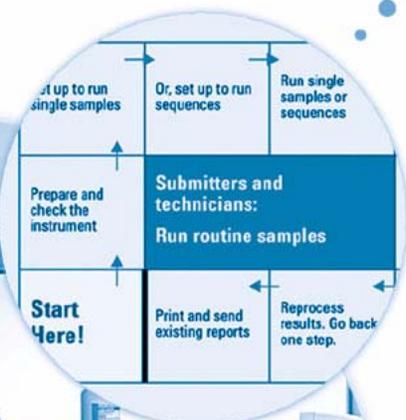
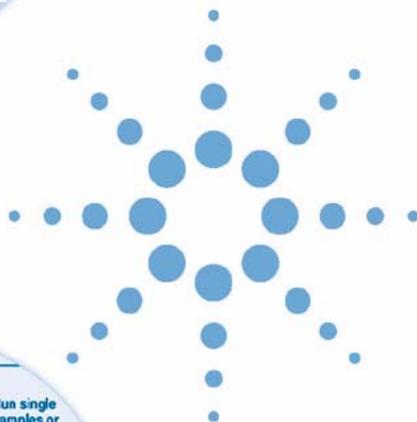


Sistema NDS Cerity per QA/QC in campo farmaceutico



Guida introduttiva



Agilent Technologies

Avvisi

© Agilent Technologies, Inc. 2003

Nessuna parte di questo manuale può essere riprodotta in alcun formato o con alcun mezzo (inclusa l'archiviazione e la scansione elettroniche o la traduzione in una lingua straniera) senza previo consenso scritto di Agilent Technologies, Inc. secondo le disposizioni di legge sul diritto d'autore degli Stati Uniti, internazionali e locali applicabili.

Codice del manuale

G4000-94012

Edizione

12/2003

Stampato in Germania

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

Microsoft® è un marchio registrato negli Stati Uniti di Microsoft Corporation.

Revisione software

Questa guida si riferisce alle versioni A.02.xx del software Sistema NDS Cerity per QA/QC in campo farmaceutico dove xx indica modifiche minori del prodotto che non influiscono in alcun modo sull'accuratezza tecnica della presente guida.

Garanzia

Le informazioni contenute in questo documento sono fornite allo stato corrente e sono soggette a modifiche senza preavviso nelle edizioni future. Agilent non rilascia alcuna garanzia, esplicita o implicita, relativamente al presente manuale e alle informazioni in esso contenute. Salvo il caso di dolo o colpa grave Agilent non sarà responsabile di errori o danni diretti o indiretti relativi alla fornitura o all'uso di questo documento o delle informazioni in esso contenute. In caso di separato accordo scritto fra Agilent e l'utente con diverse condizioni di garanzia relativamente al contenuto di questo documento in conflitto con le condizioni qui riportate, prevarranno le condizioni dell'accordo separato.

Licenze sulla tecnologia

I componenti hardware e/o software descritti in questo documento vengono forniti con licenza e possono essere utilizzati o copiati solo in conformità ai termini di tale licenza.

Indicazioni di sicurezza

AVVERTENZA

L'indicazione **AVVERTENZA** segnala un rischio. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analoga operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare danni al prodotto o la perdita di dati importanti. Non eseguite mai alcuna operazione ignorando l'**AVVERTENZA**, fatelo solo dopo aver compreso e applicato completamente le indicazioni di Agilent.

ATTENZIONE

L'indicazione **ATTENZIONE** segnala un rischio serio. Richiama l'attenzione su una procedura operativa o analoga operazione che, se non eseguita correttamente o non rispettata, può provocare lesioni personali o morte. Non eseguite mai alcuna operazione ignorando l'indicazione **ATTENZIONE**, fatelo solo dopo aver compreso e applicato completamente le indicazioni di Agilent.

Sommario

Prima di iniziare 5

Analisi di campioni di routine 9

**Esercizio base n. 1a
Equilibratura dello strumento 13**

**Esercizio base n. 2a Analisi di un
campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio 19**

**Esercizio base n. 2b
Analisi di un gruppo di campioni singoli per identificare i composti 25**

**Esercizio base n. 3a
Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con
una calibrazione a livello singolo 31**

**Esercizio base n. 3b
Reintegrazione e rielaborazione dei risultati 41**

**Esercizio avanzato n. 4a
Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con
una calibrazione multilivello 47**

**Esercizio avanzato n. 4b
Modifica delle variabili del campione e rielaborazione 55**

**Esercizio avanzato n. 5a
Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze 63**

**Esercizio avanzato n. 5b
Uso di un metodo diverso per la rielaborazione 69**

Impostazione dei metodi 73

Esercizio base n. 1

Impostazione di un metodo di equilibratura 75

Esercizio base n. 2

**Impostazione di un metodo per
campioni singoli per l'identificazione dei composti 83**

Esercizio base n. 3

**Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo
per la sequenza 95**

Esercizio avanzato n. 4

**Impostazione di un metodo per
campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri 111**

Esercizio avanzato n. 5

Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza 129

Esercizio avanzato n. 6

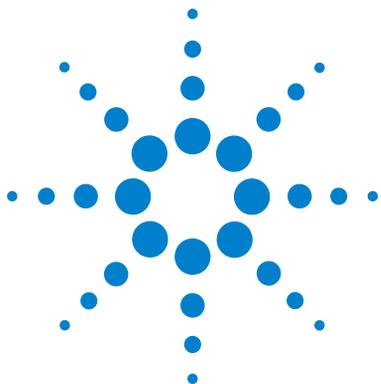
**Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione
di impurezze 141**

Esercizio avanzato n. 7

**Calcolo della somma media dell'area delle impurezze non identificate
per lotto 159**

Esercizio avanzato n. 8

**Impostazione di un identificatore di gruppo con calcoli di
system suitability 167**



Prima di iniziare

Gli esercizi introduttivi costituiscono un modo rapido per apprendere le applicazioni di QA/QC Cerity per il campo farmaceutico. Utilizzare la *Guida ai concetti di Cerity* per facilitare l'esecuzione degli esercizi.

Impostazione di metodi

Se si sviluppano metodi per il laboratorio sarà utile eseguire questi esercizi. Si possono utilizzare questi metodi per eseguire campioni e sequenze con gli esercizi *Analisi di campioni di routine*.

Analisi di campioni di routine

Se si analizzano campioni ma non si sviluppano metodi, è possibile eseguire questi esercizi con i metodi predefiniti contenuti nel sistema di gestione dati in rete Cerity oppure utilizzare i metodi impostati tramite gli esercizi di impostazione dei metodi.

Prima di iniziare

Assicurarsi che l'amministratore di sistema trasferisca i metodi predefiniti ed il cromatogramma di esempio dal CD-ROM Cerity nel database. Per ulteriori informazioni su come trasferire i metodi e renderli utilizzabili per il proprio sistema, vedere la pagina successiva.



Operazione 1. Ripristinare i metodi predefiniti

I metodi predefiniti per gli esercizi di base ed avanzati si trovano nel CD del software di Cerity in **\GettingStarted\DefaultMethods**.

1 Ripristino dei metodi predefiniti.

I metodi predefiniti per gli esercizi di base ed avanzati si trovano nel CD del software di Cerity in **\GettingStarted\DefaultMethods**.

2 Selezionare **Start > Programs > Agilent Cerity > Administration and Maintenance > Archive and Restore**.

3 Inserire le informazioni per l'accesso, quindi selezionare **OK**.

4 Selezionare **Restore**, quindi fare clic su **Next**.

5 Fare clic sul pulsante

6 Selezionare **\GettingStarted\DefaultMethods\Basic** (o **\Advanced**) sull'unità CD.

7 Fare clic su **OK**, su **Next** e rispondere **Yes** ai messaggi.

8 Fare clic sul pulsante >> per spostare i metodi predefiniti nell'elenco **Restore Objects**.

9 Fare clic su **Next**, **Start**, quindi rispondere **OK** ad ogni messaggio che compare.

Viene visualizzato il seguente messaggio: "These tables contain duplicates".

Operazione 2. Risolvere duplicati di database

1 Fare clic su **Next**.

2 Verificare di non aver selezionato la casella di controllo **Select instruments to enable**.

3 Fare clic su **Next** e selezionare il secondo ruolo di amministratore.

4 Fare clic su **Rename**, quindi inserire il nuovo ruolo **Admin** e premere **OK**.

5 Fare clic su **Next**, **Start**, quindi su **OK**.

6 Fare clic su **OK**, quindi su qualsiasi tasto **Close**.

Operazione 3. Ripristinare il cromatogramma di esempio

Il cromatogramma di esempio si trova sul CD-1 di Cerity in **\GettingStarted\DefaultResults**. Assicurarsi che il cromatogramma di esempio predefinito sia stato ripristinato.

- 1 Ripetere le operazioni da 1 a 4 in "[Operazione 1. Ripristinare i metodi predefiniti](#)" a pagina 6.
- 2 Selezionare **\GettingStarted\DefaultResults** sull'unità CD-ROM, quindi fare clic su **OK**, infine su **Next**.
- 3 Selezionare **defexchrom2a**, fare clic su **>** e su **Next**.
- 4 Fare clic su **Start** e rispondere **OK** ai messaggi che compaiono, quindi fare clic su **Close**.
- 5 Selezionare **Start > Programs > Agilent Cerity > Cerity Pharmaceutical QA/QC**.
- 6 Inserire le informazioni per l'accesso, quindi selezionare **OK**.
- 7 Selezionare **Result** nell'elenco **Current View**.
- 8 Selezionare **AllResultsRestored** nell'elenco **Query**.

Operazione 4. Copiare il metodo predefinito da utilizzare con lo strumento

Se necessario, consultare "[Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti](#)" a pagina 83.

- 1 Selezionare **Method** nell'elenco **Current View**.
- 2 Selezionare **AllMethodsRestored** nell'elenco **Query**.
- 3 Per ogni metodo predefinito:
 - a Selezionare **File > New > Method**.
 - b Fare clic su **Browse**, selezionare **defaultmethodN** per gli esercizi di base o **AdvdefaultmethodN** per gli esercizi avanzati, quindi fare clic su **OK**.

NOTA

La prima volta che si copia e si rinomina **Advdefaultmethod4**, specificare il nome **defexer4a**. Il primo utente modificherà questo metodo nell'Esercizio n. 4b. Affinché il secondo utente possa usare il metodo, copiare **Advdefaultmethod4** e rinominarlo in **defexer4b**.

- c** Assegnare al nuovo metodo il nome **defexerN** e fare clic su **Next**.
 - d** Selezionare lo strumento sul quale verrà utilizzato il metodo, quindi fare clic su **Next**.
 - e** Fare clic su **Next** per passare al pannello **New Method Review**.
 - f** Far clic su **Finish**, quindi su **Save** quando viene visualizzato il messaggio "Save to the database".
- 4** Selezionare **AllResultsRestored** nell'elenco **Query**.
 - 5** Espandere **defexerN**.
 - 6** Espandere **Instrument Setup** e modificare le impostazioni.
 - 7** Adattare le impostazioni dello strumento per i moduli LC non corrispondenti.

I metodi predefiniti possono essere usati SOLO su strumenti con rivelatore VWD Agilent. Gli altri moduli LC NON devono corrispondere ai moduli sui quali i metodi sono stati impostati (autocampionatore, pompa quaternaria, comparto colonne termostatao).

Se non si dispone di uno strumento con rivelatore VWD da usare per gli esercizi, l'amministratore o un utente avanzato dovranno impostare i metodi utilizzando l'apposita sezione di questa guida.



Analisi di campioni di routine

Gli esercizi che seguono consentono di apprendere l'analisi dei campioni di routine. Per gli esercizi "a" è possibile utilizzare i metodi predefiniti oppure impostare metodi con gli esercizi di impostazione dei metodi. Per passare agli esercizi "b", è indispensabile avere ottenuto i risultati degli esercizi "a". L'insieme degli esercizi di base ed avanzati comprende i seguenti argomenti:

Di base **Esercizio 1 – Equilibratura dello strumento** Modalità di equilibratura dello strumento tramite il pannello dello strumento o tramite un metodo.

Esercizio 2a – Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio Modalità di produzione di un cromatogramma di esempio da usare per l'impostazione di integrazione ed identificazione in un metodo.

Esercizio 2b – Analisi di un gruppo di campioni singoli per identificare i composti Modalità di inserimento ed analisi di un gruppo di campioni singoli con un metodo per identificare i composti del campione.

Esercizio 3a – Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo Modalità di impostazione di calibrazione a livello singolo e aggiornamento singolo, quantificazione ESTD e quantità di composti fisse.

Esercizio 3b – Reintegrazione e rielaborazione dei risultati Modalità di reintegrazione manuale dei risultati della sequenza e rielaborazione dei risultati con la versione di metodo originale.



Per ulteriori informazioni sull'analisi di campioni di routine consultare la sezione "Analisi di campioni" della *Guida ai concetti*.

Avanzati **Esercizio 4a – Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione multilivello** Modalità di impostazione di una sequenza multilivello, con ricalibrazione globale, quantità di composto variabili e variabili del campione.

Esercizio 4b – Modifica delle variabili del campione e rielaborazione Modalità di rielaborazione dei risultati con la versione più recente del metodo ed una versione con variabili di campione nuove.

Esercizio 5a – Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze Modalità di impostazione di una quantificazione ISTD, calcoli personalizzati, limiti, calibrazione in bracketing e system suitability.

Esercizio 5b – Uso di un metodo diverso per la rielaborazione Modalità di rielaborazione con un metodo nuovo.

Prima di iniziare

Leggere "**Prima di iniziare**" a pagina 5.

Se si pensa di utilizzare metodi predefiniti per questi esercizi, accertarsi che i metodi siano presenti nel database. Dall'elenco Query, selezionare AllMethodsRestored per visualizzare defexer1-5 oppure AllResultsRestored per visualizzare defexchrom2a.

L'amministratore di sistema deve aver configurato il cromatografo liquido Agilent Serie 1100 per il sistema.

Se si pensa di effettuare gli esercizi di Analisi di campioni di routine con i metodi predefiniti, è indispensabile utilizzare uno strumento dotato di rivelatore VWD. Se si utilizzano i metodi creati negli esercizi Impostazione dei metodi, è necessario disporre di un solo campionatore, di una pompa (quaternaria o binaria) e di un rivelatore UV-visibile (VWD, MWD, DAD).

Il solvente A è acqua. Il solvente B è metanolo o acetonitrile.

Utilizzare la colonna Agilent Technologies Eclipse XDB-C8 (o C-18), 4,6 mm X 15 cm (5 µm).

Preparare i tre seguenti vial di standard isocratico, codice Agilent 01080-68704: non diluito, diluito di un fattore di 2 e diluito di un fattore di 4.





Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Equilibrare lo strumento dall'apposito pannello dell'applicazione Cerity per QA/QC in campo farmaceutico.
- Inserire ed analizzare un campione di equilibratura (analisi in bianco) con un metodo creato per equilibrare lo strumento.

È possibile utilizzare una copia del metodo predefinito fornito con il sistema per equilibrare lo strumento oppure il metodo creato in "[Esercizio base n. 1 Impostazione di un metodo di equilibratura](#)" a pagina 75.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Assicurarsi che la pompa sia in standby e che la lampada VWD sia spenta.

Assicurarsi che i metodi da utilizzare per questo esercizio siano stati impostati o ripristinati.



Operazione 1. Spurgare la pompa dal pannello Instrument

Fasi

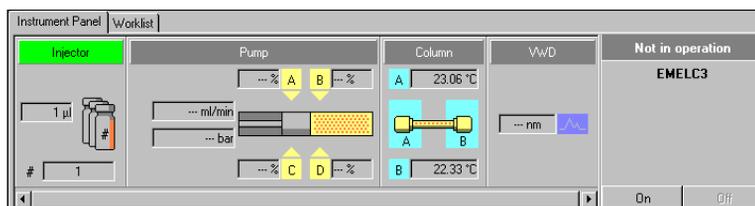
Istruzioni dettagliate

1 Scollegare la pompa e spurgare la linea B.

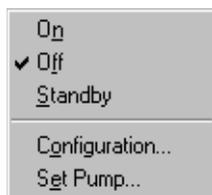
Flusso: 5ml/min

% B = 10%

- a Ruotare in senso antiorario la valvola nera situata sulla pompa per due giri completi.
- b Selezionare **Instrument** nell'elenco **Current View**.
- c Selezionare lo strumento che si intende equilibrare.
Viene visualizzato il pannello Instrument insieme a Online Plot.



- d Fare clic sul modulo della pompa in Instrument Panel.
Viene visualizzato un menu.



- e Selezionare **Set Pump**.
- f Inserire un flusso di 5 ml/min e % B = 100, quindi fare clic su **OK**.

2 Spurgare la linea A e collegare la pompa.

% A = 100

- a Quando sono state eliminate tutte le bolle presenti in linea, ripetere le operazioni d ed e dal punto 1.
- b Impostare % B = 0, quindi fare clic su **OK**.
- c Una volta eliminate le bolle dalla linea, fare clic sul modulo della pompa, quindi scegliere **Standby**.
- d Stringere la valvola nera.

Operazione 2. Equilibrare lo strumento dal pannello Instrument

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Inserire i parametri della pompa

Metanolo come solvente B:

- Flusso: 2 ml/min.
- Composizione del solvente:
8% MeOH/2% H₂O

Acetonitrile come solvente B:

- Flusso: 1,5 ml/min
- Composizione del solvente:
65% ACN/35% H₂O

- Fare clic sul modulo della pompa in Instrument Panel.
- Selezionare **Set Pump**.
Viene visualizzata la finestra di dialogo Set pump.
- Inserire i parametri della pompa come riportato nella colonna sinistra, quindi fare clic su **OK**.

Solvents		Act. Fill (liters)	Max. Fill (liters)
A:	20 %	0.097	3.5
B:	<input checked="" type="checkbox"/> 80 %	0.597	3.3
C:	<input type="checkbox"/> Off	0	5
D:	<input type="checkbox"/> Off	0	5

- Fare clic sul modulo della pompa e selezionare **On**.

2 Accendere la lampada del rivelatore

- Fare clic sul modulo del rivelatore in Instrument Panel.
- Selezionare **Lamp On**.
Attendere fino a che la linea di base si sia stabilizzata.

Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento

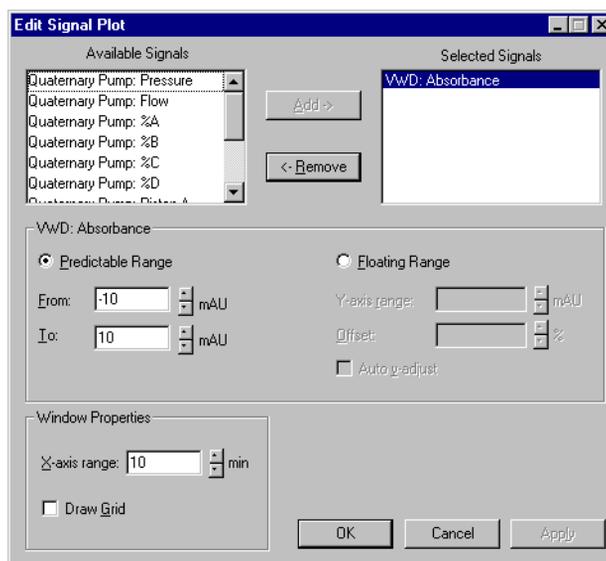
Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Tenere la linea di base sotto controllo finché appare stabile.

Dopo questa prima fase si possono effettuare i rimanenti esercizi oppure passare all'operazione successiva per imparare ad equilibrare lo strumento con un metodo.

- Fare clic su **Change** nella parte inferiore di Online Plot. Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Signal Plot.
- Selezionare il segnale del rivelatore desiderato dall'elenco **Available Signals**, quindi fare clic sul pulsante **Add** per inserire il segnale nell'elenco **Selected Signals**. È possibile selezionare la pressione della pompa.
- Impostare **Predictable Range (Y-axis)** su un valore compreso tra -10 e +10.
- Impostare **X-Axis range** su 10 min.
- Fare clic su **OK**.



- Fare clic sul modulo del rivelatore dopo che la lampada è rimasta accesa per alcuni minuti.
- Selezionare **Balance**.
Quando la linea di base rimane a zero per alcuni minuti dopo aver raggiunto l'equilibrio, può essere considerata stabile.

Operazione 3. Equilibrare uno strumento con un metodo – Immissione di un campione di equilibrato

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Inserire le informazioni sul campione

Nome campione: *equilsampiii*, dove *iii* indica le iniziali dell'operatore

Metodo: *defexer1* o *equilmethiii*

Vedere "Prima di iniziare" a pagina 5 per ulteriori informazioni su come ripristinare e copiare i metodi predefiniti.

- Selezionare **Instrument** nell'elenco **Current View**.
- Espandere la cartella **Sample Entry** per lo strumento da equilibrare.
- Selezionare **Single Samples**.
- Inserire in **Sample Name** il nome *equilsampiii*.
- Inserire in **Method** il nome *equilmethiii* o *defexer1*.
- Inserire in **Sample Type** la selezione **Blank Run**.
- Fare clic su **Apply**.

Il campione può essere inserito anche in Sample View quando è necessario inserire campioni e sequenze durante un'analisi.

2 Inserire le operazioni che il sistema deve eseguire durante l'analisi.

- Deselezionare le caselle **Quantify** e **Report**.
- Fare clic su **Apply**.

	INSTRUMENT NAME	METHOD NAME	SAMPLE NAME	NUM OF INJECTIONS
1	EMELC3	equilmethdec	equilsampdec	1
2				

Sample Entry | Sample Logbook

Sample Name:

Method: ...

Sample Type:

Instrument:

Vial Number	Injections	Volume [µl]
<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="1"/>	as method

Run | Amounts | Identification | Description | Report Destination

Run with

Priority: Schedule:

Task(s) to perform

Acquire Quantify

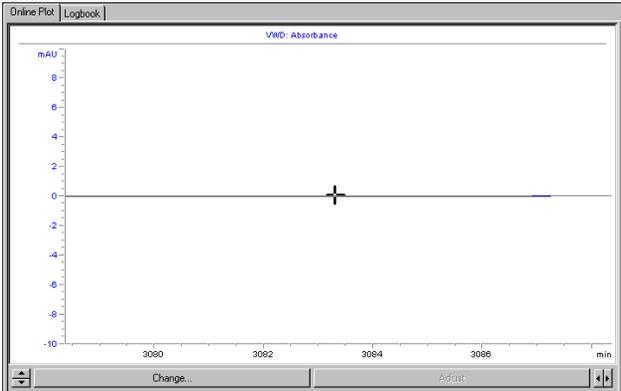
Integrate Report

3 Salvare il campione nel database

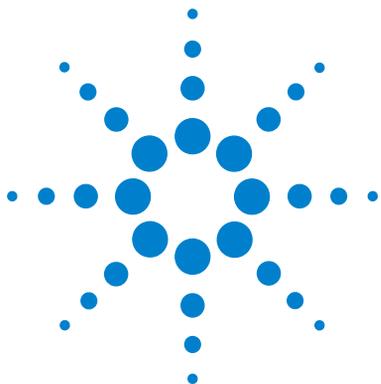
- Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .
- Rivedere l'elenco delle modifiche.
- In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.
- Se necessario inserire la propria firma elettronica.
- Fare clic sul pulsante **Save**.

Operazione 4. Equilibrare uno strumento con un metodo – Analisi del campione di equilibrare

Fasi	Istruzioni dettagliate
1 Analizzare equilsamp ⁱⁱⁱ	<p>a Selezionare il campione, equilsampⁱⁱⁱ nella tavola dei campioni. Il pulsante Run è attivo.</p> <p>b Fare clic sul pulsante Run  della barra degli strumenti Actions.</p>
2 Tenere la linea di base sotto controllo finché appare stabile.	<p>a Selezionare lo strumento che si intende equilibrare. Viene visualizzato il pannello Instrument insieme a Online Plot.</p> <p>b Fare clic su Change nella parte inferiore di Online Plot. Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Signal Plot. Vedere la figura a pagina pagina 16.</p> <p>c Selezionare il segnale del rivelatore desiderato dall'elenco Available Signals, quindi fare clic sul pulsante Add per inserire il segnale nell'elenco Selected Signals.</p> <p>d Impostare Predictable Range su un valore compreso tra -10 e +10.</p> <p>e Impostare X-Axis range su 10 min.</p> <p>f Fare clic su OK.</p>



The screenshot shows the 'Online Plot' window with a 'Logbook' tab. The plot title is 'VWD: Absorbance'. The y-axis is labeled 'mAU' and ranges from -10 to 8. The x-axis is labeled 'min' and ranges from 3080 to 3086. A horizontal line is drawn at 0 mAU, with a small crosshair cursor positioned on it. At the bottom of the window, there are 'Change...' and 'Edit' buttons.



Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Inserire un campione per produrre un cromatogramma di esempio.
- Analizzare il campione.
- Controllare i risultati.

Il cromatogramma di esempio può essere un cromatogramma qualsiasi. Utilizzare il cromatogramma di esempio per verificare nuovi parametri di integrazione ed identificare i picchi come composti.

Per l'esercizio possono essere utilizzati i seguenti metodi:

- Una copia del metodo predefinito fornito con il sistema NDS Cerity
- Il metodo salvato in "[Operazione 3. Salvare ed ispezionare le modifiche del metodo.](#)" a pagina 90 della sezione Impostazione dei metodi
- Un metodo di equilibratura creato in "[Esercizio base n. 1 Impostazione di un metodo di equilibratura](#)" a pagina 75.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, provare ad effettuare prima le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.



Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9 per l'analisi di campioni di routine.

Equilibrare lo strumento. Vedere "[Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento](#)" a pagina 13. Assicurarsi che i metodi da utilizzare per questo esercizio siano stati impostati o ripristinati.

Operazione 1. Inserire un campione singolo

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Avviare Instrument View per trovare la tavola dei campioni relativa ai campioni singoli.</p>	<p>a Selezionare Instrument nell'elenco Current View.</p> <p>b Espandere la cartella dello strumento che produrrà il cromatogramma di esempio.</p> <p>c Selezionare Single Samples.</p> <p>Nell'area di lavoro vengono visualizzati la tavola dei campioni ed il pannello di inserimento.</p>
<p>2 Inserire un campione con le seguenti informazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Assegnare al campione il nome <i>exchromiii</i>, dove <i>iii</i> sono le iniziali dell'operatore. • Selezionare <i>defexer2</i>, <i>exer2iii</i> (quando si salva per la prima volta) e <i>equilmethiii</i> • Selezionare il vial che contiene lo standard isocratico a concentrazione totale. 	<p>a Inserire <i>exchromiii</i> nella casella Sample Name.</p> <p>b Selezionare un metodo dall'elenco Method.</p> <p>Lo strumento associato al metodo viene visualizzato nella casella Instrument.</p> <p>c Selezionare Sample nell'elenco Sample Type.</p> <p>d Inserire il numero di vial per il campione nella casella Vial Number.</p> <p>e Fare clic su Apply per inserire le informazioni sul campione nella relativa tavola.</p> <p>Per tutti gli altri parametri utilizzare i valori predefiniti.</p>
<p>3 Inserire le operazioni da effettuare durante l'analisi.</p>	<p>a Deselezionare le caselle Quantify e Report.</p>

The screenshot shows the 'Sample Entry' window in the software. The 'Sample Name' field contains 'exer2bdec1'. The 'Method' dropdown is set to 'exer2dec'. The 'Sample Type' dropdown is set to 'Sample'. The 'Instrument' dropdown is set to 'EMELC3'. Below these, there are input fields for 'Vial Number' (1), 'Injections' (1), and 'Volume [µl]' (as method). On the right side, there are tabs for 'Run', 'Amounts', 'Identification', 'Description', and 'Report Destination'. Under the 'Run' tab, there are sections for 'Run with' (Priority: Medium, Schedule: Unknown) and 'Task(s) to perform' (Acquire, Integrate, Quantify, Report). The 'Quantify' and 'Report' checkboxes are unchecked.

<p>4 Salvare il campione.</p>	<p>a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .</p> <p>Viene visualizzata la finestra di dialogo Save Changes To The Database.</p> <p>b Rivedere l'elenco delle modifiche List of changes.</p> <p>c In Reason for changes inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.</p> <p>d Se necessario, inserire la propria firma elettronica.</p> <p>e Fare clic sul pulsante Save.</p>
--------------------------------------	---

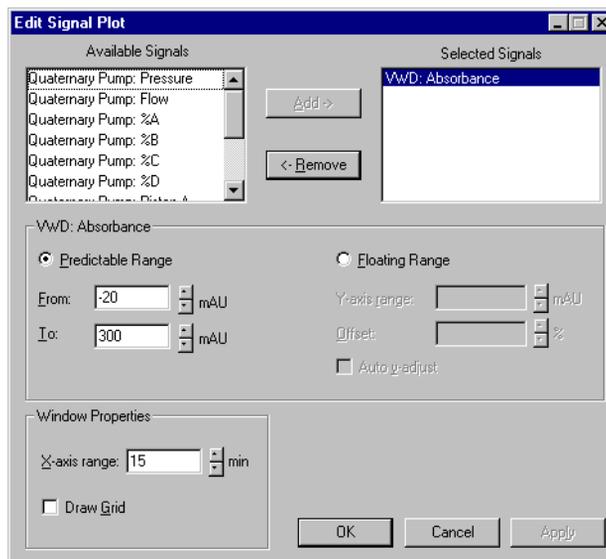
Operazione 2. Analizzare il campione

Fasi

1 Verificare che lo strumento sia pronto per l'uso.

Istruzioni dettagliate

- a Selezionare lo strumento dalla struttura di selezione.
- b Fare clic sulla scheda **Online Plot**.
- c Fare clic sul pulsante **Change**.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Edit Signal Plot**.
- d Selezionare il segnale del rivelatore desiderato dall'elenco **Available Signals**.
- e Fare clic sul pulsante **Add** per inserire il segnale nell'elenco **Selected Signals**.
- f Selezionare l'opzione **Predictable Range**, quindi impostare l'intervallo previsto su un valore compreso tra -20 mAU e 300 mAU.
- g In **Window Properties** inserire 5 min nella casella **X-Axis range**.
- h Fare clic sul pulsante **OK**.



Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio

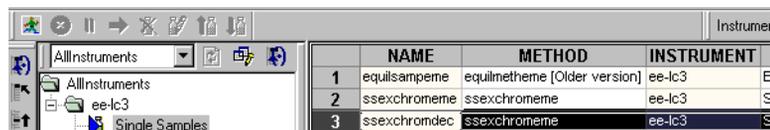
Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Analizzare il campione.

- Espandere la cartella relativa allo strumento dalla struttura di selezione.
- Selezionare **Single Samples**.
- Selezionare il campione, *exchromiii*.

Il pulsante Run  viene visualizzato sulla barra degli strumenti Tools.

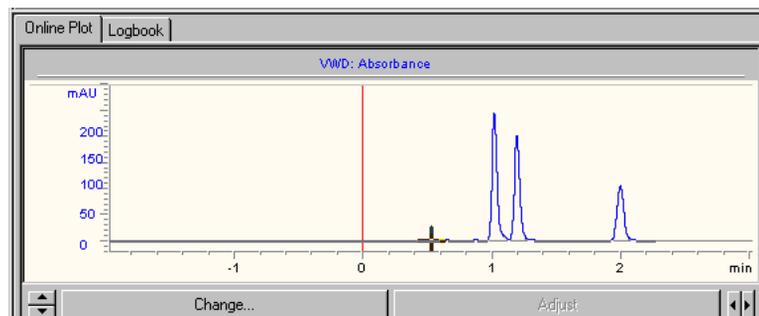


d Fare clic sul pulsante **Run**.

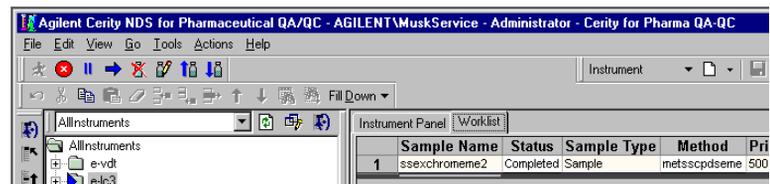
Il campione può anche essere analizzato a partire da Sample View.

3 Controllare il segnale e controllare lo stato del campione.

- Selezionare lo strumento nella struttura di selezione.
- Fare clic sulla scheda **Online Plot** per visualizzare il segnale.
Se necessario, modificare gli assi.



c Fare clic sulla scheda **Worklist** per verificare lo stato del campione.



Dopo aver selezionato la scheda **Worklist**, vengono attivati i pulsanti **Abort**, **Pause** e **Resume**.

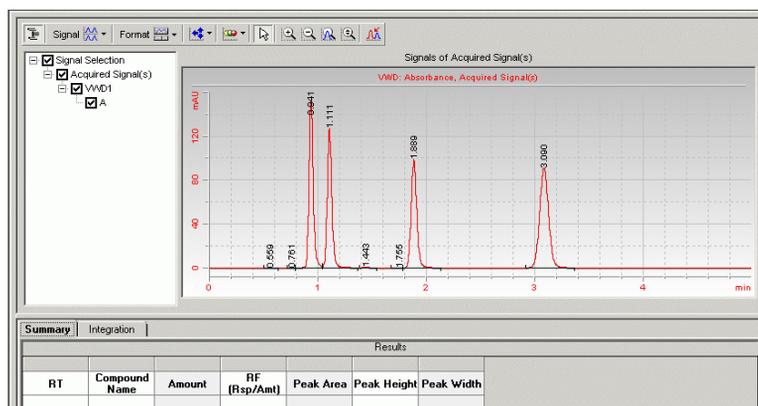
Operazione 3. Rivedere il cromatogramma

Fasi

1 Rivedere il risultato prodotto dal campione ed assicurarsi che tutti e quattro i picchi siano stati integrati.

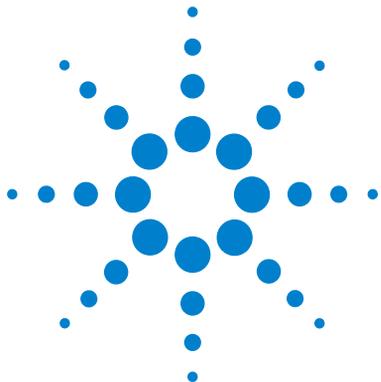
Istruzioni dettagliate

- a Selezionare **Result** nell'elenco **Current View**.
- b Selezionare **MySamplesRunLast24h** dall'elenco **Query**.
- c Espandere la cartella **Samples**.
- d Espandere la cartella **exchromiii**.
- e Selezionare l'iniezione **exchromiii #1**.
- f Visualizzare il cromatogramma e i risultati di **Summary**.



g Fare clic sulla scheda **Integration** per vedere i risultati dell'integrazione.

Summary						Integration	
RT	Peak Type and Separation Code	Peak Area	Peak Height	Peak Width	T	Initial Events	
0.56	BB	0.5678	0.1215	0.0647		Initial Event Name	
0.76	BV	0.7701	0.3293	0.0375		Initial Event Value	
0.94	VV	419.6385	153.4289	0.0421		Area Reject	0.0000
1.11	VB	374.5102	126.7572	0.0447		Slope Sensitivity	1.00
1.44	BB	2.6038	0.7431	0.0525		Peak Width	0.0400
1.75	BV	0.2067	0.0663	0.0495		Shoulder Detection Mode	Disabled
1.89	VB	357.0249	98.3153	0.0555		Height Reject	0.0000
3.09	BB	523.8801	90.8962	0.0891		For All Signals	
						Tail Peak Skim Height Ratio	0.00
						Front Peak Skim Height Ratio	0.00
						Skim Valley Ratio	20.00
						Baseline Correction	Classical
						Tangent Skim Mode	Standard
						Peak to Valley Ratio	500.00



Esercizio base n. 2b

Analisi di un gruppo di campioni singoli per identificare i composti

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Inserire un campione.
- Analizzare e controllare gruppi di campioni singoli.
- Rivedere i risultati per verificare l'identificazione del composto.

Per l'esercizio possono essere utilizzati i seguenti metodi:

- Una copia del metodo predefinito fornito con Sistema di gestione dati in rete (NDS).
- Il metodo completato in "[Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti](#)" a pagina 83.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.

Equilibrare lo strumento. Vedere "[Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento](#)" a pagina 13.

Assicurarsi che i metodi da utilizzare per questo esercizio siano stati impostati o ripristinati.



Operazione 1. Inserire tre campioni singoli

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Avviare Instrument View per trovare la tavola dei campioni relativa ai campioni singoli.</p>	<p>a Selezionare Instrument nell'elenco Current View.</p> <p>b Espandere la cartella dello strumento</p> <p>c Selezionare Single Samples.</p> <p>Nell'area di lavoro verranno visualizzati la tavola dei campioni ed il pannello di inserimento Sample Entry.</p>
<p>2 Inserire un campione con le seguenti informazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> Assegnare al campione il nome <i>exer2biii</i>, dove <i>iii</i> sono le iniziali dell'operatore. Selezionare il metodo per il campione: <i>defexer2</i> o <i>exer2iii</i> Selezionare il vial che contiene lo standard isocratico a concentrazione totale. 	<p>a Inserire <i>exer2biii</i> nella casella Sample Name.</p> <p>b Selezionare il metodo <i>exer2</i> nell'elenco Method (o copia di <i>defexer2b</i>).</p> <p>Lo strumento associato al metodo viene visualizzato nella casella Instrument.</p> <p>c Selezionare Sample nell'elenco Sample Type.</p> <p>d Inserire in Vial Number in numero del vial che contiene lo standard.</p> <p>e Fare clic su Apply per inserire le informazioni sul campione nella relativa tavola.</p>
<p>3 Inserire le operazioni che il sistema deve eseguire durante l'analisi.</p>	<p>a Selezionare la casella Quantify e deselezionare la casella Report.</p> <p>La casella Quantify deve essere selezionata per poter identificare i composti anche se Calibration e Quantitation non sono state impostate nel metodo.</p> <p>b Fare clic su Apply.</p>

Esercizio base n. 2b Analisi di un gruppo di campioni singoli per identificare i composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

4 Salvare il campione

- a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su . Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**.
- b Rivedere l'elenco delle modifiche **List of changes**.
- c In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.
- d Fare clic sul pulsante **Save**.

5 Ripetere le operazioni da 2 a 4 per i due campioni successivi.

Assegnare ai campioni i nomi exer2biii2 e exer2biii3.

- a Selezionare la riga vuota.
- b Iniziare con l'operazione 2a e terminare con l'operazione descritta al punto 4d per exer2biii2.
- c Ripetere le operazioni descritte ai punti a e b per exer2biii3.

	INSTRUMENT NAME	METHOD NAME	SAMPLE NAME	NUM OF INJECTIONS
1	EMELC3	exer2dec	exer2bdec3	1
2	EMELC3	exer2dec	exer2bdec2	1
3	EMELC3	exer2dec	exer2bdec1	1
4				

Sample Entry | Sample Logbook

Sample Name:

Method: ...

Sample Type:

Instrument:

Vial Number: Injections: Volume [µl]:

Run | Amounts | Identification | Description | Report Destination

Run with:

Priority: Schedule:

Task(s) to perform:

Acquire Quantity

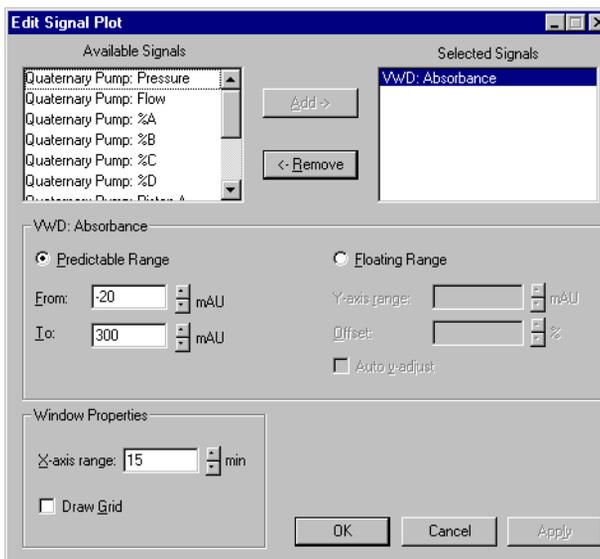
Integrate Report

Analyst:

Apply

Operazione 2. Analizzare i campioni

Fasi	Istruzioni dettagliate
1 Verificare che lo strumento sia pronto per l'uso.	<p>a Selezionare Instrument dall'elenco Current View.</p> <p>b Fare clic sulla scheda Online Plot.</p> <p>c Fare clic sul pulsante Change.</p> <p>Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Signal Plot.</p> <p>d Selezionare il segnale del rivelatore desiderato dall'elenco Available Signals.</p> <p>e Fare clic sul pulsante Add per inserire il segnale nell'elenco Selected Signals.</p> <p>f Selezionare l'opzione Predictable Range, quindi impostare l'intervallo su un valore compreso tra -20m AU e 300 mAU.</p> <p>g In Window Properties inserire 15 min nella casella X-Axis range.</p> <p>h Fare clic sul pulsante OK.</p>



Esercizio base n. 2b Analisi di un gruppo di campioni singoli per identificare i composti

Fasi	Istruzioni dettagliate
------	------------------------

2 Analizzare i campioni.

- a Espandere la cartella dello strumento.
- b Selezionare **Single Samples**.
- c Selezionare il campione exer2biii1.
- d Fare clic sul pulsante **Run** .
- e Selezionare il campione exer2biii2.
- f Fare clic sul pulsante **Run**.
- g Selezionare il campione exer2biii3.
- h Fare clic sul pulsante **Run**.

L'analisi dei campioni nell'ordine stabilito inizia, a meno che exer2biii3 abbia una priorità più elevata di exer2biii2. In tal caso, exer2biii3 viene elaborato prima di exer2biii2. Il primo campione iniziato viene sempre analizzato per primo anche se ha un priorità inferiore rispetto a quella di altri campioni.

3 Controllare il segnale e monitorare lo stato dei campioni.

- a Fare clic sulla scheda **Online Plot** per visualizzare il segnale.
Se necessario, modificare gli assi.
- b Fare clic sulla scheda **Worklist** per verificare lo stato dei tre campioni.

Instrument Panel		Worklist						
	Name	Status	Type	Method	Priority #	Vial #	Injections #	Description
1	exer2bdec1	Running(1)	Sample	exer2dec	500	1	1	
2	exer2bdec2	Queued	Sample	exer2dec	500	1	1	
3	exer2bdec3	Queued	Sample	exer2dec	500	1	1	

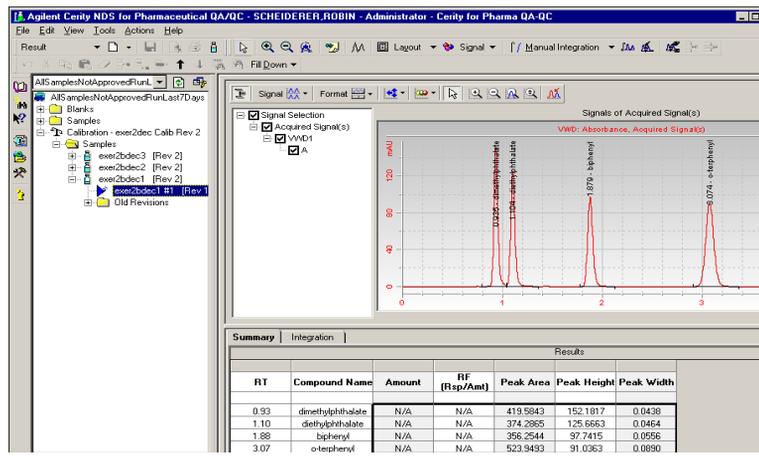
Operazione 3. Rivedere il cromatogramma

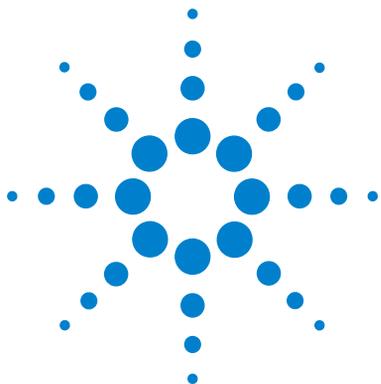
Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Rivedere i risultati dei campioni ed assicurarsi che tutti i composti di ogni campione siano stati identificati.

- a Selezionare **Result** nell'elenco **Current View**.
- b Espandere la cartella exer2iii o defexer2 di Calibration.
Anche se nel metodo non è stata impostata la calibrazione, il risultato apparirà nella cartella Calibration.
- c Espandere la cartella **Samples**.
- d Espandere la cartella exer2biii.
- e Selezionare l'iniezione exer2biii #1.
- f Visualizzare il risultato.
- g Ripetere le operazioni descritte dal punto d al punto f per i seguenti campioni:
 - exer2biii2
 - exer2biii3.





Esercizio base n. 3a

Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Creare una sequenza con un metodo impostato per livello singolo, calibrazione ad aggiornamento singolo, quantificazione ESTD e quantità di composto fisse.
- Selezionare i tipi di rapporto ed impostare una directory per i rapporti creati.
- Eseguire e tenere sotto controllo la sequenza.
- Rivedere i risultati per assicurarsi che i composti siano stati identificati e quantificati correttamente.
- Rivedere i risultati.

Per il presente esercizio è possibile scegliere fra due metodi:

- Una copia del metodo predefinito fornito con il sistema
- Il metodo creato in "[Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza](#)" a pagina 95.

Per gli esercizi di base, provare ad eseguire le operazioni descritte a sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.



Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.

Equilibrare lo strumento. Vedere "[Esercizio base n. 1a Equilibrare lo strumento](#)" a pagina 13.

Collocare tutti i vial dei campioni preparati nel vassoio dell'ALS. Assicurarsi che i metodi da utilizzare per questo esercizio siano stati impostati o ripristinati.

Operazione 1. Creare una nuova sequenza

Fasi

Creare una nuova sequenza.

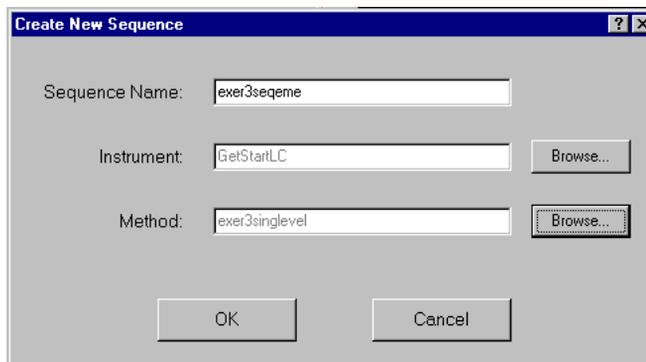
Assegnare alla sequenza il nome *exer3seqiii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.

Utilizzare uno dei due metodi:

- *defexer3*
- *exer3iii* (creato con l'esercizio n. 3 della sezione Impostazione dei metodi)

Istruzioni dettagliate

- Fare clic sul pulsante **New**  sulla barra degli strumenti Standard, quindi selezionare **Sequence**.
Viene visualizzata la finestra di dialogo Create New Sequence.
- Inserire in **Sequence Name** il nome *exer3seqiii*.
- Selezionare lo strumento **Instrument** che eseguirà la sequenza.
- Selezionare un metodo in **Method** per la sequenza.
- Fare clic su **OK**.



- Se viene visualizzata la finestra di dialogo Save Changes to the Database, selezionare **Reason for changes**, se presente, quindi fare clic su **Save**.

Operazione 2. Inserire informazioni su campione e sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Rivedere la tabella di sequenza

Verificare che la tabella di sequenza corrisponda al modello di sequenza impostato nel metodo.

- Selezionare Instrument dall'elenco Current View.
- Espandere lo strumento in uso e selezionare la sequenza appena creata.
- Rivedere la tabella.

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Summary Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]	Sample Amount [mg/ml]
1	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
2	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
3	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0
4	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
5	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
6	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0
7	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
8	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
9	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0
10								

2 Inserire le operazioni da effettuare durante l'analisi.

Selezionare le caselle Quantify e Report.

Le caselle Acquire e Integrate devono sempre essere selezionate.

- Fare clic sulla scheda **Sequence Options**.
- Assicurarsi che le caselle **Quantify** e **Report** siano selezionate per le operazioni da effettuare.

Sequence	Identification	Description	Report Destination
Run with			
Priority:	Medium	Schedule:	Ready for Analysis
Calibration Mode:	Single Update Calibration	Task(s) to perform	
Sequence Created by		<input checked="" type="checkbox"/> Acquire	<input checked="" type="checkbox"/> Quantify
		<input checked="" type="checkbox"/> Integrate	<input checked="" type="checkbox"/> Report
		<input type="checkbox"/> Allow Online Editing	

Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Inserire il percorso di destinazione per i rapporti senza stamparli.

Inserire Exercise3iii, dove iii indica le iniziali dell'operatore

- a Fare clic sulla scheda **Report Destination**.
- b Deselezionare la casella **Printer** se necessario.
- c Selezionare la casella **Path**, quindi inserire la directory, Exercise3iii.
Se non esiste già, il sistema crea la directory e colloca i rapporti creati nella directory Agilent\Cerity\Reports\Pharmaqc\Reports

4 Selezionare i seguenti rapporti:

Sample single injection
Standard single injection
Sequence

- a Selezionare la casella **Print** a sinistra di **Report Types** per i rapporti indicati sul margine sinistro.
- b Deselezionare tutte le caselle **Print** relative ai rapporti non indicati sul margine sinistro.

Print	Report Types	Report Template
<input checked="" type="checkbox"/>	Sample single injection	Ini_short.htm
<input checked="" type="checkbox"/>	Standard single injection	Sin_short.htm
<input type="checkbox"/>	Multi-Injection Summary Group	Smp_short.htm
<input type="checkbox"/>	Calibration Standards Group	Cal_short.htm
<input type="checkbox"/>	QC Sample Group	QC_short.htm
<input type="checkbox"/>	Sample Group	SuS_short.htm
<input type="checkbox"/>	Custom Sample Groups	Sum_short.htm
<input checked="" type="checkbox"/>	Sequence	Seq_short.htm

5 Salvare la sequenza

- a Fare clic su , quindi inserire il motivo della modifica e, se necessario, la password.

Operazione 3. Eseguire e controllare la sequenza

Fasi

1 Verificare che lo strumento sia pronto per l'uso.

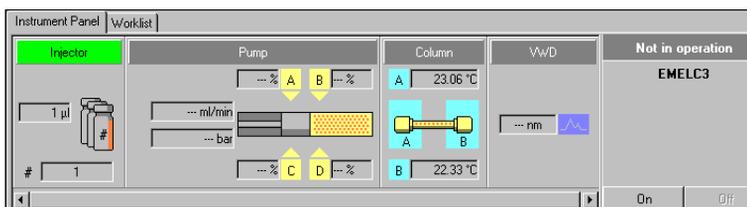
Utilizzare le stesse condizioni impostate nel metodo.

Impostazioni del grafico in linea:

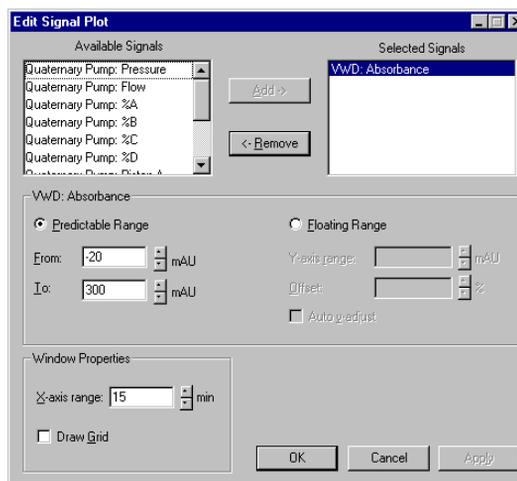
- Y-Axis range: da -20 a 300
- X-Axis range: 15 minuti

Istruzioni dettagliate

- Selezionare lo strumento per l'esecuzione della sequenza dalla struttura di selezione.
- Accertarsi che lo strumento e la colonna siano equilibrati e che le condizioni siano le stesse di quelle impostate nel metodo per la sequenza.



- Fare clic su **Change** nella parte inferiore di Online Plot. Viene visualizzata la finestra di dialogo Edit Signal Plot.
- Selezionare il segnale del rivelatore desiderato dall'elenco Available Signals, quindi fare clic su **Add** per collocare il segnale a destra.
- Impostare **Predictable Range** su un valore compreso tra -20 e 300.
- Impostare **X-Axis range** su 15 min.
- Fare clic su **OK**.



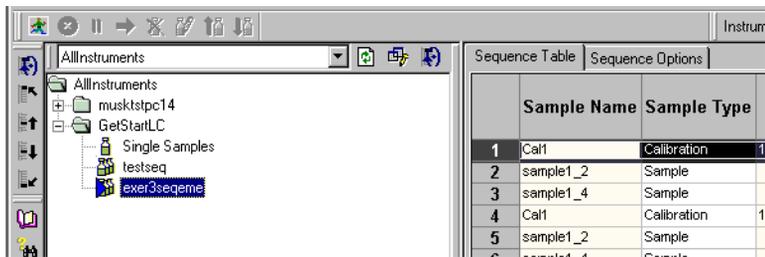
Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo

Fasi

Istruzioni dettagliate

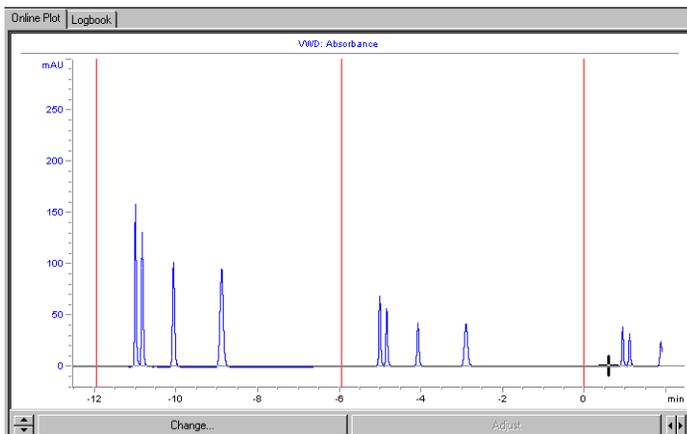
2 Eseguire la sequenza.

- Espandere la cartella dello strumento.
- Selezionare la sequenza appena impostata.
Viene visualizzato il pulsante Run .
- Fare clic sul pulsante **Run**.



3 Controllare il segnale e monitorare lo stato della sequenza.

- Selezionare lo strumento.
- Osservare il segnale nella scheda **Online Plot** e, se necessario, modificare gli assi.



- Fare clic sulla scheda **Worklist** ed osservare lo stato della sequenza.

Instrument Panel		Worklist						
	Name	Status	Type	Method	Priority #	Vial #	Injections #	Descripti
1	defseq3	Running(3:1)	Sequence	defaultmethod3	500	N/A	N/A	

Verificare che i pulsanti Abort, Pause e Resume vengano visualizzati non appena si apre l'elenco di lavoro.

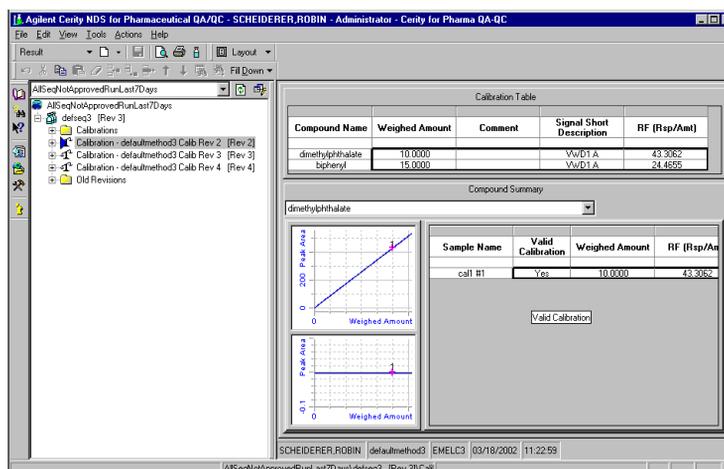
Operazione 4. Rivedere risultati e rapporti

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Rivedere la tavola di calibrazione e la curva ad ogni revisione della calibrazione.

- a Selezionare **Result** nell'elenco **Current View**.
 - b Selezionare **AllSeqNotApprovedRunLast7Days** nell'elenco Query.
 - c Espandere la cartella **exer3seqiii**.
 - d Selezionare la cartella **Calibration - exer3seqiii Calib Rev 2**.
- Nell'area di lavoro vengono visualizzate la tavola di calibrazione e la curva.



- e Selezionare la cartella **Calibration - exer3seqiii Calib Rev 3**.
- f Selezionare la cartella **Calibration - exer3seqiii Calib Rev 4**.

Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo

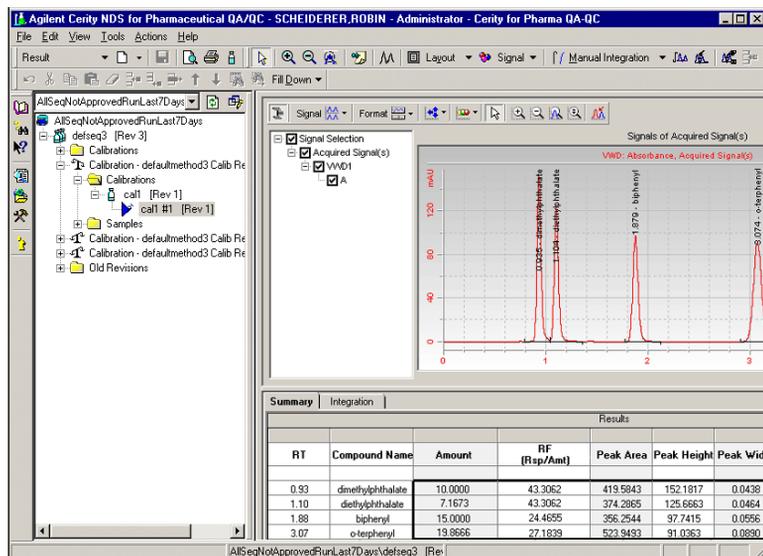
Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Rivedere i risultati per ogni standard di calibrazione in ogni revisione.

Osservare i diversi fattori di risposta utilizzati per quantificare i campioni.

- a Espandere la cartella **Calibration - exer3seqiii Calib Rev 2.**
- b Espandere la cartella **Calibrations.**
- c Espandere la cartella **Cal1.**
- d Selezionare **Cal1 #1.**
- e Osservare il fattore di risposta nell'area di lavoro.



- f Espandere la cartella **Calibration - exer3seqiii Calib Rev 3.**
- g Ripetere le operazioni descritte ai punti b-c.
- h Selezionare il secondo standard **Cal1.**
- i Osservare il fattore di risposta.
- j Espandere la cartella **Calibration - exer3seqiii Calib Rev 4.**
- k Ripetere le operazioni descritte ai punti b-c.
- l Selezionare il terzo standard **Cal1.**
- m Osservare il fattore di risposta.

Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo

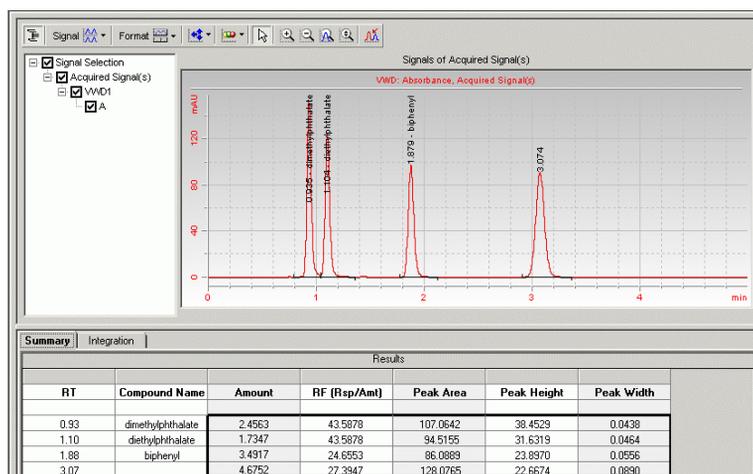
Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Rivedere i risultati del campione per ogni revisione.

Annotare il fattore di risposta usato per l'analisi quantitativa.

- a Espandere la cartella **Calibration - exer3seq3iii Calib Rev 2.**
- b Espandere la cartella **Samples.**
- c Espandere la cartella **Sample1_2.**
- d Selezionare **Sample1_2 #1.**
- e Osservare il fattore di risposta nell'area di lavoro.
- f Ripetere le operazioni descritte ai punti c-e per **Sample1_4.**

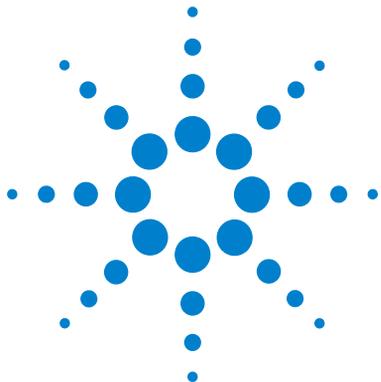


- g Espandere la cartella **Calibration - exer3seq3iii Calib Rev 3.**
- h Ripetere le operazioni descritte ai punti b-f.
- i Espandere la cartella **Calibration - exer3seq3iii Calib Rev 4.**
- j Ripetere le operazioni descritte ai punti b-f.

4 Rivedere i rapporti.

Consiglio: usare Report Viewer per aprire i rapporti.

- a Selezionare **Start > Programs > Agilent Cerity > Report Viewer.**
- b Scegliere **File > Open.**
- c Aprire **Cerity > Agilent > Reports > PharmaQC > Reports > Exercise3iii.**
- d Aprire e visualizzare tutti i rapporti.



Esercizio base n. 3b

Reintegrazione e rielaborazione dei risultati

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Integrare manualmente i risultati degli standard di calibrazione.
- Modificare i valori delle variabili del campione.
- Rielaborare la sequenza con la versione originale del metodo.

Utilizzare i dati prodotti con l'Esercizio n. 3a.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.



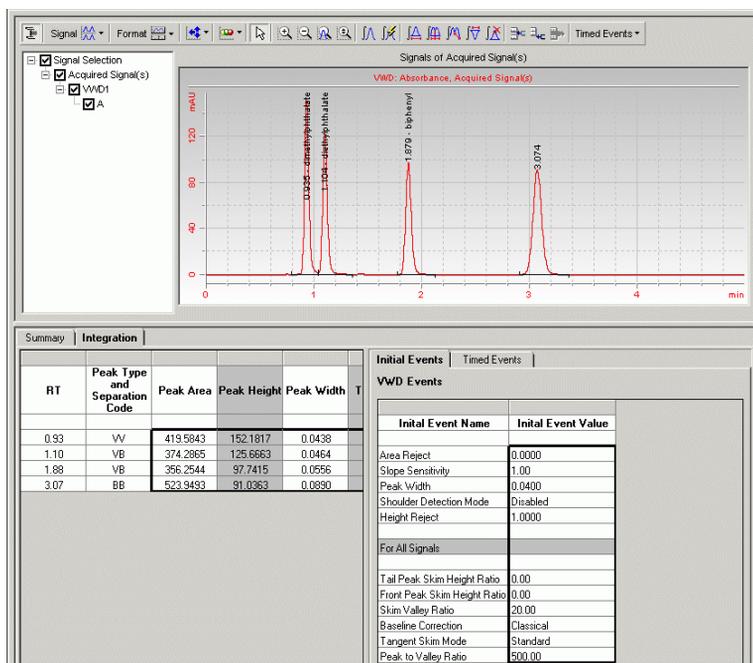
Operazione 1. Modificare i risultati e le informazioni sul campione

Fasi

1 Trovare il risultato di iniezione singola per la terza analisi quantitativa di sample1_4 nella sequenza exer3seqiii.

Istruzioni dettagliate

- a Selezionare **Result** nell'elenco **Current View**.
- b In Query List selezionare **MySeqNotApprovedRunLast7days**.
- c Espandere la cartella **exer3seqiii**.
- d Espandere la cartella **Calibration - exer3iii Calib Rev 4**.
- e Espandere la cartella **Samples**.
- f Espandere la cartella **sample 1_4**.
- g Selezionare **sample 1_4#1**.
- h Fare clic sulla scheda **Integration**.



Fasi

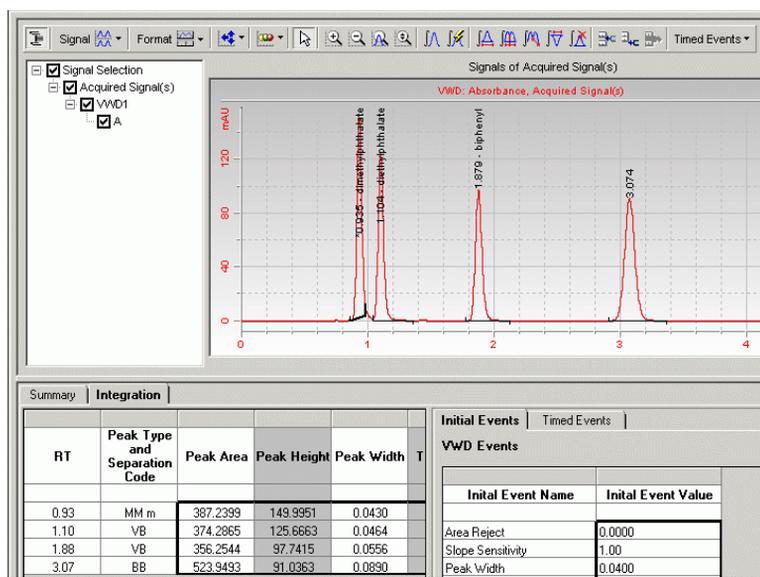
Istruzioni dettagliate

2 Integrare manualmente il picco di dimetilftalato.

Disegnare la linea di base dall'angolo in fondo a sinistra del picco al punto di flesso situato in fondo a destra del picco.

Verificare che i valori Amount e RF scompaiano.

- Sulla barra degli strumenti Integration fare clic su . Sul cromatogramma viene visualizzato un puntatore a forma di curva a campana.
- Posizionare il puntatore nella parte inferiore sinistra del picco, all'intersezione fra la linea di base ed il picco, quindi fare clic una sola volta.
- Tenendo premuto il tasto del mouse, spostare il puntatore sul punto di flesso in basso a destra del picco.
- Rilasciare il tasto del mouse. La nuova linea di base compare ma il puntatore a forma di curva a campana rimane.
- Sulla barra degli strumenti Integration fare clic su  per riportare il puntatore alla forma normale.



Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati

Fasi

3 Modificare i valori delle variabili del campione.

- Diluizione = 5
- Purezza = 0,9

Istruzioni dettagliate

- Selezionare la sequenza, *exer3seqiii*.
Nell'area di lavoro compariranno **Sequence Table** ed il pannello di inserimento campioni.
- Selezionare il primo campione 1_4 della sequenza.
- Fare clic sulla scheda **Amounts**, quindi inserire un valore predefinito per il fattore di diluizione in **Dilution**, pari a 5.
- Inserire il valore predefinito 9 in **Purity**, quindi fare clic su **Apply**.
- Ripetere le operazioni descritte ai punti c e d per ogni campione 1_4 della sequenza.

The screenshot displays two parts of the software interface. The top part is the 'Sequence Table' with the following data:

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Custom Sample Group	Vial #	Inject #
1	cal1	Calibration	1		2	1
2	sample 1_2	Sample			5	1
3	sample 1_4	Sample			9	1
4	cal1	Calibration	1		2	1
5	sample 1_2	Sample			5	1
6	sample 1_4	Sample			9	1
7	cal1	Calibration	1		2	1
8	sample 1_2	Sample			5	1
9	sample 1_4	Sample			9	1

The bottom part is the 'Sample Entry' panel, showing the 'Amounts' tab. The 'Sample Name' is 'sample 1_4' and the 'Sample Type' is 'Sample'. The 'Sample variables' section contains the following values:

Sample Amount:	0
Sample Amount U:	mg/ml
Multiplier:	1
Dilution:	5
Purity:	.9

An 'Apply' button is located at the bottom of the panel.

Operazione 2. Rielaborare i risultati della sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Aprire la finestra **Reprocess**.

Vedere il capitolo 3, "Analisi del campione" della *Guida ai concetti* per esaminare un grafico che consenta di selezionare le opzioni di rielaborazione corrette.

a Selezionare la sequenza, *exer3seqiii*.

Viene visualizzata la finestra di dialogo *Save Reasons for Changes*.

b Inserire tutte le informazioni richieste, quindi fare clic su **Save**.

c Selezionare **Actions > Reprocess** nella barra dei menu superiore.

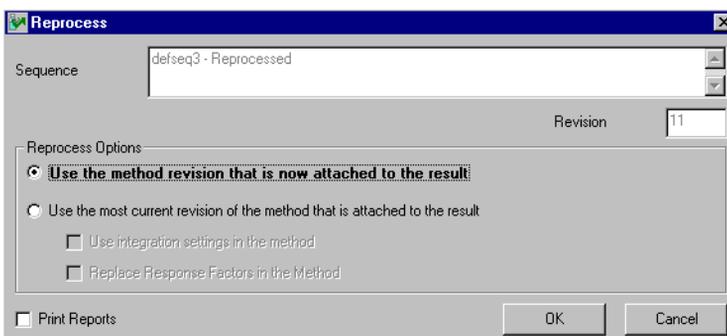
2 Selezionare l'opzione di rielaborazione che utilizza tutte le altre impostazioni del metodo originale, ad eccezione delle impostazioni di integrazione e dei valori predefiniti per le variabili del campione.

Nel sistema Cerity tutte le informazioni relative a campioni, sequenze, metodi e strumento sono allegate al risultato.

a Selezionare **Use the method revision now attached to the result**.

b Fare clic su **OK**.

Il sistema Cerity utilizza le impostazioni di metodo usate originariamente per eseguire la sequenza, le impostazioni di integrazione manuale ed i valori delle variabili del nuovo campione per elaborare la sequenza.



Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Controllare la rielaborazione fino all'avvenuto completamento.

- a** Selezionare la sequenza *exer3seqiii*.
- b** Fare clic sulla scheda **Sequence Options**.

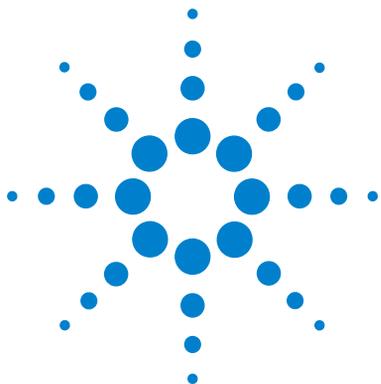
The screenshot shows the 'Sequence Options' dialog box with the following details:

- Sequence Name:** defseq3 - Reprocessed
- Instrument:** EMELC3
- Sequence Template:** (empty)
- Priority:** Medium
- Schedule:** Running Reprocessing
- Calibration Mode:** Single Update Calibration
- Apply** button is visible.

Al termine della rielaborazione, viene visualizzato il messaggio "Completed Reprocessing" nella scheda Sequence Options.

The screenshot shows the 'Sequence Options' dialog box with the following details:

- Sequence Name:** defseq3 - Reprocessed
- Instrument:** EMELC3
- Sequence Template:** (empty)
- Priority:** Medium
- Schedule:** Completed Reprocessing
- Calibration Mode:** Single Update Calibration
- Apply** button is visible.



Esercizio avanzato n. 4a

Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione multilivello

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Creare una sequenza con un metodo impostato per livello multiplo, calibrazione globale, quantificazione ESTD e quantità di composto variabili.
- Inserire informazioni nuove per un singolo campione o standard.
- Modificare una sequenza durante l'analisi.
- Rivedere i risultati per visualizzare il procedimento globale di calibrazione multilivello.
- visualizzare i precedenti rapporti di analisi quantitative a iniezione singola ed il rapporto di sequenza.

Per il presente esercizio è possibile scegliere fra due metodi:

- Una copia di *defexer4iii*, il metodo dello strumento copiato dal metodo predefinito fornito con il sistema
- *Exer4iii*, il metodo creato in "[Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza](#)" a pagina 129.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, provare ad eseguire prima le operazioni riportate a sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.

Equilibrare lo strumento. Vedere "[Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento](#)" a pagina 13.



Operazione 1. Creare una sequenza nuova ed inserire informazioni su campione e sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Creare una nuova sequenza.

Chiamare la sequenza *exer4seqiii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.

Utilizzare uno dei due metodi:

- *defexer4iii*
- *exer4iii* (creato con l'Esercizio n. 4 della sezione Impostazione dei metodi)

- Per ulteriori informazioni consultare "[Operazione 1. Creare una nuova sequenza](#)" a pagina 33.

Dopo la creazione di una sequenza il numero di revisione è impostato su 1.

2 Inserire i valori relativi a quantità e variabili del campione.

Per il primo campione 1_2, inserire:

- Quantità di campione: 2,5 mg
- Fattore di diluizione: 2
- Purezza: 0,93

- Selezionare **Instrument** dall'elenco Current View.
- Espandere la cartella dello strumento.
- Selezionare *exer4seqiii*.
- Selezionare il primo campione 1_2 della tabella di sequenza.
- Fare clic sulla scheda **Amounts**.
- Inserire 2,5 in **Sample Amount**.
- Modificare il valore di **Dilution Factor** in 2.
- Modificare il valore di **Purity** e impostarlo su 0,93.

3 Inserire le quantità di composto.

Per quantificare un composto in un campione, è necessario scegliere di usare la quantità di composto per lo standard.

Per il secondo gruppo di standard di calibrazione per dimetilftalato, inserire le quantità:

- Cal1: 10,17 µg
- Cal2: 37,62 µg

- Fare clic sulla scheda **Sequence Table**, quindi selezionare Cal1 dal secondo gruppo di standard.
- Inserire 10,17 in Compound amount.
- Selezionare Cal2 dal secondo gruppo di standard.
- Inserire 37,62 in Compound amount.

The screenshot displays two parts of the software interface. The top part is the 'Sequence Table' window, which contains a table with the following data:

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Immediate Quantitation	Custom Sample Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]
4	sample 1_4	Sample		YES		9	1	as method
5	cal1	Calibration	1	NO		9	1	as method
6	cal2	Calibration	2	NO		2	1	as method
7	sample 1_2	Sample		NO		5	1	as method
8	sample 1_4	Sample		NO		9	1	as method
9	cal1	Calibration	1	NO		9	1	as method
10	cal2	Calibration	2	NO		2	1	as method

The bottom part of the screenshot shows the 'Sample Entry' window with the 'Sequence Logbook' tab selected. The 'Sample Name' is 'cal2'. The 'Sample Type' is 'Calibration Standard'. The 'Custom Sample Group' is empty. The 'Amounts' section shows 'Sample Amount' as 0, 'Sample Amount U' as mg/ml, 'Multiplier' as 1, and 'Dilution Factor' as 5. The 'Identification' section shows a table of compound amounts:

Use	Name	Amount
<input checked="" type="checkbox"/>	dimethylphthal	39.75
<input checked="" type="checkbox"/>	biphenyl	60
<input type="checkbox"/>	diethylnitrobenz	0

Esercizio avanzato n. 4a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione multilivello

Fasi

Istruzioni dettagliate

4 Inserire le operazioni da effettuare durante l'analisi.

Selezionare le caselle di controllo Quantify, Report, Allow Online Editing.

- a Selezionare la sequenza appena creata.
- b Fare clic sulla scheda **Sequence Options**.
- c Assicurarsi che le caselle **Quantify** e **Report** siano selezionate per le operazioni da effettuare.
- d Selezionare la casella **Allow Online Editing**.

The screenshot shows the 'Sequence Options' dialog box. On the left, there are fields for 'Sequence Name' (exer4seqdec), 'Instrument' (EMELC3), and 'Sequence Template', with an 'Apply' button below. On the right, there are tabs for 'Sequence', 'Identification', 'Description', and 'Report Destination'. Under 'Run with', there is a 'Priority' dropdown set to 'Medium', a 'Schedule' dropdown set to 'Ready for Analysis', and a 'Calibration Mode' dropdown set to 'Overall Calibration'. On the far right, under 'Task(s) to perform', there are three checked checkboxes: 'Acquire', 'Quantify', and 'Report'. At the bottom, there is a 'Sequence Created by' field.

5 Inserire il percorso di destinazione per i rapporti senza stamparli.

Inserire Exercise4*iii*, dove *iii* indica le iniziali dell'operatore

- Per ulteriori informazioni, consultare il [punto 3 a pagina 35](#).

6 Salvare la sequenza.

- Sulla barra degli strumenti standard fare clic su  ed inserire il motivo della modifica e, se necessario, la password.

Dopo aver salvato la sequenza, il numero della revisione viene incrementato di un'unità. In questo caso, il numero di revisione è impostato su 2.

Operazione 2. Modificare la sequenza durante l'analisi

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Eseguire la sequenza solo quando lo strumento è pronto.

Per istruzioni particolareggiate, vedere i punti 1 e 2 della sezione "[Operazione 3. Eseguire e controllare la sequenza](#)" a pagina 36.

Verificare che la sequenza venga tolta da sotto la cartella dello strumento.

Dopo aver eseguito la sequenza, il numero della revisione viene incrementato di un'unità. In questo caso, il numero di revisione è impostato su 3.

2 Modificare la sequenza durante l'analisi.

Dopo la comparsa del secondo picco durante l'analisi del primo standard, selezionare la quantificazione immediata del primo campione 1_4 della sequenza.

- a Nella struttura di selezione, scegliere lo strumento.
- b Nell'area di lavoro dello strumento, fare clic sulla scheda **Worklist**.
- c Selezionare la sequenza.
- d Dopo la comparsa dell'ultimo picco durante l'analisi del primo standard, fare clic su  sulla barra degli strumenti.

La sequenza nell'elenco di lavoro visualizza "Preparing to edit". Al termine dell'analisi del campione, la sequenza viene arrestata e lo stato viene visualizzato come "Editable".

Instrument Panel		Worklist						
	Name	Status	Type	Method	Priority #	Vial #	Injections #	Description
1	exer4seqdec	Preparing to edit...(1:1)	Sequence	exer4dec	500	N/A	N/A	

Instrument Panel		Worklist						
	Name	Status	Type	Method	Priority #	Vial #	Injections #	Description
1	exer4seqdec	Editable	Sequence	exer4dec	500	N/A	N/A	

- e Espandere la cartella dello strumento. Verificare che la sequenza sia nuovamente presente.
Se la sequenza non compare, fare clic sul pulsante **Redo Query** oppure premere F5.
- f Selezionare la sequenza ed il primo campione 1_4 nella tabella di sequenza.
- g Fare doppio clic sulla cella **Immediate Quantitation**.
- h Fare doppio clic su **Yes**.
- i Salvare l'analisi e la sequenza.
Il numero di revisione viene incrementato a 4 dopo il salvataggio della sequenza.
Il numero di revisione viene incrementato a 5 dopo l'esecuzione della sequenza.
- j Selezionare lo strumento, quindi fare clic sulla scheda **Worklist**. La sequenza inizia con il secondo standard.

Instrument Panel		Worklist						
	Name	Status	Type	Method	Priority #	Vial #	Injections #	Description
1	exer4seqdec	Running(2:1)	Sequence	exer4dec	500	N/A	N/A	

Operazione 3. Rivedere i risultati di calibrazione

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Rivedere la tavola e la curva di calibrazione.

Se il campione è stato analizzato più di 7 giorni prima, è necessario modificare la ricerca per recuperare risultati più vecchi dal database. Vedere l'argomento "Definire una sequenza" nelle procedure della Guida in linea.

È utile notare che, quando si visualizza per la prima volta il risultato della sequenza in Result View, il numero di revisione è uguale alla somma dei salvataggi effettuati e delle esecuzioni dell'analisi. In questo esercizio, il numero di revisione per il risultato della sequenza è 5.

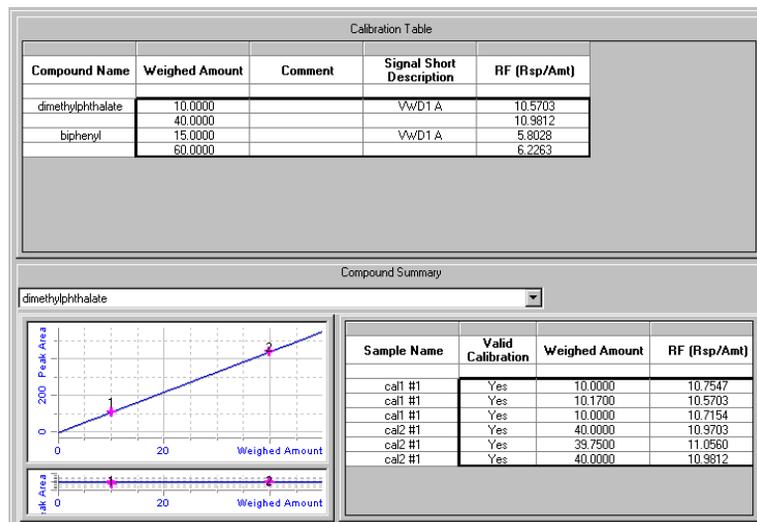
Vedere il capitolo 5 "Analisi del campione" della *Guida ai concetti* per informazioni sulla revisione di sequenze e calibrazioni.

- a Selezionare **Result** dall'elenco **Current View**.
- b Selezionare **AllSeqNotApprovedRunLast7Days** dall'elenco Query.
- c Espandere la cartella **exer4seqiii**.

Viene visualizzata una cartella contenente i risultati di calibrazione e iniezione singola.

- d Selezionare una delle cartelle **Calibration - exer4seqiii Calib Rev 5**.

Nell'area di lavoro vengono visualizzati Calibration Table e Compound Summary.



- e Si noti come il sistema utilizzi gli standard nella calibrazione globale per quantificare i campioni comparati alla calibrazione a livello singolo dell'Esercizio n. 3a.

Esercizio avanzato n. 4a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione multilivello

Fasi

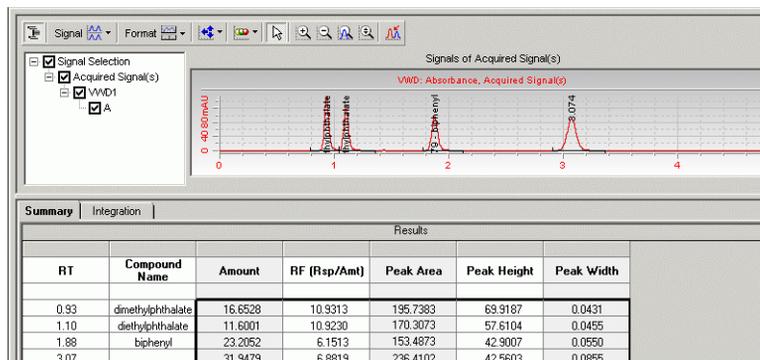
2 Rivedere i risultati di iniezione singola per entrambe le iniezioni di campione 1_2.

Osservare che la quantità è diversa per il primo campione 1_2. Perché?

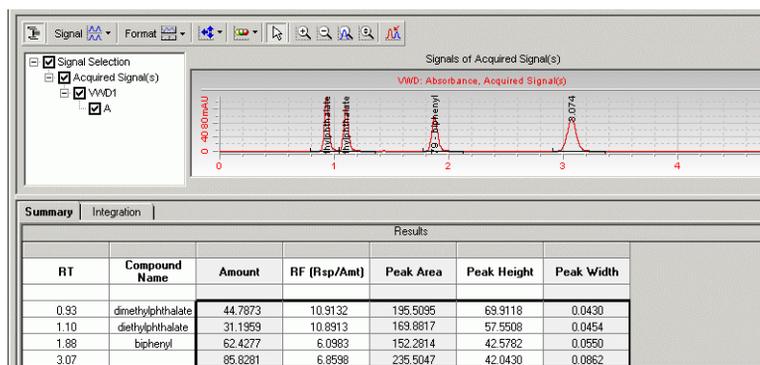
Il valore di Amount è la quantità di composto nel campione. Il valore per questo esercizio rappresenta la quantità di composto nei tempi di iniezione, i valori del fattore di diluizione e della purezza. Quando questo campione è stato inserito, questi valori sono stati modificati.

Istruzioni dettagliate

- Esandere una delle cartelle **Calibration**.
- Esandere la cartella **Samples**.
- Esandere la prima cartella **sample 1_2**.
- Selezionare l'iniezione singola.
- Prendere nota del valore riportato nella colonna **Amount**.



- Esandere la seconda cartella **sample 1_2**.
- Selezionare l'iniezione singola.
- Confrontare le **quantità** del primo e del secondo campione 1_2.



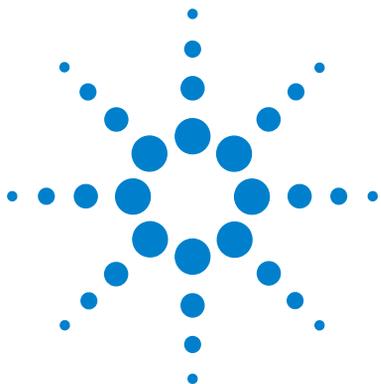
Operazione 4. Rivedere i rapporti

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Rivedere i due rapporti di iniezione singola per il primo campione 1_2 ed il campione 1_4.</p> <p>È utile notare che è presente una sola cartella per ognuno dei secondi gruppi di campioni perché non sono stati contrassegnati per l'analisi quantitativa immediata.</p>	<p>a Selezionare Start > Programs > Agilent Cerity > Report Viewer.</p> <p>b Selezionare File > Open oppure fare clic sul pulsante Open.</p> <p>c Espandere la cartella Exercise4iii.</p> <p>d Espandere la cartella 003 Multi-Injection Summary Group e la cartella 01 Sample single injection.</p> <p>e Fare doppio clic su default.htm.</p> <p>Prendere nota delle quantità di composto.</p> <p>f Espandere la cartella 003 Multi-Injection Summary Group 0001 e la cartella 01 Sample single injection.</p> <p>g Fare doppio clic su default.htm.</p> <p>Osservare le quantità di composto.</p> <p>h Ripetere le operazioni descritte ai punti d-g per le cartelle 004 Multi-Injection Summary Group.</p>
<p>2 Visualizzare la quantità di campione per il primo campione 1_2 in Sequence Report.</p>	<p>a Fare clic sul pulsante Open, quindi espandere la cartella Exercise4iii.</p> <p>b Espandere la cartella Sequence, quindi fare doppio clic su default.htm.</p>

Sequence samples

	Name	Position	Modified inj. volume	Amount	Unit	Cal. level
1	cal1	9	(As Method)	0.0000	mg/ml	1
2	cal2	2	(As Method)	0.0000	mg/ml	2
3	sample 1_2	5	(As Method)	2.5000	mg/ml	1
4	sample 1_4	9	(As Method)	0.0000	mg/ml	1
5	cal1	9	(As Method)	0.0000	mg/ml	1
6	cal2	2	(As Method)	0.0000	mg/ml	2
7	sample 1_2	5	(As Method)	0.0000	mg/ml	1
8	sample 1_4	9	(As Method)	0.0000	mg/ml	1
9	cal1	9	(As Method)	0.0000	mg/ml	1
10	cal2	2	(As Method)	0.0000	mg/ml	2

Esercizio avanzato n. 4a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione multilivello



Esercizio avanzato n. 4b Modifica delle variabili del campione e rielaborazione

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Modificare le impostazioni di integrazione nel metodo.
- Eliminare un punto di calibrazione.
- Modificare la sequenza in modo che nessun campione venga quantificato immediatamente dopo l'elaborazione.
- Rielaborare la sequenza con la versione di metodo più recente.
- Aggiungere una nuova variabile del campione al metodo.
- Rielaborare la sequenza dopo aver aggiunto una nuova variabile.
- Creare di nuovo i rapporti.

Utilizzare i dati prodotti con l'Esercizio n. 4a.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.



Operazione 1. Aggiornare il metodo e il risultato

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Modificare le impostazioni di integrazione nel metodo.

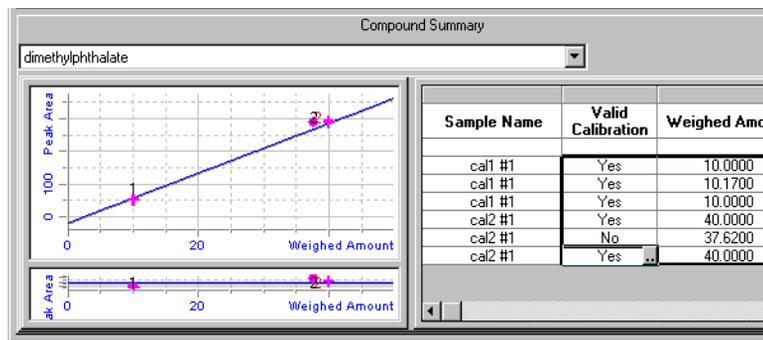
Impostare Height Reject su 0.

Se si utilizza una copia del metodo defexer4iii, assicurarsi che non sia stato modificato. Controllare le versioni vecchie. Se è stato modificato, creare una nuova copia del metodo predefinito. Vedere "Prima di iniziare" a pagina 5.

- a Selezionare **Method** dall'elenco **Current View**.
- b Espandere la cartella **exer4iii**.
- c Espandere la cartella **Data Analysis**.
- d Selezionare **Integration**.
- e Fare clic sulla cella **Height Reject**, quindi inserire 0.
- f Salvare il metodo.

2 Eliminare il secondo punto di calibrazione Cal2 per il dimetilftalato.

- a Selezionare **Result** dall'elenco **Current View**.
- b Espandere la cartella **exer4seqiii**.
- c Selezionare la terza cartella **Calibration – Exer4iii**.
- d Fare clic sulla cella Calibration per la seconda calibrazione Cal2.
- e Fare clic sul pulsante ..., quindi fare doppio clic sulla cella per cambiare Yes in **No**.



Esercizio avanzato n. 4b Modifica delle variabili del campione e rielaborazione

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 3 Modificare la sequenza in modo che nessun campione venga quantificato immediatamente durante l'elaborazione.**
- a Selezionare la sequenza *exer4seqiii*.
 - b Nella tabella della sequenza fare doppio clic sulla cella **Immediate Quantitation** per il primo Sample1_2.
 - c Fare doppio clic su **No**.
 - d Ripetere le operazioni descritte ai punti b e c per il primo Sample1_4.
 - e Salvare il risultato modificato.
- Verificare che il numero di revisione sia incrementato di un'unità.

Sequence Table		Sequence Options					
	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Immediate Quantitation	Custom Sample Group	Vial #	Injections #
1	cal1	Calibration	1	NO		2	1
2	cal2	Calibration	2	NO		3	1
3	sample 1_2	Sample		NO		5	1
4	sample 1_4	Sample		NO		9	1
5	cal1	Calibration	1	NO		2	1

Operazione 2. Rielaborare e rivedere il risultato

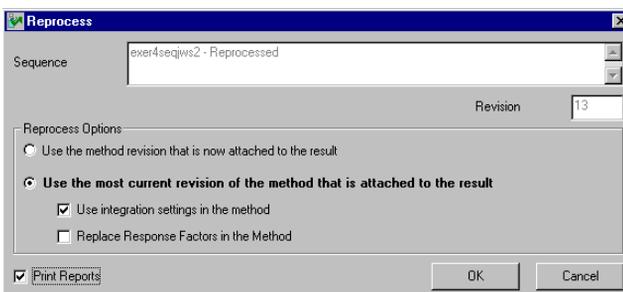
Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Rielaborare la sequenza con la versione di metodo più recente.

- Usare le impostazioni di integrazione nel metodo.
- Effettuare le impostazioni per la stampa di un rapporto (nuova creazione).

- a Selezionare la sequenza **exer4seqiii**.
- b Selezionare **Actions > Reprocess**.
- c Selezionare **Use the most current revision of the method that is attached to the result**.
- d Selezionare la casella **Use integration settings in the method**.
- e Selezionare la casella **Print Reports**.
- f Fare clic su **OK**.
- g Per seguire la rielaborazione, fare clic sulla scheda **Sequence Options**.



2 Assicurarsi che la modifica dell'integrazione sia presente nel risultato rielaborato.

Se non si riesce a vedere il cromatogramma dello standard di calibrazione a causa del cromatogramma di esempio, fare clic sul pulsante Layout e deselezionare la casella Display Example Chromatogram.

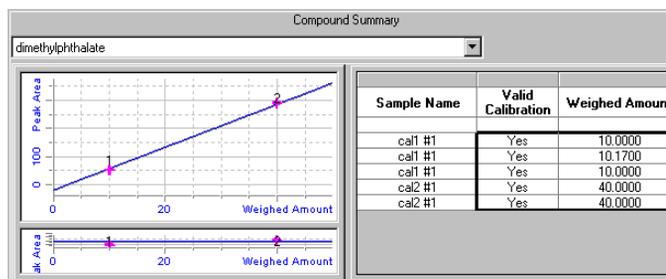
- a Espandere la seconda cartella **Calibration – Exer4iii**.
 - b Espandere la casella **Calibrations** e la casella **Cal1**.
 - c Selezionare **Cal1 #1**.
- Verificare che uno o più picchi siano integrati e presenti nella tabella dei risultati.

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Rivedere la tabella riassuntiva della calibrazione.

- Selezionare la seconda cartella **Calibration – Exer4iii**.
Verificare che il punto di calibrazione eliminato prima della rielaborazione sia scomparso.



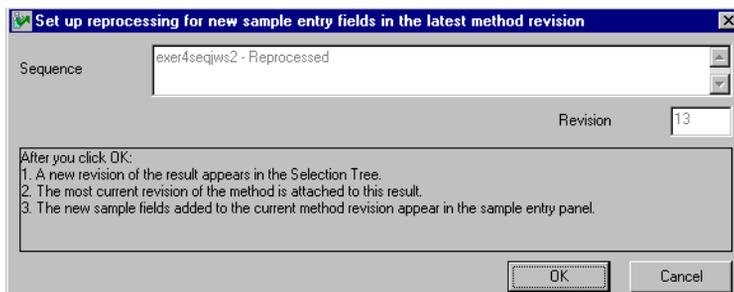
4 Rivedere il rapporto per il primo gruppo di campioni per accertarsi che siano quantificati con tutti gli standard di calibrazione.

- Selezionare **Start > Programs > Agilent Cerity > Report Viewer**.
- Scegliere **File > Open**.
- Espandere **Exercise4iii-0001**.

Verificare che sia presente un solo rapporto per tutti i campioni. Dopo l'elaborazione iniziale esistevano due rapporti per il primo Sample1_2 e Sample1_4.

Operazione 3. Aggiungere una nuova variabile del campione al metodo e rielaborazione

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Aggiungere una nuova variabile al metodo.</p> <p>Aggiungere un divisone chiamato "fattore di attenuazione" con un valore predefinito di 3.</p>	<p>a Selezionare Method dall'elenco Current View.</p> <p>b Espandere la versione corrente di <i>exer4iii</i>.</p> <p>c Selezionare Sample Variables.</p> <p>d Digitare il "fattore di attenuazione" nella cella Divider della tabella System Sample Variables.</p> <p>e Inserire 3 in Default Value.</p> <p>f Salvare il metodo.</p>
<p>2 Rielaborare la sequenza con il metodo rivisto.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inserire un valore nuovo pari a 7 per il fattore di attenuazione di Sample1_2. • Effettuare le impostazioni per la stampa di un rapporto (nuova creazione). 	<p>a Selezionare Result dall'elenco Current View.</p> <p>b Selezionare <i>exer4seqiii</i>.</p> <p>c Selezionare Actions > Set up reprocessing for new sample entry fields.</p>



- d** Fare clic su **OK**.
Viene visualizzato il nuovo pannello di inserimento del campione.
- e** Fare clic sulla scheda **Amounts**, quindi inserire 7 in "Attenuation Factor".
- f** Selezionare **Actions > Reprocess**
- g** Selezionare **Use the method revision now attached to the result**.
- h** Selezionare la casella **Print Reports**.
- i** Fare clic su **OK**.

Fasi

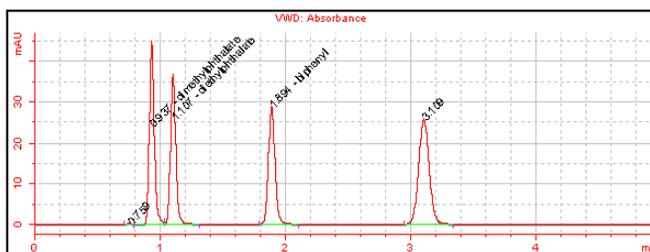
Istruzioni dettagliate

3 Trovare il rapporto per il primo Sample1_2.

Osservare che il valore dell'analisi quantitative è diverso dopo la rielaborazione. Il software ha utilizzato il fattore di attenuazione per il calcolo.

- a** Selezionare **Start > Programs > Agilent Cerity > Report Viewer.**
- b** Scegliere **File > Open.**
- c** Espandere **Exercise4iii - 0002.**
- d** Espandere la cartella 003Multi-Injection Summary.
- e** Espandere la cartella 01Sample Single Injection.
- f** Fare doppio clic su Default.htm.

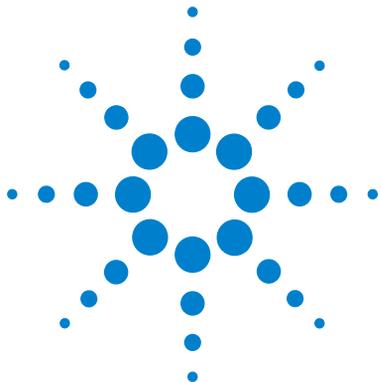
Il rapporto riporta la nuova quantità relativa a Sample1_2.



Sample single injection compounds

RT	Compound	Peak area	Amount	Unit	Resp. f.	Tailing f.
0.76	N/A	0.8370	0.4500	N/A	0.2471	N/A
0.94	dimethylphthalate	124.1833	2.4779	ug	6.6582	N/A
1.11	diethylphthalate	109.6416	1.7791	N/A	6.5501	N/A
1.89	biphenyl	106.8904	3.7001	ug	3.8380	N/A
3.11	N/A	153.0533	4.5837	N/A	4.4362	N/A

Esercizio avanzato n. 4b Modifica delle variabili del campione e rielaborazione



Esercizio avanzato n. 5a

Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze

Questo esercizio contiene una serie di operazioni che facilitano la revisione di risultati e rapporti relativi all'esecuzione di una sequenza con impostazione di metodo per calibrazione multilivello in bracketing, analisi quantitativa ISTD e quantità di campione variabili. Si apprenderà a:

- Riconoscere i risultati di una calibrazione globale.
- Trovare i calcoli di system suitability selezionati per il layout di revisione nel metodo.
- Trovare i calcoli personalizzati impostati nel metodo.
- Rivedere i rapporti dei calcoli impostati nel modello di rapporto.

Per il presente esercizio è possibile scegliere fra due metodi:

- Il metodo dello strumento defexer5 copiato dal metodo predefinito fornito con il sistema
- Il metodo creato in "[Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze](#)" a pagina 141

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.

Equilibrare lo strumento. Vedere "[Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento](#)" a pagina 13.



Operazione 1. Impostare ed eseguire la sequenza

Fasi	Istruzioni dettagliate
1 Creare una nuova sequenza. Assegnare alla sequenza il nome <code>exer5seqiii</code> , dove <i>iii</i> sono le iniziali dell'operatore. Utilizzare uno dei due metodi: <ul style="list-style-type: none">• <code>defexer5</code>• <code>exer5iii</code> (creato con l'Esercizio n. 5 della sezione Impostazione dei metodi)	<ul style="list-style-type: none">• Per ulteriori informazioni, consultare "Operazione 1. Creare una nuova sequenza" a pagina 33.
2 Assicurarsi di aver selezionato Quantify e Report.	<ul style="list-style-type: none">• Per ulteriori informazioni, consultare "Operazione 2. Inserire informazioni su campione e sequenza" a pagina 34, punto 2.
3 Inserire il percorso di destinazione per i rapporti senza stamparli, quindi salvare la sequenza. Inserire <code>Exercise5iii</code> , dove <i>iii</i> indica le iniziali dell'operatore	<ul style="list-style-type: none">• Per ulteriori informazioni, consultare "Operazione 2. Inserire informazioni su campione e sequenza" a pagina 34, punto 3.
4 Eseguire e tracciare la sequenza.	<ul style="list-style-type: none">• Per ulteriori informazioni, consultare "Operazione 3. Eseguire e controllare la sequenza" a pagina 36.

Operazione 2. Rivedere i risultati e i rapporti

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 1** Comparare i fattori di risposta per il dimetilitalato per il primo gruppo di campioni in bracketing con quelli del secondo gruppo.

Consiglio: se non si riesce a vedere i fattori di risposta, fare clic nella parte inferiore del pannello Compound Summary per visualizzare la barra di scorrimento.

È utile notare che i fattori di risposta per il secondo Cal1 e Cal2 del primo gruppo di campioni in bracketing sono gli stessi utilizzati per il primo Cal1 e Cal2 del secondo gruppo di campioni in bracketing.

- a** Selezionare **Result** dall'elenco *Current View*.
b Selezionare **AllSeqNotApprovedRunLast7Days** dall'elenco Query.
c Espandere la cartella **exer3seq.iii**.
d Selezionare la cartella **Calibration - exer3seq.iii**.
 La prima cartella di calibrazione contiene l'analisi in bianco.
e Scorrere per vedere il fattore di risposta, se non è visibile.
f Selezionare la terza cartella **Calibration – exer5seq.iii**.
g Scorrere per vedere il fattore di risposta, se non è visibile.
h Comparare i fattori di risposta.

Sample Name	Weighed Amount	RF (Rsp/Amt)
cal1 #1	10.0000	1.7832
cal1 #1	10.0000	1.7784
cal2 #1	40.0000	1.7247
cal2 #1	40.0000	1.7271

Weighed Amount	RF (Rsp/Amt)
10.0000	1.7784
10.0000	1.7727
40.0000	1.7271
40.0000	1.7248

Esercizio avanzato n. 5a Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

2 Rivedere i calcoli di system suitability per Cal1 #1 nella seconda cartella di calibrazione.

Prendere nota dei valori per i calcoli Average Percent Specified Impurity e Average Percent Unspecified Impurity impostati come calcoli personalizzati nel metodo.

Istruzioni dettagliate

- a Espandere la seconda cartella **Calibration - exer3seqiii Calib.**
 - b Espandere la cartella **Calibrations.**
 - c Espandere la cartella Cal1.
 - d Selezionare Cal1 #1.
 - e Rivedere la tabella dei risultati per i calcoli di system suitability.
- In alcuni casi, può essere necessario fare clic sulla tabella Results per visualizzare la barra di scorrimento.

Results					
RT	Compound Name	Peak Width	TailingFactor	SignalToNoise	Peak resolution USP
0.94	dimethylphthalate	0.0424	1.144	97.300	N/A
1.11	diethylphthalate	0.0443	1.050	79.413	2.303
1.89	biphenyl	0.0560	0.887	1041.299	9.108
3.10		0.0905	0.666	607.791	9.690

Summary Results	
Percent Specified Impurity :	13.42
Percent Unspecified Impurity :	37.91

Esercizio avanzato n. 5a Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Rivedere i risultati di impurezza percentuale per il primo Sample1_2 e per il gruppo campione.

Verificare che i valori di impurezza percentuale superino i propri limiti.

- a Espandere la seconda cartella **Calibration - exer3seqiii**.
- b Espandere la cartella **Samples**.
- c Selezionare la cartella **Sample1_2**.

È utile notare che la percentuale media specificata e le impurezze non specificate per entrambe le iniezioni compaiono qui.

Results Table	
Compound Name	Injection#
dimethylphthalate	1
	2
diethylphthalate	1
	2
biphenyl	1
	2
Not Identified Peaks	1
	2

Summary Results	
Avg Percent Specified	13.65
Avg Percent Unspecified	37.80

- d Espandere la cartella **Group Results**.
- e Selezionare **Samples**.

I risultati per la media delle impurezze percentuali su tutti i campioni compaiono qui, così come i risultati dei controlli di limite per tali impurezze.

Summary Results	
Avg % S All Samples	13.73
Avg % S All Samples Limit Check	Not Passed
Avg % U All Samples	37.72
Avg % U All Samples Limit Check	Not Passed

Esercizio avanzato n. 5a Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 4 Rivedere il rapporto di iniezione del campione singolo per il primo Sample1_2 ed il rapporto relativo al gruppo campione.**
- a** Selezionare **Start > Programs > Agilent Cerity > Report Viewer.**
 - b** Scegliere **File > Open.**
 - c** Espandere **Exercise5iii.**
 - d** Espandere **003Multi-InjectionSummary.**
 - e** Espandere **01Sample Single Injection** e fare doppio clic su **default.htm.**
- Prendere nota dei valori dei calcoli di system suitability nella tavola impostata nel metodo.

Retention Time	Compound Name	Amount	Response Factor	Tailing Factor	Peak resolution USP	SignalToNoise
0.93	dimethylphthalate	24.8892	0.1169	1.178	N/A	237.192
1.10	diethylphthalate	17.5561	0.1169	1.135	2.308	194.383
1.89	biphenyl	37.5000	0.0667	1.090	9.129	2554.088
3.11	N/A	48.6177	0.0741	1.043	9.713	1489.322

- f** Espandere **Exercise5iii.**
- g** Espandere **Sample Group** e fare clic su **default.htm.**

Prendere nota dei calcoli di impurezza percentuale ed i limiti impostati nei calcoli personalizzati e nel modello di rapporto all'interno del metodo.

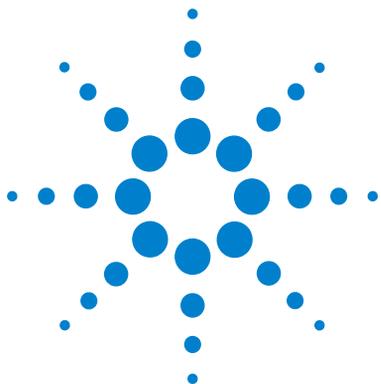
Avg % S All Samples:	13.73
Avg % U All Samples:	37.72

Sample group limit results

#	Sample name	Compound	Limit (Compound)	Limit (Sample)
1	sample 1_2	dimethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
2	sample 1_4	dimethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
3	sample 1_2	dimethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
4	sample 1_4	dimethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
1	sample 1_2	diethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
2	sample 1_4	diethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
3	sample 1_2	diethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
4	sample 1_4	diethylphthalate	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
1	sample 1_2	biphenyl	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
2	sample 1_4	biphenyl	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
3	sample 1_2	biphenyl	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX
4	sample 1_4	biphenyl	XXXXXXXXXX	XXXXXXXXXX

Avg % S All Samples Limit Check: Not Passed

Avg % U All Samples Limit Check: Not Passed



Esercizio avanzato n. 5b Uso di un metodo diverso per la rielaborazione

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Impostare un metodo diverso con un composto calibrato nuovo.
- Impostare la rielaborazione per un metodo diverso.
- Rielaborare la sequenza con un metodo diverso.

Utilizzare i dati prodotti con l'Esercizio n. 5a.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Analisi di campioni di routine](#)" a pagina 9.



Operazione 1. Impostare un metodo diverso

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Copiare exer5iii e rinominarlo in exer5iii2.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Oppure copiare defexer5. • Oppure utilizzare defexer5iii2 per la rielaborazione. 	<p>a Selezionare File > New > Method.</p> <p>b Fare clic su Browse nella finestra di impostazione guidata del metodo.</p> <p>c Selezionare exer5iii.</p> <p>d Inserire un nome in New Method Name: exer5iii2, quindi fare clic su Next.</p> <p>e Fare clic su Next per passare al pannello New Method Review.</p> <p>f Fare clic su Finish, quindi su Save.</p>
<p>2 Aggiungere il dietilftalato come composto calibrato.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cal Level 1 -8 µg • Cal Level 2 - 32 µg • Impostare il bifenile come ISTD per questo composto. 	<p>a Espandere la cartella exer5iii.</p> <p>b Espandere la cartella Data Analysis.</p> <p>c Selezionare Calibration.</p> <p>d Fare clic con il tasto destro del mouse sulla tavola di calibrazione e selezionare Insert Compound.</p> <p>e Selezionare il dietilftalato, fare clic su >, quindi su OK.</p> <p>f Nella tavola di calibrazione selezionare il dietilftalato.</p> <p>g Fare clic sulla cella Use Default Amount di Level 1, quindi sul pulsante</p> <p>h Selezionare il segno + ed inserire 8 µg nelle celle Weighed Amount e Unit.</p> <p>i Ripetere le operazioni descritte ai punti g e h per Level 2 specificando 32 µg.</p> <p>j Selezionare Quantitation.</p> <p>k Selezionare il dietilftalato.</p> <p>l Selezionare la casella Use ISTD Compound, quindi scegliere il bifenile.</p> <p>m Salvare il metodo.</p>

Operazione 2. Rielaborare il risultato della sequenza

Fasi

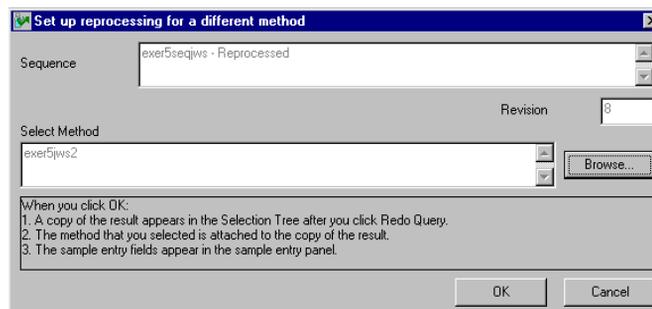
Istruzioni dettagliate

1 Impostazione della rielaborazione per un altro metodo.

Selezionare *exer5iii2* o *defexer5iii2*.

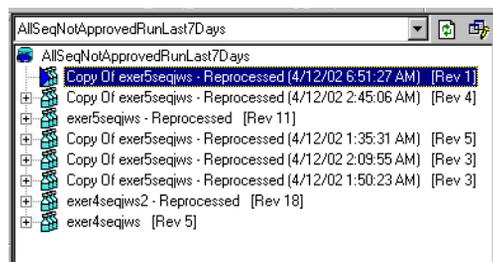
Vedere il capitolo 3 "Analisi del campione" della *Guida ai concetti* per visualizzare il grafico che facilita la selezione delle opzioni di rielaborazione corrette.

- Selezionare **Result** dall'elenco **Current View**.
- In Query List selezionare **MySeqNotApprovedRunLast7days**.
- Selezionare la cartella **exer5seqiii**.
- Selezionare **Actions > Set up reprocessing for a different method**.



- Fare clic su **Browse**, selezionare *exer5iii2*, quindi fare clic su **OK**.
- Fare clic su **OK**, quindi su **Save**.

Una copia della sequenza viene visualizzata nella struttura di selezione, pronta per la rielaborazione. Tale copia viene allegata al nuovo metodo, ma non contiene cartelle fino a quando non viene rielaborata.



2 Inserire le quantità del nuovo composto calibrato, il dietilftalato, per ogni standard di calibrazione.

Level 1: 8

Level 2: 32

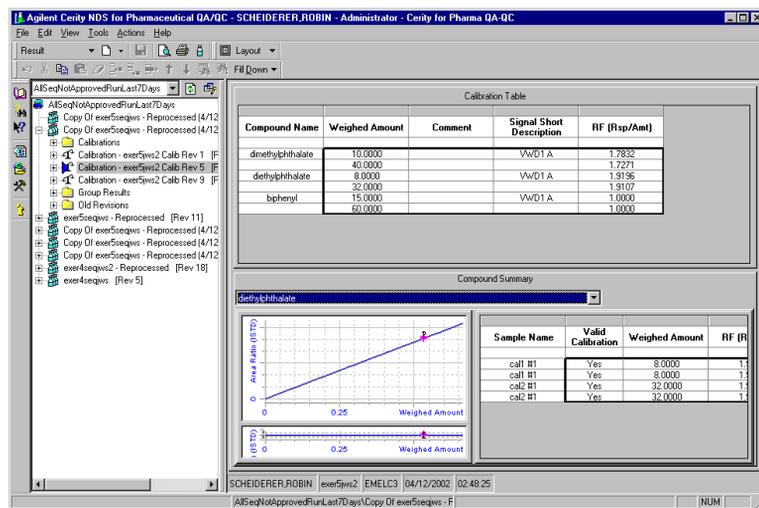
- Selezionare questa copia (osservare la data e l'ora che riporta).
- Fare clic sulla scheda **Amount** nel pannello Sample Entry all'interno dell'area di lavoro dedicata alla sequenza.
- Per ogni standard Level 1, selezionare la casella **Use** per il dietilftalato, quindi inserire 8.
- Per ogni standard Level 2, selezionare la casella **Use** per il dietilftalato, quindi inserire 32.
- Salvare il risultato.

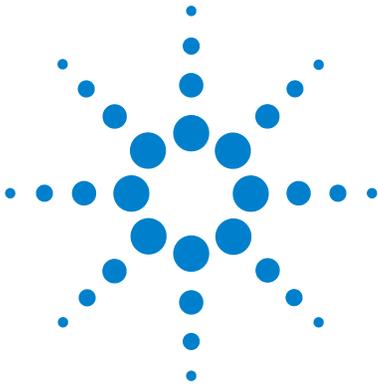
Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Rielaborare la copia.

- a Selezionare **Actions > Reprocess**
- b Assicurarsi che la casella **Use the method revision now attached to the result** sia selezionata.
- c Fare clic su **OK**.
- d Sorvegliare la rielaborazione dal pannello Sequence Options.
- e Fare clic sul pulsante **Redo Query**.
- f Espandere la copia.
- g Selezionare una cartella di calibrazione.
- h Accertarsi che il dietilfitalato sia riportato come composto calibrato.





Impostazione dei metodi

I presenti esercizi consentono di apprendere come si impostano i metodi per il laboratorio. Vedere il capitolo 4 "Impostazione del metodo" della *Guida ai concetti* per informazioni di base che consentono di utilizzare meglio i presenti esercizi. Il gruppo di esercizi di base e avanzati comprende i seguenti argomenti:

Di base

Esercizio 1 – Impostazione di un metodo di equilibratura Modalità di impostazione di un modello di metodo ed inserimento di parametri dello strumento per l'equilibratura.

Esercizio 2 – Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti Modalità di utilizzo di un cromatogramma di esempio per impostare l'integrazione e l'identificazione del composto per i campioni singoli.

Esercizio 3 – Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza Modalità di impostazione di calibrazione a livello singolo e aggiornamento singolo, quantificazione ESTD e quantità di composti fisse.

Avanzati

Esercizio 4 – Impostazione di un metodo calibrato multilivello singolo per la sequenza Modalità di impostazione di calibrazione globale multilivello, quantificazione ESTD, quantità di composto variabili e variabili del campione.

Esercizio 5 – Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze Modalità di impostazione di una quantificazione ISTD, calcoli personalizzati, limiti, calibrazione in bracketing e system suitability.



I metodi impostati per gli Esercizi 1-5 possono essere utilizzati per eseguire sequenze ed analizzare campioni negli Esercizi 1-5 della sezione "[Analisi di campioni di routine](#)".

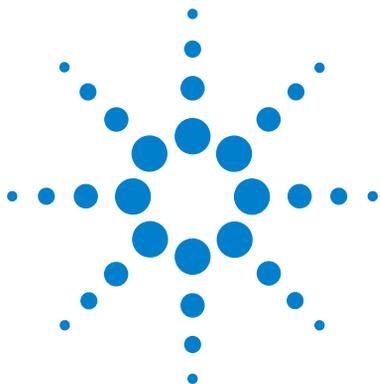
Prima di iniziare

Leggere "[Prima di iniziare](#)" a pagina 5.

L'amministratore di sistema deve aver configurato il cromatografo liquido Agilent Serie 1100 per il sistema.

Se si prevede di copiare un metodo predefinito per creare un metodo nuovo come negli Esercizi 3 e 5, assicurarsi che i metodi predefiniti siano presenti nel database. Dall'elenco Query selezionare AllMethodsRestored per visualizzare defexer1-5.

Se i metodi non compaiono, leggere le istruzioni in "[Prima di iniziare](#)" per trasferire questi metodi dal CD-ROM al database.



Esercizio base n. 1

Impostazione di un metodo di equilibratura

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Creare un modello di metodo per impostare i parametri di uno strumento.
- Impostare i parametri dello strumento.
- Salvare ed ispezionare le modifiche del metodo.
- Visualizzare lo storico delle modifiche del metodo.

Un *modello di metodo* è una struttura predefinita che consente di inserire le condizioni ed i parametri necessari per acquisire ed elaborare dati. Il *metodo* è un modello che contiene i valori dei parametri inseriti.

Utilizzare il metodo per equilibrare lo strumento, come descritto nel capitolo "[Esercizio base n. 1a Equilibratura dello strumento](#)" a pagina 13.

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Impostazione dei metodi](#)" a pagina 73 per impostare i metodi.



Operazione 1. Creare un modello di metodo per inserire i parametri dello strumento

Fasi

1 Creare un nuovo modello di metodo per un campione singolo.

- Assegnare al campione il nome equilmeth*iii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.

Istruzioni dettagliate

- Selezionare **File > New > Method** oppure fare clic su  e selezionare **Method**.
Viene visualizzata la procedura guidata Method Wizard.
- Nel pannello New Method inserire equilmeth*iii* in **Method Name**.
- Selezionare **Single Sample**.



- Fare clic su **Next** per passare al pannello Instrument.

Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Selezionare lo strumento da equilibrare.

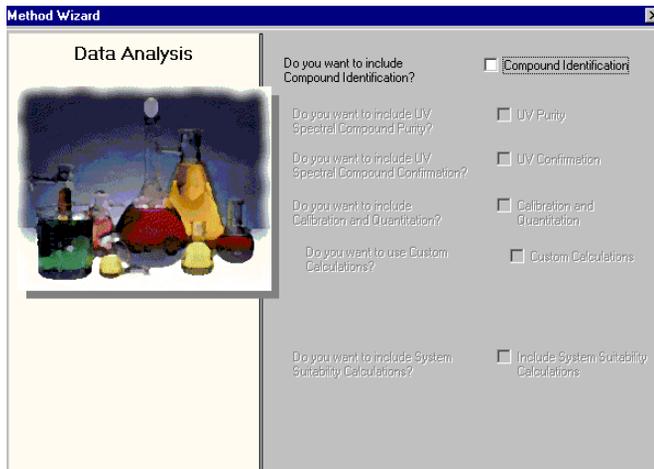
a Nel pannello Instrument selezionare lo strumento da equilibrare. Gli strumenti visualizzati nell'elenco **Available Instruments** variano a seconda della configurazione del sistema di gestione dati in rete Cerity.



b Fare clic su **Next** per passare al pannello Data Analysis.

3 Cancellare tutte le selezioni di analisi dei dati.

a Nel pannello Data Analysis deselezionare la casella **Compound Identification**.



b Fare clic su **Next** per passare al pannello New Method Review.

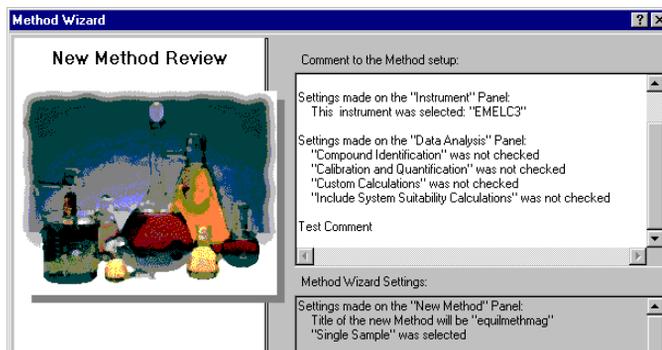
Esercizio base n. 1 Impostazione di un metodo di equilibrizzazione

Fasi

4 Controllare e salvare il modello di metodo.

Istruzioni dettagliate

- a Nel pannello New Method Review, controllare le impostazioni nella sezione **Method Wizard Settings**.
- b Aggiungere le parole "Test Comment" nella sezione **Comment**.
- c Scegliere **Finish**.



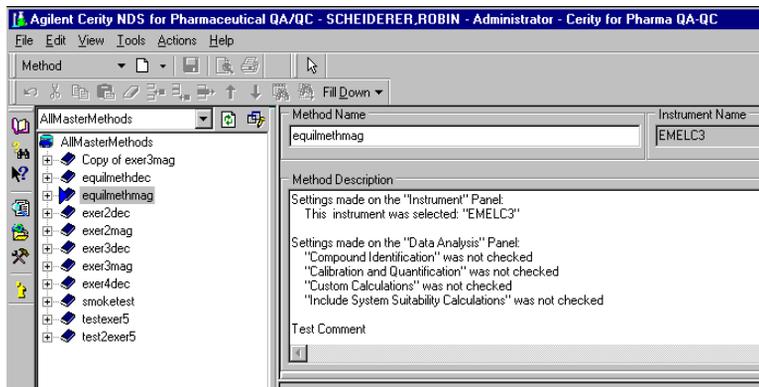
- d Fare clic su **Save** se viene visualizzata la finestra di dialogo Save Changes to the Database.

5 Visualizzare le impostazioni guidate effettuate nel nuovo metodo.

Dopo il salvataggio del modello di metodo, viene visualizzata la finestra Method View.

- a Selezionare il metodo equilmethⁱⁱⁱ appena creato.
- b Visualizzare **Method Description** nell'area di lavoro.

Verificare che la descrizione del metodo corrisponda a quanto inserito nella sezione Comment del pannello New Method Review della procedura di impostazione guidata del metodo.



Operazione 2. Inserire le condizioni per l'equilibrizzazione dello strumento

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Impostare i parametri della pompa.

Metanolo come solvente B:

- Flusso: 2 ml/min.
- Composizione del solvente: 80% MeOH/20% H₂O
- Tempo di arresto: 10 min.

Acetonitrile come solvente B:

- Flusso: 1,5 ml/min
- Composizione del solvente: 65% ACN/35% H₂O
- Tempo di arresto: 10 min.

- Nella struttura di selezione espandere la cartella equilmethiii.
- Espandere la cartella **Instrument Setup**, quindi selezionare **Quaternary Pump** o **Binary Pump**.
- Inserire un valore di **Flow** pari a 2 ml/min.
- In **Solvents** selezionare la casella **B**, quindi inserire 80 nella casella %. La percentuale di solvente A viene automaticamente impostata al 20%.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **min**, quindi inserire 10.
- In **Posttime** e **Pressure Limits** confermare i valori predefiniti.

The screenshot shows the 'Setup' dialog box with the 'Auxiliary & Data Curves' tab selected. The 'Flow' section is set to 2 ml/min. The 'Solvents' section shows solvent A at 20% and solvent B at 80%. The 'Stoptime' section is set to 10 min. The 'Posttime' section is set to Off. The 'Pressure Limits' section shows Min: 0 bar and Max: 400 bar.

2 Impostare su zero il volume di iniezione del campionatore automatico (ALS).

- Selezionare la cartella **ALS**.
- Fare clic sulla scheda **Setup**.
- In Injection selezionare **Standard Injection**.
- Impostare **Injection Volume** su zero.

The screenshot shows the 'Setup' dialog box with the 'Auxiliary & Time' tab selected. The 'Injection' section shows 'Standard Injection' selected. The 'Injection Volume' is set to 0 µl. The 'Wash Vial' is set to 1.

Esercizio base n. 1 Impostazione di un metodo di equilibratura

Fasi	Istruzioni dettagliate
3 Impostare lo stesso tempo di arresto per tutti i moduli. Tempo di arresto: 10 min.	<ul style="list-style-type: none">a Selezionare la cartella ALS.b Fare clic sulla scheda Auxiliary & Time.c In Stoptime selezionare l'opzione as Pump.d Selezionare le cartelle DAD, MWD o VWD che vengono visualizzate nella configurazione del rivelatore.e In Stoptime selezionare l'opzione as Pump/Injector.f Selezionare la cartella TCC.g In Stoptime selezionare l'opzione as Pump/Injector.h Accettare i valori predefiniti per i parametri di tutti gli altri moduli.

Operazione 3. Salvare ed ispezionare le modifiche del metodo.

Fasi

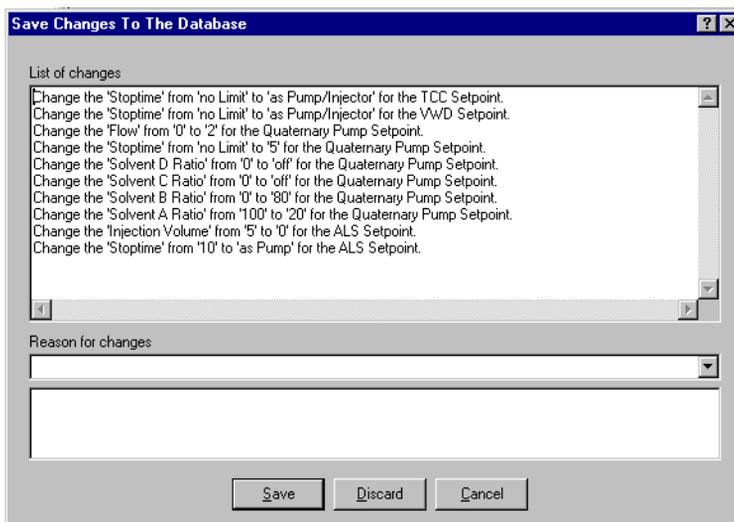
Istruzioni dettagliate

1 Salvare il metodo.

L'amministratore di Cerity deve impostare il controllo in modo da visualizzare la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**. Può inoltre richiedere l'inserimento dei motivi e della firma elettronica per completare la finestra di dialogo. Tali operazioni sono necessarie solo quando è installata una licenza Cerity GMP e l'amministratore del sistema Cerity imposta un Audit.

- a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**.



- b Rivedere l'elenco delle modifiche **List of changes**.

- c In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.

- d Fare clic sul pulsante **Save**.

2 Visualizzare lo storico delle modifiche del metodo.

Se è necessario utilizzare questo metodo prima di impostare altri metodi, utilizzarlo con Analisi di campioni di routine Esercizio n. 1 Equilibrizzazione dello strumento.

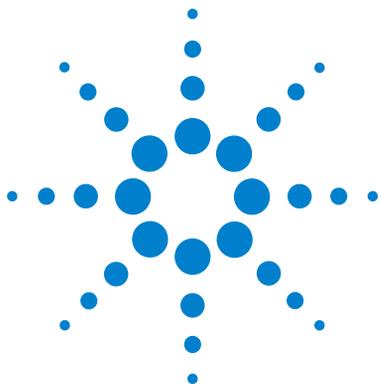
- a Nella struttura di selezione selezionare il metodo *equilmethiii*.

- b Visualizzare l'elenco delle modifiche apportate al metodo.

Description	Item	Comment	E-Sig	Timestamp
Change the 'Stoptime' from 'no Limit' to 'as Pump/Injector' for the TCC Setpoint.	TCC Setpoint	Initial configuration	None	03/17/2002, 16:31:51
Change the 'Stoptime' from 'no Limit' to 'as Pump/Injector' for the VWD Setpoint.	VWD Setpoint	Initial configuration	None	03/17/2002, 16:31:51
Change the 'Flow' from '0' to '2' for the Quaternary Pump Setpoint.	Quaternary Pump Setpoint	Initial configuration	None	03/17/2002, 16:31:51
Change the 'Stoptime' from 'no Limit' to '5' for the Quaternary Pump Setpoint.	Quaternary Pump Setpoint	Initial configuration	None	03/17/2002, 16:31:51

Le modifiche dei singoli valori compaiono nello storico solo quando è installata una licenza Cerity GMP e l'amministratore del sistema Cerity imposta un Audit.

Esercizio base n. 1 Impostazione di un metodo di equilibratura



Esercizio base n. 2

Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Creare un modello di metodo per campioni singoli per inserire nel metodo solo l'identificazione del composto.
- Impostare e salvare il metodo per creare un cromatogramma di esempio.
- Utilizzare un cromatogramma di esempio per impostare l'integrazione.
- Impostare l'identificazione del composto.

Un *modello di metodo* è una struttura predefinita che consente di inserire le condizioni ed i parametri necessari per acquisire ed elaborare dati.

Utilizzare il metodo creato nella prima parte di questo esercizio per inserire ed analizzare un campione singolo per creare un cromatogramma di esempio. Il metodo completato può essere utilizzato per inserire ed analizzare un gruppo di campioni per identificarne i composti. Vedere "[Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio](#)" a pagina 19 e "[Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati](#)" a pagina 41.



Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Impostazione dei metodi](#)" a pagina 73 per impostare i metodi.

Operazione 1. Creare un modello di metodo per la sola identificazione dei composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Creare un nuovo modello di metodo per un campione singolo.

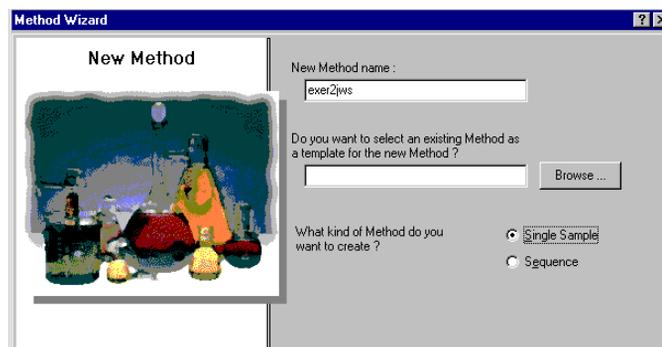
- Assegnare al campione il nome *exer2iii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.

a Selezionare **File > New > Method** oppure fare clic su  e selezionare **Method**.

Viene visualizzata la procedura guidata Method Wizard.

b Inserire *exer2iii* nella casella **Method Name**.

c Selezionare **Single Sample**.



d Fare clic su **Next** per passare al pannello Method.

Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Selezionare uno strumento per l'esecuzione del metodo.

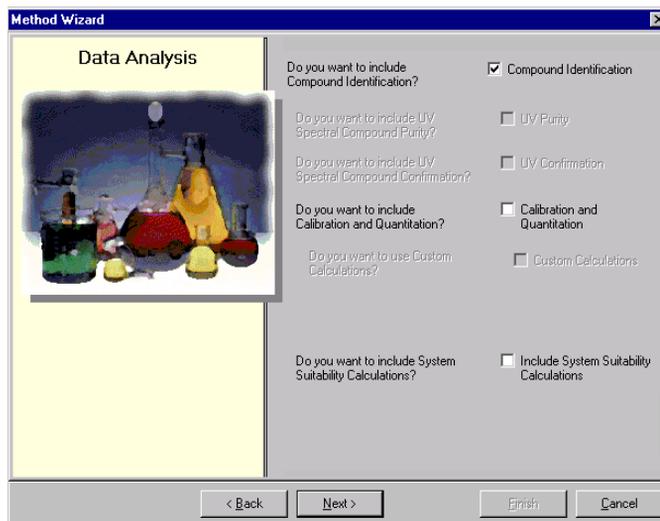
a Nel pannello Instrument selezionare lo strumento che eseguirà l'analisi.



b Fare clic su **Next** per passare al pannello Data Analysis.

3 Contrassegnare solo Compound Identification.

a Nel pannello Data Analysis deselezionare le caselle **Calibration and Quantification Include Noise Calculations** e **Include System Suitability Calculations**.



b Fare clic su **Next** per passare al pannello Identification.

Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>4 Completare l'impostazione del modello di metodo.</p> <p>Non selezionare alcuna casella nel pannello Method Wizard Identification.</p>	<p>a Fare clic su Finish, quindi sul pulsante Finish.</p> <p>b Fare clic su Save se viene visualizzata la finestra di dialogo Save Changes to the Database.</p>

Operazione 2. Inserire le condizioni per l'equilibratura dello strumento

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Inserire i parametri della pompa

Metanolo come solvente B:

- Flusso: 2 ml/min.
- Composizione del solvente: 80% MeOH/20% H₂O
- Tempo di arresto: 5 min.

Acetonitrile come solvente B:

- Flusso: 1,5 ml/min
- Composizione del solvente: 65% ACN/35% H₂O
- Tempo di arresto: 6 min.

- Nella struttura di selezione espandere la cartella *exer2iii*.
- Espandere la cartella **Instrument Setup**, quindi selezionare **Quaternary Pump** o **Binary Pump**.
- Inserire un valore di **Flow** pari a 2 ml/min.
- In **Solvents** selezionare la casella **B**, quindi inserire 80 nella casella %. La percentuale di solvente A viene automaticamente impostata al 20%.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **min**, quindi inserire 5.

2 Inserire il volume di iniezione ed il tempo di arresto del campionatore automatico.

Volume di iniezione: 1 µl

Tempo di arresto: come la pompa

- Nella struttura di selezione scegliere la cartella **ALS**.
- Fare clic sulla scheda **Auxiliary & Time**.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **as Pump**.
- Fare clic sulla scheda **Setup**, quindi selezionare **Standard Injection**.
- Inserire il valore 1 µl in **Injection Volume**.

Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 3 Assicurarsi che il tempo di arresto sia lo stesso per tutti i moduli strumentali.**

Tempo di arresto: come la pompa

- a** Nella struttura di selezione scegliere la cartella **VWD**.
- b** In **Stoptime** selezionare l'opzione **as Pump/Injector**.
- c** Nella struttura di selezione scegliere la cartella **TCC**.
- d** In **Stoptime** selezionare l'opzione **as Pump/Injector**.

The screenshot shows a software interface with four tabs: "Signal & Time", "Timetable", "Options", and "Special Setpoints". The "Signal & Time" tab is active. It contains two main sections:

- Signal:**
 - Wavelength: 254 nm (input field with up/down arrows)
 - Peakwidth (Responsetime): >0.10 min (2.0 s) (dropdown menu)
- Stoptime:**
 - Radio button selected: **as Pump / Injector**
 - Radio button: no Limit
 - Radio button: 0 min (input field with up/down arrows)
- Posttime:**
 - Radio button selected: **Off**
 - Radio button: 0 min (input field with up/down arrows)

Operazione 3. Salvare ed ispezionare le modifiche del metodo.

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Salvare il metodo.

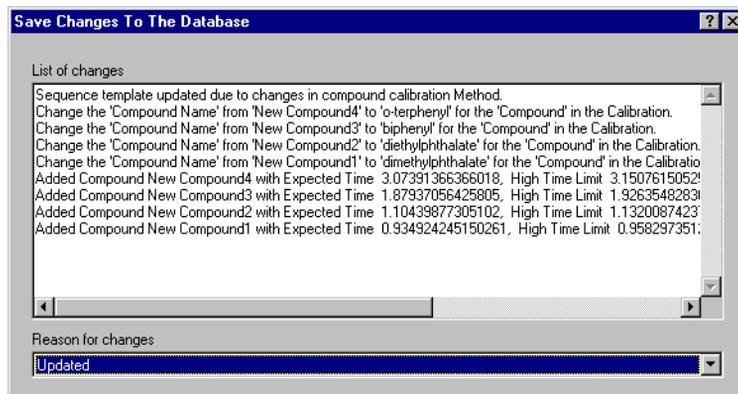
Dopo aver salvato il metodo a questo punto, esso può essere utilizzato per creare un cromatogramma di esempio.

Vedere "Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio" a pagina 19.

Dopo aver creato il cromatogramma di esempio, passare alla fase 4.

- a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**.



- b Rivedere l'elenco delle modifiche **List of changes**.
c In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.
d Fare clic sul pulsante **Save**.

L'amministratore di Cerity deve impostare il controllo in modo da visualizzare la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**. Può inoltre fornire un elenco di motivi per la modifica e richiedere l'inserimento di una firma elettronica per completare la finestra di dialogo.

Operazione 4. Selezionare un cromatogramma di esempio ed impostare l'integrazione

Fasi

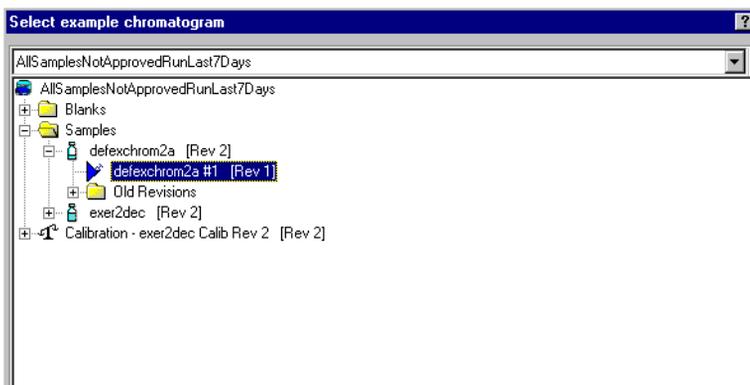
Istruzioni dettagliate

1 Selezionare un cromatogramma di esempio.

Se non esistono cromatogrammi di campioni isocratici, è necessario analizzare un campione per creare un cromatogramma di esempio. Vedere "Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio" a pagina 19.

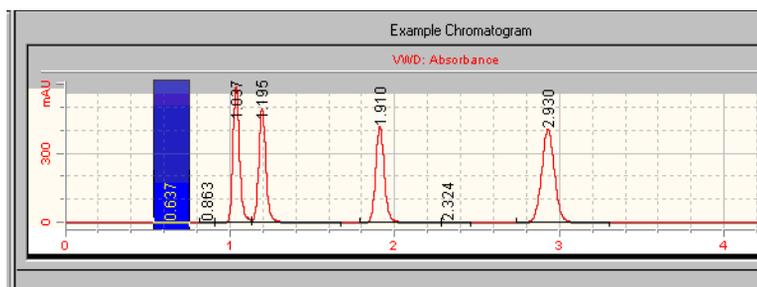
Per impostare integrazione ed identificazione, non è necessario disporre di un cromatogramma di esempio; tuttavia se ne consiglia l'uso.

- a Nella struttura di selezione espandere la cartella *exer2iii* se necessario.
- b Espandere la cartella **Data Analysis**.
- c Selezionare **Example Chromatogram**.
- d Sulla barra degli strumenti **Tools** fare clic su .



- e Espandere la cartella **Samples**.
- f Espandere la cartella *exchromiii* o *defexchrom2a*.
- g Selezionare il nome del campione con il numero di iniezione.
- h Fare clic sul pulsante **Select**.

Il cromatogramma di esempio viene visualizzato nell'area di lavoro.



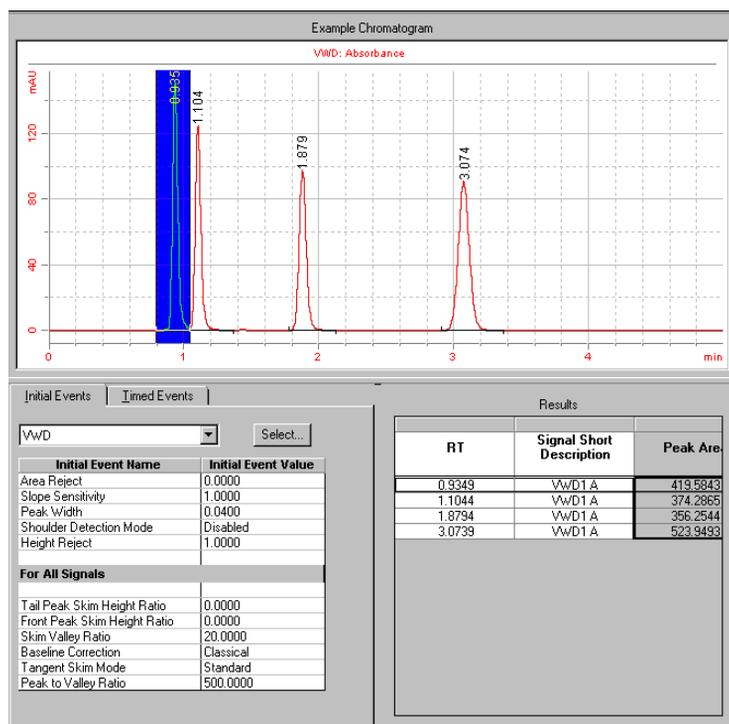
Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Fasi

2 Modificare i valori degli eventi iniziali in modo che risultino soltanto quattro picchi integrati.

Istruzioni dettagliate

- Nella struttura di selezione scegliere **Integration** in Data Analysis.
Il cromatogramma di esempio viene visualizzato con le tabelle degli eventi di integrazione.
- Modificare il valore dell'evento **Height Reject** impostandolo su 1 (oppure il valore inferiore con cui è comunque possibile integrare i quattro picchi principali).
- Fare clic sulla barra degli strumenti Actions .



Operazione 5. Impostare l'identificazione dei composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Impostare la tabella dei composti per le seguenti sostanze:

Tempo di ritenzione = Da 9 a 1,1, dimetilftalato

Tempo di ritenzione = Da 1,1 a 1,2, dietilftalato

Tempo di ritenzione = Da 1,8 a 2,1, bifenile

Tempo di ritenzione = Da 3 a 3,2, o-terfenile

a Nella struttura di selezione scegliere la voce **Identification** per Data Analysis.

b Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

I picchi vengono visualizzati con i nomi New CompoundN nella tabella dei composti, dove N = 1 - 4.

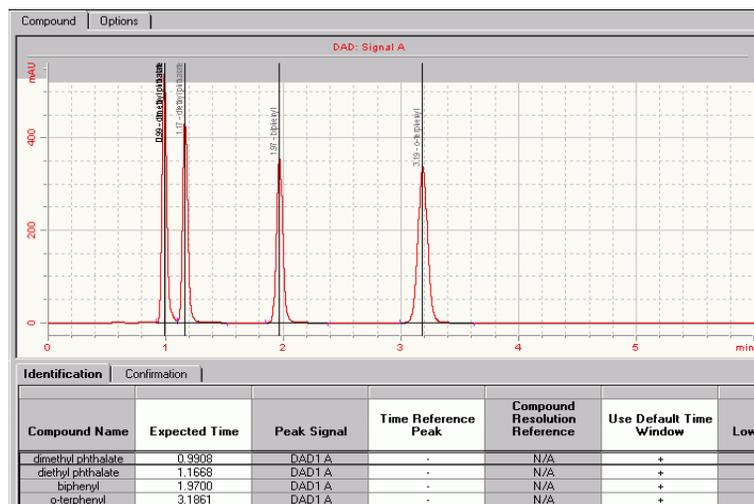
c In **Compound Name** selezionare la prima cella ed inserire dimetilftalato.

Dopo aver selezionato la cella, inserire il nome. L'inserimento precedente viene sovrascritta.

d In **Compound Name** selezionare la seconda cella ed inserire dietilftalato.

e In **Compound Name** selezionare la terza cella ed inserire bifenile.

f In **Compound Name** selezionare la quarta cella ed inserire o-terfenile.



Esercizio base n. 2 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'identificazione dei composti

Fasi

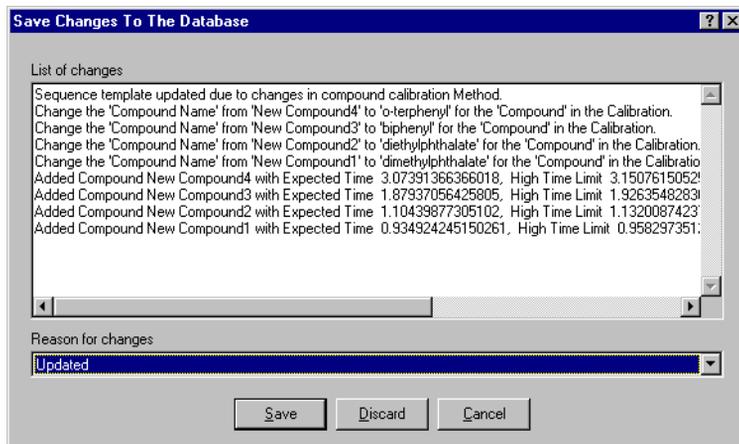
Istruzioni dettagliate

2 Salvare il metodo.

Se si deve eseguire il metodo per identificare composti prima di impostare altri metodi nel corso di questi esercizi, usare il metodo con "[Esercizio base n. 2b Analisi di un gruppo di campioni singoli per identificare i composti](#)" a pagina 25.

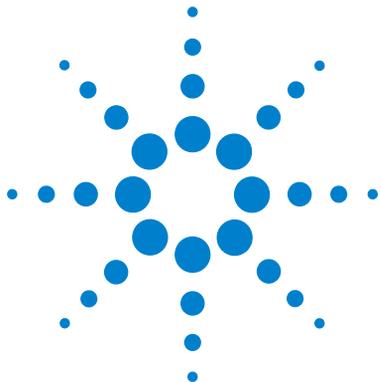
- a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**.



- b Rivedere l'elenco delle modifiche **List of changes**.
- c In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.
- d Fare clic sul pulsante **Save**.

L'amministratore di Cerity deve impostare il controllo in modo da visualizzare la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**. Può inoltre fornire un elenco di motivi per la modifica e richiedere l'inserimento di una firma elettronica per completare la finestra di dialogo.



Esercizio base n. 3

Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Creare un modello di metodo affinché la sequenza comprenda calibrazione a livello singolo e calibrazione ad aggiornamento singolo oltre alla quantificazione ESTD.
- Impostare calibrazione e analisi quantitativa con quantità fisse di composto.
- Impostare un modello di sequenza.

Un *modello di sequenza* è una tabella contenente l'ordine degli standard di calibrazione ed i campioni da analizzare con il metodo. Il modello di sequenza è utile se l'ordine, i nomi dei campioni e le caratteristiche sono simili ogni volta che si esegue una sequenza con il metodo.

Il metodo può essere usato con "[Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo](#)" e "[Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati](#)".

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

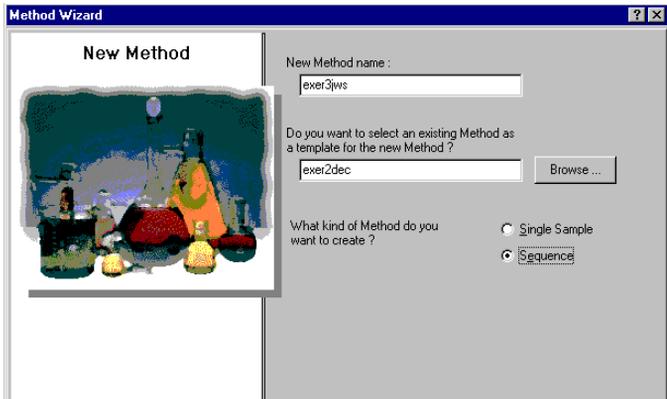
Prima di iniziare

Leggere "[Impostazione dei metodi](#)" a pagina 73 per impostare i metodi.



Operazione 1. Copiare un metodo per creare un modello di metodo per la sequenza

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Creare un nuovo modello di metodo da un metodo esistente.</p> <ul style="list-style-type: none">Assegnare al modello di metodo il nome <i>exer2iii</i>, dove <i>iii</i> sono le iniziali dell'operatore.Usare <i>exer2iii</i> o <i>defexer2</i> come base per il nuovo modello di metodo.Assicurarsi di aver selezionato solo le caselle <i>Compound Identification</i> e <i>Calibration and Quantitation</i>. <p>Copiare il metodo quando si desidera mantenere le impostazioni di strumento e analisi dei dati del metodo vecchio. Non sarà quindi più necessario inserire le impostazioni nel metodo nuovo.</p>	<p>a Selezionare File > New > Method oppure fare clic su  e selezionare Method.</p> <p>Viene visualizzato il pannello Method Wizard New Method.</p> <p>b Fare clic sul pulsante Browse e selezionare <i>exer2iii</i> oppure su <i>defexer2</i> nella finestra di dialogo Method Template Selection.</p> <p>c Inserire <i>exer3iii</i> nella casella New Method Name.</p> <p>d Selezionare Sequence.</p>

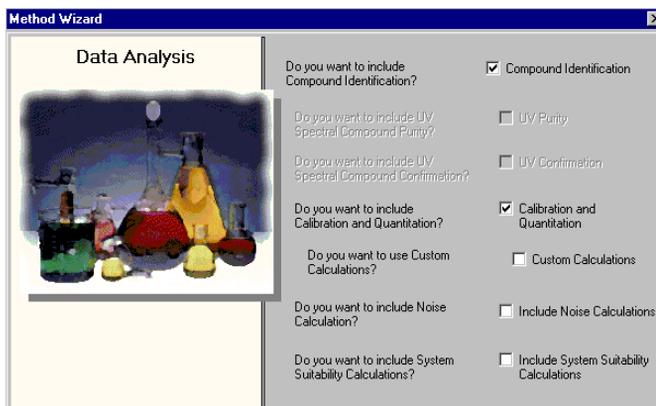


Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

- e Fare clic su **Next** per passare al pannello **Data Analysis**.
- f Selezionare le caselle **Compound Identification** e **Calibration and Quantitation**.



Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

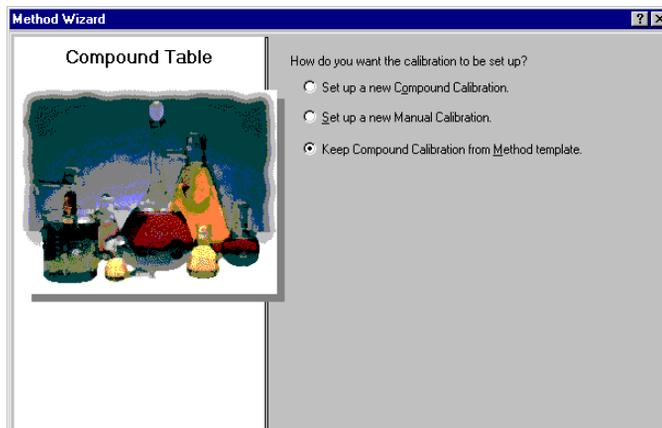
Fasi

2 Effettuare le selezioni per mantenere la tabella dei composti ed impostare la nuova calibrazione.

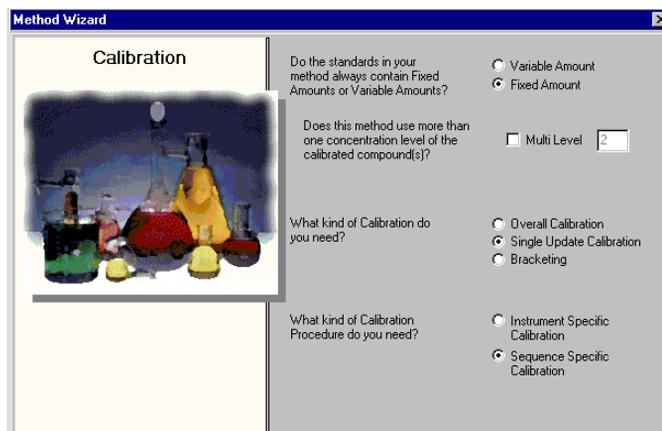
- Effettuare le selezioni per impostare:
Calibrazione a livello singolo
Quantità fisse di composto
Calibrazione ad aggiornamento singolo
Calibrazione specifica per sequenza

Istruzioni dettagliate

- Fare clic su **Next** per passare al pannello **Compound Table**.
- Selezionare l'opzione **Keep Compound Calibration from Method template**. Questa opzione consente di mantenere la tabella dei composti del metodo precedente (anche se non è stata impostata alcuna calibrazione).



- Fare clic su **Next** per passare al pannello **Identification**.
- Non selezionare le caselle del pannello **Identification**.
- Fare clic su **Next** per passare al pannello **Calibration**.
- Selezionare **Fixed Amount** ed utilizzare le opzioni predefinite.



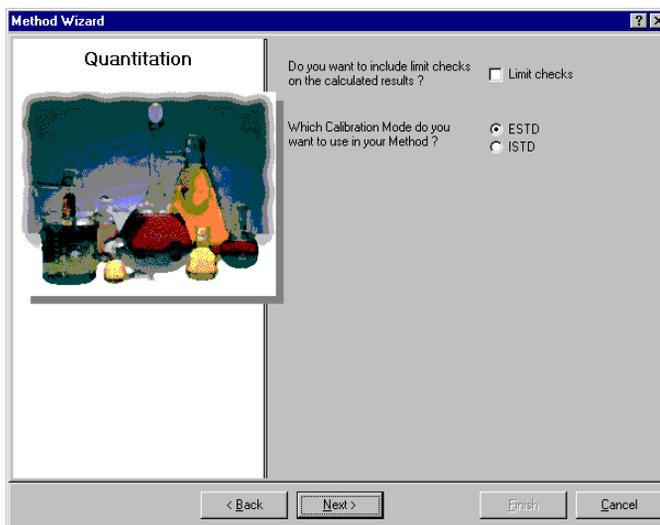
Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Impostare l'analisi quantitative e ricontrollare il metodo nuovo.

- a Fare clic su **Next** per passare al pannello **Quantitation**.
- b Accertarsi che la casella **Limit checks** non sia barrata e che sia stata selezionata l'opzione **ESTD**.



- c Fare clic su **Next** per passare al pannello **New Method Review**.
- d Rivedere **Method Wizard Settings**.
- e Fare clic sul pulsante **Finish** per salvare il metodo nuovo.

Operazione 2. Selezionare un cromatogramma di esempio

Fasi

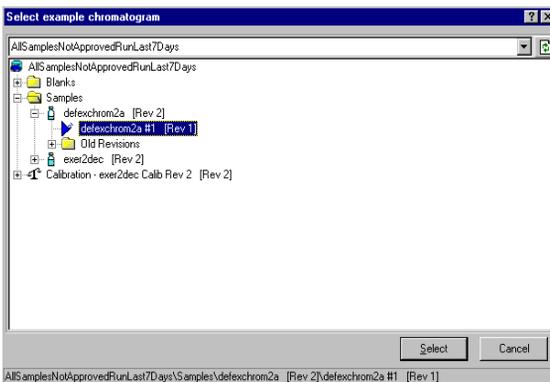
Istruzioni dettagliate

1 Selezionare un cromatogramma di esempio.

- Utilizzare il cromatogramma di esempio prodotto con gli esercizi base 2a o 2b in "Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo" e "Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati".
- Oppure usare defexchrom2a.

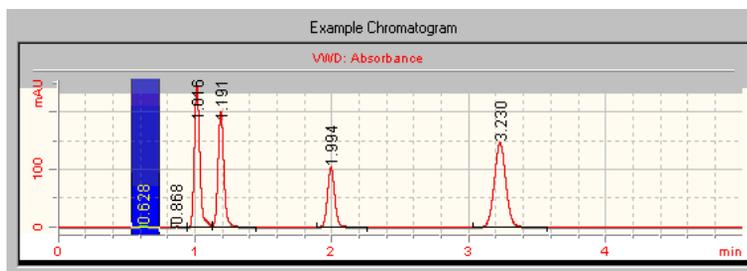
Non è necessario selezionare un cromatogramma di esempio. Tuttavia tale selezione facilita la modifica dell'identificazione del composto.

- Nella struttura di selezione espandere la cartella *exer3iii*.
- Espandere la cartella **Data Analysis**.
- Selezionare **Example Chromatogram**.
- Sulla barra degli strumenti **Tools** fare clic su .



- Selezionare il nome di campione con il numero di iniezione per produrre il cromatogramma di esempio.
- Fare clic sul pulsante **Select**.

Il cromatogramma di esempio viene visualizzato nell'area di lavoro.



Dopo aver selezionato il cromatogramma di esempio, è possibile visualizzare le impostazioni di integrazione ed identificazione appartenenti al metodo originale.

Operazione 3. Modificare l'identificazione del composto

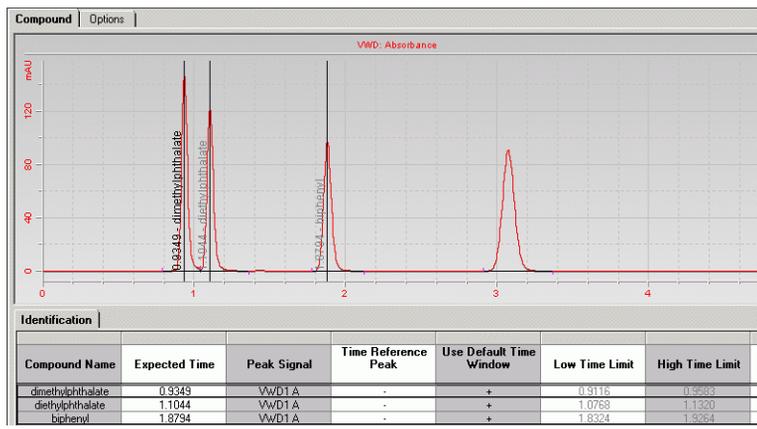
Fasi

1 Eliminare un composto dalla tabella apposita.

Togliere il composto o-terfenile.

Istruzioni dettagliate

- a Nella struttura di selezione scegliere **Identification** nella cartella Data Analysis.
- b Selezionare la cella **o-terfenile**.
- c Fare clic sulla cella **o-terfenile** con il pulsante destro del mouse, quindi scegliere **Remove Compound**.



Operazione 4. Impostare la calibrazione

Fasi

1 Impostare la calibrazione per il dimetilftalato.

Dimetilftalato: 10 µg

Istruzioni dettagliate

- a Nella struttura di selezione scegliere **Calibration** nella cartella Data Analysis.
- b Nella tavola di calibrazione selezionare il dimetilftalato.
- c Nella scheda **Options** inserire 10 nella casella **Weighed Amount** e µg nella casella **Amount Unit**.

Compounds					
Compound Name	Expected Time	Weighed Amount	Amount Unit	Quantitation Based On	RF (Rsp/Amt)
dimethylphthalate	0.9349	10.0000	µg	area	0.0000
diethylphthalate	1.1044	0.0000		area	N/A
biphenyl	1.8794	15.0000	µg	area	0.0000

Options	
Compound Name :	<input type="text" value="dimethylphthalate"/>
Weighed Amount :	<input type="text" value="10"/>
Amount Unit :	<input type="text" value="µg"/>
Comment :	<input type="text"/>

Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

2 Impostare la calibrazione per il bifenile.

Bifenile: 15 µg

Istruzioni dettagliate

- a Nella tavola di calibrazione selezionare il bifenile.
- b Nella scheda **Options** inserire 15 nella casella **Weighed Amount** e µg nella casella **Amount Unit**.

Compounds					
Compound Name	Expected Time	Weighed Amount	Amount Unit	Quantitation Based On	RF (Rsp/Amt)
dimethylphthalate	0.9349	10.0000	µg	area	0.0000
diethylphthalate	1.1044	0.0000		area	N/A
biphenyl	1.8794	15.0000	µg	area	0.0000

Options	
Compound Name :	<input type="text" value="biphenyl"/>
Weighed Amount :	<input type="text" value="15"/>
Amount Unit :	<input type="text" value="µg"/>
Comment :	<input type="text"/>

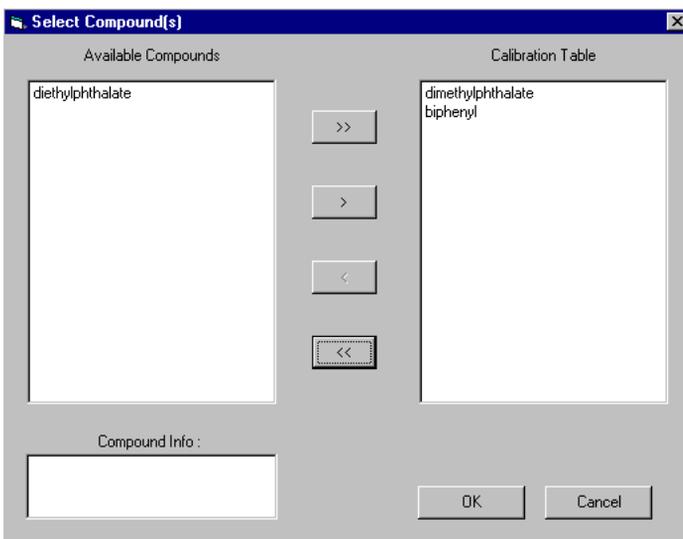
Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Togliere il dietilftalato dalla tavola di calibrazione.

- a** Nella tavola di calibrazione fare clic con il pulsante destro del mouse in un punto qualsiasi e selezionare **Remove Compound** dal menu di scelta rapida. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Select Compound(s)**.
- b** Nell'elenco **Calibration Table** selezionare il dietilftalato.
- c** Fare clic sul pulsante < per spostare il dietilftalato nell'elenco **Available Compounds**.
- d** Fare clic sul pulsante **OK**.



Operazione 5. Impostare l'analisi quantitativa per tutti e quattro i picchi

Fasi

1 Basare l'analisi quantitativa sul dimetilftalato e dimetilftalato.

Utilizzare un moltiplicatore di quantità pari a 0,8.

Istruzioni dettagliate

- a Nella struttura di selezione scegliere **Quantitation Setup** nella cartella Data Analysis.
- b Fare clic sulla scheda **Uncalibrated Compounds**.
- c In **Compound Calibration Type** selezionare l'opzione **Use Compound**.
- d Scegliere il dimetilftalato dall'elenco **Use Compound**.
- e Inserire 0,8 nella casella **Amount Multiplier (Compound)**.

Calibrated Compounds		Uncalibrated Compounds		Unidentified Peaks	
Compound Name	Expected Time	Compound Calibration Type	Amount Multiplier (Compound)	RF (Rsp/Amt)	Compound Group
diethylphthalate	1.1044	dimethylphthalab ..	1.0000	N/A	

Compound Name:

Compound Calibration Type: Use Compound Manual Response Factor No Quantification

Compound Group:

Amount Multiplier (Compound):

Compound Info:

Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

2 Basare la quantificazione del picco non identificato sul bifenile.

Utilizzare un moltiplicatore di quantità pari a 0,9.

Istruzioni dettagliate

- Fare clic sulla scheda **Unidentified Peaks**.
- In **Use for Quantitation** selezionare l'opzione **Use Compound**.
- Scegliere il bifenile dall'elenco **Use Compound**.
- Inserire 0,8 nella casella **Amount Multiplier (Unidentified Peak)**.

	Use For Quantification	Amount Multiplier (Unidentified Peak)	RF (Unidentified Peaks)
Not Identified Peaks	dimethylphthalate	1.0000	N/A

Use For Quantification

Use Compound biphenyl

Amount Multiplier (Unidentified Peak) 0,9

Manual Response Factor N/A

No Quantification

Operazione 6. Impostare il modello di sequenza

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Inserire i seguenti standard di calibrazione e campioni nel modello di sequenza:</p> <p>Cal1 - Standard isocratico ad elevata concentrazione</p> <p>Sample 1_2 - Standard isocratico diluito per 1/2 con metanolo</p> <p>Sample 1_4 - Standard isocratico diluito per 1/4 con metanolo</p>	<p>a Nella struttura di selezione scegliere la cartella Sequence Template.</p> <p>b Nella tavola dei campioni inserire uno standard di calibrazione per la prima riga.</p> <ul style="list-style-type: none"> Inserire Cal1 nella casella Sample Name. Selezionare Calibration Standard dall'elenco Sample Type. Inserire il numero di vial in Vial# dove si trova lo standard nell'ALS. Fare clic su Apply per inserire le informazioni sul campione nella relativa tavola. <p>c Inserire sample 1_2 per la riga due.</p> <ul style="list-style-type: none"> Selezionare Row 2 nella tavola dei campioni. Inserire Sample 1_2 nella casella Sample Name. Selezionare Sample nell'elenco Sample Type. Inserire il numero di vial in Vial# dove si trova lo standard nell'ALS. Fare clic su Apply per inserire le informazioni sul campione nella relativa tavola. <p>d Inserire sample 1_4 per la riga tre.</p> <ul style="list-style-type: none"> Selezionare Row 3 nella tavola dei campioni. Inserire Sample 1_4 nella casella Sample Name. Selezionare Sample nell'elenco Sample Type. Inserire il numero di vial in Vial# dove si trova lo standard nell'ALS. Fare clic su Apply per inserire le informazioni sul campione nella relativa tavola.

NOTA

Non è possibile impostare un modello di sequenza con standard di calibrazione fino a che non è stata impostata la calibrazione in Data Analysis.

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Summary Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]	Samg Amou [mg/n]
1	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
2	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
3	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0

Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

2 Inserire altri due gruppi di Cal1, Sample 1_2 e Sample 1_4 nel modello.

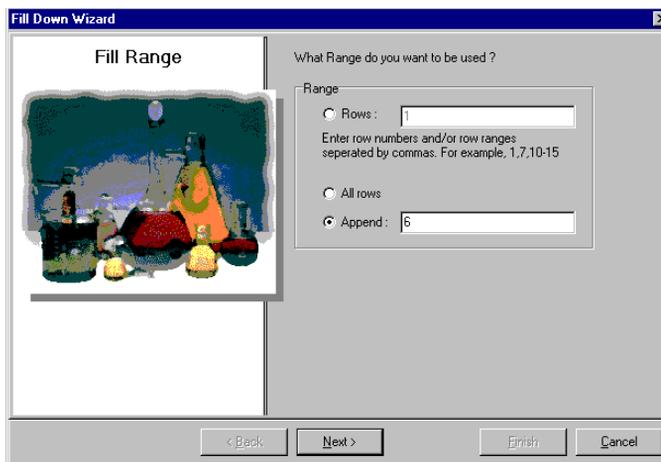
Consiglio: utilizzare Fill Down Wizard ed il comando Copy.

Gli standard ed i campioni sul modello finale compaiono nel seguente ordine:

- Standard di calibrazione
- Due campioni
- Standard di calibrazione
- Due campioni
- Standard di calibrazione
- Due campioni

Istruzioni dettagliate

- a Fare clic su **Fill Down** sulla barra degli strumenti Edit, quindi selezionare **Fill Down Wizard**. Comparirà una finestra di compilazione guidata.
- b In **Range** selezionare **Append**, inserire 6, quindi fare clic **Next**.



- c Nel pannello **Sample Names** inserire cal1 nella casella **Name**, quindi fare clic su **Next**.
- d Nel pannello **Vial Numbers** deselezionare la casella **Define Vial numbers?**, quindi fare clic su **Finish**.
- e Quando viene visualizzata la finestra di dialogo **Apply Sample Changes**, fare clic su **Yes**.
Verificare che le sei righe siano uguali alla prima riga del modello.
- f Selezionare i due campioni alle righe 2 e 3, quindi fare clic sul pulsante **Copy** sulla barra degli strumenti Edit.
- g Selezionare le righe 5 e 6, quindi fare clic sul pulsante **Paste** sulla barra degli strumenti Edit.
- h Selezionare le righe 8 e 9, quindi fare clic sul pulsante **Paste** sulla barra degli strumenti Edit.

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Summary Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]	Sample Amount [mg/ml]
1	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
2	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
3	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0
4	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
5	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
6	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0
7	Cal1	Calibration	1		2	1	as method	0
8	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0
9	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0
10								

Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Impostare le modalità di aggiornamento della calibrazione:

Prima Cal1 - Replace (RF e RT)

Seconda Cal1 - Media per RF e media a virgola mobile per RT (Pesato 60% dopo RT)

Terza Cal1 - Media per RF e media a virgola mobile per RT (Pesato 75% dopo RT)

- a Nella tabella di sequenza, selezionare la prima Cal1.
- b Fare clic sulla scheda **Run**.
- c In Calibration, selezionare Replace dall'elenco **Response Factor Update** e Replace dall'elenco **Retention Time Update**.
- d Selezionare la seconda Cal1 nella tabella di sequenza.
- e Selezionare Average dall'elenco **Response Factor Update** e Floating average dall'elenco **Retention Time Update**.
- f Selezionare 60%.
- g Ripetere le operazioni descritte ai punti d ed e per Cal1.

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Custom Sample Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]	Sample Amount	Multipl
1	cal1	Calibration	1		2	1	as method	0	1
2	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0	1
3	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0	1
4	cal1	Calibration	1		2	1	as method	0	1
5	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0	1
6	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0	1
7	cal1	Calibration	1		2	1	as method	0	1
8	sample 1_2	Sample			5	1	as method	0	1
9	sample 1_4	Sample			9	1	as method	0	1
10									

Sample Name:

Sample Type:

Custom Sample Group:

Vial Number: Injections: Volume [µl]:

Run | Amounts | Identification | Description

Calibration

Calibration Mode: Single Update

Calibration Level:

Response Update:

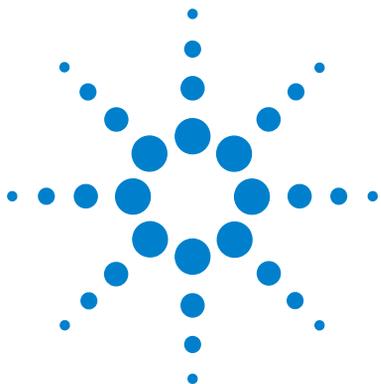
Retention Time Update: %

4 Salvare il metodo.

Dopo aver completato questo metodo, è possibile utilizzarlo per eseguire una sequenza. Vedere "Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo" a pagina 31 e "Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati" a pagina 41.

- a Fare clic su  ed inserire, se necessario, il motivo per la modifiche e la firma elettronica.

Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza



Esercizio avanzato n. 4

Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Creare un modello di metodo per campioni singoli per inserire nel metodo solo l'identificazione del composto.
- Impostare e salvare il metodo per creare un cromatogramma di esempio.
- Utilizzare un cromatogramma di esempio per impostare l'integrazione.
- Impostare l'identificazione del composto.
- Impostare la conferma del composto UV.
- Impostare la purezza UV.
- Impostare la gestione degli spettri.

NOTA

Per completare l'esercizio, è necessario disporre di un rivelatore in grado di acquisire spettri (DAD o FLD) ed una licenza di acquisizione spettri UV.

Utilizzare il metodo creato nella prima parte di questo esercizio per inserire ed analizzare un campione singolo per creare un cromatogramma di esempio. Il metodo completato può essere utilizzato per inserire ed analizzare un gruppo di campioni per identificarne i composti.



Esercizio avanzato n. 4 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad effettuare le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Impostazione dei metodi](#)" a pagina 73 per impostare i metodi.

Operazione 1. Creare un modello di metodo per la sola identificazione dei composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Creare un nuovo modello di metodo per un campione singolo.

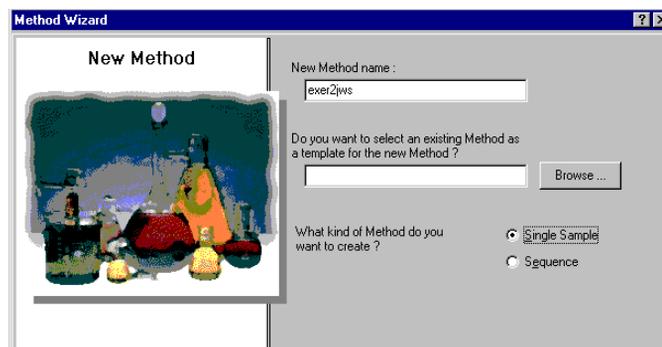
Assegnare al modello di metodo il nome *exer4iii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.

a Selezionare **File > New > Method** oppure fare clic su  e selezionare **Method**.

Viene visualizzata la procedura guidata Method Wizard.

b Inserire *exer4* nella casella **Method Name**.

c Selezionare **Single Sample**.



d Fare clic su **Next** per passare al pannello Method Wizard Instrument.

Esercizio avanzato n. 4 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri

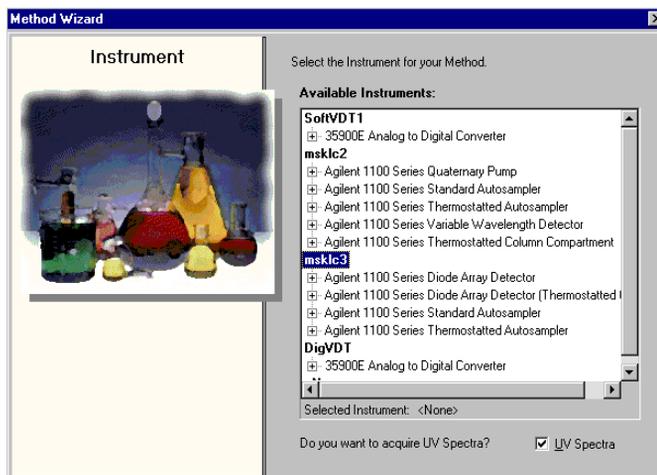
Fasi

2 Selezionare uno strumento per l'esecuzione del metodo.

Selezionare uno strumento con DAD o FLD.

Istruzioni dettagliate

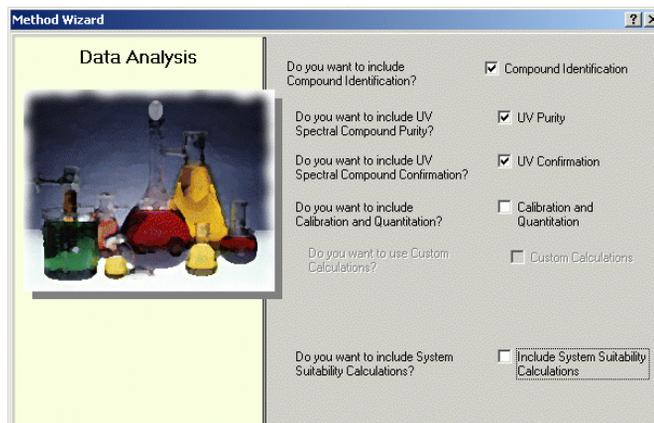
- a Nel pannello Instrument selezionare lo strumento che eseguirà l'analisi.
- b Selezionare la casella **UV Spectra**.



- c Fare clic su **Next** per passare al pannello Data Analysis.

3 Selezionare Compound Identification, UV Purity e UV Confirmation.

- a Nel pannello Data Analysis selezionare le caselle **UV Purity** e **UV Confirmation** e deselezionare le caselle **Calibration and Quantitation**, **Include Noise Calculations** e **Include System Suitability Calculations**.



- b Fare clic su **Next** per passare al pannello Identification.

Esercizio avanzato n. 4 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri

Fasi	Istruzioni dettagliate
4 Completare l'impostazione del modello di metodo. Non selezionare nessuna casella nel pannello Method Wizard Identification.	a Fare clic su Next , quindi sul pulsante Finish . b Fare clic su Save se viene visualizzata la finestra di dialogo Save Changes to the Database.

Operazione 2. Inserire le condizioni per l'equilibratura dello strumento

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Inserire i parametri della pompa

Metanolo come solvente B:

- Flusso: 2 ml/min.
- Composizione del solvente: 80% MeOH/20% H₂O
- Tempo di arresto: 5 min.

Acetonitrile come solvente B:

- Flusso: 1,5 ml/min
- Composizione del solvente: 65% ACN/35% H₂O
- Tempo di arresto: 5 min.

- Nella struttura di selezione espandere la cartella *exer4iii*.
- Espandere la cartella **Instrument Setup**, quindi selezionare **Quaternary Pump** o **Binary Pump**.
- Inserire un valore di **Flow** pari a 2 ml/min.
- In **Solvents** selezionare la casella **B** ed inserire 80 nella casella %. La percentuale di solvente A viene automaticamente impostata al 20%.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **min**, quindi inserire 5.

Setup | Timetable | Auxiliary & Data Curves

Flow: 2 ml/min

Solvents:

A: 20 %

B: 80 %

C: Off

D: Off

Stoptime:

no Limit

5 min

Posttime:

Off

0 min

Pressure Limits:

Min: 0 bar Max: 400 bar

2 Inserire il volume di iniezione ed il tempo di arresto del campionatore automatico.

- Volume di iniezione: 1 µl
- Tempo di arresto: come la pompa

- Nella struttura di selezione scegliere la cartella **ALS**.
- Fare clic sulla scheda **Auxiliary & Time**.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **As Pump**.
- Fare clic sulla scheda **Setup**, quindi selezionare **Standard Injection**.
- Inserire il valore 1 µl in **Injection Volume**.

Setup | Auxiliary & Time

Injection:

Standard Injection Injection Volume: 1 µl

Injection with Needle Wash Wash Vial: 1

Use Injector Program

Esercizio avanzato n. 4 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Assicurarsi che il tempo di arresto sia lo stesso per tutti i moduli strumentali.

Tempo di arresto: come pompa/
iniettore

- Nella struttura di selezione scegliere la cartella **DAD** o **FLD**.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **as Pump/Injector**.
- Nella struttura di selezione scegliere la cartella **TCC**.
- In **Stoptime** selezionare l'opzione **As Pump/Injector**.

The screenshot shows the 'Signal & Time' configuration window with three tabs: 'Signal & Time', 'Timetable', and 'Options'. The 'Signal & Time' tab is active and contains the following settings:

- Signal:**
 - Store: (checked)
 - Sample: 250 nm
 - Bw: 10 nm
 - On/Off: (checked)
 - Reference: 400 nm
 - Bw: 100 nm
- Spectrum:**
 - Store: All
 - Range: 190 nm to 450 nm
 - Step: 2 nm
 - Threshold: 10 mAU
- Stoptime:**
 - As pump / injector
 - No limit
 - 4 min
- Posttime:**
 - Off
 - 0 min
- Peakwidth (Responsetime):** >0.10 min (2.0 s)

4 Impostare i parametri di acquisizione degli spettri.

Segnale

- A: 254 nm, Ampbanda: 4 nm
- Riferimento: 400 nm, Ampbanda: 100 nm

Spettro

- Memorizzazione: All
- Intervallo: 190 nm
- Fino a: 450 nm
- Fase: 2 nm

- Nella struttura di selezione scegliere la cartella **DAD** o **FLD**.
- In **Signal** selezionare la casella **Store** per **Signal A**, impostare la lunghezza d'onda del campione **Sample** su 254 nm e l'ampiezza di banda **Bw** su 10.
- Selezionare la casella **On/Off** ed impostare la lunghezza d'onda di riferimento **Reference** su 400 e l'ampiezza di banda **Bw** su 100.
- In **Spectrum** scegliere di archiviare tutti gli spettri selezionando **All** ed impostare **Range** su un valore compreso tra 190 e 450 nm con incrementi (**Step**) di 2.

Operazione 3. Salvare ed ispezionare le modifiche del metodo

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Salvare il metodo.

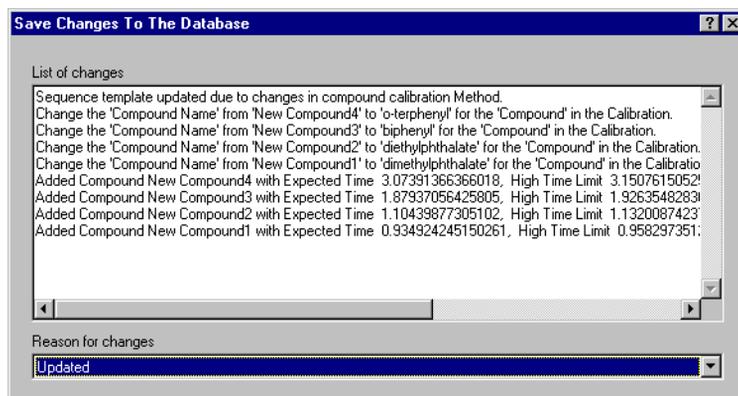
Una volta salvato, il metodo può essere utilizzato per creare un cromatogramma di esempio.

Vedere "Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio" a pagina 19.

Dopo aver creato il cromatogramma di esempio, passare all'operazione 4.

a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**.



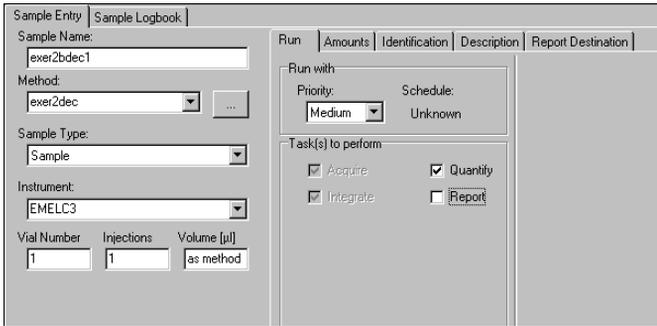
b Rivedere l'elenco delle modifiche **List of changes**.

c In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.

d Fare clic sul pulsante **Save**.

L'amministratore di Cerity deve impostare il controllo in modo da visualizzare la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**. Può inoltre fornire un elenco di motivi per la modifica e richiedere l'inserimento di una firma elettronica per completare la finestra di dialogo.

Operazione 4. Inserire ed analizzare un campione singolo

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Avviare Instrument View per trovare la tavola dei campioni relativa ai campioni singoli.</p>	<p>a Selezionare Instrument nell'elenco Current View.</p> <p>b Espandere la cartella dello strumento che produrrà il cromatogramma di esempio.</p> <p>c Selezionare Single Samples.</p> <p>Nell'area di lavoro vengono visualizzati la tavola dei campioni ed il pannello di inserimento.</p>
<p>2 Inserire un campione con le seguenti informazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> Assegnare al campione il nome <i>exchrom3Diii</i>, dove <i>iii</i> sono le iniziali dell'operatore. Selezionare <i>exer5iii</i>. Selezionare il vial che contiene lo standard isocratico a concentrazione totale. 	<p>a Inserire <i>exchrom3Diii</i> nella casella Sample Name.</p> <p>b Selezionare un metodo dall'elenco Method.</p> <p>Lo strumento associato al metodo viene visualizzato nella casella Instrument.</p> <p>c Selezionare Sample nell'elenco Sample Type.</p> <p>d Inserire il numero di vial per il campione nella casella Vial Number.</p> <p>e Fare clic su Apply per inserire le informazioni sul campione nella relativa tabella.</p> <p>Per tutti gli altri parametri utilizzare i valori predefiniti.</p>
<p>3 Inserire le operazioni da effettuare durante l'analisi.</p>	<p>a Deselezionare le caselle Quantify e Report.</p>
	
<p>4 Salvare il campione.</p>	<p>a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .</p> <p>Viene visualizzata la finestra di dialogo Save Changes To The Database.</p> <p>b Rivedere l'elenco delle modifiche List of changes.</p> <p>c In Reason for changes inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.</p> <p>d Se necessario inserire la propria firma elettronica.</p> <p>e Fare clic sul pulsante Save.</p>

Esercizio avanzato n. 4 Impostazione di un metodo per campioni singoli per l'acquisizione e l'utilizzo di spettri

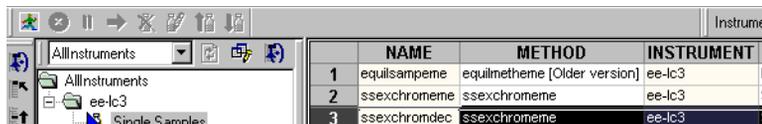
Fasi

Istruzioni dettagliate

5 Analizzare il campione.

- a Espandere la cartella relativa allo strumento nella struttura di selezione.
- b Selezionare **Single Samples**.
- c Selezionare il campione *exchromiii*.

Il pulsante Run  viene attivato sulla barra degli strumenti Tools.



- d Fare clic sul pulsante **Run**.

Il campione può anche essere analizzato a partire da Sample View.

6 Controllare il segnale e monitorare lo stato del campione.

- a Selezionare lo strumento dalla struttura di selezione.
- b Fare clic sulla scheda **Online Plot** per visualizzare il segnale.
Se necessario modificare gli assi.
Vedere "[Esercizio base n. 2a Analisi di un campione singolo per produrre un cromatogramma di esempio](#)" a pagina 19 per ulteriori informazioni.

7 Rivedere il risultato prodotto dal campione ed assicurarsi che tutti e quattro i picchi siano stati integrati.

- a Selezionare **Result** nell'elenco **Current View**.
- b Selezionare **MySamplesRunLast24h** nell'elenco **Query**.
- c Espandere la cartella **Samples**.
- d Espandere la cartella *exchrom3Diii*.
- e Selezionare l'iniezione *exchrom3Diii* iniezione #1.
- f Visualizzare il cromatogramma e i risultati.

Operazione 5. Selezionare un cromatogramma di esempio ed impostare l'integrazione

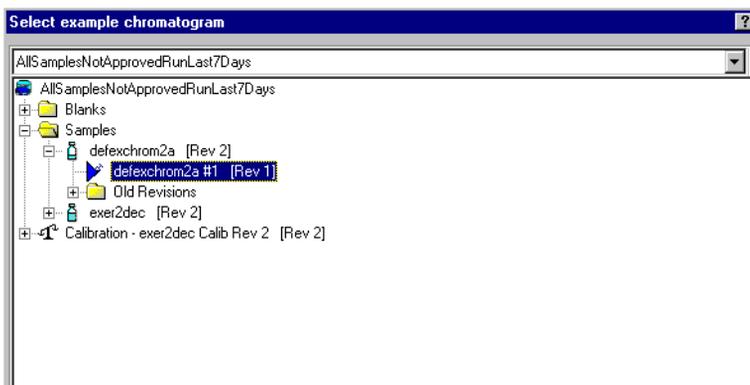
Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Selezionare un cromatogramma di esempio.

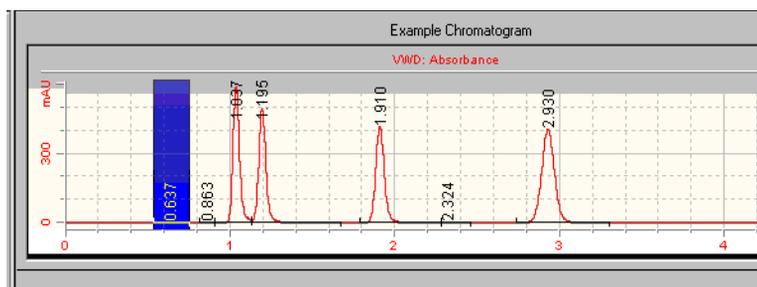
Per impostare integrazione ed identificazione, non è necessario disporre di un cromatogramma di esempio, sebbene sia consigliato.

- a Nella struttura di selezione espandere la cartella **exer4** se necessario.
- b Espandere la cartella **Data Analysis**.
- c Selezionare **Example Chromatogram**.
- d Sulla barra degli strumenti **Tools** fare clic su .



- e Espandere la cartella **Samples**.
- f Espandere la cartella **exchrom3Diii**.
- g Selezionare il nome del campione con il numero di iniezione.
- h Fare clic sul pulsante **Select**.

Il cromatogramma di esempio viene visualizzato nell'area di lavoro.

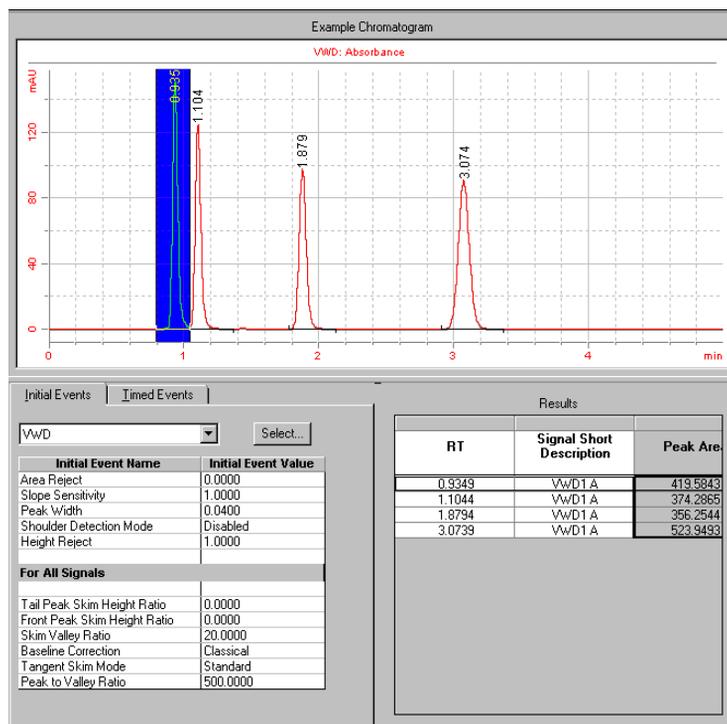


Fasi

2 Modificare i valori degli eventi iniziali in modo che risultino soltanto quattro picchi integrati.

Istruzioni dettagliate

- Nella struttura di selezione scegliere **Integration** in Data Analysis. Il cromatogramma di esempio viene visualizzato con le tabelle degli eventi di integrazione.
- Modificare il valore dell'evento **Height Reject** a 1 (oppure il valore inferiore con cui è comunque possibile integrare i quattro picchi principali).
- Fare clic sulla barra degli strumenti Actions .



Operazione 6. Impostare l'identificazione dei composti

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Impostare la tabella di identificazione dei composti per le seguenti sostanze:

Tempo di ritenzione = da 9 a

1,1, dimetilftalato

Tempo di ritenzione = da 1,1 a

1,2, dietilftalato

Tempo di ritenzione = da 1,8 a

2,1, bifenile

Tempo di ritenzione = da 3 a

3,2, o-terfenile

a Nella struttura di selezione scegliere la voce **Identification** per Data Analysis.

b Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

I picchi appaiono con i nomi New CompoundN nella tabella dei composti, dove N = 1 - 4.

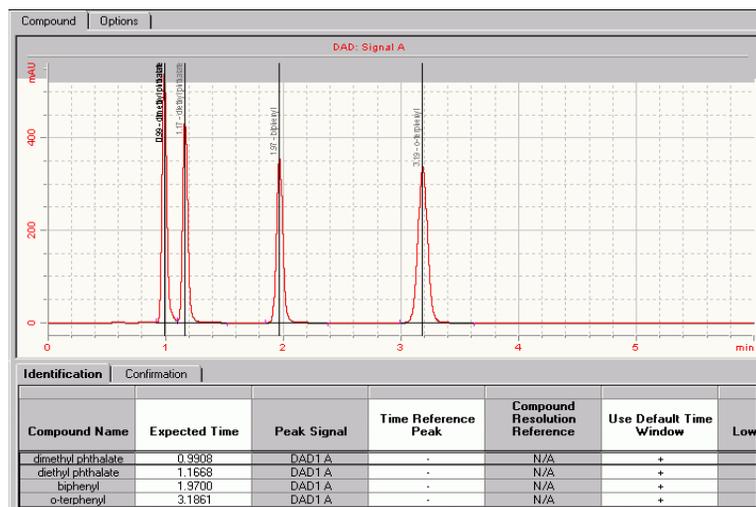
c In **Compound Name** selezionare la prima cella ed inserire dimetilftalato.

Dopo aver selezionato la cella, inserire il nome. L'inserimento precedente viene sovrascritto.

d In **Compound Name** selezionare la seconda cella ed inserire dietilftalato.

e In **Compound Name** selezionare la terza cella ed inserire bifenile.

f In **Compound Name** selezionare la quarta cella ed inserire o-terfenile.



Operazione 7. Impostare la conferma di un composto spettrale UV

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Impostare la conferma spettrale del composto UV per tutti i composti

- a Nell'area di lavoro **Identification** fare clic sulla scheda **Confirmation**.
- b Nella tabella **Confirmation** selezionare la prima riga.
- c Selezionare la casella **Use UV spectral compound confirmation** nel pannello sotto la tabella.
- d Selezionare la casella **Use default options** nel pannello sotto la tabella.
- e Selezionare le altre righe nella tabella **Confirmation** e ripetere le operazioni descritte ai punti (c) e (d) per ogni composto.

È utile notare che quando le caselle sono selezionate, viene inserito un segno più nelle colonne **Use UV spectral compound confirmation** e **Use Defaults** della tabella **Confirmation**.

The screenshot shows the 'Confirmation' tab in a software application. It features a table with the following columns: Compound Name, Expected Time, Peak Signal, Use UV Spectral Compound Confirmation, Use Defaults, Background correction, and Use UV Backg. The table contains four rows of data for different compounds. Below the table, there are two checkboxes: 'Use UV spectral compound confirmation' and 'Use default options', both of which are checked. A 'Format' button and a search icon are also visible in the bottom right corner of the interface.

Compound Name	Expected Time	Peak Signal	Use UV Spectral Compound Confirmation	Use Defaults	Background correction	Use UV Backg
dimethyl phthalate	0.9908	DAD1 A	+	+	Automatic	
diethyl phthalate	1.1668	DAD1 A	+	+	Automatic	
biphenyl	1.9700	DAD1 A	+	+	Automatic	
o-terphenyl	3.1861	DAD1 A	+	+	Automatic	

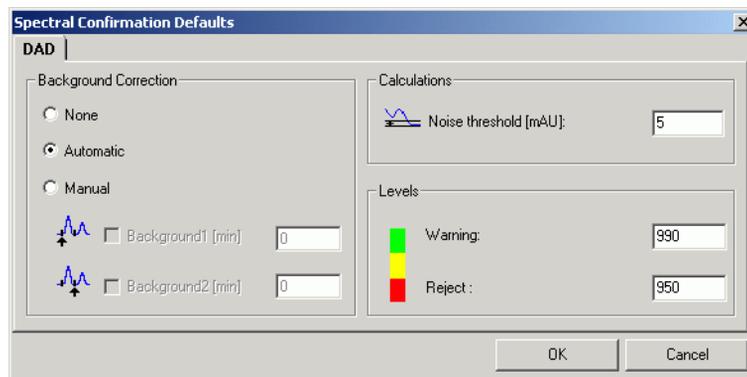
Use UV spectral compound confirmation
 Use default options

Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Impostare le opzioni di conferma del composto spettrale UV predefinite.

- a Nel pannello sotto la tabella **Confirmation** fare clic su ... a destra della casella **Use default options**.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Spectral Confirmation Defaults**.



- b Nel gruppo **Background Correction** selezionare l'opzione **Automatic**.
c Nel gruppo **Calculations** impostare la soglia del rumore **Noise threshold** su 5 mAU.
d Non modificare i valori predefiniti di **Levels**.

3 Selezionare uno spettro per la conferma.

- a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Compound Reference Spectrum Selection** per il composto selezionato.
b Nella struttura di selezione espandere la cartella *exchrom3Diii*.
c Selezionare il nome del campione con il numero di iniezione.
d Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .
e Nel cromatogramma di esempio selezionare il picco per il composto selezionato.
Lo spettro di apice del composto selezionato viene visualizzato nella finestra dello spettro.
f Nell'elenco a discesa **Compound** selezionare il composto successivo.
g Selezionare il picco per questo composto.
h Ripetere le operazioni (f) e (g) per tutti i rimanenti composti.
i Chiudere la finestra di dialogo **Compound Reference Spectrum Selection**.

Operazione 8. Impostare la purezza UV

Fasi

1 Impostare i parametri di gestione degli spettri:

- Intervallo di lunghezze d'onda
- Correzione del fondo
- Spettri del picco
- Calcoli
- Livelli

Istruzioni dettagliate

- a Nella struttura di selezione scegliere la voce **UV Purity** per Data Analysis. Nell'area di lavoro viene visualizzato il pannello relativo alle opzioni di purezza UV.

The screenshot shows the 'DAD' software interface with the following settings:

- Wavelength Range:** Low [nm]: 220; High [nm]: 400
- Peak Spectra:** Number of spectra: 5; Minimum response range [mAU]: 1
- Background Correction:** None; Automatic; Manual
- Calculations:** Noise threshold [mAU]: 0
- Levels:** Warning: 990; Reject: 950

- b Nel gruppo **Wavelength Range** selezionare la casella **Low** ed inserire 220 nel campo adiacente.
- c Nel gruppo **Background Correction** selezionare l'opzione **Automatic**.
- d Nel gruppo **Peak Spectra** impostare **Number of spectra** su 7. Lasciare invariato il valore predefinito di **Minimum response range**.
- e Nel gruppo **Calculations** impostare la soglia del rumore **Noise threshold** su 5 mAU.
- f Lasciare invariati i valori predefiniti di **Levels**.

Operazione 9. Impostare la gestione degli spettri

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Impostare i parametri di purezza UV:

- Intervallo di lunghezze d'onda
- Correzione del fondo
- Spettri del picco

- a Nella struttura di selezione scegliere la voce **Spectra Handling** per Data Analysis.
- Nell'area di lavoro viene visualizzato il pannello relativo alla gestione degli spettri.

The screenshot shows the 'DAD' software interface. It is divided into several sections:

- Wavelength Range:** Contains two checkboxes: 'Low [nm]' with a value of 210 and 'High [nm]' with a value of 400. Both are currently unchecked.
- Peak Spectra:** Contains two settings: 'Number of spectra:' with a dropdown menu set to 'All', and 'Minimum response range [mAU]:' with a text input field set to '1'.
- Background Correction:** Contains three radio buttons: 'None', 'Automatic' (which is selected), and 'Manual'. Below these are two checkboxes for 'Background 1 [min]:' and 'Background 2 [min]:', both set to '0' and currently unchecked.

- b Nel gruppo **Wavelength Range** deselezionare entrambe le caselle. Ciò assicura che venga visualizzato l'intero intervallo di lunghezze d'onda.
- c Nel gruppo **Background Correction** selezionare l'opzione **Automatic**.
- d Nel gruppo Peak Spectra impostare **Number of spectra** su **All**. Lasciare invariato il valore predefinito di **Minimum response range**.

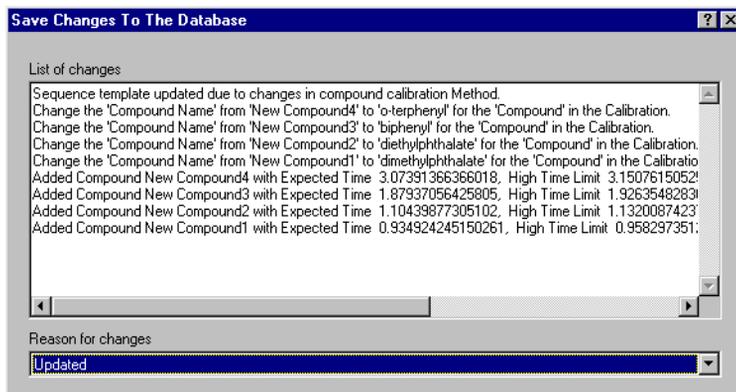
Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Salvare il metodo.

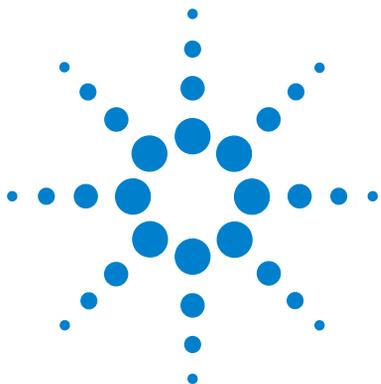
- a Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**.



- b Rivedere l'elenco delle modifiche **List of changes**.
- c In **Reason for changes** inserire un motivo per la modifica o sceglierne uno dall'elenco.
- d Fare clic sul pulsante **Save**.

L'amministratore di Cerity deve impostare il controllo in modo da visualizzare la finestra di dialogo **Save Changes To The Database**. Può inoltre fornire un elenco di motivi per la modifica e richiedere l'inserimento di una firma elettronica per completare la finestra di dialogo.



Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Utilizzare un metodo esistente per creare un nuovo modello di metodo per una sequenza.
- Inserire calibrazioni multilivello, calibrazioni globali e analisi quantitative ESTD nel metodo.
- Impostare calibrazione e quantificazione con quantità variabili di composto per una tavola di calibrazione a due livelli.
- Impostare variabili di campione per il sistema.
- Impostare un modello di sequenza per la calibrazione globale.
- Selezionare un modello di rapporto per un rapporto di iniezione a standard singolo.

Vedere ["Esercizio base n. 3 Impostazione di un metodo calibrato a livello singolo per la sequenza"](#) a pagina 95 per una descrizione del modello di sequenza.

Il metodo può essere usato con ["Esercizio avanzato n. 4a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione multilivello"](#) a pagina 47 e ["Esercizio avanzato n. 4b Modifica delle variabili del campione e rielaborazione"](#) a pagina 55.



Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario provare prima ad eseguire le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Impostazione dei metodi](#)" a pagina 73 per impostare i metodi.

Operazione 1. Copiare un metodo per creare un modello di metodo per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Copiare il metodo per creare un nuovo modello.

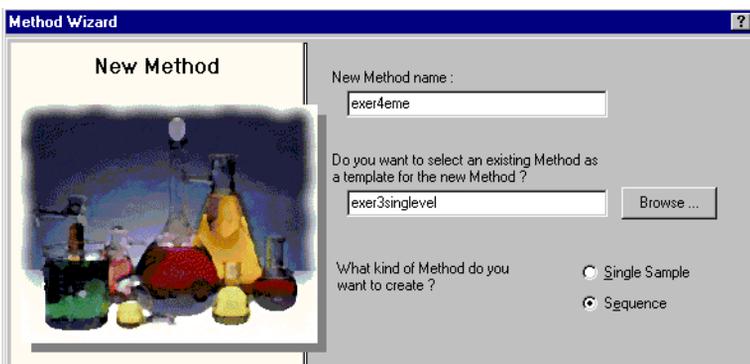
- Copiare exer3iii o defexer3.
- Assegnare al modello di metodo il nome exer4iii, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.
- Non modificare nessuna impostazione fino a quando non viene visualizzato il pannello Compound Table.

È utile notare che i pannelli Method Wizard contengono le selezioni di metodo dell'Esercizio 3.

- a** Selezionare **File > New > Method** oppure fare clic su  e selezionare **Method**.

Viene visualizzata la procedura guidata Method Wizard.

- b** Nel pannello New Method fare clic sul pulsante **Browse**, quindi selezionare exer3iii o defexer3.
- c** Inserire exer4iii nella casella **New Method Name**.

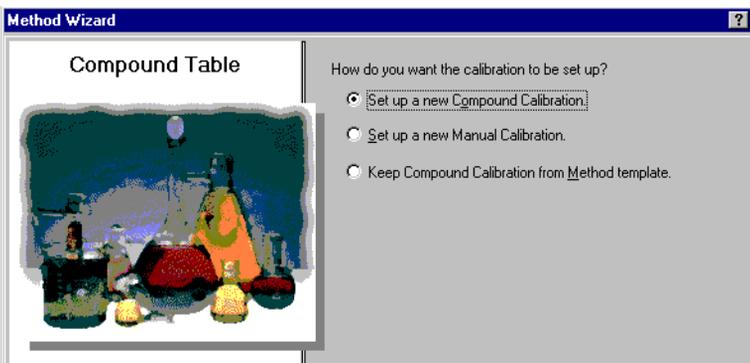


- d** Fare clic su **Next** per passare al pannello Compound Table.

2 Impostare il pannello Compound Table.

Poiché dovrà essere impostata una calibrazione multilivello, impostare una nuova tavola di calibrazione.

- a** Nel pannello Compound Table selezionare **Set up a new Compound Calibration**.



- b** Fare clic su **Next** per passare al pannello **Calibration**.

Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Impostare il pannello di calibrazione.

Scegliere di impostare:

- Calibrazione multilivello (2 livelli)
- Quantità di composto variabili
- Calibrazione globale
- Calibrazione specifica per sequenza

- Selezionare **Variable Amount**.
- Selezionare la casella **Multi Level** ed inserire 2 livelli.
- Selezionare **Overall Calibration**.

Method Wizard

Calibration

Do the standards in your method always contain Fixed Amounts or Variable Amounts?

Variable Amount
 Fixed Amount

Does this method use more than one concentration level of the calibrated compound(s)?

Multi Level

What kind of Calibration do you need?

Overall Calibration
 Single Update Calibration
 Bracketing

What kind of Calibration Procedure do you need?

Instrument Specific Calibration
 Sequence Specific Calibration

< Back Next > Finish Cancel

- Fare clic su **Next** per passare al pannello **New Method Review**.

4 Rivedere il modello del nuovo metodo.

- Nel pannello **New Method Review** rivedere i valori di **Method Wizard Settings**.
- Fare clic sul pulsante **Finish** per salvare il metodo nuovo.
- Salvare tutte le modifiche nel database, se necessario specificandone i motivi.

Operazione 2. Impostare un cromatogramma di esempio ed identificazione del composto

Fasi	Istruzioni dettagliate
------	------------------------

1 Selezionare un cromatogramma di esempio.

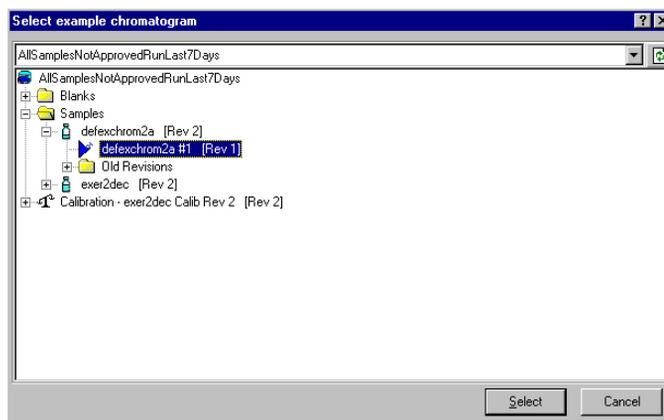
Utilizzare il cromatogramma di esempio prodotto con "Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo" e "Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati".

Oppure usare defexchr2a. Per utilizzare questo cromatogramma, servirsi di uno strumento dotato di rivelatore VWD.

Se non viene visualizzato il campione il cui cromatogramma si desidera selezionare, effettuare un'altra ricerca.

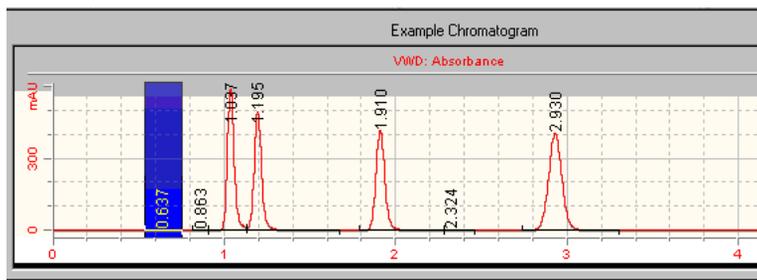
Consiglio: il cromatogramma risultante defexchr2a è un risultato ripristinato.

- a Nella struttura di selezione espandere il nuovo modello di metodo exer4iii.
 - b Espandere la cartella **Data Analysis** e selezionare **Example Chromatogram**.
 - c Sulla barra degli strumenti **Tools** fare clic su .
- Viene visualizzata la finestra di dialogo **Select example chromatogram**.



- d Selezionare l'iniezione dall'analisi che contiene il cromatogramma di esempio per il nuovo metodo. Se defexchr2a non viene visualizzato nella cartella dei campioni, scegliere la ricerca **AllResultsRestored**.
- e Fare clic sul pulsante **Select**.

Il cromatogramma di esempio viene visualizzato nell'area di lavoro.



I parametri di integrazione sono presi dal metodo dell'Esercizio 3. Non è necessario impostare l'integrazione.

Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Impostare la tabella di composti per le seguenti sostanze:

Tempo di ritenzione = da 0,9 a 1, min, dimetilftalato

Tempo di ritenzione = da 1,1 a -1,3, dietilftalato

Tempo di ritenzione = da 1,8 a -2,0, bifenile

Non identificare il quarto picco. In un altro esercizio si imposterà il quarto picco come impurezza non specificata non identificata basata sul tempo di ritenzione.

a Nella struttura di selezione scegliere **Identification** dalla cartella Data Analysis.

b Sulla barra degli strumenti standard fare clic su .

I picchi vengono visualizzati con i nomi New Compound da uno a quattro nella tabella dei composti.

c In **Compound Name**, selezionare la prima cella ed inserire dimetilftalato.

Dopo aver selezionato la cella, inserire il nome. L'inserimento precedente viene sovrascritto.

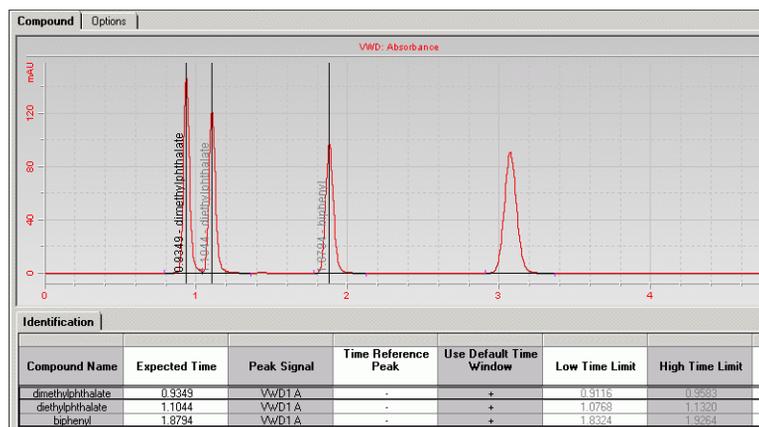
d In **Compound Name** selezionare la seconda cella ed inserire dietilftalato.

e In **Compound Name** selezionare la terza cella ed inserire bifenile.

f In **Compound Name** fare clic sulla quarta cella con il tasto destro del mouse.

g Selezionare **Remove Compound**.

Nell'area di lavoro Identification visualizzare i tre picchi identificati ed un picco non identificato.



Operazione 3. Impostare una calibrazione ed un'analisi quantitativa

Fasi

1 Impostare la calibrazione per dimetilftalato e bifenile.

Impostare quantità predefinite di dimetilftalato:

- Livello 1: 10 µg
- Livello 2: 40 µg

Impostare quantità predefinite di bifenile:

- Livello 1: 15 µg
- Livello 2: 60 µg

Quando si imposta un metodo con quantità di composto variabili, l'applicazione consente di inserire il peso effettivo (concentrazione) dei composti standard del campione inserito.

Istruzioni dettagliate

- Nella struttura di selezione scegliere **Calibration** nella cartella Data Analysis.
- Nella tabella dei composti selezionare il dimetilftalato.
- Sul foglio **Options** fare clic sulla cella **Use Default Amount**, quindi selezionare **+**.
Quando si effettua la selezione, la quantità immessa nella cella Weighed Amount per ogni livello viene visualizzata nel foglio Amounts di Sample Entry.
- Per il livello 1 inserire 10 nella casella Weighed Amount e µg nella casella Amount Unit.
- Per il livello 2 inserire 40 nella casella **Weighed Amount**.
- Ripetere le operazioni descritte ai punti c-e per il bifenile.

Compounds		Default Calibration Curve			
Compound Name	Level Id	Weighed Amount	Use Default Amount	Amount Unit	Quantitation Based On
dimethylphthalate	1	10.0000	+	ug	area
	2	40.0000			
diethylphthalate	1	0.0000	-		area
	2	0.0000			
biphenyl	1	15.0000	+	ug	area
	2	60.0000			

Options		Calibration Curve			
Compound Name: <input type="text" value="biphenyl"/>					
Level Id	Weighed Amount	Use Default Amount	Amount Unit	Low Amount Limit	Use Low L
1	15.0000	+	ug	14.2500	-
2	60.0000			57.0000	

Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Togliere il dietilftalato dalla tavola di calibrazione.

Il sistema aggiunge automaticamente tutti i composti della tabella di identificazione dei composti alla tavola di calibrazione.

In questa fase, eliminare il dietilftalato per usarlo come composto non calibrato quantificato in base ai fattori di risposta di un composto diverso.

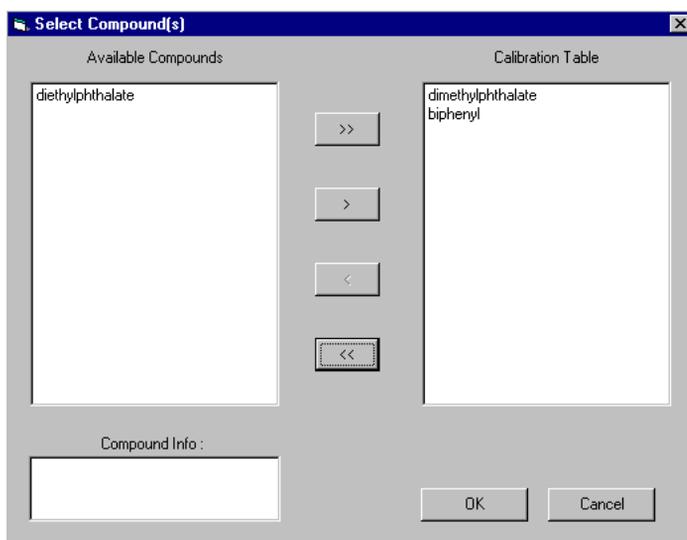
a Sulla tavola di calibrazione fare clic con il pulsante destro del mouse in un punto qualsiasi, quindi selezionare **Remove Compound** dal menu di scelta rapida.

Viene visualizzata la finestra di dialogo **Select Compounds**.

b Nell'elenco **Calibration Table** selezionare il dietilftalato.

c Fare clic sul pulsante < per spostare il dietilftalato nell'elenco **Available Compounds**.

d Fare clic sul pulsante **OK**.



3 Impostare l'analisi quantitativa come nell'Esercizio 3.

Vedere "Operazione 5. Impostare l'analisi quantitativa per tutti e quattro i picchi" a pagina 105.

Operazione 4. Impostare variabili di sistema

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Impostare un moltiplicatore chiamato "Dilution Factor". Utilizzare un valore predefinito di 5.</p>	<p>a Nella struttura di selezione scegliere Sample Variables. b Fare doppio clic sulla cella Dilution ed aggiungere la parola Factor. c Utilizzare un valore predefinito di 5.</p>
<p>2 Impostare un divisore chiamato "Correction Factor". Utilizzare un valore predefinito di 2.</p>	<p>a Fare clic sulla cella Divider una volta ed inserire il nome Correction Factor. b Utilizzare un valore predefinito di 2.</p>

	Variable ID	Display Name	Default Value
1	Multiplier_1	Multiplier	1
2	Multiplier_2	Dilution Factor	5
3	Multiplier_3	Purity	1
4	Multiplier_4		1
5	Multiplier_5		1
6	Divider_1	Correction Factor	2
7	Divider_2		1
8	Divider_3		1
9	Divider_4		1

Operazione 5. Modificare il modello di sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Modificare il modello in modo che venga visualizzato come segue:

- Due standard di calibrazione (Lev1,2)
- Due campioni
- Due standard di calibrazione
- Due campioni
- Due standard di calibrazione

NOTA

Non è possibile impostare un modello di sequenza con standard di calibrazione fino a che non è stata impostata la calibrazione in Data Analysis.

Verificare che il modello di sequenza contenga le informazioni relative al metodo dell'Esercizio 3, ma non identifichi più gli standard di calibrazione.

- a Nella struttura di selezione scegliere **Sequence Template**.
- b Nella tavola dei campioni selezionare uno standard di calibrazione per la prima riga.
- c Selezionare **Calibration Standard** nell'elenco **Sample Type**.
- d Spostarsi su un'altra riga e fare clic sul pulsante **Apply**.
- e Ripetere le operazioni descritte ai punti b-d per i prossimi due standard.
- f Selezionare lo standard nella prima riga.
- g Fare clic sul pulsante **Insert** sulla barra degli strumenti.
- h Modificare il valore di **Sample Name** del secondo standard in Cal2.
- i Impostare **Vial#** a 3 e **Calibration Level** a 2.
- j Fare clic su **Apply**.
- k Ripetere le operazioni descritte ai punti g-j per i due standard successivi.
- l Selezionare le due ultime righe di campioni, quindi fare clic sul pulsante **Delete**.

2 Impostare la quantificazione immediata del primo campione, Sample 1_2.

Quando si effettua questa selezione, Sample 1_2 verrà quantificato utilizzando il primo gruppo di standard di calibrazione. Anche Sample 1_2, unitamente ad altri campioni, verrà quantificato in un secondo tempo usando la media di tutti gli standard di calibrazione.

- a Fare doppio clic sulla cella di Sample 1_2 sotto l'intestazione **Immediate Quantitation**.
- b Fare doppio clic su **Yes**.

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Immediate Quantitation	Custom Sample Group	Vial #	Injections #
1	cal1	Calibration	1	NO		2	1
2	cal2	Calibration	2	NO		3	1
3	sample 1_2	Sample		YES		5	1
4	sample 1_4	Sample		NO		9	1
5	cal1	Calibration	1	NO		2	1
6	cal2	Calibration	2	NO		3	1
7	sample 1_2	Sample		NO		5	1
8	sample 1_4	Sample		NO		9	1
9	cal1	Calibration	1	NO		2	1
10	cal2	Calibration	2	NO		3	1
11							

Esercizio avanzato n. 5 Impostazione di un metodo calibrato a multilivello per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Utilizzare le quantità di composto predefinite per tutti gli standard.

- a Fare clic sulla scheda **Amounts** nel pannello Sample Entry.
- b Per ogni standard di calibrazione:
 - Selezionare lo standard nella tabella di sequenza.
 - In Compound amounts selezionare le caselle **Use** per dimetilftalato e bifenile.

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Immediate Quantitation	Custom Sample Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]	Samp Amou
1	cal1	Calibration	1	NO		2	1	as method	0
2	cal2	Calibration	2	NO		3	1	as method	0
3	sample 1_2	Sample		YES		5	1	as method	0
4	sample 1_4	Sample		NO		9	1	as method	0
5	cal1	Calibration	1	NO		2	1	as method	0
6	cal2	Calibration	2	NO		3	1	as method	0
7	sample 1_2	Sample		NO		5	1	as method	0
8	sample 1_4	Sample		NO		9	1	as method	0
9	cal1	Calibration	1	NO		2	1	as method	0
10	cal2	Calibration	2	NO		3	1	as method	0
11									

Sample Name:

Sample Type:

Custom Sample Group:

Vial Number: Injections: Volume [µl]:

Run | **Amounts** | Identification | Description

Sample variables		Compound amounts	
Use	Name	Amount	
<input checked="" type="checkbox"/>	dimethylphthalate [u	40	
<input type="checkbox"/>	diethylphthalate:	0	
<input checked="" type="checkbox"/>	biphenyl [ug]:	60	

Sample Amount:
 Sample Amount U:
 Multiplier:
 Dilution Factor:
 Purity:
 Correction Factor:

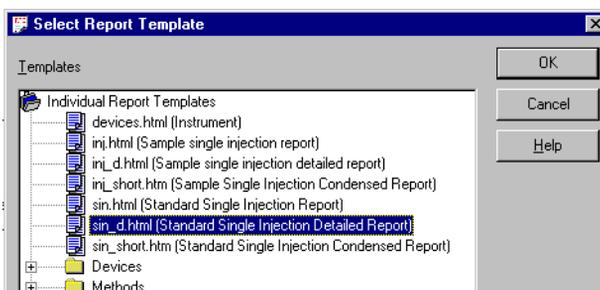
Operazione 6. Selezionare un nuovo modello di rapporto

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Selezionare un modello di rapporto per un rapporto di iniezione a standard singolo.

- Nella struttura di selezione scegliere **Reporting**.
- Nella tabella dei rapporti selezionare il tipo standard a iniezione singola.
- Fare clic su **Select Template...**
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Select Report Template**.
- Nella finestra di dialogo **Select Report Template** selezionare il modello di rapporto Standard Single Injection Detailed.
- Fare clic su **OK**.



2 Selezionare i seguenti tipi di rapporto per la stampa:

- Sample single injection
- Standard single injection
- Sequence

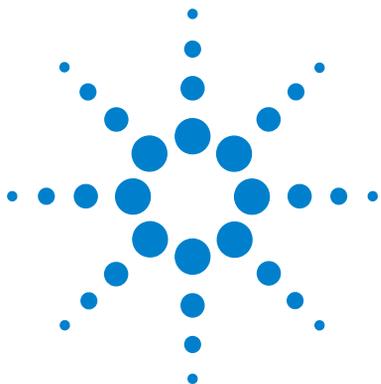
- Fare doppio clic sulla cella **Print** del rapporto Multi-Injection Summary Group per cambiare **Yes** in **No**.
- Ripetere l'operazione descritta al punto a per il rapporto Calibration Standards Group per cambiare **Yes** in **No**.

Print	Report Type	Report Template
Yes	Sample single injection	exer5injdec.html
Yes	Standard single injection	sin_d.html
Yes	Multi-Injection Summary Group	Smp_short.htm
No	Calibration Standards Group	Cal_short.htm
No	QC Sample Group	QC_short.htm
Yes	Sample Group	exer5sqdec.html
No	Custom Sample Groups	Sum_short.htm
Yes	Sequence	Seq_short.htm
No	Customer Report 1	Composite_1.xml
No	Customer Report 2	Composite_2.xml
No	Customer Report 3	Composite_3.xml

Select Template... Edit Template...

3 Salvare il metodo.

- Sulla barra degli strumenti standard fare clic su  ed inserire i motivi della modifica e, se necessario, la firma elettronica.



Esercizio avanzato n. 6

Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Il presente esercizio prevede una serie di operazioni che consentiranno di imparare a:

- Inserire calcoli personalizzati relativi a rumore e system suitability nel metodo per una sequenza.
- Inserire calibrazione in bracketing e quantificazione ISTD nel metodo.
- Impostare un calcolo personalizzato per la media delle impurezze percentuali di tutti i campioni nella sequenza per più iniezioni.
- Impostare i limiti per calcoli personalizzati e calcoli di system suitability.
- Impostare un modello di sequenza per iniezioni multiple in bracketing e per un'un'analisi in bianco per un calcolo S/N.
- Impostare il layout per la visualizzazione dei risultati per controllare i calcoli di system suitability.
- Modificare un modello di rapporto per un gruppo di campioni, comprendente calcoli personalizzati e di system suitability.

Il metodo può essere usato con ["Esercizio avanzato n. 5a Esecuzione di una sequenza per la quantificazione di impurezze"](#) a pagina 63 e ["Esercizio avanzato n. 5b Uso di un metodo diverso per la rielaborazione"](#) a pagina 69.



Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Per eseguire quanto descritto nelle pagine seguenti, è necessario prima provare ad eseguire le operazioni riportate sulla sinistra senza consultare le istruzioni dettagliate. Seguire le istruzioni sulla destra soltanto in caso di effettiva necessità.

Prima di iniziare

Leggere "[Impostazione dei metodi](#)" a pagina 73 per impostare i metodi.

Operazione 1. Copiare un metodo per creare un modello di metodo per la sequenza

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Copiare il metodo per creare un nuovo modello.

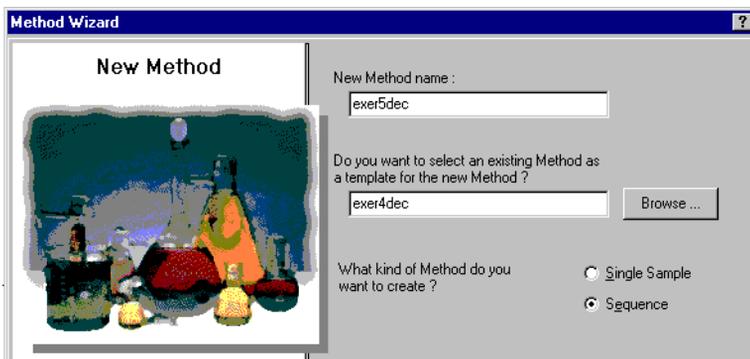
- Copiare *exer4iii* o *defexer4iii*.
È possibile utilizzare il metodo originale dell'Esercizio 4 o il metodo modificato dell'Esercizio 4b.
- Assegnare al campione il nome *exer5iii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.

Verificare che i pannelli Method Wizard contengano le selezioni di metodo dell'Esercizio 4.

- a** Selezionare **File > New > Method** oppure fare clic su  e selezionare **Method**.

Viene visualizzata la procedura guidata Method Wizard.

- b** Fare clic sul pulsante **Browse** e selezionare *exer4iii* oppure *defexer4iii*.
c Inserire *exer5iii* nella casella **New Method Name**.



- d** Fare clic su **Next** per passare al pannello Data Analysis.

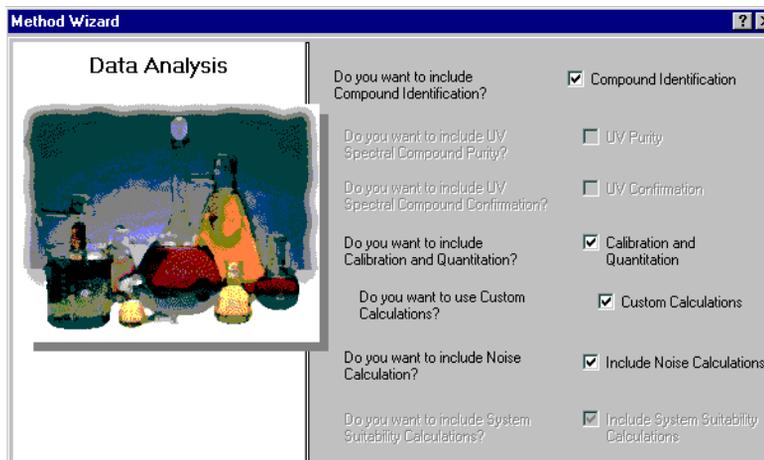
Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 2** Comprendere la capacità di impostare calcoli personalizzati e calcoli di system suitability.

- a** Nel pannello Data Analysis selezionare la casella **Custom Calculations**.
b Selezionare la casella **Include Noise Calculations**.
Si noti che, selezionando la casella **Include Noise Calculations**, la casella **Include System Suitability** appare selezionata e disattivata.

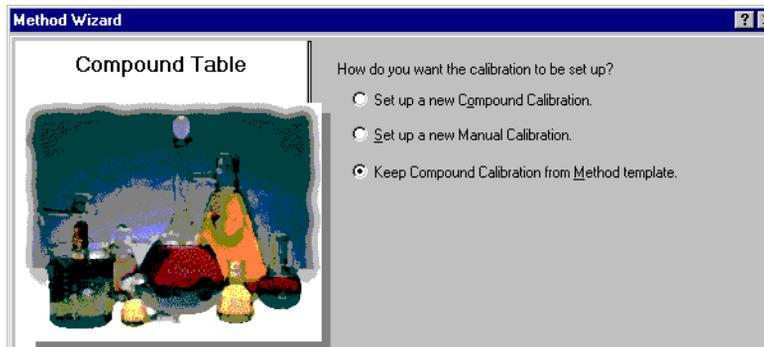


- c** Fare clic su **Next** per passare al pannello Compound Table.

- 3** Selezionare un'opzione della tabella dei composti.

Anche se si sta modificando la modalità di calibrazione in Bracketing, è possibile mantenere l'impostazione di calibrazione dell'Esercizio 4.

- a** Nel pannello Compound Table selezionare **Keep Compound Calibration from Method template**.



- b** Fare clic su **Next** per passare al pannello **Calibration**.

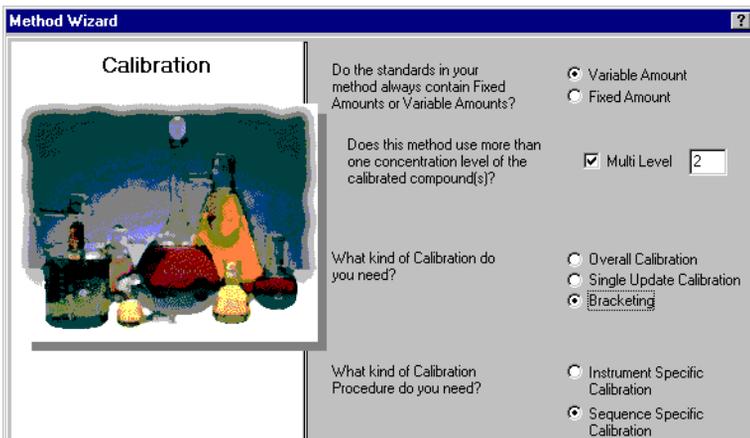
Fasi

Istruzioni dettagliate

4 Selezionare le opzioni di calibrazione.

Selezionare Bracketing e mantenere invariate tutte le altre opzioni.

a Nel pannello **Calibration** selezionare **Bracketing**.

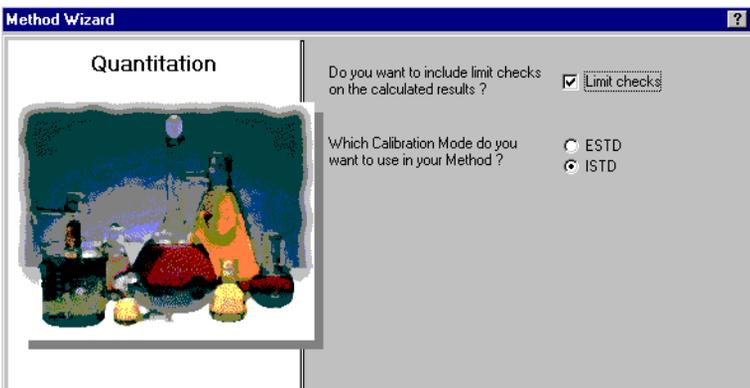


b Fare clic su **Next** per passare al pannello **Quantitation**.

5 Selezionare le opzioni di quantificazione.

a Nel pannello **Quantitation** selezionare la casella **Limit checks**.

b Selezionare **ISTD**.



c Fare clic su **Next** per scorrere il pannello **New Method Review**.

6 Ricontrollare il modello del nuovo metodo.

Il nuovo metodo contiene le stesse informazioni del modello di analisi dei dati e sequenza presenti nell'Esercizio 4.

a Nel pannello **New Method Review** rivedere i valori di **Method Wizard Settings**.

b Fare clic sul pulsante **Finish** per salvare il metodo nuovo.

c Salvare tutte le modifiche nel database, se necessario indicando i motivi della modifica.

Operazione 2. Modificare la quantificazione per uno standard interno

Fasi

1 Impostare l'analisi quantitativa ISTD.

Impostare il bifenile come standard interno ed utilizzarlo per l'analisi quantitativa del dimetilftalato.

Istruzioni dettagliate

- a Espandere il metodo appena creato ed espandere la cartella Data Analysis.
- b Nella struttura di selezione scegliere **Quantitation Setup**.
- c Fare clic sulla scheda Calibrated Compounds.
- d Nella tavola di calibrazione selezionare il bifenile.
- e In Internal Standard selezionare **Set this Compound as the ISTD**.
- f Selezionare dimetilftalato.
- g In Internal Standard selezionare **Use ISTD compound**.
- h Fare clic sulla freccia giù, quindi selezionare il bifenile dall'elenco.

Calibrated Compounds		Uncalibrated Compounds		Unidentified Peaks	
Compound Name	Expected Time	Compound Group	ISTD	ISTD Name	Com
dimethylphthalate	0.9349			biphenyl	
biphenyl	1.8902		ISTD		

Compound Name:

Internal Standard:

Set this Compound as the ISTD

Use ISTD compound

Compound Group:

Compound Info:

Operazione 3. Impostare un calcolo personalizzato per calcolare la media delle impurezze percentuali di tutti i campioni di una sequenza

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Impostare il calcolo dell'impurezza percentuale in ogni singola iniezione.</p> <p>Lo standard isocratico è un campione ben definito di composti noti. Per facilitare l'apprendimento delle modalità di impostazione di calcoli personalizzati, la composizione dello standard isocratico deve essere la seguente:</p> <p>Composto principale: dimetilftalato Impurezza specificata: dietilftalato ISTD: bifenile Impurezza non specificata: picco incognito</p> <p>È anche possibile puntare e trascinare la cella di riferimento per specificare le celle presenti nel calcolo.</p>	<p>a Nella struttura di selezione scegliere Custom Calculations in Data Analysis.</p> <p>b Se necessario fare clic sulla scheda Single Injection.</p> <p>c Aggiungere una colonna che contenga la variabile Amount per tutti i composti/picchi.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi selezionare Add Column. • Nel foglio Existing Column espandere Compounds, quindi selezionare Amount. • Fare clic su Apply. <p>d Aggiungere una colonna per il calcolo dell'impurezza nella percentuale specificata.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Fare clic sulla scheda Add a New Custom Calculation Column. • Inserire un valore in Variable ID per l'impurezza specificata nella forma desiderata, ad esempio PercentSpecifiedImpurity (senza spazi). • Inserire un nome in Display Name, ad esempio Percent Specified Impurity. • Selezionare Single Inj. Variables in Level, quindi fare clic su Apply. <p>e Aggiungere una colonna per il calcolo dell'impurezza in percentuale non specificata.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inserire valori in Variable ID e Display Name, quindi selezionare come Single Inj. Variables per Level, quindi fare clic su OK.

Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

- f** Inserire la formula per il calcolo dell'impurezza in percentuale specificata nella cella Single Inj. Variables.
- Inserire la sintassi $=D8 / \text{SUM}(D7 : D13) * 100$, che rappresenta la quantità di dietilftalato divisa per la somma delle quantità di tutti i picchi x 100. Utilizzare il pulsante f_x per trovare la funzione di somma, oppure digitare la parola SUM.
- g** Inserire la formula per il calcolo dell'impurezza in percentuale non specificata nella cella Single Inj. Variables. Utilizzare la stessa sintassi usata per il calcolo dell'impurezza specificata.

1			New	New
2		Amount	Percent Specified Impurity	Percent Unspecified Impurity
3	-			
4	Single Injection			
5	Single Inj. Variables		9.48	19.07
6	- Identified Compounds			
7	dimethylphthalate	0.9993		
8	diethylphthalate	1.9968		
9	biphenyl	3.0126		
10	- Not Identified Peaks			
11	Unknown 1	4.0158		
12	..	4.9725		
13	Unknown n	6.0583		

Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi	Istruzioni dettagliate
------	------------------------

2 Impostare il calcolo della media percentuale di impurezza per tutte le iniezioni del campione.

Effettuare la stessa operazione sia per l'impurezza specificata sia per l'impurezza non specificata.

- a** Nell'area di lavoro Custom Calculations fare clic sulla scheda **Multi-injection**.
- b** Aggiungere una colonna per l'impurezza a percentuale specificata.
 - Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi selezionare **Add Column**.
 - Sul foglio Existing Column espandere User Defined, quindi selezionare **Percent Specified Impurity**.
 - Fare clic su **Apply**.
- c** Aggiungere una colonna per il calcolo l'impurezza in percentuale non specificata.
 - Selezionare **Percent Unspecified Impurity**.
 - Fare clic su **Apply**.
- d** Aggiungere una colonna per la media dell'impurezza in percentuale specificata di tutte le iniezioni.
 - Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
 - Inserire il valore di **Variable ID** sotto qualsiasi forma, ad esempio AvgPercentSpecified.
 - Inserire un valore in **Display Name** come variante di ID, ad esempio Avg Percent Specified.
 - Selezionare Multiple Inj. Variables in **Level**, quindi fare clic su **Apply**.
- e** Aggiungere una colonna per la media dell'impurezza in percentuale non specificata per tutte le iniezioni di un campione.
 - Inserire Variable ID, Display Name e Level come Multiple Inj. Variables.
 - Fare clic su **OK**.
- f** Inserire la formula per il calcolo della media delle impurezze in percentuale specificata nella cella Multiple Inj. Variable.
 - Inserire la sintassi =AVERAGE(D6:D8), che rappresenta la media del calcolo di impurezza percentuale per ogni campione o tutte le iniezioni. È possibile utilizzare il pulsante f_x per accedere alla funzione AVERAGE oppure digitare la parola AVERAGE.
- g** Inserire la formula per la media delle impurezze in percentuale non specificata.

A	B	C	D	E	F	G
1					New	New
2			Percent Specified Impurity	Percent Unspecified Impurity	Avg Percent Specified	Avg Percent Unspecified
3	-					
4	Multi-Injection Summary					
5	-	Multiple Inj. Variable			2.00	2.00
6		Single Inj. #1	1.00	0.99		
7		..	2.00	2.02		
8		Single Inj. #n	3.01	2.98		
9	-	dimethylphthalate				
10		Single Inj. #1				
11		..				
12		Single Inj. #n				

Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

3 Impostare il calcolo della media percentuale di impurezze di tutti i campioni.

Effettuare la stessa operazione sia per l'impurezza specificata sia per l'impurezza non specificata.

- a Fare clic sulla scheda **Sample Group** nell'area di lavoro Custom Calculations.
- b Aggiungere una colonna per la media di impurezze a percentuale specificata.
 - Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi selezionare **Add Column**.
 - Espandere **User Defined**, quindi selezionare **Avg Percent Specified**.
 - Fare clic su **Apply**.
- c Aggiungere una colonna per il calcolo della media delle impurezze in percentuale non specificata.
 - Sul foglio Existing Column espandere User Defined, quindi selezionare **Avg Percent Unspecified**.
 - Fare clic su **Apply**.
- d Aggiungere una colonna per la media dell'impurezza in percentuale specificata di tutti i campioni.
 - Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
 - Inserire il valore di **Variable ID** sotto qualsiasi forma, ad esempio AvgPercentAllSamples.
 - Inserire un valore in **Display Name** come variante di ID, ad esempio Avg Percent All Samples.
 - Inserire il livello **Level** come Sample Group Variables, quindi fare clic su **Apply**.
- e Aggiungere una colonna per la media dell'impurezza in percentuale non specificata di tutti i campioni, ad esempio AvgPercentUAllSamples.
 - Inserire Variable ID, Display Name e Level come Sample Group Variables.
 - Fare clic su **OK**.
- f Inserire la formula per la media delle impurezze in percentuale specificata.
 - Inserire la sintassi =AVERAGE(F6:F8), che rappresenta la media del calcolo di impurezza percentuale per tutti i campioni. È possibile utilizzare il pulsante f_x per accedere alla funzione AVERAGE oppure digitare la parola AVERAGE.
- g Inserire la formula per la media delle impurezze in percentuale non specificata di tutti i campioni.

A	B	C	D	E	F	G
1					New	New
2			Avg Percent Specified	Avg Percent Unspecified	Avg % S All Samples	Avg % U All Samples
3	-					
4	Samples					
5	-	Sample Group Variable:			1.99	=AVERAGE(E6:E8)
6		Sample #1	0.99	1.01		
7		..	2.01	1.98		
8		Sample #n	2.97	3.01		
9	-	dimethylphthalate				
10		Sample #1				
11		..				

Operazione 4. Impostare limiti per i calcoli personalizzati e di system suitability

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Impostazione dei limiti per i calcoli di system suitability

- Se il fattore di scodamento è $> 1,7$, significa che l'esito è negativo – per tutti i campioni e per il solo dimetilftalato
- Se la risoluzione USP è $< 1,5$, significa che l'esito è negativo – per tutti i campioni e per il solo dimetilftalato
- Se il rapporto segnale/rumore è inferiore a 5, l'esito è negativo.

- Selezionare **Limits** in Data Analysis.
- Assicurarsi che venga visualizzato il foglio Single Injection.
- Far clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella Limits, quindi selezionare **Insert New Limit**.
- Espandere la tabella **Peak**, quindi selezionare TailingFactor.
- Nell'elenco **Condition** selezionare $>$, quindi per **Value** inserire 1,7.
- Nell'elenco **Apply to** selezionare dimetilftalato e premere **OK**.
- Ripetere le operazioni descritte ai punti c e d per risoluzione del picco e USP.
- Nell'elenco **Condition** selezionare $<$, quindi per **Value** inserire 1,5.
- Fare clic su **OK**.
- Ripetere le operazioni descritte ai punti c e d per SignalToNoise.
- Nell'elenco **Condition** selezionare $<$, quindi per **Value** inserire 5.
- Fare clic su **OK**.

Limit Options for:				
Single Injection		Multi Injection	Summary Groups	
Variable ID	Header	Units	Condition	Value
SignalToNoise	SignalToNoise		$<$	5
TailingFactor	TailingFactor		$>$	1.7
USP_Resolution	Peak resolution USP		$<$	1.5

2 Impostare limiti per la media di impurezze specificate e la media delle impurezze non specificate per tutti i campioni.

- Se l'impurezza specificata è $> 10\%$, l'esito è negativo
- Se l'impurezza non specificata è $> 5\%$, l'esito è negativo

Consiglio: la scheda Summary Groups consente di impostare i limiti per tutte le variabili ed i calcoli associati a gruppi di tipi di campione, come gruppi di campioni, gruppi di standard di calibrazione, gruppi di campioni personalizzati e di QC.

- Fare clic sulla scheda **Summary Groups**.
- Far clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi selezionare **Insert New Limit**.
- Nella finestra di dialogo Insert New Limit espandere la cartella **Single Values**, quindi selezionare Avg % S All Samples.
- Nell'elenco **Data Set** selezionare Sample.
- Nell'elenco **Condition** selezionare $>$.
- Inserire un valore pari a 10, quindi fare clic su **OK**.
- Ripetere le operazioni descritte ai punti b-f per Avg % U All Samples e specificare il valore 5.

Limit Options for:				
Single Injection		Multi Injection	Summary Groups	
Variable ID	Header	Units	Data Set	Apply To
AvgPercentKAllSamples	Avg % K All Samples		All	Selected Variable ID
AvgPercentUAllSamples	Avg % U All Samples		All	Selected Variable ID

Operazione 5. Modificare il modello di sequenza per iniezioni multiple e in bracketing

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>1 Impostare il bracketing</p> <ul style="list-style-type: none"> Quantificare il primo gruppo di campioni con la media RF del primo e del secondo gruppo di standard. Quantificare il primo gruppo di campioni con la media RF del secondo e del terzo gruppo di standard. 	<p>a Scegliere Sequence Template dalla struttura di selezione.</p> <p>b Fare doppio clic sulla cella Bracketing per Cal1 nella riga 1, quindi fare doppio clic su Open.</p> <p>c Fare doppio clic sulla cella Bracketing per Cal1 nella riga 5, quindi fare doppio clic su Open.</p> <p>d Fare doppio clic sulla cella Bracketing per Cal2 nella riga 6, quindi fare doppio clic su Open.</p> <p>e Fare doppio clic sulla cella Bracketing per Cal2 nella riga 10, quindi fare doppio clic su Open.</p>
<p>2 Inserire un bianco nella prima riga ed immettere due iniezioni per ogni campione.</p>	<p>a Scegliere la riga 1, quindi fare clic sul pulsante Insert. Usare tooltip.</p> <p>b Inserire NoiseBlank in Sample Name, quindi selezionare Blank Run per Sample Type.</p> <p>c Inserire un valore di Vial# diverso, quindi fare clic su Apply.</p> <p>d Inserire 2 in Injections # per ogni campione della sequenza.</p>

	Sample Name	Sample Type	Cal. Level	Bracketing	Custom Sample Group	Vial #	Injections #	Injection Volume [µl]	Sample Amount
1	NoiseBlank	Blank Run				4	1	as method	0
2	cal1	Calibration	1	Open		2	1	as method	0
3	cal2	Calibration	2	None		3	1	as method	0
4	sample 1_2	Sample				5	2	as method	0
5	sample 1_4	Sample				9	2	as method	0
6	cal1	Calibration	1	Open		2	1	as method	0
7	cal2	Calibration	2	Close		3	1	as method	0
8	sample 1_2	Sample				5	2	as method	0
9	sample 1_4	Sample				9	2	as method	0
10	cal1	Calibration	1	None		2	1	as method	0
11	cal2	Calibration	2	Close		3	1	as method	0

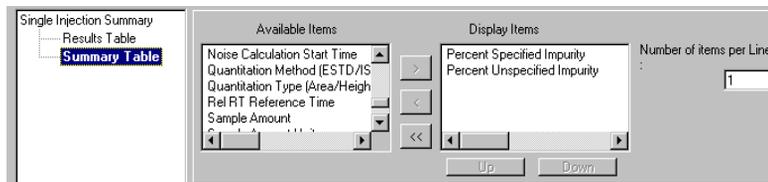
Operazione 6. Impostare la visualizzazione dei risultati dei calcoli personalizzati e di system suitability

Fasi

Istruzioni dettagliate

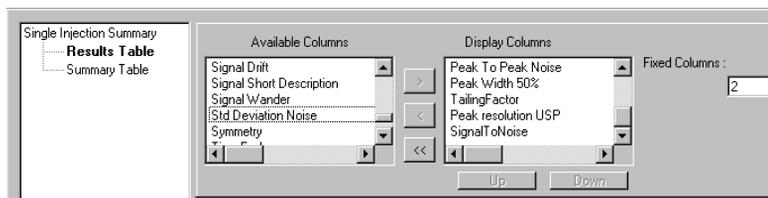
1 Impostare la visualizzazione delle impurezze in percentuale specificata e in percentuale non specificata.

- a Nella struttura di selezione espandere la cartella **Data Review Layout**.
- b Scegliere **Single Injection** dalla struttura di selezione.
- c Selezionare **Summary Table** nell'area di lavoro.
- d Selezionare Percent Specified Impurity dall'elenco **Available Items**, quindi fare clic su > per spostarlo nell'elenco **Display Items**.
- e Ripetere l'operazione descritta al punto d per Percent Unspecified Impurity, quindi fare clic su **Apply**.



2 Impostare la visualizzazione del fattore di scodamento, di risoluzione USP e il numero di serie di ogni campione.

- a Selezionare **Results Table**.
- b Selezionare Tailing Factor nell'elenco > **Available Columns**, quindi fare clic su > per spostarlo nell'elenco **Display Columns**.
- c Ripetere l'operazione descritta al punto b per Peak resolution USP e SignalToNoise, quindi fare clic su **Apply**.



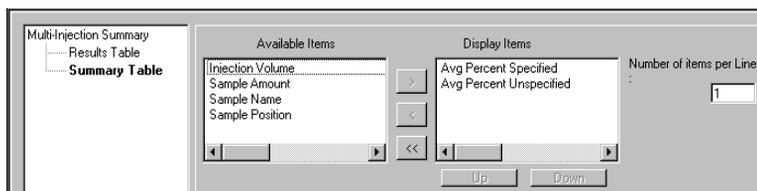
Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

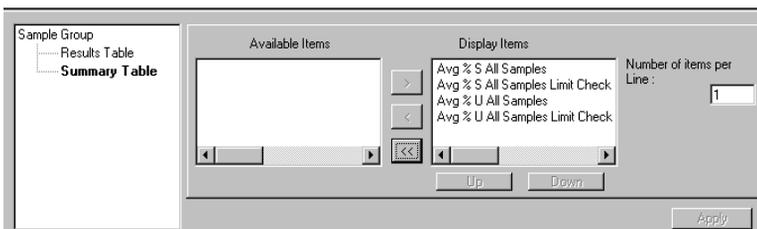
3 Impostare la visualizzazione della media di impurezze specificate e la media delle impurezze non specificate per tutti i campioni.

- a Nella struttura di selezione scegliere **Multiple Injection**.
- b Selezionare **Summary Table** nell'area di lavoro.
- c Selezionare Avg Percent Specified dall'elenco **Available Items**, quindi fare clic su > per spostarlo nell'elenco **Display Items**.
- d Ripetere l'operazione descritta al punto b per Avg Percent Unspecified, quindi fare clic su **Apply**.



4 Impostare la visualizzazione della media delle impurezze in percentuale specificata e in percentuale non specificata per tutti i campioni e per i loro controlli di limite.

- a Scegliere **Samples** dalla struttura di selezione.
- b Selezionare **Summary Table** nell'area di lavoro.
- c Selezionare Avg % S All Samples dall'elenco **Available Items**, quindi fare clic su > per spostarlo dall'elenco **Display Items**.
- d Ripetere l'operazione descritta al punto c per Avg % U All Samples, Avg % S All Samples Limit Check e Avg % U All Samples Limit Check.
- e Fare clic su **Apply**.



Operazione 7. Modificare un modello di rapporto per il gruppo di campioni

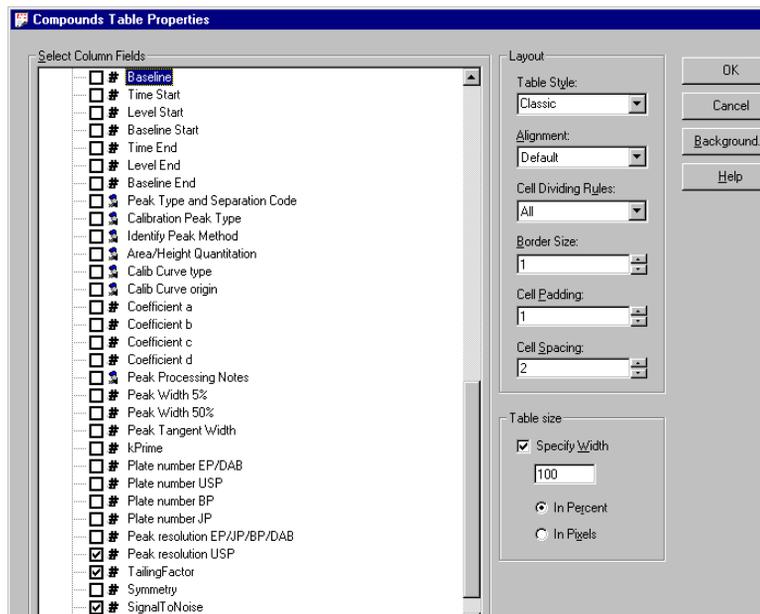
Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Modificare un modello di rapporto per ottenere un rapporto di iniezione a campione singolo.

- Modificare il rapporto inj.html.
- Aggiungere una colonna per la risoluzione USP ed il rapporto segnale/rumore alla tabella dei composti esistenti per il cromatogramma.
- Salvare il modello come exer5in iii , dove iii sono le iniziali dell'operatore.

- Nella struttura di selezione scegliere **Reporting**.
- Selezionare il tipo di rapporto Sample single injection, quindi fare clic su **Edit Template...**
- Fare doppio clic su **Individual Report Templates**, quindi su inj.html.
- Posizionare il cursore nell'ultima colonna della tabella dei composti situata sotto il cromatogramma.
- Fare clic con il pulsante destro del mouse sulla tabella, quindi selezionare **Table Properties**.
Viene visualizzata la finestra di dialogo Compound Table Properties.
- Nell'elenco **Select Column Fields** selezionare le caselle **Peak resolution USP** e **SignalToNoise**, quindi fare clic su **OK**.



Esercizio avanzato n. 6 Impostazione di un metodo per una sequenza per la quantificazione di impurezze

Fasi

Istruzioni dettagliate

La tabella dei composti nel modello risultante sarà simile alla seguente:

Retention Time	Compound Name	Amount	Response Factor	Trailing Factor	Peak resolution USP	SignalToNoise
#####.##	×	###.##	×.DDDD	#####.###	##.###	##.###

g Selezionare **File > Save As**, inserire *exer5injiii*, quindi fare clic su **OK**.

Fasi	Istruzioni dettagliate
<p>2 Modificare il modello di rapporto dettagliato relativo al gruppo di campioni (sus_d.html).</p> <ul style="list-style-type: none"> Inserire una tabella html nella tabella Sample group variables. Inserire il testo per Avg. % S Impurity All Samples e Avg % U Impurity All Samples. Inserire un grafico ancorato per i valori delle impurezze %. Nella tabella Sample Group Limits inserire le informazioni di Limit per il gruppo di campioni. Salvare il modello come exer5sg<i>iii</i>, dove <i>iii</i> sono le iniziali dell'operatore. 	<p>a Uscire da Report Template Editor.</p> <p>b Scegliere il tipo di rapporto Sample Group, quindi fare clic su Edit Template...</p> <p>c Fare doppio clic su Individual Report Templates, quindi su sus_d.html.</p> <p>d Inserire una linea al di sotto della tabella Sample group variables, quindi fare clic sul pulsante Insert HTML table.</p> <p>e Nella finestra di dialogo Insert Table selezionare Classic Table in Style, quindi fare clic su OK.</p> <p>f Fare clic sulla scheda Fields ed espandere la tabella Sample Group.</p> <p>g Espandere la cartella Sample Group Variables Results.</p> <p>h Posizionare il cursore nella prima cella della tabella HTML, premere il tasto Alt, quindi fare doppio clic su Avg % S All Samples.</p> <p>i Posizionare il cursore nella seconda cella della prima riga, quindi fare doppio clic su Avg % S All Samples.</p> <p>j Ripetere le operazioni descritte ai punti da h a i per Avg % U All Samples, utilizzando la seconda riga.</p> <p>k Posizionare il cursore sotto la tabella Sample group limit results.</p> <p>l Premere il tasto Ctrl, quindi fare doppio clic su Avg % S All Samples Limit Check.</p> <p>m Effettuare la stessa operazione per Avg % U All Samples Limit Check.</p> <p>n Selezionare File > Save As, inserire exer5esg<i>iii</i>, quindi fare clic su Save.</p>

Una volta terminato, il modello viene visualizzato come modello relativo al gruppo di campioni.



Sample group (detailed)

Sequence name:	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
Sequence Start:	sys_Date sys_Time
Sequence End:	sys_Date sys_Time
Method (rev):	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX (###)

Number of unidentified peaks: ##

Sample group variables

#	Sample name	Amount	Position	Inj. vol.
##	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	## DDDD	XXXXXXXX	### DD

Avg % S All Samples:	## DD
Avg % U All Samples:	## DD

Sample group limit results

#	Sample name	Compound	Limit (Compound)	Limit (Sample)
##	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXX	XXXXXXXX

Avg % S All Samples Limit Check: XXXXXXXXXXXX

Avg % U All Samples Limit Check: XXXXXXXXXXXX

Operazione 8. Selezionare modelli e tipi di rapporto

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Selezionare modelli di rapporto per tipi di rapporto.

- Usare *exer5injiii* per il tipo di rapporto Sample single injection.
- Usare *exer5esgiii* per il tipo di rapporto Sample group report.

- Uscire da Report Template Editor di Cerity.
- Selezionare il tipo di rapporto Sample single injection, quindi fare clic su **Select Template...**
- Selezionare *exer5injiii*, quindi fare clic su **OK**.
- Selezionare il tipo di rapporto per il Sample group, quindi fare clic su **Select Template...**
- Selezionare *exer5esgiii*, quindi fare clic su **OK**.

2 Selezionare i tipi di rapporto da stampare.

- Sample single injection
- Standard single injection
- Multi-injection Summary Group
- Sample Group
- Sequence

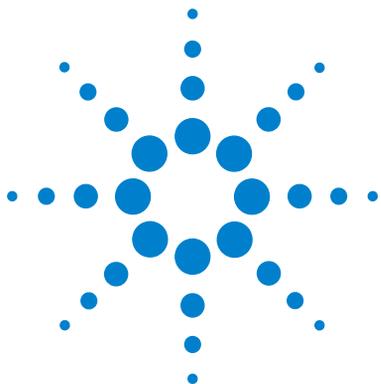
- Fare doppio clic sulla cella **Print** per il rapporto Multi-Injection Summary Group per cambiare **No** in **Yes**.
- Ripetere l'operazione descritta al punto a per il rapporto Sample Group per cambiare il valore **Yes** in **No**.

Print	Report Type	Report Template
Yes	Sample single injection	exer5injdec.html
Yes	Standard single injection	sin_d.html
Yes	Multi-Injection Summary Group	Smp_short.htm
No	Calibration Standards Group	Cal_short.htm
No	QC Sample Group	QC_short.htm
Yes	Sample Group	exer5sgdec.html
No	Custom Sample Groups	Sum_short.htm
Yes	Sequence	Seq_short.htm
No	Customer Report 1	Composite_1.xml
No	Customer Report 2	Composite_2.xml
No	Customer Report 3	Composite_3.xml

Select Template... Edit Template...

3 Salvare il metodo.

Sulla barra degli strumenti standard fare clic su  ed inserire i motivi della modifica e, se necessario, la firma elettronica.



Esercizio avanzato n. 7

Calcolo della somma media dell'area delle impurezze non identificate per lotto

Questo esercizio contiene una serie di operazioni che consentono di imparare ad impostare un calcolo personalizzato per determinare la media della somma dell'area delle impurezze non identificate in ogni lotto di campioni.

- Impostare la somma delle aree dei picchi non identificati in un'iniezione singola.
- Impostare il calcolo della media delle somme delle aree dei picchi non identificati per tutte le iniezioni di un campione.
- Impostare il calcolo della media delle aree per i campioni nel gruppo di campioni.

NOTA

Non è necessario identificare i composti per impostare questo calcolo, pertanto è possibile applicare le istruzioni riportate di seguito ad un metodo vuoto.

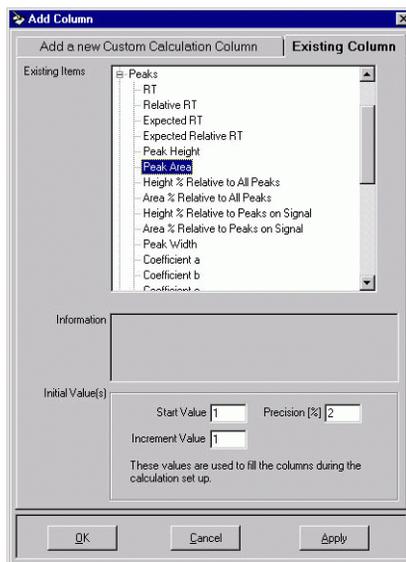


Operazione 1. Impostare la somma delle aree dei picchi non identificati in un'iniezione singola

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 1 Sul foglio di lavoro per iniezione singola, aggiungere una colonna per contenere il risultato di integrazione esistente, l'area del picco.
 - a Nella struttura di selezione, espandere la cartella del metodo desiderato.
 - b Espandere la cartella **Data Analysis**.
 - c Selezionare **Custom Calculations**.
 - d Nell'area di lavoro relativa ai calcoli personalizzati fare clic sulla scheda **Single Injection**.
 - e Fare clic nel foglio di lavoro, quindi selezionare **Add Column** dal menu. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
 - f Nella scheda **Existing Column** espandere la sezione **Peaks**, quindi selezionare **Peak Area**. Fare clic su **OK** per chiudere la finestra di dialogo.



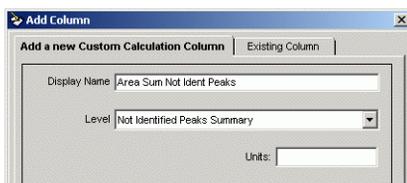
A questo punto, l'area di lavoro contiene una colonna con le aree dei picchi non identificati.

Esercizio avanzato n. 7 Calcolo della somma media dell'area delle impurezze non identificate per lotto

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 2 **Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo per la somma delle aree dei picchi non identificati.**
 - a Fare clic nel foglio di lavoro, quindi selezionare **Add Column** dal menu. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
 - b Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
 - c Inserire `Area Sum Not Ident Peaks` nel campo **Display Name**.
 - d Fare clic sulla freccia rivolta verso il basso accanto a **Level** e selezionare **Not Identified Peaks Summary**.



A questo punto l'area di lavoro contiene una colonna per la nuova variabile **Area Sum Not Ident Peaks**.

- 3 **Inserire la formula per la somma dell'area dei picchi non identificati.**
 - a Nella riga di riepilogo **Not Identified Peaks** della nuova colonna inserire la formula per sommare le aree dei picchi non identificati.
Consiglio: utilizzare la sintassi `=SUM(D8:D10)`

	A	B	C	D	E
1					New
2				Peak Area	Area Sum Not Ident. Peaks
3					
4			Single Injection		
5			Single Inj. Variables		
6			Identified Compounds		
7			Not Identified Peaks		6.01
8			Unknown 1	0.9993	
9			...	1.9968	
10			Unknown n	3.0126	

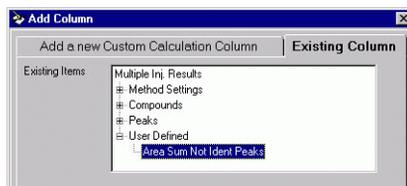
Operazione 2. Impostare il calcolo della media delle aree dei picchi non identificati per tutte le iniezioni di un campione

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Sul foglio di lavoro di riepilogo per più iniezioni aggiungere una colonna per contenere la variabile impostata nel foglio di lavoro iniezione singola, la somma delle aree dei picchi non identificati.

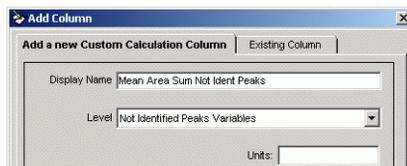
- a Nell'area di lavoro relativa ai calcoli personalizzati fare clic sulla scheda **Multi-Injection**.
- b Fare clic nel foglio di lavoro, quindi selezionare **Add Column** dal menu. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- c Nella scheda **Existing Column** espandere la sezione **User Defined**, quindi selezionare **Area Sum Not Ident Peaks**. Fare clic su **OK** per chiudere la finestra di dialogo.



A questo punto l'area di lavoro contiene una colonna con la somma delle aree per i picchi non identificati.

2 Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo per la media delle somme delle aree dei picchi non identificati per tutte le iniezioni.

- a Fare clic nel foglio di lavoro, quindi selezionare **Add Column** dal menu. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- b Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
- c Inserire Mean Area Sum Not Ident Peaks nel campo **Display Name**.
- d Fare clic sulla freccia verso il basso accanto a **Level**, quindi selezionare **Not Identified Peaks Variables**.



A questo punto l'area di lavoro contiene una colonna per la nuova variabile **Mean Area Sum Not Ident Peaks**.

Esercizio avanzato n. 7 Calcolo della somma media dell'area delle impurezze non identificate per lotto

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 3 Inserire la formula per la media delle somme delle aree dei picchi non identificati per tutte le iniezioni.**
- a** Nella riga di riepilogo **Not Identified Peaks** della nuova colonna inserire la formula per sommare le aree dei picchi non identificati.
- Consiglio:** utilizzare la sintassi =AVERAGE(D8:D10).

A	B	C	D	E
1				New
2			Area Sum Not Ident. Peaks	Mean Area Sum Not Ident. Peaks
3	-			
4	Multi-Injection Summary			
5	-	Multiple Inj. Variable		
6		Single Inj. #1		
7		..		
8		Single Inj. #n		
9	-	Not Identified Peaks		2.00
10		Single Inj. #1	0.99	
11		..	2.02	
12		Single Inj. #n	2.98	

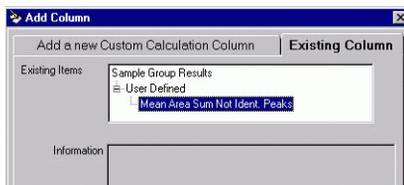
Operazione 3. Impostare il calcolo della media delle aree per i campioni nel gruppo di campioni

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Sul foglio di lavoro del gruppo di campioni aggiungere una colonna per contenere la variabile impostata nel foglio di lavoro per più iniezioni, la media delle somme delle aree per tutte le iniezioni.

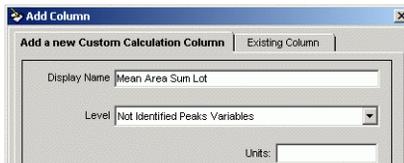
- a Nell'area di lavoro relativa ai calcoli personalizzati fare clic sulla scheda **Sample Group**.
- b Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- c Nella scheda **Existing Column** espandere la sezione **User Defined**, quindi selezionare **Mean Area Sum Not Ident. Peaks**. Fare clic su **OK** per chiudere la finestra di dialogo.



A questo punto l'area di lavoro contiene una colonna con la media della somma delle aree per i picchi non identificati.

2 Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo per la media delle somme delle aree dei picchi non identificati per un lotto di campioni.

- a Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- b Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
- c Inserire **Mean Area Sum Not** nel campo **Display Name**.
- d Fare clic sulla freccia verso il basso accanto a **Level**, quindi selezionare **Not Identified Peaks Variables**.



A questo punto l'area di lavoro contiene una colonna per la nuova variabile **Mean Area Sum Per Lot**.

Esercizio avanzato n. 7 Calcolo della somma media dell'area delle impurezze non identificate per lotto

Fasi

Istruzioni dettagliate

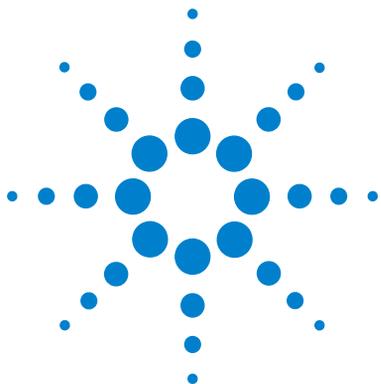
3 Inserire la formula per la media delle somme dell'area per il lotto.

a Nella riga di riepilogo **Not Identified Peaks** della nuova colonna, inserire la formula per sommare le aree dei picchi non identificati.

Consiglio: utilizzare la sintassi =AVERAGE(D8:D10).

	A	B	C	D	E
1				Mean Area	New
2				Sum Not Ident. Peaks	Mean Area Sum per Lot
3	-				
4	Samples				
5	-	Sample Group Variable			
6		Sample #1			
7		..			
8		Sample #n			
9	-	Not Identified Peaks			2.01
10		Sample #1		1.00	
11		..		2.02	
12		Sample #n		3.01	

Esercizio avanzato n. 7 Calcolo della somma media dell'area delle impurezze non identificate per lotto



Esercizio avanzato n. 8

Impostazione di un identificatore di gruppo con calcoli di system suitability

Questo esercizio contiene una serie di operazioni che consentono di imparare ad impostare un calcolo personalizzato per calcolare il rapporto fra le risoluzioni del primo e dell'ultimo picco ed arrestare quindi la sequenza se tale valore si trova al di fuori di un intervallo definito.

- Impostare un metodo per inserire i calcoli di system suitability.
- Impostare i calcoli personalizzati per il test di system suitability.
- Impostare le condizioni limite.
- Identificare i campioni di system suitability nella tabella della sequenza.



Operazione 1. Impostare un metodo per inserire i calcoli di system suitability.

Fasi

Istruzioni dettagliate

1 Creare un nuovo metodo per la sequenza

- Assegnare al metodo il nome *ssmethiii*, dove *iii* sono le iniziali dell'operatore.
- Usare *exer2iii* o *defexer2* come modello per il nuovo metodo.

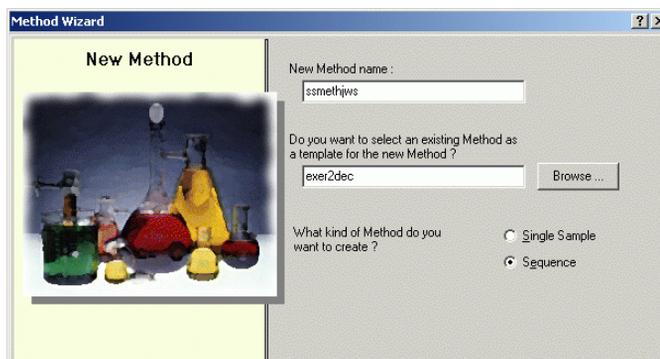
a Selezionare **File > New > Method** oppure fare clic su  e selezionare **Method**.

Viene visualizzato il pannello **Method Wizard New Method**.

b Fare clic sul pulsante **Browse** e selezionare *exer2iii* oppure *defexer2* dalla finestra di dialogo **Method Template Selection**.

c Inserire *ssmethiii* nella casella **New Method Name**.

d Selezionare **Sequence**.

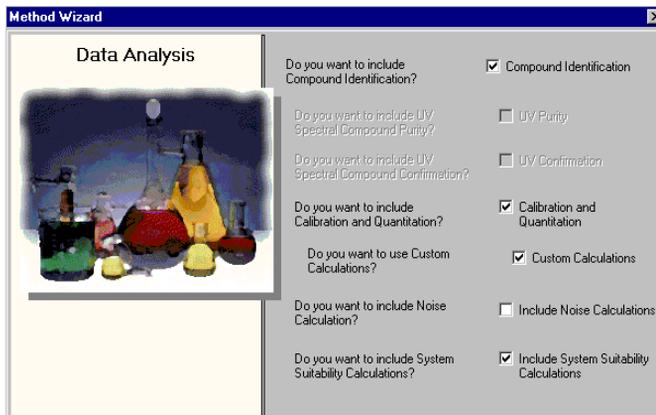


e Fare clic su **Next** ripetutamente, fino a raggiungere il pannello **Data Analysis**.

Fasi

Istruzioni dettagliate

- f** Selezionare le caselle **Calibration e Quantitation, Custom Calculations e Include System Suitability**.



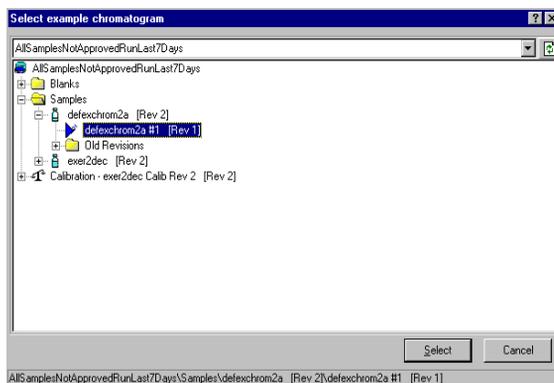
- g** Fare clic sui rimanenti pannelli effettuando le selezioni adatte fino a terminare l'impostazione guidata del metodo.

Fasi

- 2 Selezionare un cromatogramma di esempio.**
- Utilizzare il cromatogramma di esempio prodotto con gli esercizi base 2a o 2b in "Esercizio base n. 3a Esecuzione di una sequenza per quantificare i composti con una calibrazione a livello singolo" e "Esercizio base n. 3b Reintegrazione e rielaborazione dei risultati".
 - Oppure usare defexchrom2a.

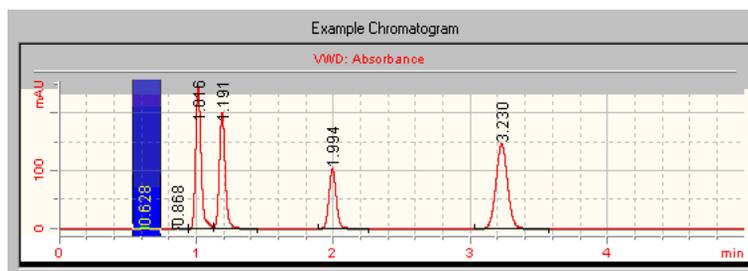
Istruzioni dettagliate

- Nella struttura di selezione espandere la cartella *exer3iii*.
- Espandere la cartella **Data Analysis**.
- Selezionare **Example Chromatogram**.
- Sulla barra degli strumenti **Tools** fare clic su .



- Selezionare il nome di campione con il numero di iniezione per produrre il cromatogramma di esempio.
- Fare clic sul pulsante **Select**.

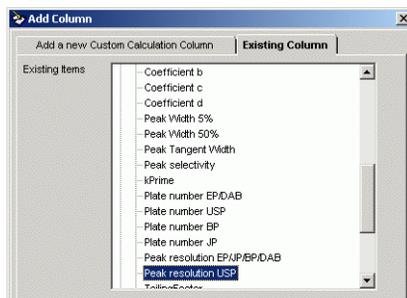
Il cromatogramma di esempio viene visualizzato nell'area di lavoro.



- Dopo aver selezionato il cromatogramma di esempio, è possibile visualizzare le impostazioni di integrazione ed identificazione appartenenti al metodo originale.
- Fare clic su **Save** se viene visualizzata la finestra di dialogo **Save Changes to the Database**.

Operazione 2. Impostare i calcoli personalizzati per il test di system suitability

Fasi	Istruzioni dettagliate
1 Sul foglio di lavoro riassuntivo di più iniezioni, aggiungere una colonna che contenga la risoluzione di ogni componente.	<ul style="list-style-type: none">a Nella cartella Data Analysis selezionare la voce Custom Calculator.b Nell'area di lavoro relativa ai calcoli personalizzati fare clic sulla scheda Multi-Injection.c Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare Add Column dal menu contestuale. Viene visualizzata la finestra di dialogo Add Column.d Nella scheda Existing Column espandere la sezione Peaks e selezionare Peak resolution USP. Fare clic su OK per chiudere la finestra di dialogo.



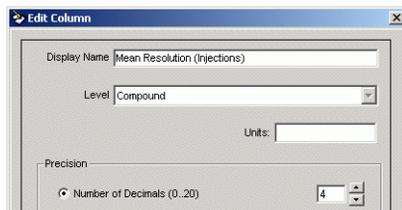
L'area di lavoro contiene ora una colonna con le risoluzioni dei picchi per ogni iniezione di ciascun componente.

Esercizio avanzato n. 8 Impostazione di un identificatore di gruppo con calcoli di system suitability

Fasi

Istruzioni dettagliate

- 2 **Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo per la media delle risoluzioni del picco per iniezioni ripetute.**
 - a Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu contestuale. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
 - b Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
 - c Inserire **Mean Resolution (Injections)** nel campo **Display Name**.
 - d In **Level** fare clic sulla freccia rivolta verso il basso e selezionare **Compound**.
 - e Impostare **Number of Decimals** su 4.



L'area di lavoro contiene ora una colonna per la nuova variabile **Mean Resolution (Injections)**.

- 3 **Inserire la formula per la media delle risoluzioni per le iniezioni ripetute di ogni composto.**
 - a In ognuna delle righe relative alle variabili del composto della nuova colonna, inserire la formula per calcolare la media delle risoluzioni delle iniezioni ripetute.

Consiglio: utilizzare la sintassi `=AVERAGE(D10:D12)`.

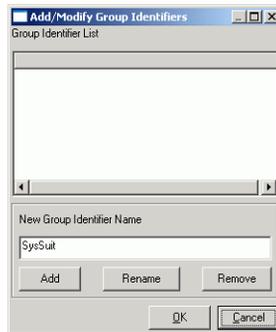
	A	B	C	D	E
1					New
2				Peak resolution USP	Mean Resolution (Injections)
3	-				
4	Multi-Injection Summary				
5	-	Multi Injection Variable			
6		Single Injection #1			
7		...			
8		Single Injection #n			
9	-	dimethylphthalate			2.0029
10		Single Injection #1			0.999
11		...			1.997
12		Single Injection #n			3.013
13	-	diethylphthalate			5.0156
14		Single Injection #1			4.016
15					4.973

Fasi

Istruzioni dettagliate

4 Sul foglio di lavoro relativo all'identificatore di gruppo aggiungere un nuovo identificatore per i campioni di system suitability.

- a** Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare **Add/Modify Group Identifiers** dal menu contestuale.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add/Modify Group Identifiers**.
- b** Inserire `SysSuit` nel campo **New Group Identifier Name** e fare clic su **Add**.



- c** Fare clic su **OK** per chiudere la finestra di dialogo **Add/Modify Group Identifiers**.

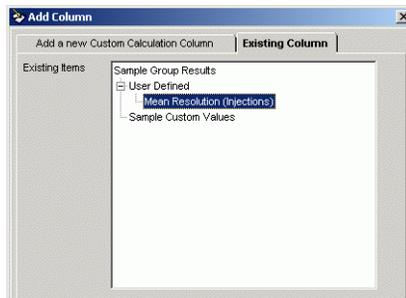
L'area di lavoro ora contiene nuovi gruppi di linee in ogni sezione di **Group Identifier SysSuit**.

Fasi

Istruzioni dettagliate

5 Sul foglio di lavoro relativo all'identificatore di gruppo aggiungere una colonna che contenga la risoluzione media di ogni componente.

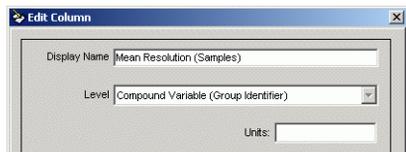
- a Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu contestuale. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- b Nella scheda **Existing Column** espandere la sezione **User Defined** e selezionare **Mean Resolution (Injections)**. Fare clic su **OK** per chiudere la finestra di dialogo.



L'area di lavoro contiene ora una colonna con le risoluzioni dei picchi media per ogni componente. Ricordare che il foglio di lavoro imposta gli identificatori di sotto-gruppo per ogni componente; questo esercizio non utilizza identificatori di sotto-gruppo, quindi solo i numeri che interessano si trovano in **Sub group identifier #1** in tutti i casi. Per semplificare il foglio di lavoro, è possibile eliminare le righe ... e **Sub group identifier #2** per ogni composto.

6 Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo per la media delle risoluzioni del picco per diversi campioni.

- a Fare clic nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu contestuale. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- b Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
- c Inserire **Mean Resolution (Samples)** nel campo **Display Name**.
- d In **Level**, fare clic sulla freccia rivolta verso il basso e selezionare **Compound Variable (Group Identifier)**.



L'area di lavoro contiene ora una colonna per la nuova variabile **Mean Resolution (Samples)**.

Fasi

Istruzioni dettagliate

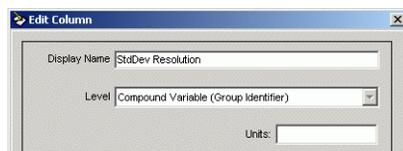
7 Inserire la formula per la media delle risoluzioni per le iniezioni ripetute di ogni composto.

- a** Nella riga **SysSuit** della nuova colonna relativa al dimetilftalato, inserire la formula per calcolare la media delle risoluzioni dei campioni.
Consiglio: utilizzare la sintassi =AVERAGE(F22:F24).
- b** Estendere la selezione per inserire anche le righe SysSuit per ogni composto nella colonna **Mean Resolution (Samples)**.
Consiglio: tenere premuto il tasto sinistro del mouse durante la selezione delle celle.
- c** Fare clic con il tasto destro del mouse nel foglio di lavoro e selezionare **Fill Down** dal menu contestuale.
La formula viene copiata in ognuna delle celle disponibili.

	A	B	C	D	E	F	G
1							New
2						Mean Resolution (Injections)	Mean Resolution (Samples)
3	-						
4		Group Identifier					
5	-	Sample Group Variable					
6	+	SysSuit					
19	-	dimethylphthalate					
20	-	SysSuit					3.01
21	-	Sub group identifier #1					
22		Sample #1				1.0045	
23		..				3.0061	
24		Sample #n				5.0059	
25	+	...					
29	+	Sub group identifier #n					
33	-	diethylphthalate					
34	-	SysSuit					21.02
35	-	Sub group identifier #1					
36		Sample #1				19.0641	
37						20.9890	

8 Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo della deviazione standard delle risoluzioni di media.

- a** Fare clic con il tasto destro del mouse nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu contestuale.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- b** Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
- c** Inserire `StdDev Resolution` nel campo **Display Name**.
- d** In **Level** fare clic sulla freccia rivolta verso il basso e selezionare **Compound Variable (Group Identifier)**.



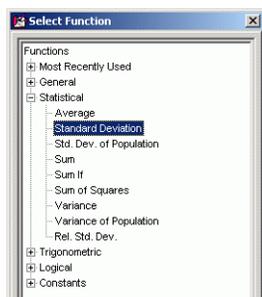
L'area di lavoro contiene ora una colonna per la nuova variabile **StdDev Resolution**.

Fasi

Istruzioni dettagliate

9 Inserire la formula della deviazione standard delle risoluzioni di media.

- a Selezionare la riga **SysSuit** della nuova colonna per il dimetilftalato, quindi fare clic con il tasto destro del mouse nel foglio di lavoro e selezionare **Select Function** dal menu contestuale.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Select Function**.
- b Espandere la sezione **Statistical** e selezionare **Standard Deviation**, quindi fare clic su **Select**.



La funzione **STDEV** viene copiata nella cella selezionata.

- c Aggiungere i riferimenti della cella per il calcolo della deviazione standard.
La sintassi è =STDEV(F22:F24).
- d Riempire la colonna con il nuovo calcolo.

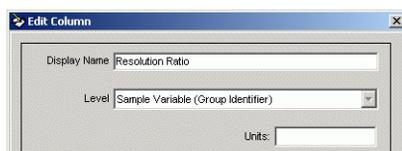
	A	B	C	D	E	F	G	H
1							New	New
2						Mean Resolution (Injections)	Mean Resolution (Samples)	StdDev Resolution
3	-							
4		Group Identifier						
5	-	Sample Group Variable						
6	+	SysSuit						
19		dimethylphthalate						
20	-	SysSuit					3.01	2.00
21	-	Sub group identifier #1						
22		Sample #1				1.0045		
23						3.0061		
24		Sample #n				5.0059		
25	+							
29	+	Sub group identifier #n						
53		diethylphthalate						
54	-	SysSuit					21.02	1.98
95	-	Sub group identifier #1						
96		Sample #1				19.0641		

Fasi

Istruzioni dettagliate

10 Aggiungere una colonna per contenere il nuovo calcolo da utilizzare in system suitability.

- a Fare clic con il tasto destro del mouse nel foglio di lavoro e selezionare **Add Column** dal menu contestuale.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Add Column**.
- b Fare clic sulla scheda **Add a New Custom Calculation Column**.
- c Inserire **Resolution Ratio** nel campo **Display Name**.
- d In **Level** fare clic sulla freccia rivolta verso il basso e selezionare **Sample Variable (Group Identifier)**.



L'area di lavoro contiene ora una colonna per la nuova variabile **Resolution Ratio**.

11 Inserire la formula per il rapporto di risoluzione.

- a Nella riga **SysSuit** della nuova colonna di **Sample Group Variable** inserire la formula per il calcolo del rapporto fra la risoluzione del picco di o-terfenile e quella del picco di dimetifalato.

Consiglio: utilizzare la sintassi =G62/G20.

		I6 =G62/G20						
A	B	C	D	E	F	G	H	I
1					Mean	New	New	New
2					Resolution	Resolution	StuDev	Resolution
3					(Injections)	(Samples)	Resolution	Ratio
4								
5								
6								18.95
19								
20						3.01	2.00	
21								
22					1.0045			
23					3.0061			
24					5.0059			
25								
29								
33								
34						21.02	1.98	
35								
36					19.0641			

Operazione 3. Impostare le condizioni limite

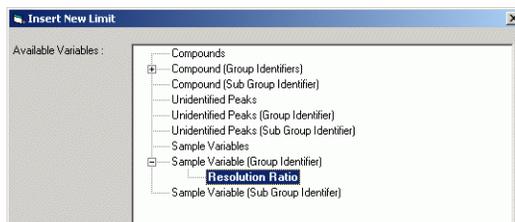
Fasi

Istruzioni dettagliate

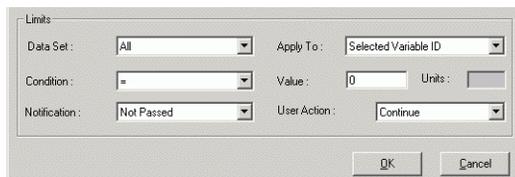
1 Nel pannello Group Identifier Limits, aggiungere un controllo di limite di system suitability.

- Se il rapporto è superiore a 0,9, il controllo è stato superato; quindi continuare l'analisi.

- a** Nella cartella **Data Analysis** selezionare la voce **Limits**.
- b** Nel pannello Limits fare clic sulla scheda **Group Identifier**.
- c** Fare clic con il tasto destro del mouse sul titolo della tabella e selezionare **Insert new limit** dal menu contestuale.
Viene visualizzata la finestra di dialogo **Insert new limit**.
- d** Espandere la sezione **Sample Variable (Group Identifier)** e selezionare **Resolution Ratio**.



- e** Nel gruppo Limits impostare i parametri che seguono:
- **Data Set: SysSuit**
 - **Apply To: Selected Variable ID**
 - **Condition: >**
 - **Value: 0.9**
 - **Notification: Passed**
 - **User Action: Continue**



- f** Fare clic su **OK** per aggiungere il nuovo controllo di limite alla tabella.

Fasi

Istruzioni dettagliate

2 Aggiungere due ulteriori controlli di limite di system suitability.

- Se il rapporto è superiore a 0,8 (ma inferiore a 0,9), creare un'avvertenza, ma continuare l'analisi.
- Se il rapporto è inferiore a 0,8, il controllo non è stato superato; quindi interrompere l'analisi.

a Per ogni controllo di limite, visualizzare la finestra di dialogo **Insert new limit**, espandere la sezione **Sample Variable (Group Identifier)** e selezionare **Resolution Ratio**.

b Impostare i parametri come segue:

- **Data Set: SysSuit**
- **Apply To: Selected Variable ID**
- **Condition: >**
- **Value: 0.8**
- **Notification: Warning**
- **User Action: Continue**

e

- **Data Set: SysSuit**
- **Apply To: Selected Variable ID**
- **Condition: <**
- **Value: 0.8**
- **Notification: Not Passed**
- **User Action: Abort**

Limit Options for:							
Single Injection	Multi Injection	Summary Groups	Group Identifier				
Header	Units	Data Set	Apply To	Condition	Value	Notification	User Action
Resolution Ratio			Selected Variable ID	<	0.75	Not Passed	Abort
Resolution Ratio			Selected Variable ID	>	0.8	Warning	Continue
Resolution Ratio			Selected Variable ID	>	0.9	Passed	Continue

Operazione 3. Identificare i campioni di system suitability nella tabella di sequenza

Fasi	Istruzioni dettagliate
1 Se necessario preparare una sequenza per il metodo.	a Vedere "Operazione 1. Creare una nuova sequenza" a pagina 33.
2 Inserire campioni nella tabella Sequence.	a Vedere "Operazione 2. Inserire informazioni su campione e sequenza" a pagina 34.
3 Identificare i campioni di system suitability nella tabella di sequenza.	<p>a Selezionare i campioni di system suitability nella tabella di sequenza</p> <p>b Nella scheda Sample Entry dell'area di lavoro fare clic sulla scheda Calculations.</p> <p>c Fare clic sulla freccia rivolta verso il basso accanto a Group Identifier e selezionare SysSuit dall'elenco.</p>

The screenshot shows the 'Sample Entry' dialog box with the 'Calculations' tab selected. The 'Group Identifier' dropdown menu is open, showing 'SysSuit' as the selected option. Other fields include 'Sample Name' (1), 'Sample Type' (Sample), 'Vial Number' (1), 'Injections' (1), 'Volume [µl]' (as method), 'Stop Time' (as method), and 'Sub Group Identifier' (empty). There are also buttons for 'New Sub Group Identifier' and 'New Group'.

Il nome dell'identificatore di gruppo viene aggiunto nella colonna **Group Identifier** della tabella di sequenza. I campioni identificati con questo nome verranno usati nel foglio di lavoro relativo ai calcoli personalizzati e nei controlli di limite.

www.agilent.com

In questo volume

La Guida introduttiva è una raccolta di esercizi di base ed avanzati che consentono di apprendere in modo rapido le applicazioni del sistema NDS Cerity per QA/QC in campo farmaceutico.

Gli esercizi sono suddivisi in due gruppi:

Gli esercizi di **esecuzione di analisi di routine** aiutano i tecnici di laboratorio ad apprendere l'analisi di campioni di base.

Gli esercizi di **impostazione dei metodi** saranno invece utili ai chimici per individuare le metodologie più adatte al proprio laboratorio.

© Agilent Technologies Deutschland GmbH 2003

Stampato in Germania
12/2003



G4000-94012



Agilent Technologies