresso e uscita del rivelatore PDA.

Figura 8–56: Individuazione della cella di flusso (vista sportello del rivelatore PDA aperto)



- ① Tubo di uscita
- ② Gruppo della cella di flusso
- ③ Tubi di ingresso
- ④ Impugnatura della cella di flusso
- ⑤ Viti a testa zigrinata (3)

3. Rimuovere e, successivamente, lavare la cella di flusso prima di stoccarla:

- a. Con un cacciavite, allentare le tre viti a testa zigrinata presenti sulla piastra anteriore del gruppo della cella di flusso.
- b. Rimuovere la cella di flusso afferrandone la maniglia e tirando delicatamente il gruppo verso di sé.
- c. Waters consiglia di lavare la vecchia cella di flusso prima dello stoccaggio. Selezionare un solvente compatibile con i campioni e le fasi mobili utilizzati. Se sono stati utilizzati tamponi, eseguire il lavaggio della cella con 10 mL di acqua di grado HPLC; quindi eseguire il lavaggio con 10 mL di un solvente a bassa tensione superficiale, per esempio metanolo.

Requisito: Accertarsi che il solvente utilizzato sia miscibile con la fase mobile precedente.

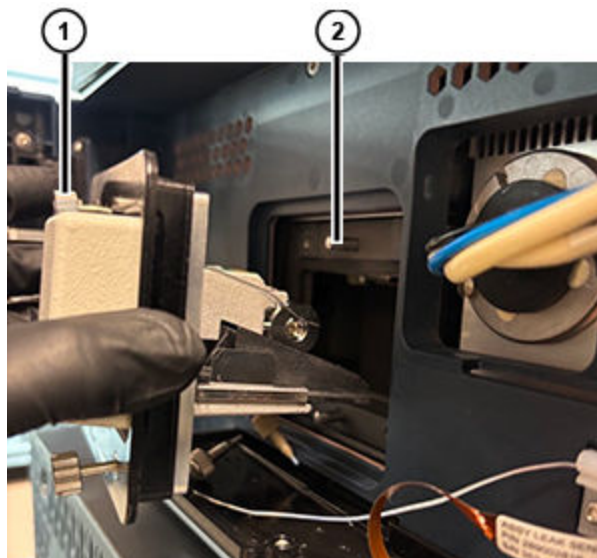
4. Disimballare e ispezionare la nuova cella di flusso, assicurandosi che sia di tipo corretto per l'applicazione specifica.

Nota: Quando si sostituisce la cella di flusso, sostituire il relativo tubo di ingresso con quello fornito con la nuova cella di flusso.

5. Installare la nuova cella di flusso.
 - a. Allineare il gruppo della cella di flusso con la parte anteriore all'apertura, quindi inserirlo lentamente in modo che le due sedi di allineamento (sul lato posteriore della parte anteriore della flangia della cella) si innestino nei perni del vano della cella.

Suggerimento: Quando si inserisce la cella, il relativo vassoio di raccolta gocce garantisce il corretto allineamento dei perni del vano e delle sedi della flangia della cella.

Figura 8–57: Installazione del gruppo della cella di flusso del rivelatore PDA

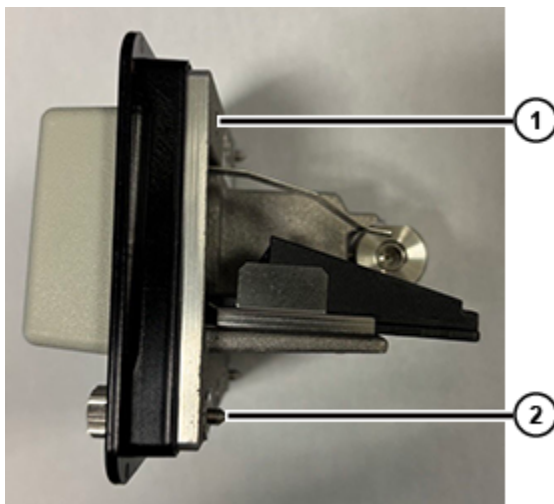


- ① Vite a testa zigrinata (3)

② Perno di allineamento del vano (2)

- b. Continuare a inserire la cella di flusso finché le tre viti a testa zigrinata sono allineate ai rispettivi fori nel blocco di fissaggio.

Figura 8–58: Allineamento del gruppo della cella di flusso del rivelatore



① Sede di allineamento della flangia della cella (2)

② Vite a testa zigrinata (3)

- c. Stringere a mano le viti a testa zigrinata e verificare che siano fissate utilizzando un cacciavite.
6. Collegare il tubo di ingresso al collegamento della colonna principale e all'ingresso della cella di flusso, quindi collegare il tubo di uscita all'uscita della cella di flusso.
7. Assicurarsi che la cella di flusso sia stata riempita con solvente degassificato e trasparente (acetone nitrile o acqua) e che sia priva di bolle d'aria.
8. Spegnerne e riaccendere il sistema.
9. Dopo aver acceso il sistema, sul touchscreen, toccare **Maintain > Verify Calibration** (Manutenzione > Verifica calibrazione).

Nota: Se la verifica ha esito negativo, risolvere i problemi e ripetere la verifica. Se la verifica continua a non riuscire, eseguire una calibrazione dell'erbio. Fare riferimento a [Calibrazione dell'erbio \(Pagina 43\)](#).

8.9.4 Sostituzione della lampada del rivelatore TUV

Sostituire la lampada del rivelatore TUV una volta l'anno durante la manutenzione preventiva (PM) prescritta o ogni volta che non riesce ad accendersi ripetutamente o quando il rivelatore non riesce a eseguire la calibrazione. Il sistema rileva la lampada automaticamente al momento

dell'installazione; inoltre, il numero di serie e la data di installazione vengono registrati automaticamente nella tabella *Lamp Change Record* (Record di sostituzione della lampada).

Nota: Waters garantisce una durata della lampada pari a 2000 ore o un anno di funzionamento dalla data di acquisto, a seconda di quale condizione si verifichi per prima.



Avvertenza: per evitare ustioni, lasciare raffreddare la lampada per 30 minuti prima di procedere alla rimozione. L'alloggiamento della lampada tende a surriscaldarsi durante il funzionamento.



Avvertenza: per evitare lesioni oculari provocate dall'esposizione a radiazioni ultraviolette:

- Spegnere il rivelatore prima di sostituire la lampada.
- Indossare occhiali di protezione dotati di filtro per raggi ultravioletti.
- Tenere la lampada all'interno dell'alloggiamento durante il funzionamento.

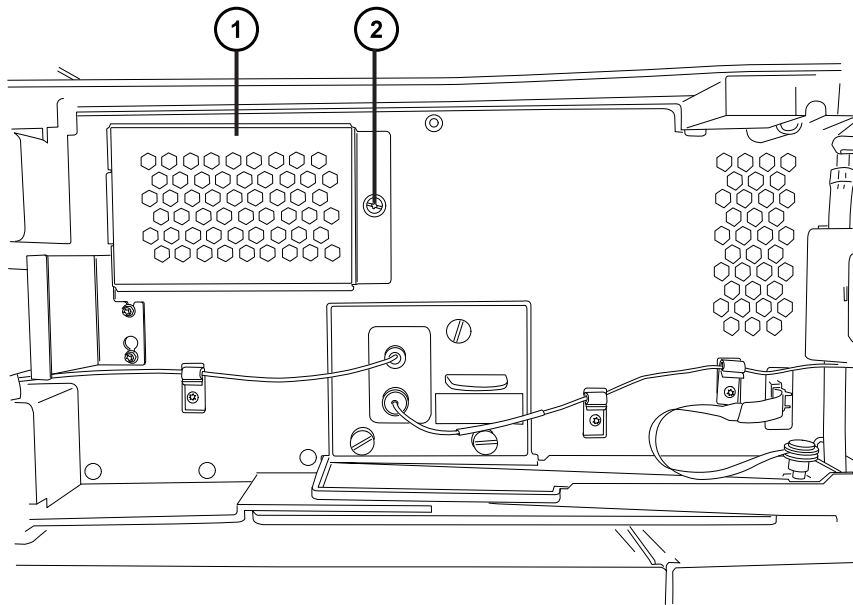
Per sostituire la lampada:



Attenzione: Assicurarsi di lasciar raffreddare la lampada per almeno 30 minuti prima di iniziare questa procedura.

1. Spegnere il sistema, quindi scollegare il cavo di alimentazione.
2. Aprire lo sportello del rivelatore TUV.
3. Individuare il coperchio del gruppo della lampada (vedere la figura seguente).
4. Per rimuovere il coperchio del gruppo della lampada, rimuovere la vite con testa a croce con un cacciavite Phillips (vedere la figura che segue).
5. Sollevare il coperchio del gruppo della lampada.

Figura 8–59: Coperchio del gruppo della lampada

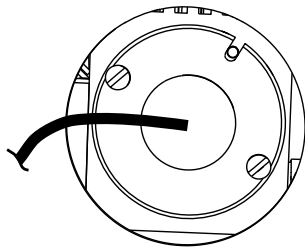


① Coperchio del gruppo della lampada

② Vite con testa a croce

6. Scollegare il cavo di alimentazione dalla lampada.
7. Allentare le due viti prigioniere sulla base della lampada.

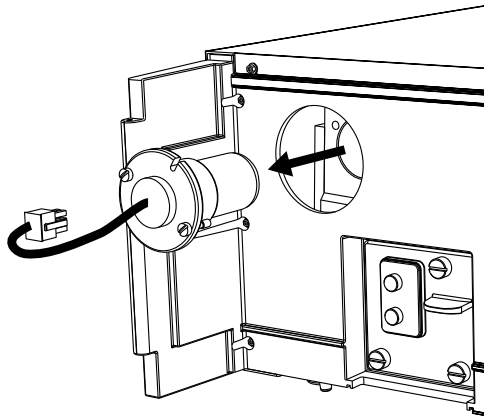
Figura 8–60: Viti prigioniere della base del gruppo della lampada



8. Estrarre il gruppo della lampada dall'alloggiamento della lampada.

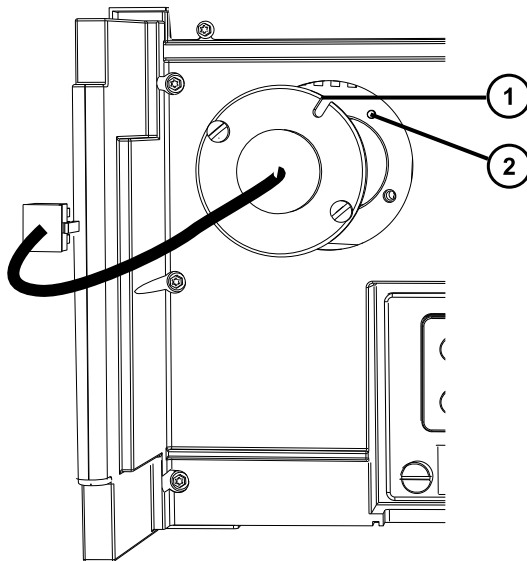
! **Avviso:** Per evitare la rottura del vetro, fare attenzione quando si smaltisce la lampada in quanto il gas contenuto nella lampada è sottoposto a una lieve pressione negativa.

Figura 8–61: Rimozione del gruppo della lampada



9. Collocare la nuova lampada in modo che l'incavo alla sua base si trovi in posizione ore 1, in linea con il perno di allineamento sull'alloggiamento della lampada.

Figura 8–62: Allineamento della lampada



- 1 Incavo alla base della lampada in posizione ore 1
- 2 Perno di allineamento sull'alloggiamento della lampada

10. Spingere delicatamente la lampada in avanti fino ad alloggiarla completamente.
11. Serrare le due viti prigioniere.
12. Ricollegare i connettori di alimentazione della lampada.
13. Reinstallare il coperchio del gruppo della lampada utilizzando le viti con testa a croce.
14. Quando si è pronti a ripristinare il funzionamento del rivelatore TUV, ricollegare il cavo di alimentazione e accendere il sistema.

8.9.5 Sostituzione della lampada del rivelatore PDA

Sostituire la lampada del rivelatore PDA una volta l'anno durante la manutenzione preventiva (PM) prescritta o ogni volta che non riesce ad accendersi ripetutamente o quando il rivelatore non riesce a eseguire la calibrazione. Il sistema rileva la lampada automaticamente al momento dell'installazione; inoltre, il numero di serie e la data di installazione vengono registrati automaticamente nella tabella Lamp Change Record (Record di sostituzione della lampada).

Nota: Waters garantisce una durata della lampada pari a 2000 ore o un anno di funzionamento dalla data di acquisto, a seconda di quale condizione si verifichi per prima.



Avvertenza: per evitare ustioni, lasciare raffreddare la lampada per 30 minuti prima di procedere alla rimozione. L'alloggiamento della lampada tende a surriscaldarsi durante il funzionamento.



Avvertenza: per evitare lesioni oculari provocate dall'esposizione a radiazioni ultraviolette:

- Spegnere il rivelatore prima di sostituire la lampada.
- Indossare occhiali di protezione dotati di filtro per raggi ultravioletti.
- Tenere la lampada all'interno dell'alloggiamento durante il funzionamento.

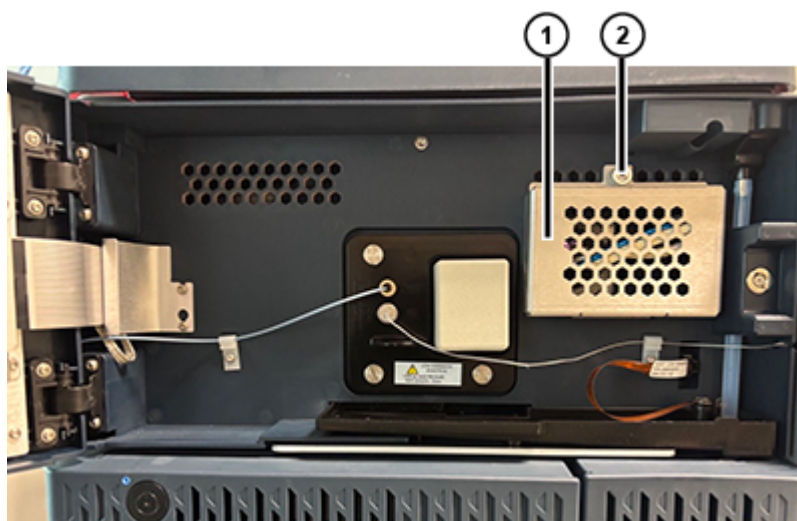
Per sostituire la lampada:



Attenzione: Assicurarsi di lasciar raffreddare la lampada per almeno 30 minuti prima di iniziare questa procedura.

1. Spegnere il sistema, quindi scollegare il cavo di alimentazione.
2. Aprire lo sportello del rivelatore PDA.
3. Individuare il coperchio del gruppo della lampada (vedere la figura seguente).
4. Per rimuovere il coperchio del gruppo della lampada, rimuovere la vite con testa a croce con un cacciavite Phillips (vedere la figura che segue).
5. Sollevare il coperchio del gruppo della lampada.

Figura 8–63: Coperchio del gruppo della lampada



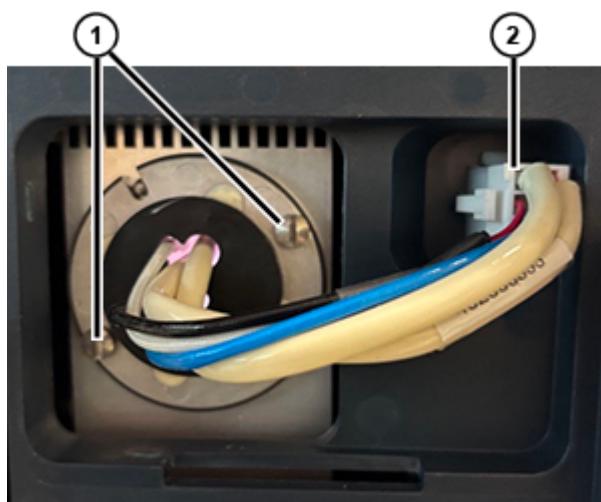
① Coperchio del gruppo della lampada

② Vite con testa a croce

6. Scollegare il cavo di alimentazione dalla lampada.

7. Allentare le due viti prigioniere sulla base della lampada.

Figura 8–64: Viti prigioniere della base del gruppo della lampada



① Viti prigioniere

② Cavo della lampada

8. Estrarre il gruppo della lampada dall'alloggiamento della lampada.

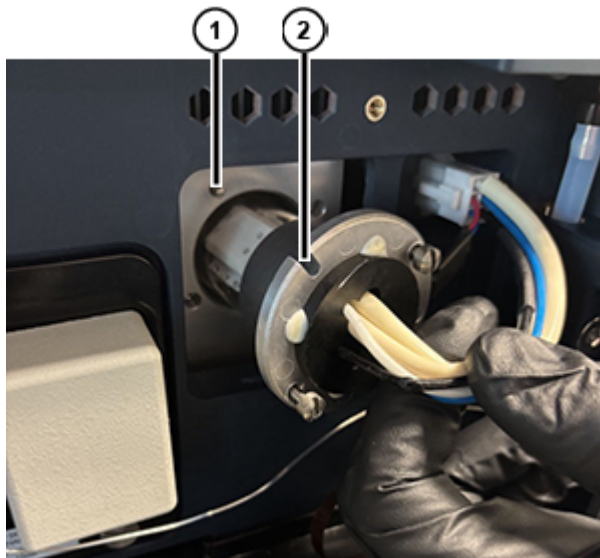
- !** **Avviso:** Per evitare la rottura del vetro, fare attenzione quando si smaltisce la lampada in quanto il gas contenuto nella lampada è sottoposto a una lieve pressione negativa.

Figura 8–65: Rimozione del gruppo della lampada



9. Collocare la nuova lampada in modo che l'incavo alla sua base si trovi in posizione ore 11, in linea con il perno di allineamento sull'alloggiamento della lampada.

Figura 8–66: Allineamento della lampada



- ① Incavo alla base della lampada in posizione ore 11
- ② Perno di allineamento sull'alloggiamento della lampada

10. Spingere delicatamente la lampada in avanti fino ad alloggiarla completamente.
11. Serrare le due viti prigioniere.
12. Ricollegare i connettori di alimentazione della lampada.

13. Reinstallare il coperchio del gruppo della lampada utilizzando la vite con testa a croce.
14. Quando si è pronti a ripristinare il funzionamento del rivelatore PDA, ricollegare il cavo di alimentazione e accendere il sistema.

8.10 Procedure di manutenzione del forno colonna

In questa sezione sono descritte le procedure di manutenzione per forno colonna di Alliance iS HPLC System che possono essere eseguite dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.

Le procedure comprendono:

- Sostituzione della colonna
- Sostituzione del sensore di perdita della colonna

8.10.1 Programma di manutenzione del forno colonna

Per il forno colonna è previsto un programma di manutenzione consigliato.

Gli utilizzatori possono eseguire le seguenti procedure di manutenzione in routine del forno colonna.

Procedura di manutenzione	Frequenza
Sostituzione dei filtri dei solventi (Pagina 111)	Durante la manutenzione in routine programmata o quando necessario
Sostituzione della colonna (Pagina 172)	Durante la manutenzione in routine programmata o quando necessario
Sostituzione del sensore di perdita della colonna (Pagina 175)	Durante la manutenzione in routine programmata o quando necessario

8.10.2 Sostituzione della colonna

Le colonne Waters eConnect dotate di tag utilizzano la tecnologia di comunicazione di prossimità (NFC), che fornisce una soluzione automatizzata per l'identificazione e il tracciamento delle colonne HPLC e della relativa cronologia di utilizzo. Per garantire dati cromatografici di qualità elevata, sostituire la colonna una volta l'anno o ogni volta che si notano problemi della forma del picco o riduzione della risoluzione.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare ustioni, attendere il raffreddamento della colonna prima di aprire lo sportello del vano. La colonna, il vano, il tubo, i raccordi e il rivestimento dello sportello possono essere roventi.

Per rimuovere la colonna esistente:

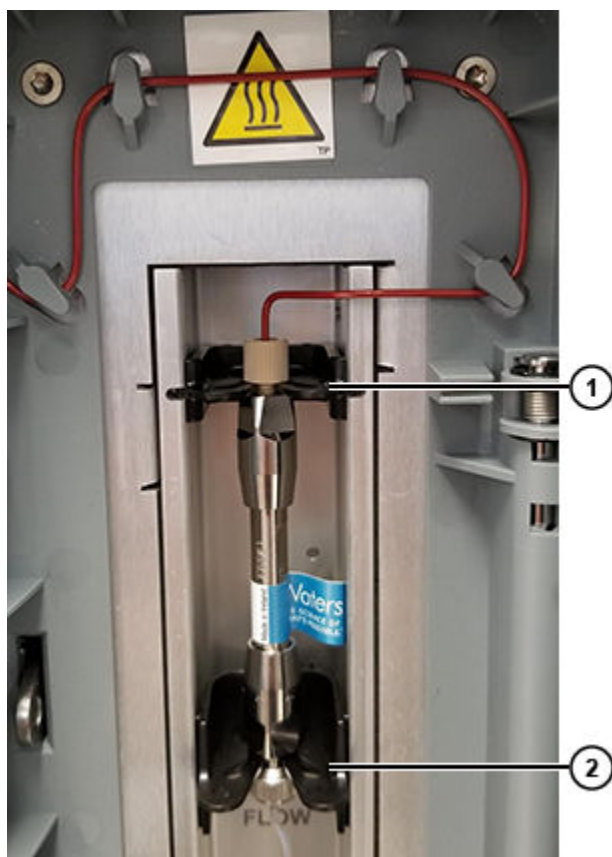
Se si installa una colonna a marchio Waters, questa procedura non richiede nessun attrezzo. È possibile sostituirla facilmente utilizzando i fermagli della colonna e i raccordi.

1. Aprire lo sportello del vano colonna.

Nota: Prima di rimuovere la colonna, verificare che la temperatura del vano sia sufficientemente fredda.

2. Rimuovere la colonna dai due fermi neri che la fissano in posizione:
 - a. Individuare il raccordo sul fondo della colonna, quindi estrarre il fondo della colonna dal fermo nero.
 - b. A questo punto rimuovere la parte superiore della colonna. Tenendo il fondo della colonna con una mano, individuare il raccordo sulla parte superiore della stessa e utilizzare l'altra mano per estrarre la parte superiore della colonna dal fermo nero.

Figura 8–67: Rimuovere la colonna dai fermi neri



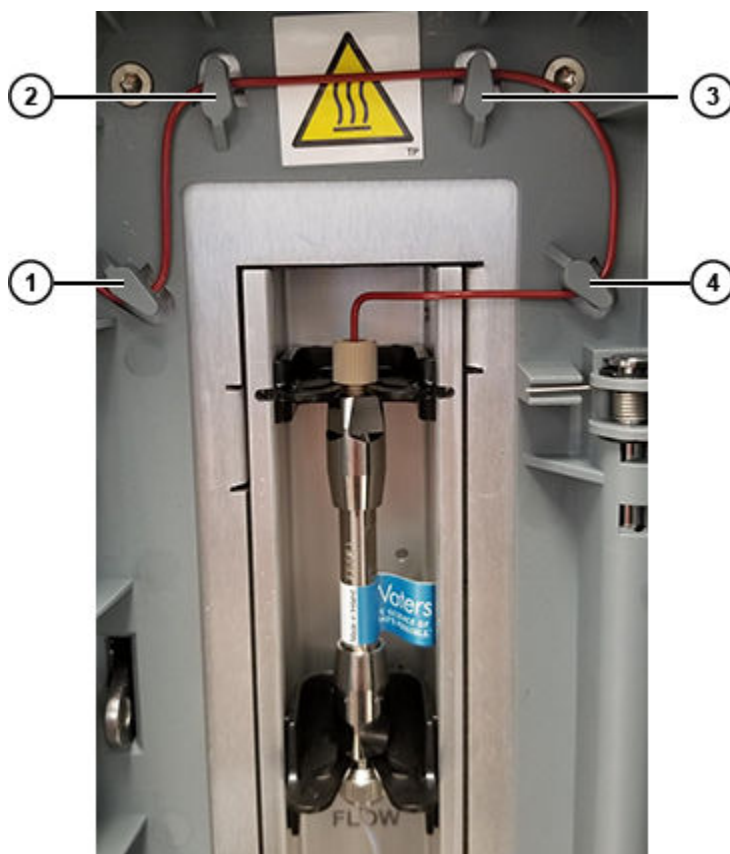
- ① Fermo nero superiore

② Fermo nero inferiore

- c. Individuare i dispositivi di fissaggio che fissano il tubo nella parte superiore del vano colonna, quindi rimuovere il tubo solo dai dispositivi di fissaggio da 2 a 4.

Suggerimento: Il tubo non deve essere rimosso dal dispositivo di fissaggio 1 perché fissa il tubo a un altro modulo e deve rimanere collegato.

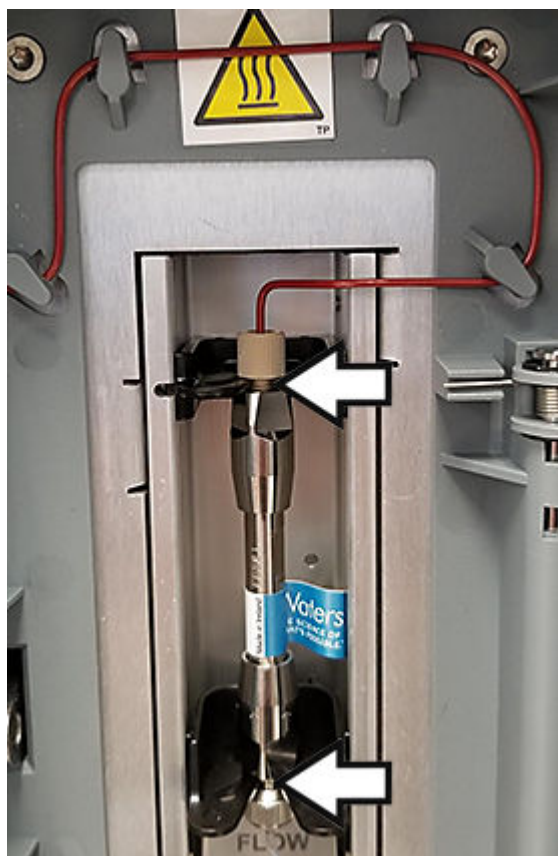
Figura 8–68: Quattro dispositivi di fissaggio che fissano il tubo



- d. Svitare il raccordo situato nella parte inferiore della colonna e metterlo da parte per installare la nuova colonna.
- e. Svitare il raccordo situato nella parte superiore della colonna e metterlo da parte per installare la nuova colonna. Seguire i passaggi rimanenti per installare la nuova colonna.
3. Rimuovere i tappi di protezione dalla parte superiore e inferiore della nuova colonna, quindi inserirli nell'imballaggio di spedizione della colonna per utilizzarli in futuro.
 4. Orientare la colonna in modo che l'uscita sia rivolta verso l'alto (vedere la freccia sulla colonna) e l'ingresso verso il basso.
 5. Avvitare manualmente sulla colonna i raccordi di ingresso e uscita della colonna che sono stati messi da parte in precedenza.

6. Se necessario, regolare il fermo colonna inferiore in modo che corrisponda alle dimensioni della nuova colonna.
7. Installare il tubo inserendolo nei dispositivi di fissaggio da 2 a 4 situati nella parte superiore del vano colonna.
8. Inserire la colonna nel fermo nero superiore e inferiore in modo che ogni fermo nero afferri le filettature esposte sul raccordo.

Figura 8–69: Installazione della colonna di ricambio



9. Chiudere lo sportello del vano colonna.

Nota: Verificare che il tubo si trovi all'interno del vano prima di chiudere lo sportello del vano colonna.

8.10.3 Sostituzione del sensore di perdita del forno colonna

La sostituzione del sensore del forno colonna può essere eseguita dagli utilizzatori o dal personale del servizio di assistenza Waters.



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da composti tossici o che comportano rischio biologico, indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.



Avvertenza: Per evitare lesioni agli occhi, indossare occhiali di protezione quando si esegue questa procedura.



Requisito: indossare guanti puliti, privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici quando si esegue questa procedura.

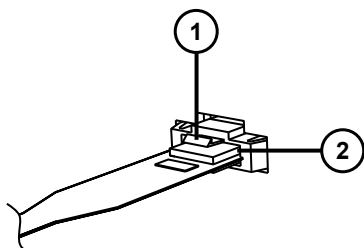
Attrezzi e materiali richiesti

- Guanti privi di polvere e resistenti ai prodotti chimici
- Occhiali di protezione
- Sostituzione del sensore di perdita

Per sostituire il sensore di perdita:

1. Aprire lo sportello del vano colonna.
2. Premere verso il basso la linguetta per scollegare il connettore del sensore di perdita dal lato anteriore del dispositivo.

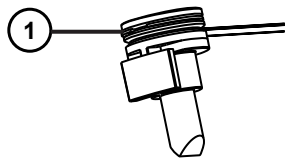
Figura 8-70: Connettore del sensore di perdita



- ① Linguetta
- ② Connettore del sensore di perdita

3. Afferrare il sensore di perdita per la parte dentata e tirarlo verso l'alto per staccarlo dal relativo serbatoio.

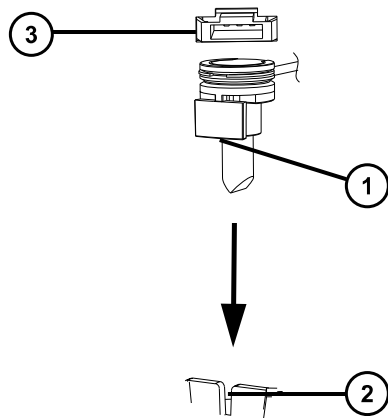
Figura 8-71: Sensore di perdita (parte dentata)



① Parte dentata

4. Disimballare il nuovo sensore di perdita.
5. Allineare la barra a T del sensore di perdita alla fessura sul lato del serbatoio e far scorrere il sensore di perdita fino a inserirlo in posizione.

Figura 8-72: Allineamento della barra a T con l'alloggiamento



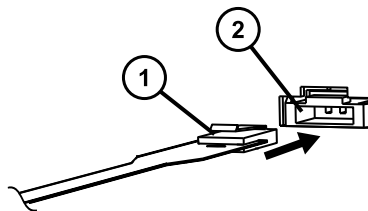
① Barra a T

② Fessura nel recipiente del sensore di perdita

③ Porta del sensore di perdita sul lato anteriore del dispositivo

6. Collegare il connettore del sensore di perdita sul lato anteriore del dispositivo.

Figura 8-73: Collegamento del connettore del sensore di perdita



① Connettore del sensore di perdita

② Porta del sensore di perdita sul lato anteriore del dispositivo

7. Chiudere lo sportello del vano colonna.
8. Dalla [Commands view \(Pagina 57\)](#) (Vista comandi) del touchscreen, toccare **Reset** (Reimpostazione).
9. Dalla [System view \(Pagina 58\)](#) (Vista sistema) del touchscreen, toccare **Leak Sensors** (Sensori di perdita) e attivare **QSM Leak Sensor** (Sensore di perdita QSM).

9 Protocolli di smaltimento

I componenti del sistema vengono smaltiti dal personale Waters o dal cliente, in base alla giurisdizione locale.

9.1 Descrizione dei materiali costitutivi

Per una descrizione dettagliata dei materiali Waters, fare riferimento a [Schede tecniche di sicurezza \(www.waters.com/SDS\)](https://www.waters.com/SDS) sul sito waters.com.

9.2 Smaltimento dei componenti del sistema

I componenti del sistema vengono smaltiti dal personale Waters o dal cliente, in base alla giurisdizione locale.

10 Considerazioni sui solventi



Avvertenza: osservare sempre le norme di buona prassi di laboratorio (BPL), in particolare quando si utilizzano materiali pericolosi. Fare riferimento alle schede tecniche sulla sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali.

Esaminare i seguenti argomenti relativi alle considerazioni sui solventi necessarie per il funzionamento di Alliance iS HPLC System:

- [Prevenzione della contaminazione \(Pagina 180\)](#)
- [Qualità dei solventi \(Pagina 180\)](#)
- [Preparazione dei solventi \(Pagina 182\)](#)
- [Consigli per il solvente \(Pagina 182\)](#)
- [Proprietà dei solventi comuni \(Pagina 190\)](#)
- [Miscibilità dei solventi \(Pagina 192\)](#)
- [Stabilizzatori dei solventi \(Pagina 194\)](#)
- [Viscosità dei solventi \(Pagina 194\)](#)
- [Selezione della lunghezza d'onda \(Pagina 194\)](#)

10.1 Prevenzione della contaminazione

Visitare il sito web Waters per trovare risorse sul controllo della contaminazione.

Per informazioni su come prevenire ed eliminare la contaminazione, consultare *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS)* (715001307IT) sul sito web Waters (www.waters.com).

10.2 Qualità dei solventi

Per ottenere i migliori risultati possibili, utilizzare solventi di grado MS.

Il requisito minimo per i solventi è il grado di purezza HPLC. Filtrare i solventi con un filtro a membrana appropriato.

Consiglio: per assicurarsi che il filtro sia adatto ai solventi utilizzati, attenersi alle raccomandazioni del produttore o del venditore del filtro.

10.2.1 Solventi puliti

Waters sottolinea l'importanza di utilizzare sempre solventi puliti nel sistema.

L'utilizzo di solventi puliti consente di ottenere risultati riproducibili con interventi di manutenzione minimi sullo strumento.

I solventi sporchi possono causare rumore di fondo e deriva della linea di base del rivelatore e intasare i filtri dei recipienti dei solventi, i filtri di ingresso e i capillari.

10.2.2 Solventi tamponati

Quando si utilizza un tampone, scegliere reagenti di buona qualità e filtrarli con un filtro a membrana da 0,2 µm.

Consiglio: Per impedire la proliferazione microbica, sostituire quotidianamente la fase mobile acquosa al 100%.

Regolare il pH dei tamponi acquosi. Filtrarli per eliminare i materiali insolubili; quindi miscelarli con modificatori organici secondo necessità. Dopo aver utilizzato un tampone, eliminarlo dalla pompa eseguendo un priming bagnato con un volume di acqua distillata o deionizzata di grado HPLC pari ad almeno cinque volumi del sistema.

! **Attenzione:** Quando si utilizza Alliance iS Bio HPLC System a valori di pH superiori a 10, assicurarsi di utilizzare il kit opzionale per pH elevato. Per ulteriore assistenza, rivolgersi a Waters.

In caso di spegnimenti di durata superiore a un giorno lavare la pompa con una soluzione (MeOH)/acqua con metanolo al 20% per impedire la proliferazione microbica.

Fare inoltre riferimento a: per ottenere informazioni sulla prevenzione della contaminazione, fare riferimento a *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS)* (715001307IT) sul sito web Waters (www.waters.com).

10.2.3 Acqua

Utilizzare esclusivamente acqua trattata con sistemi di purificazione di elevata qualità.

! **Avviso:** L'utilizzo di acqua al 100% può causare proliferazione microbica. Si raccomanda di sostituire quotidianamente le soluzioni contenenti acqua al 100%. L'aggiunta di una piccola quantità di solvente organico (~10%) previene la proliferazione microbica.

Se il sistema non eroga acqua filtrata, filtrare l'acqua con un filtro a membrana da 0,2 µm.

10.3 Preparazione dei solventi

Una corretta preparazione dei solventi, in particolare per quanto riguarda la filtrazione, consente di evitare diversi problemi di pompaggio.

Consiglio: Conservare le fasi mobili in recipienti di vetro borosilicato tipo 1, classe A² o tipo 3.3³. Utilizzare recipienti di vetro marrone di alta qualità per inibire la proliferazione microbica. Utilizzare lamine di alluminio o tappi Waters per coprire i recipienti.

10.4 Consigli per il solvente

Esaminare le informazioni importanti sui solventi consigliati e non consigliati per il sistema in uso.

Per determinare se è possibile utilizzare solventi non trattati nei seguenti argomenti senza influire negativamente sulle prestazioni dei componenti o del sistema, contattare Waters ([Contatti \(Pagina 15\)](#)).

- [Linee guida generali per i solventi \(Pagina 182\)](#)
- [Linee guida relative ai solventi di lavaggio \(Pagina 188\)](#)

10.4.1 Linee guida generali per i solventi

Attenersi sempre alle raccomandazioni generali di Waters relative ai solventi.

- Per inibire la proliferazione microbica, utilizzare vetreria di alta qualità di colore marrone.
- Filtrare i solventi con un filtro da 0,2 µm o utilizzare solventi pre-filtrati. Piccole particelle possono bloccare i capillari del sistema in modo definitivo. Inoltre la filtrazione dei solventi migliora le prestazioni della valvola di controllo.

10.4.1.1 Solventi consigliati

Consultare questo elenco dei solventi consigliati da Waters da utilizzare nel sistema.

Waters consiglia di utilizzare i seguenti solventi nel sistema:

- Acetonitrile (ACN)
- Isopropanolo (IPA)
- Metanolo (MeOH)


Nota: Il titanio è soggetto a corrosione nel metanolo anidro, che può essere evitato aggiungendo una piccola quantità di acqua (circa il 3%). Una leggera corrosione è possibile con ammoniaca >10%.

- Acqua


10.4.1.2 Solventi da evitare

Consultare questo elenco di solventi da evitare durante l'uso del sistema.

Evitare le seguenti sostanze:

- Solventi che contengono alogeni:
 - Bromo
 - Cloro
 - Fluoro
 - Iodio
-  **Avvertenza:** i perossidi contaminanti nel THF possono esplodere spontaneamente in modo distruttivo se il THF evapora completamente o parzialmente.

Composti che formano perossidi, come eteri di grado ultravioletto (UV), THF non stabilizzato, diossano e etere diisopropilico (se è necessario utilizzare composti che formano perossidi, assicurarsi di filtrarli attraverso ossido di alluminio secco per adsorbire i perossidi formati; evitare che rimangano nel sistema per oltre 24 ore).

- Soluzioni contenenti alte concentrazioni (superiori allo 0,1% in peso) di agenti complessanti come l'EDTA
-  **Avviso:** l'intervallo operativo standard del pH per il sistema è compreso tra 1,0 e 13,0. Il funzionamento del sistema a valori di pH inferiori a 1,0 o superiori a 13,0, eccetto per brevi periodi, può determinare una maggiore usura dei componenti del sistema non inclusi nei kit di manutenzione preventiva e richiedere una maggiore frequenza degli intervalli di manutenzione preventiva ordinaria.

Acidi forti e basi forti

- Per gli acidi forti, a meno che non vengano utilizzati come detersivi, utilizzarli solo a basse concentrazioni. Evitare l'utilizzo di acidi come fasi mobili se il rispettivo pH è inferiore a 1,0.
- Per le basi forti, utilizzarle solo a bassa concentrazione. Evitare di utilizzare basi come fasi mobili quando il loro pH è maggiore di 10,0 (o maggiore di 12,0 quando si utilizza il kit di tubi per pH elevato).
- Quando si utilizza Alliance iS Bio HPLC System a valori di pH superiori a 10, assicurarsi di utilizzare il kit opzionale per pH elevato. Per ulteriore assistenza, rivolgersi a Waters.

10.4.1.2.1 Restrizioni all'uso di acidi e basi forti in funzione dei materiali

Gli acidi e le basi forti possono influire negativamente su determinati tipi di tubi, raccordi e materiali dei componenti.

- Acidi minerali forti quali l'acido nitrico e l'acido solforico possono degradare il polietereeterchetone (PEEK), in particolare in presenza di alogeni e sostanze chimiche contenenti alogeni.
- I capillari in silice e i relativi rivestimenti in poliimmide iniziano a degradarsi a valori di pH pari a 8 o superiori.
- Determinati acidi attaccano l'acciaio inossidabile (SST) a pH inferiore a 2,3 in particolare in presenza di alogeni, sostanze chimiche contenenti alogeni e acidi minerali forti quali l'acido nitrico e l'acido solforico. L'acciaio inossidabile può degradarsi anche se utilizzato con acidi organici in solventi organici.
- La durata utile delle celle di flusso in quarzo può ridursi in presenza di pH superiore a 12.
- La poliimmide utilizzata nella sede dell'ago è stabile in un intervallo di pH compreso tra 1 e 10 e nella maggior parte dei solventi organici. Si degrada in presenza di acidi minerali concentrati quali l'acido solforico e di acido acetico glaciale. Si degrada in condizioni altamente basiche, in particolare in presenza di ammoniaca o di acetati o sali di ammonio.
- Per mantenere prestazioni ottimali, si consiglia di ispezionare periodicamente e, se necessario, sostituire tutti i componenti pertinenti. Inoltre, quando si utilizza Alliance iS Bio HPLC System a valori di pH superiori a 10, assicurarsi di utilizzare il kit opzionale per pH elevato. Per ulteriore assistenza, rivolgersi a Waters.

10.4.1.3 Raccomandazioni relative ai solventi del sistema

Quando si scelgono i solventi, attenersi alle seguenti raccomandazioni relative ai sistemi Waters.



Avvertenza: per evitare la contaminazione causata da materiali corrosivi, tossici o che comportano rischio biologico, assicurarsi di essere a conoscenza dei pericoli associati alla loro manipolazione.


Linee guida specifiche sull'utilizzo e la manipolazione corretti di tali materiali sono riportate nell'ultima edizione della pubblicazione del National Research Council, *Prudent Practices in the Laboratory: Handling and Management of Chemical Hazards (Operazioni prudenti in laboratorio: utilizzo e gestione dei rischi chimici)* (Operazioni prudenti in laboratorio: utilizzo e gestione dei rischi chimici).

Per evitare lesioni durante l'utilizzo di materiali pericolosi, consultare le schede tecniche di sicurezza relative ai solventi utilizzati. Inoltre, rivolgersi al responsabile della sicurezza della propria organizzazione per ottenere informazioni sui protocolli adottati per la manipolazione di tali materiali e seguire buone pratiche di laboratorio.

Rivolgersi a Waters per ottenere consigli sulle procedure di pulizia e lavaggio del sistema.

Fare inoltre riferimento a: le procedure di pulizia in *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS)* (715001307IT) sul sito web Waters (www.waters.com).

Vengono fornite le seguenti raccomandazioni generali per il sistema:

-  **Avvertenza:** i perossidi contaminanti nel THF possono esplodere spontaneamente in modo distruttivo se il THF evapora completamente o parzialmente.

Importante: Se si utilizza uno dei seguenti solventi, è necessario installare un kit di compatibilità esano/THF (fare riferimento alla sezione [Kit di compatibilità esano/THF di Waters \(Pagina 187\)](#)). Se si utilizza esano o THF, ridurre al minimo l'utilizzo di componenti in PEEK sostituendo il tubo in PEEK con tubi in SST o MP35N.

È possibile utilizzare i seguenti solventi come fase mobile del sistema:

- Acetone
- Acetato di etile
- Esano
- THF

Nota: Analogamente al caso di molti solventi non acquosi, tuttavia, i solventi elencati possono ridurre la durata utile del sistema e dei componenti rispetto a quella delle apparecchiature in cui vengono utilizzati i consueti solventi in fase inversa.

- Se si utilizza THF non stabilizzato, assicurarsi che il solvente sia stato appena preparato. I flaconi già aperti contengono perossidi contaminanti che causano la deriva della linea di base del rivelatore.

Importante: È sconsigliato l'uso dell'acido metansolfonico in questo sistema.

- È possibile utilizzare i seguenti solventi in diluizioni deboli (inferiori al 10% in volume) come diluenti dei campioni:
 - Cloroformio
 - Solventi alogenati
 - Cloruro di metilene
 - Toluene
- Poiché fungono da substrato per le colonie microbiche, i solventi acquosi non devono rimanere in un sistema spento. I microbi possono intasare i filtri del sistema e i capillari. Per prevenirne la proliferazione aggiungere almeno il 10% di solvente organico, come ACN o MeOH.

Nota: Il titanio è soggetto a corrosione nel metanolo anidro, che può essere evitato aggiungendo una piccola quantità di acqua (circa il 3%). Una leggera corrosione è possibile con ammoniaca >10%. Se si utilizza Alliance iS Bio HPLC System, è possibile, in alternativa, rimuovere filtri a piombo in titanio (il sistema perde la prima linea di protezione dal particolato) o sostituirli con filtri a piombo in acciaio inossidabile se le considerazioni di biocompatibilità non incidono sull'analisi.

- Per determinare se un metodo specifico è idoneo all'uso con i componenti dei sistemi in uso, contattare il referente di vendita Waters o la società di assistenza tecnica locale.

10.4.1.3.1 Raccomandazioni relative ai solventi del modulo IFM (sistema idraulico integrato)

Per ottimizzare le prestazioni complessive senza influire negativamente sull'hardware del sistema di gestione campioni e della pompa, attenersi a determinati consigli relativi ai solventi.

Il gruppo IFM (modulo del sistema idraulico integrato) indica l'area del telaio di Alliance iS System in cui sono alloggiati il sistema di gestione campioni e la pompa.

Per consigli dettagliati relativi ai componenti del modulo IFM, fare riferimento a:

- [Raccomandazioni relative ai solventi del sistema di gestione campioni \(Pagina 186\)](#)
- [Raccomandazioni relative ai solventi della pompa \(Pagina 186\)](#)


10.4.1.3.2 Raccomandazioni relative ai solventi del sistema di gestione campioni

Attenersi alle seguenti raccomandazioni relative ai solventi specifiche per il sistema di gestione campioni.

- Non utilizzare tamponi come solventi di lavaggio dell'ago. È consentito utilizzare acidi e basi.
- Sono supportati tipici diluenti organici dei campioni come DMF e DMSO.

10.4.1.3.3 Raccomandazioni relative ai solventi della pompa

Attenersi a queste raccomandazioni specifiche per la pompa a proposito dei solventi.

-  **Avviso:** per evitare di danneggiare e intasare i componenti presenti nel circuito idraulico di lavaggio e spurgo, Waters raccomanda di non utilizzare tamponi o additivi non volatili come solventi di lavaggio.

IPA o solventi organici sono efficaci solventi di lavaggio delle guarnizioni per le separazioni in fase diretta che impiegano fasi mobili a polarità intermedia (per esempio esano o THF). Quando si utilizzano tamponi e sali non volatili, ridurre l'intervallo del solvente di lavaggio delle guarnizioni; per ulteriori informazioni sull'uso di soluzioni tampone non volatili, fare riferimento a [Raccomandazione sui solventi di lavaggio \(Pagina 189\)](#).

- Il sistema di lavaggio delle guarnizioni non deve mai funzionare a secco, in particolare durante le separazioni che utilizzano una fase mobile polare.
- Assicurarsi che la fase mobile sia completamente compatibile e solubile in ciascuno dei solventi utilizzati con il sistema (fare riferimento a [Linee guida relative ai solventi di lavaggio \(Pagina 188\)](#)).
- Per applicazioni in fase inversa, per il lavaggio delle guarnizioni utilizzare soluzioni acquose con un componente organico debole (per esempio MeOH e acqua in rapporto 1:9).

10.4.1.3.4 Raccomandazione sui solventi del rivelatore

Seguire questa raccomandazione specifica per il rivelatore a proposito dei solventi.

Per trasportare una cella di flusso a temperature inferiori a 5 °C, riempirla con alcool.

10.4.1.4 Altri solventi

Questo elenco comprende i solventi che è possibile utilizzare nel sistema dopo l'installazione di un kit di compatibilità Waters.

Nota: Senza il kit di compatibilità appropriato, questi solventi possono ridurre la durata delle apparecchiature. Se si utilizzano con regolarità i solventi inclusi in questo elenco, si raccomanda di installare il kit di compatibilità esano/tetraidrofurano (THF) di Waters relativo al proprio sistema.

Fare riferimento a: [Kit di compatibilità esano/THF di Waters \(Pagina 187\)](#)

- Acetone
- Acetato di etile
- Esano
- THF

Fare inoltre riferimento a: [Raccomandazioni relative ai solventi del sistema \(Pagina 184\)](#)

Quando si cambiano i solventi, considerare la loro polarità. Quando si passa da solventi polari a solventi non polari, lavare il sistema con un solvente miscibile e compatibile, come l'IPA.

10.4.1.4.1 Kit di compatibilità esano/THF di Waters


Nei sistemi pertinenti può essere installato un kit di compatibilità esano/THF di Waters.

I kit di compatibilità esano/THF di Waters sono destinati agli utilizzatori che devono utilizzare il sistema con determinati solventi (fare riferimento a [Altri solventi \(Pagina 187\)](#)) o combinazioni di tali solventi ad alte concentrazioni e ad alta pressione.

Nota: Per ottenere il numero di catalogo del kit di compatibilità esano/THF applicabile al sistema in uso, rivolgersi a Waters (fare riferimento a [Contatti \(Pagina 15\)](#)).

10.4.1.5 Additivi/modificatori

Consultare questo elenco di additivi e modificatori e le relative quantità specifiche da utilizzare nel sistema.

- Acido acetico, ≤0,3% in volume
- Acetato di ammonio, ≤50 mM
- Bicarbonato di ammonio, ≤10 mM
- Idrossido di ammonio, ≤50 mM
- Acido etilendiamminotetracetico (EDTA), ≤0,1% in peso
- Acido formico, ≤0,2% in volume
-  **Avvertenza:** per evitare di danneggiare i componenti dello strumento ed evitare il contatto con materiale corrosivo che può essere presente sui componenti danneggiabili dall'esafluoroisopropanolo (HFIP), non utilizzare HFIP nei solventi di lavaggio.

HFIP per applicazioni di oligonucleotidi, soluzioni acquose dall'1% al 4%.

- Acido eptafluorobutirrico, $\leq 0,1\%$ in volume
- Tampone fosfato, ≤ 10 mM
- Trietilammina (TEA), $\leq 0,1\%$ in volume
- Acido trifluoroacetico (TFA), $\leq 0,1\%$ in volume

10.4.1.6 Diluenti del campione

Consultare questo elenco di diluenti dei campioni da utilizzare con il proprio sistema.

- ACN
- Miscela ACN/acqua
- Cloroformio
- Dimetilsolfossido (DMSO)
- Dimetilformammide (DMF)
- IPA
- Isoottano
- MeOH
- Miscela MeOH/acqua
- Cloruro di metilene
- Acqua

10.4.1.7 Agenti di pulizia

È possibile utilizzare questi agenti di pulizia nel sistema.

Nota: gli agenti di pulizia richiedono un tempo di contatto breve (inferiore a 30 minuti) durante il lavaggio degli strumenti.

- Acido formico ($\leq 30\%$)
- Acido fosforico ($\leq 30\%$)
- Idrossido di sodio ($\leq 1M$)

Fare inoltre riferimento a: le procedure di pulizia in *Controlling Contamination in LC/MS Systems (Controllo della contaminazione nei sistemi LC/MS)* (715001307IT) sul sito web Waters (www.waters.com).

10.4.2 Linee guida relative ai solventi di lavaggio

Per ridurre il rischio di carryover, attenersi alle linee guida relative ai solventi di lavaggio.

I solventi di lavaggio puliscono l'ago tra un'iniezione e l'altra e rimuovono le tracce del campione precedente. In genere sono più forti della fase mobile isocratica di un'applicazione e spesso più forti anche delle condizioni finali della fase mobile per una separazione in gradiente. Dal momento che non vengono iniettati in una colonna, la determinazione dei solventi di lavaggio adeguati non richiede, per qualsiasi finalità pratica, alcuna considerazione di carattere cromatografico.

Per ottenere prestazioni ottimali, attenersi alle linee guida descritte di seguito per selezionare i solventi di lavaggio. In caso contrario può aumentare il rischio di carryover. Tuttavia, queste linee guida non escludono altre combinazioni di solventi, ma in tal caso le prestazioni attese sono inferiori o è necessario manipolare i parametri di iniezione.

! **Avviso:** per evitare di danneggiare e intasare i componenti presenti nel circuito idraulico di lavaggio e spurgo, Waters raccomanda di non utilizzare tamponi o additivi non volatili come solventi di lavaggio.

Fare inoltre riferimento a: [Raccomandazione sui solventi di lavaggio \(Pagina 189\)](#) per informazioni dettagliate sulle raccomandazioni di Waters relative alle soluzioni tampone non volatili.

- **Importante:** I solventi di lavaggio devono essere compatibili e miscibili sia con la fase mobile dell'applicazione che con i componenti del campione. Devono inoltre essere completamente solubili con la fase mobile e il campione e non devono causare precipitazione.

Utilizzare solventi di lavaggio che siano compatibili con le caratteristiche chimiche del campione e della fase mobile dell'applicazione.

- I solventi di lavaggio devono essere sufficientemente forti da disciogliere facilmente il campione e mantenere in seguito la solubilità.
- Per le condizioni cromatografiche in fase inversa acquosa tamponata, in genere si utilizza un solvente di lavaggio con un'elevata concentrazione di solvente organico, come ACN o MeOH dall'80% al 100% con la parte restante d'acqua.

Nota: Il titanio è soggetto a corrosione nel metanolo anidro, che può essere evitato aggiungendo una piccola quantità di acqua (circa il 3%). Una leggera corrosione è possibile con ammoniaca >10%. Se si utilizza Alliance iS Bio HPLC System, è possibile, in alternativa, rimuovere filtri a piombo in titanio (il sistema perde la prima linea di protezione dal particolato) o sostituirli con filtri a piombo in acciaio inossidabile se le considerazioni di biocompatibilità non incidono sull'analisi.

10.4.2.1 Raccomandazione sui solventi di lavaggio

Per mantenere le condizioni del sistema e le prestazioni complessive, attenersi a questa raccomandazione relativa ai solventi di lavaggio.

L'utilizzo di soluzioni tampone non volatili (sale solido) nei solventi di lavaggio è consentito solo in concentrazioni limitate; tuttavia è generalmente sconsigliato.

Le soluzioni tampone a base di sale solido possono asciugarsi e lasciare un residuo salino che può graffiare le superfici di tenuta, intasare i tubi e danneggiare la pompa di lavaggio. Alcune

applicazioni controllano il pH per rendere più solubile il campione; in questo modo la forma del picco risulta migliore e i picchi sono più stretti durante l'eluizione. Quando il campione è maggiormente solubile nella fase mobile, inoltre, i componenti del campione aderiscono meno facilmente alle superfici, come la fase stazionaria o l'ago. Se il controllo del pH è importante per le prestazioni della separazione, tenere presente questo aspetto quando si determina la composizione del solvente di lavaggio. Per esempio, se è necessario l'acido (pH basso) per garantire la solubilità del campione durante la separazione, è probabile che questo sia un componente da includere necessariamente nel solvente di lavaggio per dissolvere il campione che aderisce alla superficie dell'ago e per sciacquare la stazione di lavaggio.

! **Attenzione:** Quando si utilizza Alliance iS Bio HPLC System a valori di pH superiori a 10, assicurarsi di utilizzare il kit opzionale per pH elevato. Per ulteriore assistenza, rivolgersi a Waters.

10.4.2.2 Usi opzionali per i solventi di lavaggio

È possibile utilizzare i solventi di lavaggio per queste ulteriori finalità.

- Per impostazione predefinita, il sistema lava l'esterno dell'ago per campioni dopo un'iniezione, ma è possibile scegliere di utilizzare solventi di lavaggio anche in una procedura opzionale che pulisce l'esterno dell'ago prima o dopo un'iniezione.

Fare inoltre riferimento a: [Sistema di lavaggio \(Pagina 51\)](#) per un'ulteriore descrizione del processo predefinito di pulizia dell'ago.

- Per accertare la correttezza del flusso attraverso il tubo di scarico e verificare che il sistema di lavaggio funzioni correttamente, è possibile scegliere di eseguire il priming del sistema di lavaggio con solventi di lavaggio.

10.5 Proprietà dei solventi comuni

Consultare la tabella seguente riguardo alle proprietà di alcuni solventi comunemente utilizzati in cromatografia.

Tabella 10–1: Proprietà dei solventi comuni

Solvente	Tensione di vapore in mm Hg (Torr)	Punto di ebollizione (°C)	Punto di infiammabilità (°C)
ACN	88,8 a 25 °C	81,6	6
Acetone	184,5 a 20 °C	56,29	-20
<i>n</i> -butilacetato	7,8 a 20 °C	126,11	22
<i>n</i> -butanolo	4,4 a 20 °C	117,5	37
<i>n</i> -butilcloruro	80,1 a 20 °C	78,44	-9
Clorobenzene	8,8 a 20 °C	131,69	28

Tabella 10–1: Proprietà dei solventi comuni (continua)

Solvente	Tensione di vapore in mm Hg (Torr)	Punto di ebollizione (°C)	Punto di infiammabilità (°C)
Cloroformio	158,4 a 20 °C	61,15	n/a
Cicloesano	77,5 a 20 °C	80,72	-20
Ciclopentano	400 a 20 °C	49,26	-7
Dimetilacetammide (DMA)	1,3 a 25 °C	166,1	70
DMF	2,7 a 20 °C	153,0	58
DMSO	0,6 a 25 °C	189,0	88
<i>o</i> -diclorobenzene	1,2 a 20 °C	180,48	66
Diclorometano	350 a 20 °C	39,75	n/a
1,4-diossano	29 a 20 °C	101,32	12
Acetato di etile	73 a 20 °C	77,11	-4
Etanolo	43,9 a 20 °C	78,32	15
Etere etilico	442 a 20 °C	34,55	-45
Dicloroetilene	83,35 a 20 °C	83,48	13
Eptano	35,5 a 20 °C	98,43	-4
Esano	124 a 20 °C	68,7	-22
IPA	32,4 a 20 °C	82,26	12
Isoottano	41 a 20 °C	99,24	-12
Isobutanolo	8,8 a 20 °C	107,7	28
Isopropilmiristato	<1 a 20 °C	182,6	164
MeOH	97 a 20 °C	64,7	11
Metil- <i>t</i> -butiletere	240 a 20 °C	55,2	-28
Metiletilchetone	74 a 20 °C	79,64	-9
Metilisobutilchetone	16 a 20 °C	117,4	18
<i>N</i> -metilpirrolidone	0,33 a 25 °C	202,0	86
Pentano	420 a 20 °C	36,07	-49
<i>n</i> -propanolo	15 a 20 °C	97,2	23
Propilene carbonato	n/a	241,7	135
Piridina	18 a 25 °C	115,25	20
TEA	57 a 25 °C	89,5	-9
TFA	97,5 a 20 °C	71,8	-3

Tabella 10–1: Proprietà dei solventi comuni (continua)

Solvente	Tensione di vapore in mm Hg (Torr)	Punto di ebollizione (°C)	Punto di infiammabilità (°C)
THF	142 a 20 °C	66,0	-14
Toluene	28,5 a 20 °C	110,62	4
1,2,4-triclorobenzene	1 a 20 °C	213,5	106
Acqua	17,54 a 20 °C	100,0	n/a
o-xilene	6 a 20 °C	144,41	17

10.6 Miscibilità dei solventi

Prima di sostituire i solventi determinarne la miscibilità consultando la presente tabella.

Tenere presenti gli effetti e le considerazioni seguenti:

- La temperatura incide sulla miscibilità dei solventi. In caso di esecuzione di un'applicazione a temperatura elevata, tenere in considerazione l'effetto della temperatura sulla solubilità dei solventi.
- I tamponi disciolti in acqua possono precipitare se miscelati con solventi organici.
- Le sostituzioni riguardanti due solventi miscibili possono essere eseguite direttamente. Le sostituzioni riguardanti due solventi non completamente miscibili (per esempio in caso di passaggio da cloroformio ad acqua) richiedono l'utilizzo di un solvente intermedio come *n*-propanolo.
- In caso di passaggio da un tampone forte a un solvente organico, lavare abbondantemente il sistema con acqua distillata prima di aggiungere il solvente organico.

Nota: La lunghezza d'onda limite è la lunghezza d'onda alla quale l'assorbanza del solvente è pari a 1 AU.

Tabella 10–2: Miscibilità dei solventi

Solvente	Indice di polarità	Viscosità in cP, 20 °C (a 1 atm)	Punto di ebollizione in °C (a 1 atm)	Numero di miscibilità (M)	Lunghezza d'onda limite (nm)
ACN	6,2	0,37	81,6	11, 17	190
Acido acetico	6,2	1,26	117,9	14	n/a
Acetone	5,4	0,32	56,3	15, 17	330
Alcol benzilico	5,5	5,80	205,5	13	n/a
DMF	6,4	0,90	153,0	12	n/a

Tabella 10–2: Miscibilità dei solventi (continua)

Solvente	Indice di polarità	Viscosità in cP, 20 °C (a 1 atm)	Punto di ebollizione in °C (a 1 atm)	Numero di miscibilità (M)	Lunghezza d'onda limite (nm)
DMSO	6,5	2,24	189,0	9	n/a
Etanolo	5,2	1,20	78,3	14	210
<i>n</i> -esano	0,0	0,313	68,7	29	n/a
MeOH	6,6	0,60	64,7	12	210
Metossietanolo	5,7	1,72	124,6	13	n/a
1-propanolo	4,3	2,30	97,2	15	210
2-propanolo	4,3	2,35	117,7	15	n/a
THF	4,2	0,55	66,0	17	220
Trietilamina	1,8	0,38	89,5	26	n/a
Acqua	9,0	1,00	100,0	n/a	n/a

10.6.1 Utilizzo dei numeri di miscibilità

I numeri di miscibilità consentono di prevedere la miscibilità di un liquido con un solvente standard.

Al fine di prevedere la miscibilità di due liquidi, sottrarre il numero di miscibilità (numero M) minore dal numero M maggiore:

- Se la differenza tra i due numeri M è pari o inferiore a 15, i due liquidi sono miscibili in tutte le proporzioni a 15 °C.
- Una differenza pari a 16 indica una temperatura critica di soluzione compresa tra 25 °C e 75 °C con una temperatura ottimale pari a 50 °C.
- Se la differenza è pari o superiore a 17, i liquidi non sono miscibili oppure la relativa temperatura critica di soluzione è superiore a 75 °C.

Alcuni solventi sono immiscibili con solventi di entrambi gli estremi della scala di lipofilicità. A tali solventi viene assegnato un numero M doppio:

- Il primo numero, sempre inferiore a 16, indica il grado di miscibilità con solventi altamente lipofili.
- Il secondo numero si riferisce all'altro estremo della scala. Una differenza rilevante tra questi due numeri indica un intervallo limitato di miscibilità.

Per esempio, alcuni fluorocarburi sono immiscibili con i solventi standard e possiedono numeri M pari a 0 e 32. Due liquidi con numeri M doppi sono generalmente miscibili tra loro.

Un liquido viene classificato nel sistema dei numeri M in base a test di miscibilità eseguiti utilizzando una sequenza di solventi standard. Un valore di correzione di 15 unità viene quindi aggiunto o sottratto dal punto limite relativo alla miscibilità.

10.7 Stabilizzatori dei solventi

L'aggiunta di stabilizzatori dei solventi consente di rallentare o arrestare la degradazione dei solventi.



Avvertenza: Alcuni solventi si degradano, o diventano instabili, con l'andare del tempo. I solventi caratterizzati da un'elevata instabilità rappresentano un pericolo potenziale di esplosioni.



Avviso: Non lasciar seccare solventi che contengono stabilizzatori, quali il tetraidrofurano (THF) con idrossitoluene butilato (BHT), nel circuito idraulico del sistema. Un circuito idraulico secco, inclusa la cella di flusso del rivelatore, si contamina con i residui dello stabilizzatore ed è necessaria una pulizia accurata per ripristinarne le condizioni iniziali.

10.8 Viscosità dei solventi

Nel caso delle analisi cromatografiche a gradiente, le variazioni di viscosità che si verificano quando i solventi vengono miscelati in proporzioni variabili possono determinare variazioni di pressione nel corso dell'analisi.

Anche se, in genere, la viscosità non è un fattore da tenere in considerazione quando si utilizza un singolo solvente o quando si opera a bassa pressione, se non si conosce l'entità delle variazioni di pressione che incidono sull'analisi, monitorare la pressione durante l'analisi.

10.9 Selezione della lunghezza d'onda

Consultare queste tabelle per ottenere i valori delle lunghezze d'onda limite per solventi comuni e fasi mobili miscelate.

- [Lunghezze d'onda limite per solventi comuni \(Pagina 194\)](#)
- [Lunghezze d'onda limite per fasi mobili miscelate \(Pagina 195\)](#)

10.9.1 Lunghezze d'onda limite per solventi comuni

Consultare questa tabella per ottenere le lunghezze d'onda limite per i solventi comuni.

Note:

- Un valore di λ (o UV) limite rappresenta la lunghezza d'onda alla quale l'assorbanza del solvente è pari a 1 AU.
- Il funzionamento a una lunghezza d'onda prossima o inferiore al limite UV aumenta il rumore di fondo a causa dell'assorbanza del solvente.

Tabella 10–3: Lunghezze d'onda limite per solventi comuni

Solvente	Lunghezza d'onda limite (nm)
ACN	190
Acetone	330
Dietilammina	275
Etanolo	210
IPA	205
Etere isopropilico	220
MeOH	205
<i>n</i> -propanolo	210
THF	230

10.9.2 Lunghezze d'onda limite per fasi mobili miscelate

Consultare questa tabella per ottenere i valori approssimati delle lunghezze d'onda limite per solventi, tamponi, detergenti e fasi mobili.

Le concentrazioni dei solventi indicate sono quelle maggiormente utilizzate. Se si desidera utilizzare una concentrazione diversa, è possibile determinare un valore approssimato dell'assorbanza in base alla legge di Beer, poiché l'assorbanza è proporzionale alla concentrazione.

Note:

- Un valore di λ (o UV) limite rappresenta la lunghezza d'onda alla quale l'assorbanza del solvente è pari a 1 AU.
- Il funzionamento a una lunghezza d'onda prossima o inferiore al limite UV aumenta il rumore di fondo a causa dell'assorbanza del solvente.

Tabella 10–4: Lunghezze d'onda limite per varie fasi mobili

Fase mobile	Lunghezza d'onda limite (nm)
Acido acetico, 1%	230
Acetato di ammonio, 10 mM	205
Bicarbonato di ammonio, 10 mM	190

Tabella 10–4: Lunghezze d'onda limite per varie fasi mobili (continua)

Fase mobile	Lunghezza d'onda limite (nm)
3-[(3-colammidopropil)dimetilammonio]-1-propansolfonato (CHAPS), 0,1%	215
Fosfato di diammonio, 50 mM	205
EDTA disodico, 1 mM	190
Acido 4-(2-idrossietil)-1-piperazinetansolfonico (HEPES), 10 mM, pH 7,6	225
Acido cloridrico, 0,1%	190
Acido 2-(<i>N</i> -morfolino)etansolfonico (MES), 10 mM, pH 6,0	215
4-ottilfenolo polietossilato (Triton X-100), 0,1%	240
Poliossietilene (35) lauril etere (Brij 35), 0,1%	190
Fosfato di potassio, dibasico, 10 mM	190
Fosfato di potassio, monobasico, 10 mM	190
Acetato di sodio, 10 mM	205
Cloruro di sodio, 1 M	207
Citrato di sodio, 10 mM	225
Sodio dodecil solfato, 0,1%	190
Formiato di sodio, 10 mM	200
Trietilammina, 1%	235
Acido trifluoroacetico, 0,1%	190
Tris(idrossimetil)amminometano cloridrato (Tris HCl), 20 mM, pH 7,0	202
Tris HCl, 20 mM, pH 8,0	212
Reagente A Waters per cromatografia di coppia ionica (PIC), 1 vial/L	200
Reagente B-6 Waters PIC, 1 vial/L	225
Reagente B-6 Waters PIC, basso UV, 1 vial/L	190
Reagente D-4 Waters PIC, 1 vial/L	190

10.9.2.1 Assorbanza della fase mobile

Consultare la seguente tabella per ottenere le assorbanze a diverse lunghezze d'onda per le fasi mobili utilizzate di frequente.

Per ridurre il rumore di fondo, scegliere la fase mobile con attenzione.

La fase mobile ottimale per l'applicazione in uso non assorbe in corrispondenza delle lunghezze d'onda di rivelazione selezionate. Verificare con tale fase mobile che qualsiasi assorbanza sia dovuta soltanto al campione. L'assorbanza della fase mobile riduce inoltre l'intervallo dinamico lineare del rivelatore di una quantità pari all'assorbanza che viene sottratta dalla funzione di azzeramento automatico. Lunghezza d'onda, pH e concentrazione della fase mobile incidono sull'assorbanza della fase mobile. Nella tabella che segue sono riportati esempi di varie fasi mobili con valori di assorbanza basati su un cammino ottico di 10 mm.

Nota: Quando si utilizzano solventi in fase diretta, installare il kit di conversione esano/THF di Waters relativo al proprio sistema (fare riferimento a [Kit di compatibilità esano/THF di Waters \(Pagina 187\)](#)).

! **Attenzione:** Quando si utilizza Alliance iS Bio HPLC System a valori di pH superiori a 10, assicurarsi di utilizzare il kit opzionale per pH elevato. Per ulteriore assistenza, rivolgersi a Waters.

Tabella 10–5: Assorbanza della fase mobile misurata contro l'aria o l'acqua

Fase mobile	Assorbanza (AU) alla lunghezza d'onda specificata (nm)									
	200	205	210	215	220	230	240	250	260	280
Solventi										
ACN	0,05	0,03	0,02	0,01	0,01	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a
IPA	1,80	0,68	0,34	0,24	0,19	0,08	0,04	0,03	0,02	0,02
MeOH (degassificato)	1,91	0,76	0,35	0,21	0,15	0,06	0,02	< 0,01	n/a	n/a
MeOH (non degassificato)	2,06	1,00	0,53	0,37	0,24	0,11	0,05	0,02	< 0,01	n/a
THF non stabilizzato (fresco)	2,44	2,57	2,31	1,80	1,54	0,94	0,42	0,21	0,09	0,05
THF non stabilizzato (vecchio)	> 2,5	> 2,5	> 2,5	> 2,5	> 2,5	> 2,5	> 2,5	> 2,5	2,5	1,45
Acidi e basi										
Acido acetico, 1%	2,61	2,63	2,61	2,43	2,17	0,87	0,14	0,01	< 0,01	n/a

Tabella 10–5: Assorbanza della fase mobile misurata contro l'aria o l'acqua (continua)

Fase mobile	Assorbanza (AU) alla lunghezza d'onda specificata (nm)									
	200	205	210	215	220	230	240	250	260	280
Fosfato di diammonio, 50 mM	1,85	0,67	0,15	0,02	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
EDTA disodico, 1 mM	0,11	0,07	0,06	0,04	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02
Acido cloridrico, 0,1%	0,11	0,02	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Acido fosforico, 0,1%	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Trietilammina, 1%	2,33	2,42	2,50	2,45	2,37	1,96	0,50	0,12	0,04	< 0,01
Acido trifluoroacetico, 0,1%	1,20	0,78	0,54	0,34	0,22	0,06	< 0,02	< 0,01	n/a	n/a
Tamponi e sali										
Acetato di ammonio, 10 mM	1,88	0,94	0,53	0,29	0,15	0,02	< 0,01	n/a	n/a	n/a
Bicarbonato di ammonio, 10 mM	0,41	0,10	0,01	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
HEPES, 10 mM, pH 7,6	2,45	2,50	2,37	2,08	1,50	0,29	0,03	< 0,01	n/a	n/a
MES, 10 mM, pH 6,0	2,42	2,38	1,89	0,90	0,45	0,06	< 0,01	n/a	n/a	n/a
Fosfato di potassio, dibasico (K ₂ HPO ₄), 10 mM	0,53	0,16	0,05	0,01	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Fosfato di potassio, monobasico (KH ₂ PO ₄), 10 mM	0,03	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Acetato di sodio, 10 mM	1,85	0,96	0,52	0,30	0,15	0,03	< 0,01	n/a	n/a	n/a
Cloruro di sodio, 1 M	2,00	1,67	0,40	0,10	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Citrato di sodio, 10 mM	2,48	2,84	2,31	2,02	1,49	0,54	0,12	0,03	0,02	0,01
Formiato di sodio, 10 mM	1,00	0,73	0,53	0,33	0,20	0,03	< 0,01	n/a	n/a	n/a
Fosfato di sodio, 100 mM, pH 6,8	1,99	0,75	0,19	0,06	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01
Tris HCl, 20 mM, pH 7,0	1,40	0,77	0,28	0,10	0,04	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a
Tris HCl, 20 mM, pH 8,0	1,80	1,90	1,11	0,43	0,13	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a
Tensioattivi										

Tabella 10–5: Assorbanza della fase mobile misurata contro l'aria o l'acqua (continua)

Fase mobile	Assorbanza (AU) alla lunghezza d'onda specificata (nm)									
	200	205	210	215	220	230	240	250	260	280
Brij 35, 1%	0,06	0,03	0,02	0,02	0,02	0,01	< 0,01	n/a	n/a	n/a
CHAPS, 0,1%	2,40	2,32	1,48	0,80	0,40	0,08	0,04	0,02	0,02	0,01
Poliossietilene sorbitano monolaurato (Tween 20), 0,1%	0,21	0,14	0,11	0,10	0,09	0,06	0,05	0,04	0,04	0,03
Sodio dodecil solfato (SDS), 0,1%	0,02	0,01	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Triton X-100, 0,1%	2,48	2,50	2,43	2,42	2,37	2,37	0,50	0,25	0,67	1,42
Reagenti Waters PIC										
PIC A, 1 vial/L	0,67	0,29	0,13	0,05	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	< 0,01
PIC B6, 1 vial/L	2,46	2,50	2,42	2,25	1,83	0,63	0,07	< 0,01	n/a	n/a
PIC B6, basso UV, 1 vial/L	0,01	< 0,01	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
PIC D4, 1 vial/L	0,03	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01

11 Specifiche

Per tutte le specifiche relative al sistema (specifiche di funzionamento) e ai suoi moduli (specifiche delle prestazioni), fare riferimento a *Alliance iS HPLC System Specification Sheet (Alliance iS HPLC System Scheda delle specifiche)* (720007867EN) o a *Alliance iS Bio HPLC System Specification Sheet (Alliance iS Bio HPLC System Scheda tecnica)* (720008262EN) sul sito web di Waters (www.waters.com). La riproducibilità delle specifiche dipende dalle particolari condizioni presenti in laboratorio.

Per ulteriori informazioni sulle specifiche del sistema, fare riferimento a *Alliance iS HPLC Systems Site Preparation Guide (Alliance iS HPLC Systems Guida alla preparazione del luogo di installazione)* (715008415IT), anch'esso sul sito web di Waters, oppure rivolgersi a Waters (consultare la sezione [Contatti \(Pagina 15\)](#)).