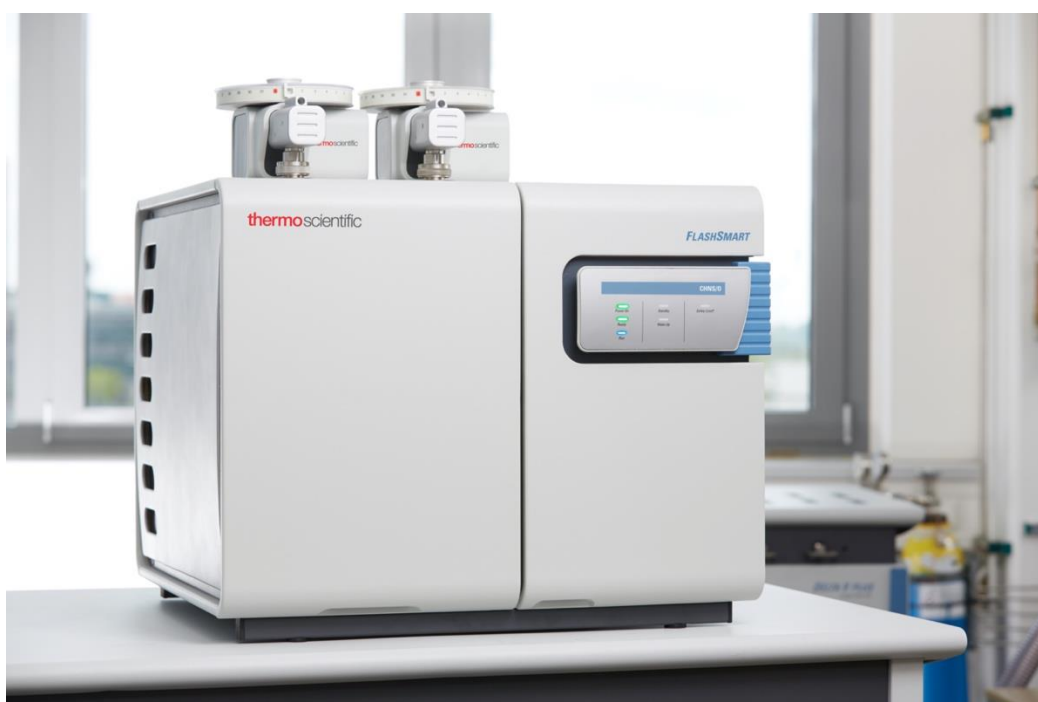


ThermoFisher
FlashSmart
CHNS/O

Manual do Utilizador



CIMA - UAlg

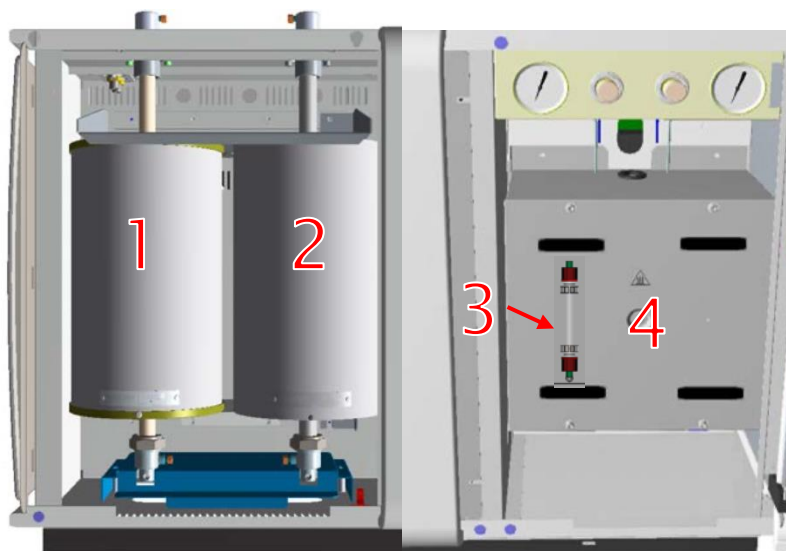
2023

1. O Equipamento

O equipamento é composto pela unidade principal (1), pelo MAS plus autosampler com um carreto de amostras (2) e pelo computador representados na Figura 1.



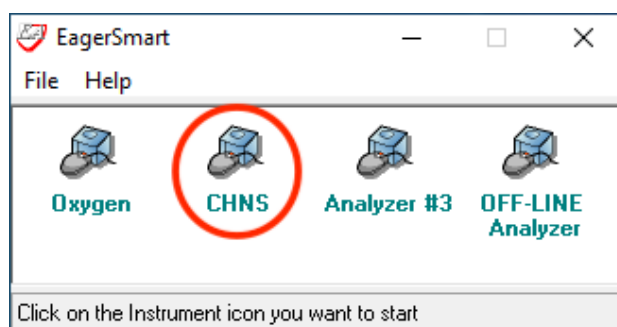
No interior o Sistema é composto por dois reatores, um filtro de adsorção, duas colunas de cromatografia gasosa e um detetor TCD como representado na figura abaixo. O reator esquerdo (1) é utilizado para a análise de CHNS enquanto o reator direito (2) é utilizado na análise de oxigénio. O enchimento de ambos é determinado conforme a análise a ser feita e será descrito em maior detalhe mais à frente. O filtro de adsorção (3) tem um preenchimento que será também dependente do tipo de análise a ser feita e serve essencialmente para reter H_2O ou outros compostos presentes na amostra que não sejam os analisados. Existem duas colunas de GC que se encontram dentro de um forno (4), uma é destinada à análise de CHNS e outra à análise de oxigénio. O detetor TCD regista a presença dos diferentes compostos gasosos pela variação da intensidade da condutividade térmica.



2. Ligar o Sistema:

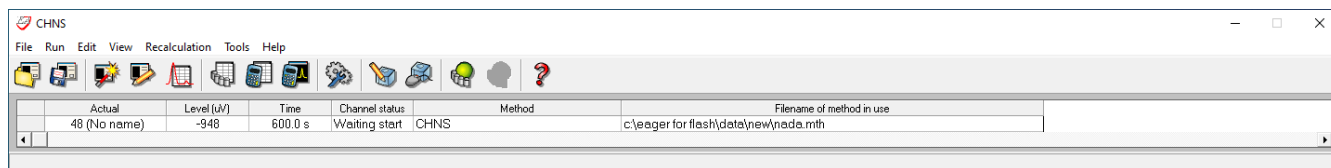
Para ligar o sistema deve-se antes ligar os gases e confirmar a pressão para ter a certeza que está a chegar gás ao sistema. Os gases, hélio e oxigénio devem ser abertos primeiro no casoto onde se encontram as botijas e apenas depois nos manómetros que se encontram por cima do equipamento. Após ligar os gases, ligar o equipamento e o computador (não há problema se o computador for ligado antes).

Após ligar o equipamento é necessário instruir as condições de trabalho e estabilizar o sistema, principalmente o detetor TCD. Iniciar o software EagerSmart e seleccionar o método desejado como na figura abaixo. O CHNS vai ser utilizado como exemplo.

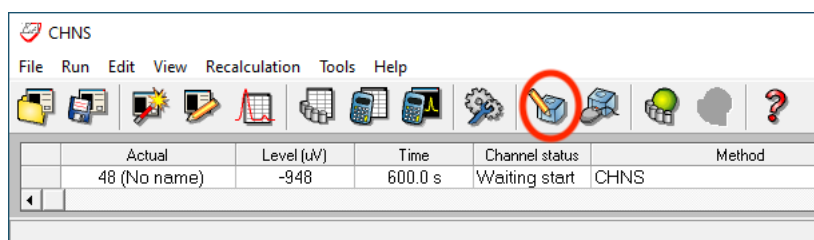


3. Equilibrar e Estabilizar o Sistema

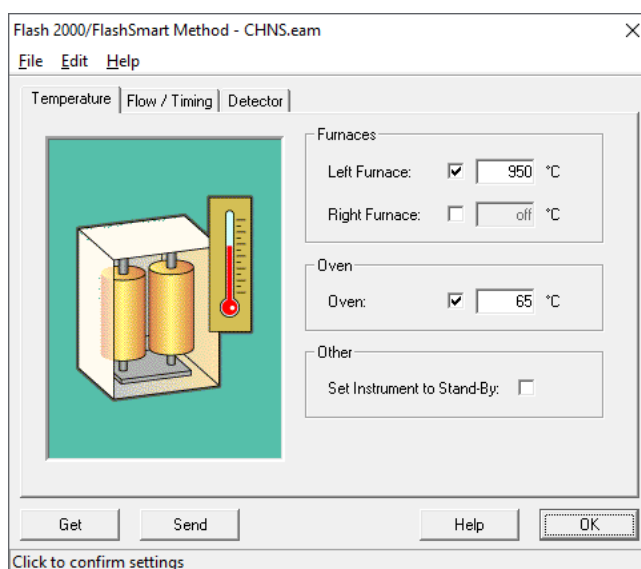
Para qualquer corrida o detetor e o sistema têm de ser. Esta estabilização deve ser feita de acordo com o método a ser utilizado. Para tal deve-se enviar o método para o equipamento seguindo os passos em baixo assinalados. Após seleccionar o sistema CHNS irá abrir a seguinte janela:



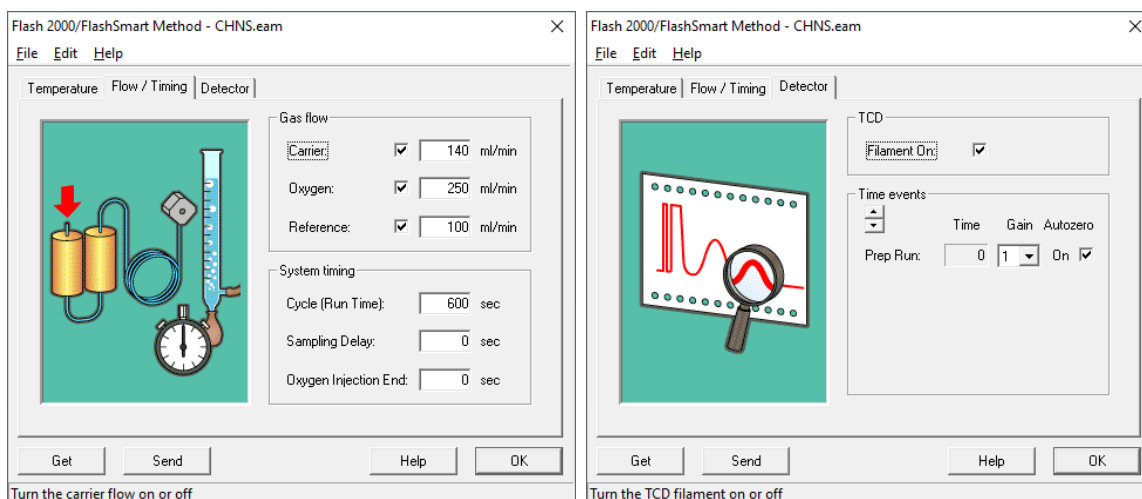
Para ver e editar o método instrumental clicar no botão assinalado a vermelho.



Este botão abre a seguinte janela:

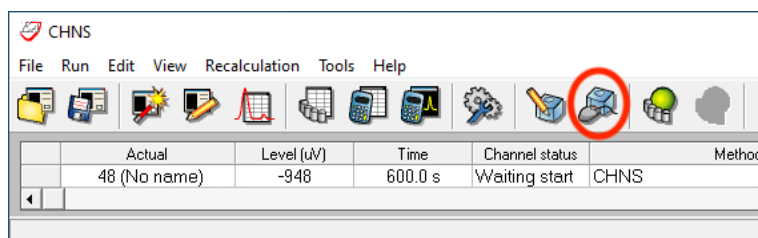


Para abrir um método gravado seleccionar **File > Open**.
Para obter o método atual a ser corrido no analisador seleccionar **Get**.
O primeiro separador indica a temperatura, o segundo os fluxos dos gases e o terceiro as definições do detetor.

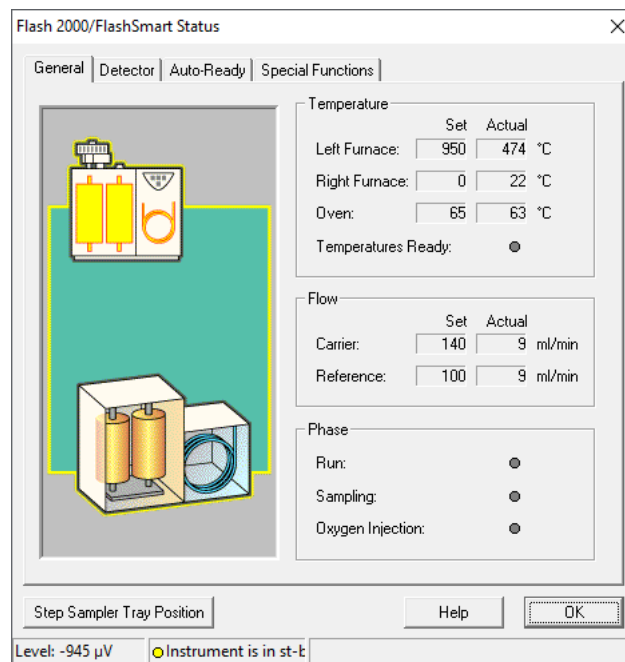


As definições devem ser definidas de acordo com o método a ser utilizado de acordo com o *Cookbook* (pdf presente na pen branca). É importante certificar que o TCD está ligado (filament on).

Para enviar o método para o analisador selecionar **Send**. O analisador vai ajustar as temperaturas, fluxos e outras definições de acordo com o método. As temperaturas dos reatores poderão demorar um pouco a estabilizar. O tempo de estabilização, após se enviar o método deverá ser de aproximadamente **1 hora**. Após esse tempo convém fazer o Autozero do detetor, apesar de na figura estar selecionado para ser feito no início de cada corrida. Para isso deve-se fechar a janela do método do analisador e na janela principal do CHNS selecionar o botão indicado a vermelho:



Que abrirá a janela do status do equipamento:



O status do equipamento está dividido em 4 separadores:

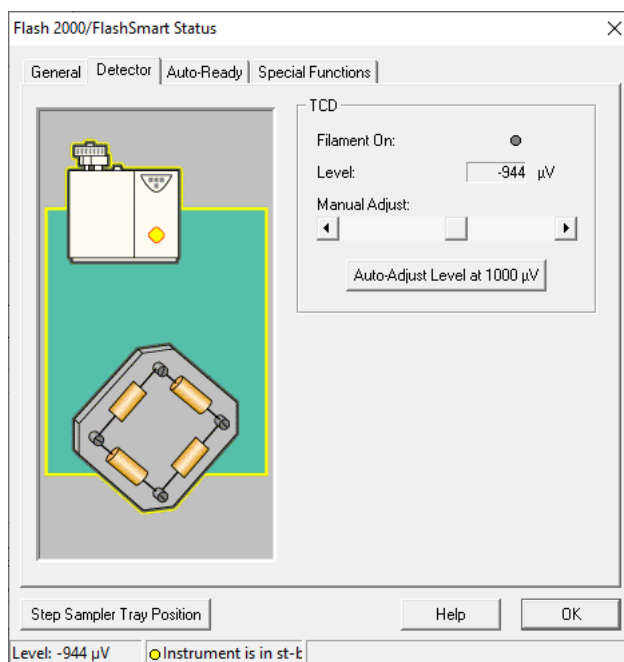
General: Indica as temperaturas, fluxos e a fase da corrida em que se encontra o equipamento;

Detector: Indica o estado do detetor, o nível em μV e permite fazer o autozero no botão "Auto-Adjust Level at 1000 μV ".

Auto-Ready: Permite programar um início automático para uma determinada hora.

Special Functions: Permite fazer operações como Leak Test e Autozero dos canais de gás.

Para fazer o autozero do detetor selecionar o separador **Detector** e o botão "Auto-Adjust Level at 1000 μV " como na imagem abaixo.



Após o ajuste do nível do detetor a 1000 μV o equipamento fica pronto a trabalhar, o que também será visível no próprio equipamento e no canto inferior direito da janela do status.

4. Preparação das amostras

Para correr as amostras deve-se sempre começar com:

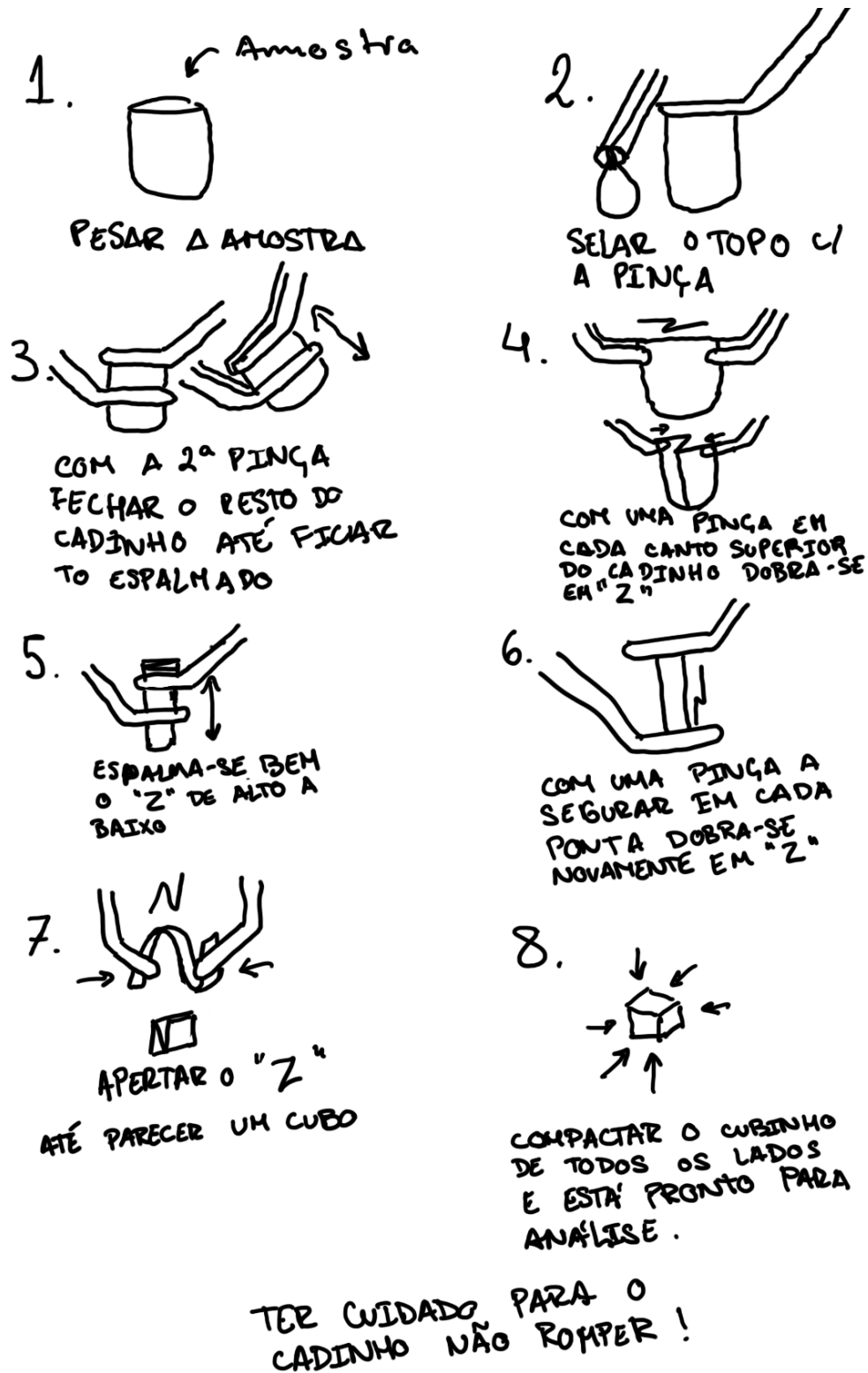
1 ou 2 brancos – cadinho sem nada

1 bypass – cadinho com amostra ou padrão

Curva padrões com 3 ou 4 quantidades diferentes de padrão entre as 0,5mg e as 3mg (normalmente 1, 1.5, 2 e 2.5 mg)

Apenas depois destas duas corridas se deve correr as amostras. Os cadinhos de estanho (tin) devem ser utilizados para as análises de CHNS e os cadinhos de prata (silver) devem ser utilizados para as análises de oxigénio. As amostras e padrões devem ser pesados colocando o cadinho na base metálica “ANA”, após a pesagem o cadinho tem de ser dobrado e compactado conforme representado nas imagens.

Importante: Não manusear os cadinhos com as mãos, apenas com pinças de forma a não contaminar os cadinhos. **Os cadinhos são muito fáceis de contaminar é necessário ter muito cuidado durante o manuseamento.**

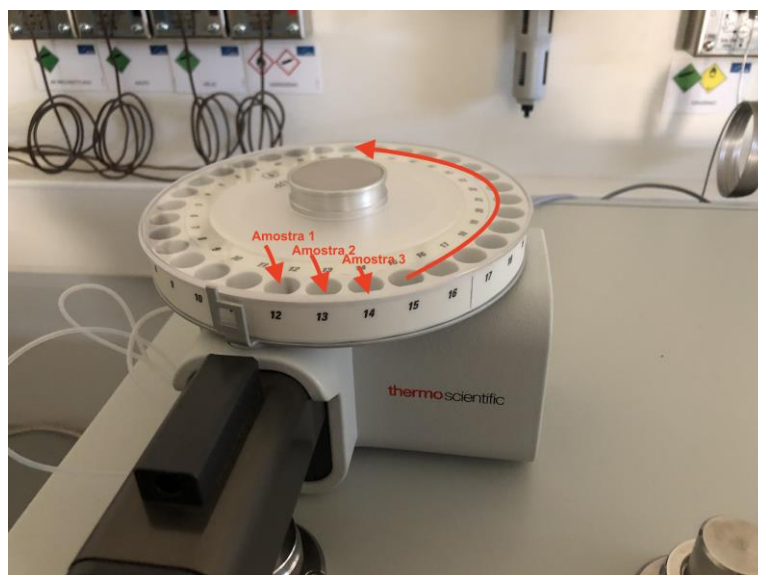


Muito importante!

Para aumentar o sinal do enxofre na análise de CHNS adicionar até 10 mg de Vanadium Pentoxide à amostra no cadinho.

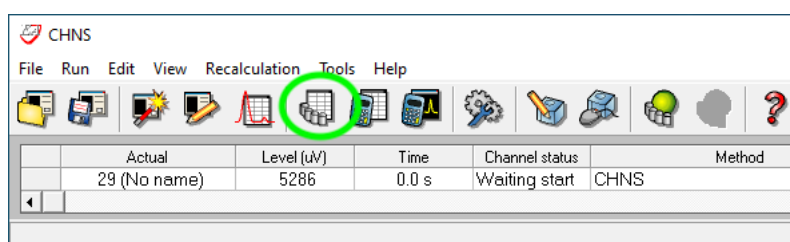
5. Colocar as amostras no MAS plus autosampler

A primeira amostra deve ser colocada no lugar à direita do que está na posição selecionada no autosampler e preencher os lugares seguintes com as amostras por ordem no sentido contrário aos ponteiros do relógio. Como exemplificado na imagem abaixo.



6. Preparar a sequência

Para preparar a sequência deve-se selecionar o botão assinalado abaixo a **verde**:



O que irá abrir a seguinte janela:

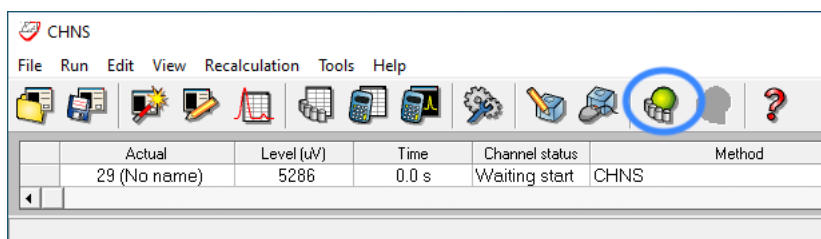
[illegible]

As amostras indicadas são um exemplo de uma corrida efetuada. A primeira amostra a ser corrida é a indicada pelo "Act" assinalado a **azul**, a nova corrida deve ser adicionada a nessa mesma linha. Devem ser indicados o nome da amostra, o nome do ficheiro e o tipo de amostra. O que se preenche a seguir depende do tipo de amostra. No caso de ser um branco ou um bypass não é necessário preencher com mais informação nenhuma. No caso do de ser um padrão é necessário indicar qual a massa do padrão em mg. No caso de ser uma amostra deve ser apenas indicada a massa da amostra em mg.

As corridas devem ser sempre iniciadas por um ou dois brancos, uma curva padrão e só depois as amostras.

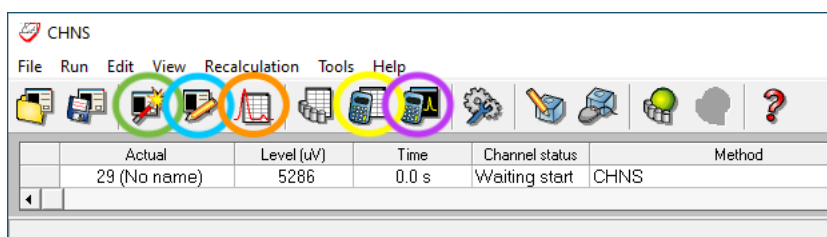
7. Correr a Sequência

Uma vez que as temperaturas sejam atingidas, o detetor esteja estável e as amostras tenham sido carregadas para o autosampler, antes de iniciar a corrida é bom rever o método e confirmar que está tudo bem na janela do Status e pode-se iniciar a corrida no botão assinalado abaixo a **azul**.

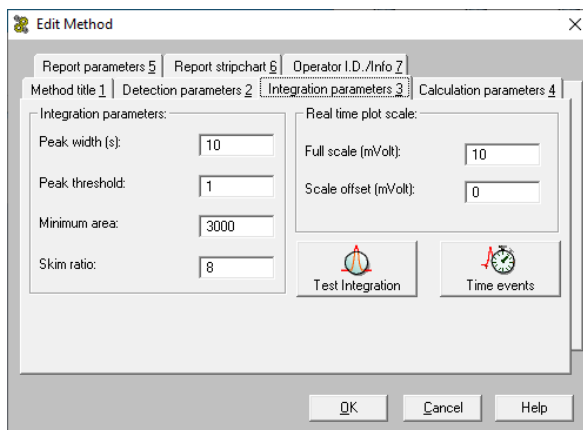
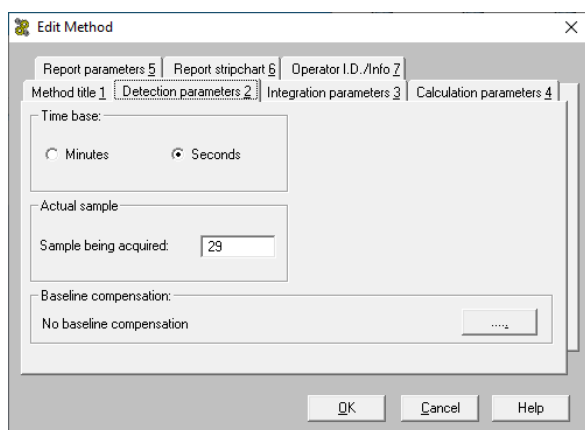
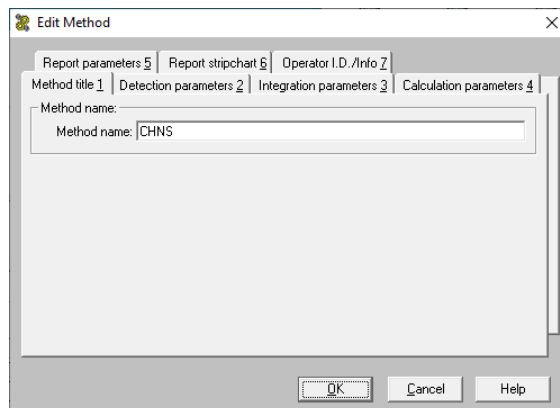


8. Integração dos Cromatogramas

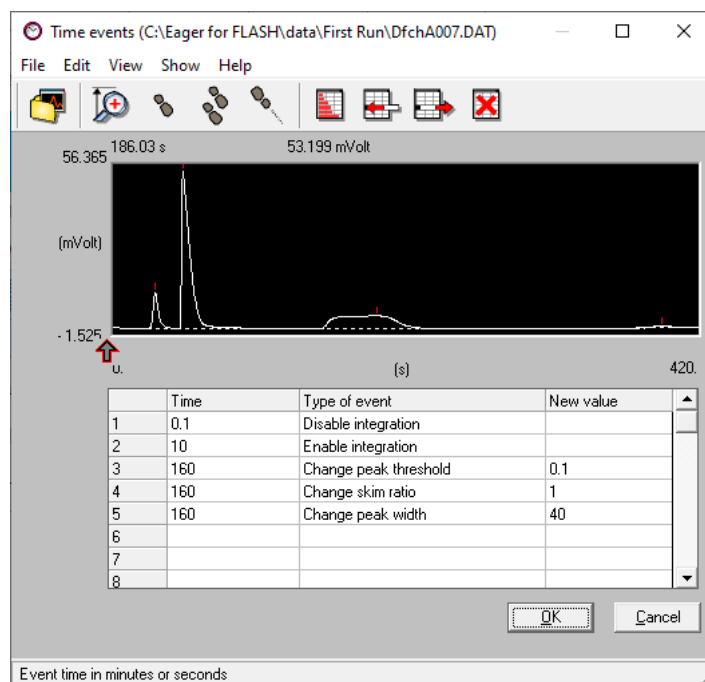
Os cromatogramas existem vários ajustes que se podem fazer para a integração do cromatograma. Na imagem em baixo estão assinalados vários botões. A **verde**, encontra-se o botão para criar um novo método. A **azul** o botar para editar o método, que inclui maioritariamente os parâmetros de integração. A **laranja** é o menu de identificação de picos. À direita do **laranja**, como já foi mencionado é a sequência de amostras. A **amarelo** são os resultados. A **roxo** é o botão de reintegração dos resultados, ou seja, caso alteremos algum dos parâmetros de integração temos de reintegrar os resultados para obter os valores atualizados.



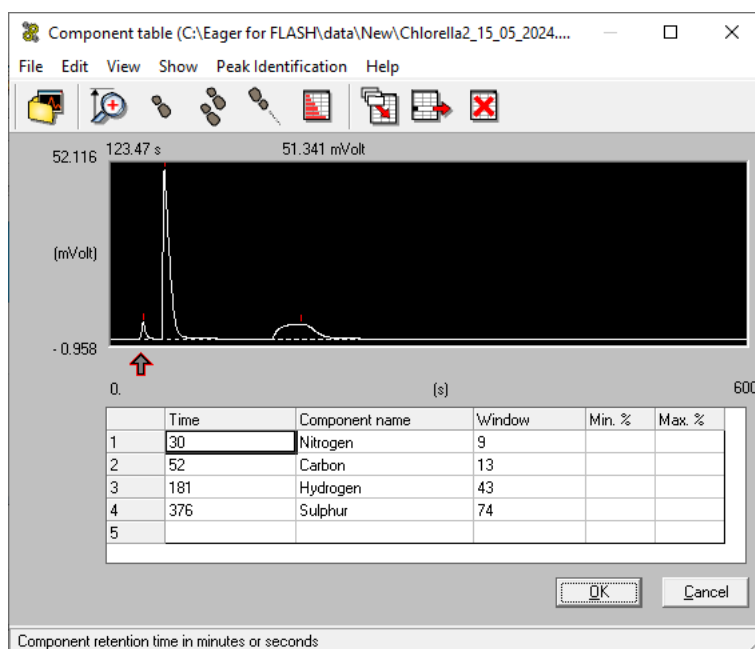
A janela do **editor de método** possui 7 separadores, como visível em baixo na figura. Sendo que os mais importantes para a integração são o 2 e o 3.



No separador 2 – **parâmetros de deteção** permite definir as unidades de tempo do cromatograma, o numero da amostra a ser analisada e definições de compensação da linha de base. Enquanto no separador 3 – **parâmetros de integração** permite alterar os parâmetros utilizados para a integração dos picos tal como largura do pico e área mínima. Permite também testar as definições de integração e alterar conforme o cromatograma no botão “Test Integration”. Outra característica importante deste separador é poder aceder à janela “Time Events” que permite implementar regras de integração e altera-las conforme os tempos e os picos, que pode se adaptado a um cromatograma por exemplo de um padrão, como é possível ver na imagem abaixo.



Voltando à janela principal, o botão que abre a janela de identificação de picos (identificado a laranja) abre a seguinte janela:



Permite identificar os picos pelo tempo e criar as janelas de identificação dos picos que vai ser utilizado como modelo para a integração dos resultados. A janela de resultados é apresentada da seguinte forma:

Summarize results (Element %)

FileSelect ResultEditViewPrintHelp



Nitrogen

	Group	Sample name	Filename	Inj Date	Inj Time	Type	W/weight (mg)	Protein Factor	Humidity %	AS	Vial	Nitrogen	Carbon	Hydrogen	Sulphur
20	0	Branco_15_05_2024	Branco_15_05_2024	15/05/2024	15:33	Blank						0	0	0	0
21	0	Bypass_15_05_2024	Bypass_15_05_2024	15/05/2024	15:43	By-Pass						0	0	0	0
22	0	Methionina1_15_05_2024	Methionina1_15_05_2024	15/05/2024	15:53	STD	1.1	6.25	0			9.420000076	40.25999832	7.480000019	21.5
23	0	Methionina1_15_05_2024	Methionina1_15_05_2024	15/05/2024	16:03	STD	1.6	6.25	0			9.420000076	40.25999832	7.480000019	21.5
24	0	Methionina2_15_05_2024	Methionina2_15_05_2024	15/05/2024	16:14	STD	2.3	6.25	0			9.420000076	40.25999832	7.480000019	21.5
25	0	Chlorella1_15_05_2024	Chlorella1_15_05_2024	15/05/2024	16:24	UNK	1.4	6.25	0			0	-32.37747955	-56.76639754	0
26	0	Chlorella2_15_05_2024	Chlorella2_15_05_2024	15/05/2024	16:34	UNK	1.9	6.25	0			0	-3.949015896	0	0
27	0	agua_Cofaco_15_05_2024	agua_Cofaco_15_05_2024	15/05/2024	16:44	UNK	5.7	6.25	0			0	-4.788767338	-4.484829903	0
28	0	Lamas_Cofaco_15_05_2024	Lamas_Cofaco_15_05_2024	15/05/2024	16:55	UNK	2.1	6.25	0			0	0	0	0
29															

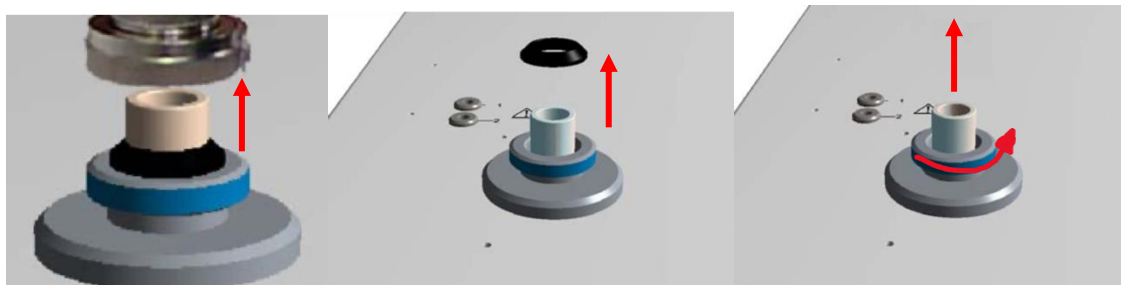
Apresentando a quantidade dos elementos por percentagem relativamente à quantidade de amostra. As unidades da quantidade dos elementos pode ser alterada no menu **view**.

Convém as definições de identificação e integração de picos serem afinadas antes das corridas mas muitas vezes pequenas alterações levam a ser necessário efetuar uma alteração das definições pelo que no botão assinalado a **roxo** na janela principal pode-se reintegrar os resultados, selecionando até as linhas a serem reintegradas, entre outros fatores que podem ser selecionados.

9. Limpeza do Reator

Para iniciar a limpeza do reator, deve-se primeiro certificar que as temperaturas do reator estão baixas, se não estiverem, deve-se baixar a temperatura no método do equipamento. Depois, na janela principal deve-se selecionar **Tools > Reactor Cleaning** e esperar os dois minutos enquanto despressuriza o reator. Após, desenrosca-se a rosca que liga o MAS Plus Autosampler ao reator e com cuidado para não danificar remove-se o O-ring preto. Com muito jeito mas alguma força desenrosca-se o reator ao mesmo tempo que se puxa para cima, evitando remover o crucible.

Importante: Não manusear o reator, crucible nem nenhum destes materiais sem usar luvas!



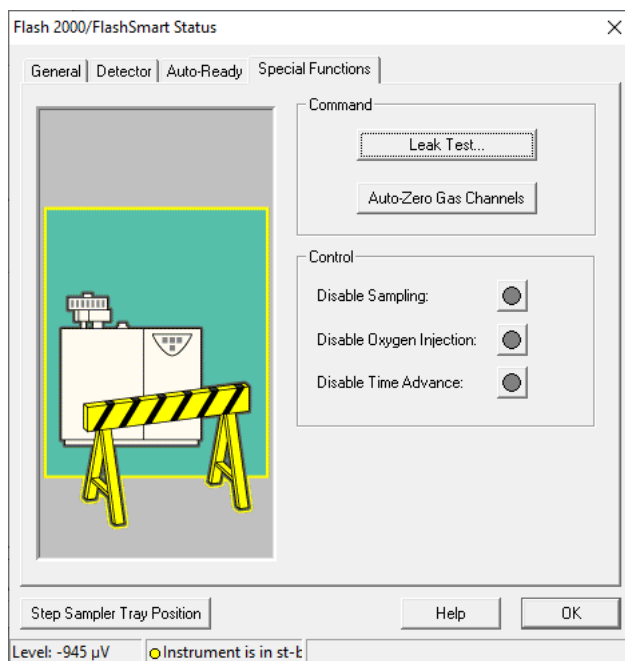
Após remover o reator de dentro do equipamento poderá ser necessário deixa-lo arrefecer um pouco mais. Pode-se aproveitar para ver o estado do crucible que pode estalar com as variações de temperatura e dos elementos do reator. Se as tiras de cobre ainda possuírem com bronzeada, o reator

ainda está capaz de executar corridas. Remover o crucible, poderá se preciso remover o estanho derretido da ponda do crucible, talvez o melhor seja utilizar uma pinça cuidadosamente. Utilizando a vara de raspar, raspar levemente e cuidadosamente a camada de estanho presente no topo do reator como na figura abaixo.



Após vai ser necessário adicionar um pouco de **Quartz Wool** e calcá-lo ligeiramente com a mesma vara. O crucible deve ser colocado novamente no reator que deve ser colocado novamente no equipamento. Em princípio não é necessário abrir o compartimento frontal do equipamento que permite acesso ao reator no entanto, poderá ser necessário abrir para apoiar o encaixe do reator no lugar correto. Certificar que o reator está mesmo no fundo e colocar novamente o O-ring preto. Tapar com a rosca do MAS Plus autosampler e enroscar que pode ser complicado.

Agora no computador pode-se desligar o programa que corre para a limpeza da coluna o que irá restituir o fluxo de gases ao equipamento. É necessário alterar o fluxo dos gases para o fluxo de corrida e iniciar o **Leak Check**. O Leak check poderá ser feito na janela do Status do Equipamento:

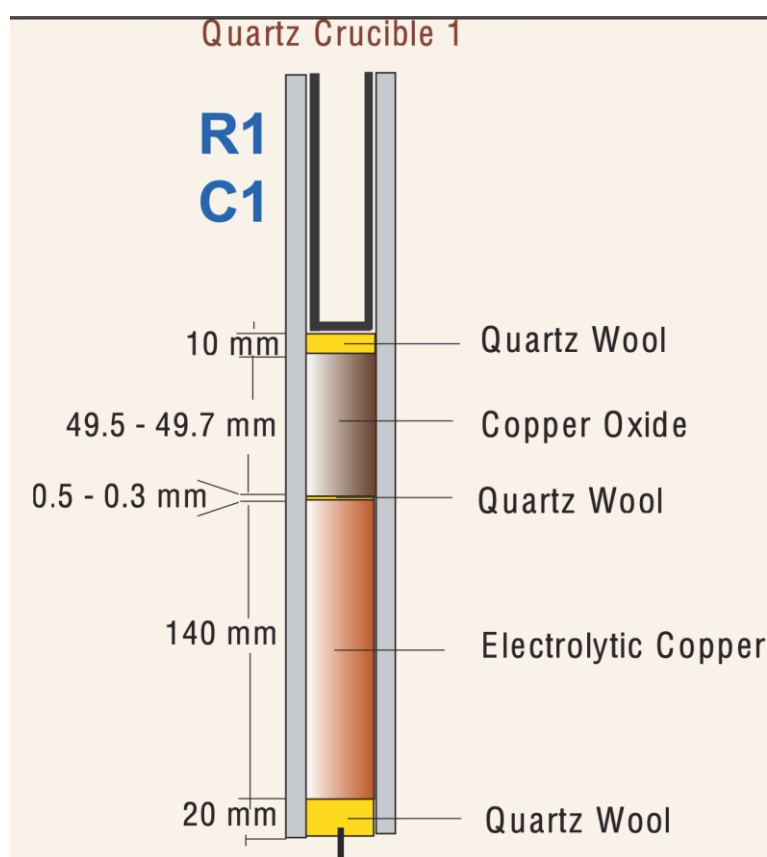


Dependendo das condições, ao fim de 1 minuto ou dois os fluxos irão baixar. No manual diz que os fluxos têm de ficar inferiores a 3 mL/min no entanto até a 6-9 mL/min ainda é aceitável. De qualquer das formas pode-se tentar dar um aperto na rosca que liga o autosampler ao reator. Caso tenha valores superiores significa que há fuga, o local mais comum é a rosca do

autosampler com o reator, muitas vezes desenroscar, dar um ajuste no O-ring e voltar a enroscar resolvem o problema. Por vezes o problema está na base do reator e aí sim é necessário tirar o reator novamente e voltar a colocá-lo, verificando que não há **quartz wool** saliente do reator, ou que o O-ring na base do reator não está danificado.

10. Preparar um Reator Novo

Para remover o reator atual deve ser utilizado o mesmo procedimento que para limpar a coluna, apesar de haver um botão próprio para mudar a coluna **Tools > Change Column**. A composição da nova coluna deve ser confirmada no cookbook, no entanto a coluna simples para o CHNS é a seguinte:



Importante: Usar sempre luvas para a preparação e manuseamento dos reatores.

Após colocar o reator no lugar, fechar tudo e fazer o leak check como explicado no capítulo anterior.

11. Filtro de Adsorção

O filtro de adsorção encontra-se visível por trás da porta direita do equipamento como representado no capítulo 1 e tal como o reator o enchimento do filtro de adsorção depende da análise a ser feita. Apesar de

nos manuais referir que para o CHNS não é necessário preencher a parte de cima do filtro com **Soda Lime** e a parte de baixo com **Magnesium Perchlorate** (mais ou menos 50% de cada) ajuda a capturar as moléculas de H_2O e aumentar o sinal do enxofre. Quando a soda lime ficar totalmente com cor roxa ou lilás é altura de trocar o preenchimento. Tirando usar luvas e confirmar que as tampas ficam bem fechadas não há cuidados especiais a ter com o enchimento do filtro. Para outras aplicações o enchimento pode ser verificado no cookbook.

Oxigénio