



OpenLab CDS ChemStation Edition

Concetti e flussi di lavoro

Informazioni legali

Codice del manuale

M8301-94019 Rev. C
Edizione 04/2019

Stampato in Germania

Copyright

© Agilent Technologies, Inc. 2010-2019

Nessuna parte di questo manuale può essere riprodotta in alcun formato o con alcun mezzo (inclusa l'archiviazione e la scansione elettronica 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.

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Revisione del software

Questa guida si riferisce alla versione C.01.10 di OpenLab CDS ChemStation Edition.

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 altra garanzia, esplicita o implicita, comprese le garanzie implicite di commerciabilità ed idoneità ad uno uso specifico, 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 tra 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 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.

In questo manuale...

Questa guida descrive i concetti di Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition. Nel seguito il termine ChemStation si riferisce sempre ad Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition.

Nel presente manuale viene descritto come utilizzare al meglio le funzioni di acquisizione e analisi dei dati e stesura di report in OpenLab CDS ChemStation Edition C.01.10 per incrementare la produttività del proprio laboratorio.

Tabella 1 Termini e abbreviazioni utilizzati in questo documento

| Termine | Descrizione |
|------------------------------------|--|
| AIC | Unità di controllo dello strumento analitico Agilent |
| CDS | Sistema di gestione dati cromatografici |
| ChemStation | OpenLab CDS ChemStation Edition |
| Pannello di controllo | Pannello di controllo di OpenLab |
| Pannello di controllo di Microsoft | Parte del sistema operativo di Microsoft Windows |
| Secure Workstation | Secure Workstation per OpenLab CDS ChemStation Edition |

1 Concetti di base su OpenLab CDS ChemStation Edition

Nel presente capitolo sono illustrati i principi dell'utilizzo di ChemStation, inclusi il controllo remoto, l'interfaccia grafica e le viste di ChemStation.

2 Utilizzo dei metodi

I metodi sono elementi cardine di ChemStation e nel presente capitolo ne sono illustrati in dettaglio i concetti.

3 Acquisizione dei dati

Nel presente capitolo è riportata un'introduzione al processo di acquisizione dei dati.

4 Automazione/sequenze

Nel presente capitolo sono descritti i concetti relativi all'automazione. In particolare, è spiegato come utilizzare le sequenze con ChemStation, cosa accade quando si esegue una sequenza e come personalizzare le sequenze.

5 Controllo delle analisi

Nel presente capitolo sono illustrati i concetti Run Queue e Queue Planner. Viene descritto come aggiungere singoli campioni, sequenze, pause o comandi a Run Queue. Viene inoltre descritto Command Scheduler, che consente di pianificare eventi per semplificare le attività quotidiane di laboratorio.

6 Concetti relativi ad analisi e revisione dei dati

Con OpenLab CDS ChemStation Edition è possibile analizzare e revisionare i dati. Nel presente capitolo sono descritte le opzioni di analisi e revisione dei dati di ChemStation.

7 Calibrazione

Questo capitolo descrive i concetti relativi alla calibrazione.

8 Stesura di report

Questo capitolo descrive i concetti di Intelligent Reporting e di Classic Reporting.

9 Concetti e funzioni specifici per CE

Questo capitolo è pertinente solo se si utilizza ChemStation per controllare gli strumenti CE.

Sommario

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Concetti di base su OpenLab CDS ChemStation Edition | 8 |
| | Introduzione | 9 |
| | Informazioni sul software ChemStation | 10 |
| | Struttura di dati della ChemStation | 39 |
| | Controllo remoto degli strumenti | 43 |
| 2 | Utilizzo dei metodi | 46 |
| | Che cos'è un metodo? | 47 |
| | Parti di un metodo | 49 |
| | Creazione di metodi | 51 |
| | Modifica dei metodi | 52 |
| | Amministrazione dei metodi | 56 |
| | Che cosa accade quando si esegue un metodo? | 63 |
| 3 | Acquisizione dei dati | 70 |
| | Che cosa si intende per acquisizione dei dati? | 71 |
| | Monitor in linea | 73 |
| | Registro elettronico | 74 |
| | Informazioni sullo stato | 75 |
| | Regole e avvisi | 77 |
| 4 | Automazione/sequenze | 78 |
| | Che cos'è l'automazione? | 80 |
| | Che cosa sono le sequenze e i modelli di sequenze? | 80 |
| | Parametri della sequenza | 81 |
| | Immissione dei campioni per via grafica | 82 |
| | Tavola di sequenza | 86 |
| | Easy Sequence | 91 |
| | Utilizzo delle sequenze (sequenze e modelli di sequenza) | 95 |
| | File di registrazione della sequenza | 108 |

| | | |
|----------|--|------------|
| | Cosa succede quando si esegue una sequenza? | 109 |
| | Struttura del file di dati della sequenza | 111 |
| | Funzionamento post-sequenza | 119 |
| | Ricalibrazione automatica | 121 |
| | Come specificare le ricalibrazioni | 122 |
| | Tipi di sequenze | 125 |
| 5 | Controllo delle analisi | 138 |
| | Informazioni sulla coda di analisi | 139 |
| | Utilizzo di Run Queue | 141 |
| | Utilizzo di Queue Planner | 145 |
| | Pianificazione di comandi | 146 |
| 6 | Concetti relativi ad analisi e revisione dei dati | 148 |
| | Analisi dei dati | 149 |
| | Revisione | 163 |
| 7 | Calibrazione | 166 |
| | Definizione dei termini | 167 |
| | Tipi di calibrazione | 168 |
| | La tavola di calibrazione | 175 |
| | Somma dei picchi | 176 |
| | Gruppi di composti | 177 |
| | Campioni incogniti | 178 |
| | Ricalibrazione | 179 |
| 8 | Stesura di report | 182 |
| | Che cos'è un report? | 183 |
| | Classic Reporting e Intelligent Reporting | 187 |
| | Intelligent Reporting | 188 |
| | Classic Reporting | 195 |

9 Concetti e funzioni specifici per CE 203

Funzioni specifiche della ChemStation Agilent per CE nella finestra di controllo del metodo e dell'analisi 204

Tipo di apice 207

Tipi di calibrazione 208

CE-MS 211

Sottodirectory dei metodi per modalità CE diverse 212

1

Concetti di base su OpenLab CDS ChemStation Edition

| | |
|---|----|
| Introduzione | 9 |
| Informazioni sul software ChemStation | 10 |
| Integrità dei dati | 10 |
| Memorizzazione centralizzata dei dati | 10 |
| Metodi e sequenze | 11 |
| Configurazione del sistema | 11 |
| Acquisition Method Viewer | 12 |
| Opzioni di scaricamento dei metodi | 12 |
| Modello di dati | 13 |
| Convenzioni per la denominazione dei file | 13 |
| Interfaccia software per l'utente | 16 |
| Acquisizione dei dati | 18 |
| Blocco del tempo di ritenzione | 19 |
| Analisi dei dati | 20 |
| Report | 24 |
| Esportazione e importazione di dati | 25 |
| Personalizzazione | 25 |
| Automazione | 29 |
| Run Queue e Queue Planner | 30 |
| Posizioni del campione | 31 |
| Buone pratiche di laboratorio | 33 |
| Cromatografia liquida preparativa | 36 |
| Struttura di dati della ChemStation | 39 |
| Secure Workstation | 42 |
| Controllo remoto degli strumenti | 43 |

Nel presente capitolo sono illustrati i principi dell'utilizzo di ChemStation, inclusi il controllo remoto, l'interfaccia grafica e le viste di ChemStation.

Introduzione

OpenLab CDS ChemStation Edition fornisce un controllo completo della strumentazione Agilent LC, GC, CE, CE-MS e LC-MS. Fornisce strumenti per l'acquisizione, l'analisi e l'interpretazione dei dati tramite un controllo strumentale valido per più tecniche e per sistemi di diversi fornitori. Avviare il software per cromatografia dal pannello di controllo di OpenLab, da cui si accede a tutte le funzioni fornite da OpenLab Shared Services.

Informazioni sul software ChemStation

Integrità dei dati

I file di ChemStation (come dati, metodi e sequenze) vengono archiviati in varie cartelle locali. Per garantire l'integrità dei dati, ChemStation offre la funzione *Secure File I/O*. Se si abilita questa funzione, tutte le cartelle saranno protette dalle modifiche provenienti dall'esterno della ChemStation o eseguite nelle finestre di dialogo **Open** e **Save As**.

Per ulteriori informazioni, consultare il capitolo *Protezione delle cartelle con Secure File I/O* nella *Guida alla configurazione di OpenLab CDS ChemStation Edition* (CDS_CS_configure.pdf).

Memorizzazione centralizzata dei dati

Un sistema di archiviazione centrale dei dati può contenere tutti i tipi di dati elettronici indipendentemente dai formati proprietari dei dati. I dati grezzi della ChemStation (e altri documenti in forma leggibile esplicita, come le cartelle di lavoro) sono memorizzati insieme ai *metadati*; ciò permette di eseguire molto facilmente ricerche sui dati. I metodi, i modelli di sequenza, i modelli di report e i file di dati della ChemStation (sequenze e singole analisi) possono essere caricati nell'archivio centralizzato ed essere scaricati nuovamente nella ChemStation se e quando richiesto.

Agilent fornisce due sistemi per l'archiviazione centrale dei dati:

- *OpenLab Server* è disponibile come soluzione per server singolo mirata alla gestione centralizzata dei dati per laboratori di piccole e medie dimensioni con un massimo di 30 strumenti. Assicura la sicurezza necessaria ai fini del rispetto della conformità alle normative. Vedere la documentazione di OpenLab Server per ulteriori informazioni.
- *OpenLab ECM* è disponibile come soluzione distribuita per più server o per server singolo mirata alla gestione completa dei dati per i laboratori dotati di un numero contenuto di strumenti o di centinaia di strumenti. Anche questa soluzione assicura la sicurezza necessaria ai fini del rispetto della conformità alle normative. Vedere la documentazione di OpenLab ECM per ulteriori informazioni.

Per ulteriori informazioni sui concetti relativi a ChemStation con archiviazione centrale dei dati, fare riferimento a *Manuale per l'utente di Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition con archiviazione centrale dei dati*.

Con Secure Workstation per OpenLab CDS ChemStation Edition, ChemStation e OpenLab Server con il rispettivo modulo Gestione contenuti vengono installati insieme su un unico computer workstation. Per ulteriori informazioni su Secure Workstation, fare riferimento alla *Guida alla Secure Workstation for OpenLab CDS ChemStation Edition*.

Metodi e sequenze

Il metodo analitico descrive completamente come viene eseguita una determinata separazione. Contiene tutti i parametri necessari per il controllo dello strumento, l'acquisizione e la valutazione dei dati, comprese l'integrazione, la quantificazione e la stesura di report. Il sistema può essere configurato per acquisire dati provenienti dall'analisi di più campioni utilizzando metodi diversi. Il file di controllo per questo tipo di operazione è noto con il nome di sequenza. Contiene tutte le informazioni sui singoli campioni, i riferimenti ai metodi adatti, le specifiche per la ricalibrazione automatica e le istruzioni per la stesura di un report di riepilogo per tutte le analisi incluse nella sequenza. Per ulteriori informazioni su metodi e sequenze, vedere [“Automazione/sequenze”](#), pagina 78 e la guida in linea.

Configurazione del sistema

La configurazione del sistema dello strumento viene effettuata tramite il pannello di controllo di OpenLab, che avvia il programma per la modifica della configurazione. Tale programma consente di definire gli strumenti, i rispettivi indirizzi LAN, le directory per i dati, le sequenze e i metodi nonché le dimensioni della schermata iniziale del software ChemStation. Inoltre, è possibile attivare o disattivare le funzioni Intelligent Reporting e 3D Spectral Evaluation e definire le opzioni per scaricare i metodi.

Acquisition Method Viewer

Acquisition Method Viewer consente di controllare i parametri di acquisizione memorizzati in un metodo, indipendentemente dalla configurazione corrente dello strumento. È possibile scegliere di applicare il metodo allo strumento nella sua versione originale oppure di risolvere il metodo rispetto alla configurazione corrente dello strumento.

Opzioni di scaricamento dei metodi

Le opzioni di scaricamento dei metodi definiscono il comportamento di ChemStation se l'ultimo metodo selezionato dalla sessione precedente dello strumento è diverso dalle impostazioni correnti dello strumento. È possibile scegliere tra le seguenti opzioni:

- **Download method to instrument**

Sullo strumento viene scaricato l'ultimo metodo selezionato. Le impostazioni dello strumento verranno sovrascritte. Questo comportamento corrisponde a ChemStation versione C.01.03 o precedente.

- **Upload method from instrument**

Le impostazioni dello strumento vengono caricate nell'ultimo metodo selezionato. Il metodo verrà contrassegnato come modificato.

- **New method from instrument**

Le impostazioni dello strumento vengono caricate in un metodo appena creato sulla ChemStation.

- **Always ask user to choose an option**

All'avvio della ChemStation viene visualizzata una finestra di dialogo in cui è possibile selezionare una delle opzioni sopra descritte. In questa finestra di dialogo è anche possibile confrontare le impostazioni dello strumento per ogni modulo con le impostazioni nell'ultimo metodo selezionato.

Nel confronto è possibile visualizzare l'intero elenco delle impostazioni oppure solo le differenze.

Modello di dati

Il software della ChemStation è progettato su un modello dati basato su una struttura di memoria chiamata registro. Si tratta di strutture a scopo multiplo contenenti dati analitici ed informazioni bidimensionali (es. tempo/intensità) e tridimensionali (tempo/intensità/lunghezza d'onda).

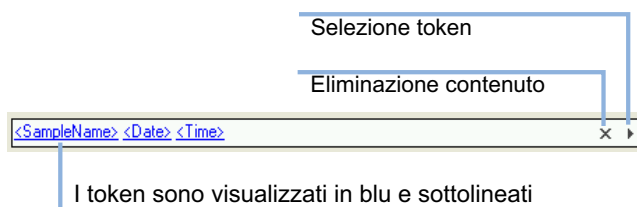
ChemStation fornisce comandi e funzioni per costruire, espandere, estrarre e, laddove non alteri dati primari, modificare registri. Per ulteriori informazioni, consultare il riferimento in di ChemStation sotto **Help > Commands**.

Convenzioni per la denominazione dei file

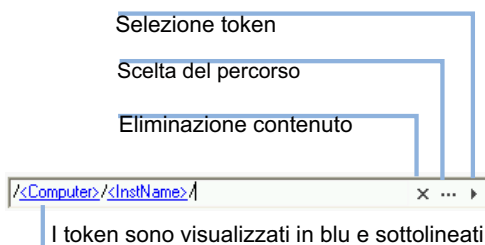
Nomi dei file e token

Nella maggior parte delle finestre di dialogo della ChemStation in cui si inserisce un percorso o un nome di file, è possibile utilizzare i token per generare dinamicamente nomi appropriati. Sono disponibili token diversi in base al nome del file o al percorso impostato in una specifica finestra di dialogo. Nelle seguenti finestre vengono utilizzati alcuni token come esempi.

Il controllo dei nomi dei file è il seguente:





Il controllo dei nomi di percorso è il seguente:



In ogni finestra di dialogo corrispondente viene visualizzato anche il nome del file o il percorso risultante.

Per questo tipo di campi sono disponibili le seguenti opzioni:

- Aggiunta di testo statico.
- Fare clic sul pulsante freccia () per selezionare un token dalla lista. Premere il pulsante **Freccia giù** per selezionare un token dall'elenco.
- Fare clic con il pulsante destro del mouse su uno dei token già utilizzati per sostituirlo con un altro dell'elenco.
- Fare clic sul pulsante X per eliminare il contenuto corrente del campo.
- Fare clic sul pulsante con i tre puntini () per passare al percorso richiesto.

Convenzioni di denominazione

Usare esclusivamente i seguenti caratteri per le voci di ChemStation come nomi dei file o delle directory, nomi dei modelli di sequenza o nomi dei metodi di ChemStation:

A-Z, a-z, 0-9, _ (carattere di sottolineatura), - (trattino)

Verificare che nei nomi non siano presenti spazi vuoti iniziali o finali. Non sono consentiti, ma sono facilmente controllabili.

NOTA

Se si usano token, i nomi dei file o i nomi delle directory vengono creati automaticamente in base a informazioni quali nomi degli strumenti, nomi degli operatori o nomi dei campioni. Verificare che tali nomi seguano la stessa convenzione di denominazione.

NOTA

I nomi dei file creati automaticamente possono includere caratteri specifici riferiti alla posizione degli iniettori frontale e posteriore. Questi caratteri possono essere localizzati. Sono validi anche se non fanno parte dei caratteri sopra elencati.

I seguenti nomi riservati di dispositivi non possono essere utilizzati come nomi di file. Tali nomi non devono essere utilizzati neppure se seguiti da un'estensione (ad esempio Nul.txt):

- CON, PRN, AUX, NUL
- COMx (in cui x è un numero compreso tra 1 e 9)
- LPT1x (in cui x è un numero compreso tra 1 e 9)

NOTA

Per il test delle convenzioni di denominazione sono stati utilizzati sistemi operativi in lingua inglese, giapponese e cinese. Agilent non fornisce alcuna garanzia relativamente ai sistemi operativi in lingue diverse dall'inglese e ai corrispondenti caratteri speciali.

Lunghezza massima dei nomi di file e di sottodirectory della ChemStation

Di seguito sono riportate le specifiche della ChemStation Agilent per i nomi di file e di sottodirectory:

Tabella 2 Lunghezza massima dei nomi di file e sottodirectory ChemStation

| File di dati/sottodirectory/percorso | Lunghezza massima | Aggiunta autom. | Esempio |
|---|-------------------|-----------------|--|
| Nome file di dati di campione singolo | 60 | .D | Demodad.d |
| Nomi file di dati in sequenza, con prefisso/carattere a scalare | 60 | .D | longname000001.d |
| Nome file di dati in una sequenza, utilizzando un modello di nome | 60 | .D | 05-1-sampleA.d |
| Metodo | 60 | . M | def_lc.m |
| Sequenza | | . S | def_lc.s |
| Librerie | | . UVL | demodad.uvl |
| Modelli di report personalizzati | | . FRP | areapct.frp |
| Sottodirectory dei file di dati | 40 | | demo (nelle informazioni campione) |
| Sottodirectory della sequenza dati | 40 | | demo (in parametri di sequenza) |
| Percorso dati | 149 | | C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\data |
| Percorso metodo | | | C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\methods |
| Percorso sequenza | | | C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1\sequence |
| Percorso librerie | | | C:\Users\Public\Documents\ChemStation\speclib |
| Percorso modello di report personalizzato | | | C:\Users\Public\Documents\ChemStation\repstyle |

Tutti i messaggi del sistema di report dei registri elettronici della ChemStation in formato esteso e le stringhe informative vengono stampati su più righe. Alcuni report, come il report di sequenza, possono tagliare i nomi dei file per permettere l'inserimento di tutte le informazioni nel modello di report.

Tutti i percorsi hanno un limite di 260 caratteri imposto dal sistema operativo Windows. Alcuni dei caratteri vengono utilizzati in maniera nascosta dal sistema operativo. Pertanto può essere necessario usare nomi più brevi anche quando tutte le specifiche sopra elencate sono rispettate.

Interfaccia software per l'utente

L'interfaccia utente della ChemStation è suddivisa in finestre che raggruppano le funzionalità software in processi analitici tipo. Le seguenti finestre standard sono disponibili in tutte le configurazioni software:

- vista Controllo del metodo e delle analisi, per controllare e acquisire dati dallo strumento
- vista Analisi dei dati, per rivalutare i dati acquisiti
- vista Revisione, per esaminare i dati usando modelli di report specifici
- vista Layout report, per creare layout particolari per i report

Sono disponibili anche altre finestre con i moduli di valutazione dati o per configurazioni degli strumenti che supportano sistemi di diagnostica e procedure di verifica.

Il riquadro di navigazione contiene i tasti di navigazione che consentono di passare rapidamente dalle finestre della ChemStation a ChemStation Explorer strutturato ad albero. I contenuti di ChemStation Explorer dipendono dalle finestre e consentono l'accesso a diversi elementi della ChemStation.

Ciascuna finestra contiene elementi standard per l'utilizzatore come menu e barre degli strumenti. La barra degli strumenti standard consente di accedere rapidamente a informazioni specifiche del sistema, come metodi e sequenze. La finestra **Method and Run Control** contiene anche una barra di stato relativa al sistema, un'area di informazioni sul campione che può essere configurata per analisi singole o automatizzate, e un diagramma schematico di interfaccia per le configurazioni GC, CE e LC. Il diagramma utilizza elementi grafici interattivi per consentire un accesso rapido ai parametri dello strumento e consente la visualizzazione grafica animata dello stato di ciascuna analisi durante il suo svolgimento. Il diagramma schematico dello strumento può essere disattivato, se inutilizzato, per ridurre l'utilizzo della memoria e delle altre risorse di Windows.

La scheda **Run Queue** anch'essa integrata in questa finestra mostra tutte le sequenze, i campioni e i comandi che sono pianificati per lo strumento e permette di organizzare ed elaborare questo carico di lavoro (vedere "Utilizzo di Run Queue", pagina 141).

La finestra **Data Analysis** estende la barra di strumenti standard a modalità specifiche dell'analisi dei dati, comprendenti ricalcolo, rielaborazione, integrazione, calibrazione, stesura di report, annotazione, comparazione di segnali e altre modalità aggiuntive specializzate, se sono installati i relativi moduli. Ciascuna di queste modalità di analisi dei dati è supportata da un set di strumenti specifico.

La vista **Review** è disponibile quando si seleziona Intelligent Reporting per uno strumento. Questa vista permette di esaminare i dati in modo molto flessibile. È possibile selezionare qualsiasi combinazione di file di dati come base per la revisione, quindi applicare qualsiasi modello di report esistente ai dati selezionati. Il modello di report selezionato definisce il modo in cui vengono visualizzati i dati e il tipo di informazioni incluse nel report generato. La barra degli strumenti fornisce funzioni di stampa ed esportazione dei report generati.

La vista **Report Layout** permette di definire il layout di un modello di report specifico o di uno stile di report. Utilizza anche un set di barre di strumenti specifiche. Il tipo dell'editor di modelli di report visualizzato in questa vista dipende dal tipo dei report configurati per lo strumento. È possibile usare Classic Reporting o Intelligent Reporting (vedere "Stesura di report", pagina 182).

Riquadro di navigazione

Il riquadro di navigazione, disponibile nella parte sinistra di tutte le finestre della ChemStation, è progettato per consentire un rapido accesso a molti elementi chiave della ChemStation e per passare rapidamente ad altre finestre. Contiene ChemStation Explorer con struttura ad albero e un'area di pulsanti configurabili. Include anche la funzione di scomparsa automatica, in modo da non sottrarre spazio di lavoro alla ChemStation. Offre inoltre funzioni standard quali il ridimensionamento, la ridisposizione e l'area dei pulsanti di navigazione.

Pulsanti di navigazione

I pulsanti di navigazione consentono di passare da una finestra all'altra della ChemStation facendo clic sullo specifico pulsante di navigazione. La sezione Navigation Button (Pulsante di navigazione) può essere ridotta a icona, ingrandita o ridisposta.

ChemStation Explorer

Il contenuto del riquadro di navigazione varia a seconda della finestra. Per Controllo del metodo e delle analisi, Analisi dei dati, Revisione e Layout report, ChemStation Explorer consente di navigare in vari elementi della ChemStation. Per impostazione predefinita, questi elementi per dati, metodi e sequenze sono basati sulle impostazioni di Configuration Editor. È possibile specificare i nuovi nodi per metodi, sequenze e posizione dei dati utilizzando l'opzione "Preferenze" del menu Visualizza.

Tabella 3 Elementi del riquadro di navigazione

| Pulsanti di navigazione | Elementi di ChemStation Explorer |
|---|--|
| Method and Run Control (Controllo del metodo e delle analisi) | Modelli di sequenza / metodi master, metodi del set di risultati |
| Data Analysis (Analisi dei dati) | Dati / metodi master, metodi del set di risultati |
| Review (Revisione) | Dati / modelli di report |
| Report Layout (Layout del report) | Classic Reporting: metodi master Intelligent Reporting: modelli di report |
| Verification (Verifica): LC e LC/MS | Pulsanti di scelta rapida specifici per la vista Verification (Verifica) |
| Diagnosis (Diagnosi): LC/MS | Pulsanti di scelta rapida specifici per la vista Diagnosis (Diagnosi) |
| Tune (Regolazione): LC/MS | Pulsanti di scelta rapida specifici per la vista Tune (Regolazione) |

Acquisizione dei dati

Lo stato dello strumento viene tenuto sotto controllo e aggiornato sul display, insieme al tempo di svolgimento dell'analisi sia che il software appaia come finestra visibile sia che appaia sotto forma di icona. Le variazioni dell'analisi, compresi gli eventuali errori e le condizioni dello strumento all'inizio e alla fine dell'analisi, vengono riportate sul registro elettronico del sistema e un riassunto di quest'ultimo viene archiviato con ciascun file di dati.

Le condizioni dello strumento, come il flusso, la temperatura, la pressione e la composizione del solvente per i cromatografi liquidi, possono essere registrate e conservate in ogni file di dati. Questi parametri possono essere visualizzati e riportati in forma grafica per provare la qualità di ogni analisi. L'esatta natura dei parametri registrati dipende sia dalla tecnica sia dalle possibilità dello strumento configurato.

Tutte le acquisizioni di dati regolari (singoli campioni e sequenze) vengono innanzitutto aggiunte alla coda di analisi e avviate da qui. Per ulteriori informazioni, vedere "Informazioni sulla coda di analisi", pagina 139.

Possono essere utilizzate due o più finestre per monitorare i dati in fase di acquisizione in tempo reale. I dati vengono visualizzati in unità di misura reali come mAU, Volt, gradi o bar. Ognuna delle finestre può mostrare segnali cromatografici/elettroferografici sovrapposti o parametri dello strumento, come la pressione. Le impostazioni predefinite della visualizzazione possono essere regolate e memorizzate dal sistema in modo che gli utenti possano impostare i parametri che preferiscono come impostazioni predefinite dello strumento. La finestra ha capacità di ingrandimento e il cursore può essere utilizzato per visualizzare la risposta di un segnale specifico in qualsiasi punto.

Durante un'analisi, è possibile sfruttare appieno la funzionalità di ChemStation utilizzando la copia non in linea. Durante l'acquisizione, la parte di analisi dei dati della sessione in linea di uno strumento non è accessibile e la revisione dei dati deve essere eseguita nella copia non in linea.

È disponibile una funzione di "snapshot" per quegli utenti che desiderano avviare l'elaborazione dei dati prima della fine dell'analisi. Lo snapshot deve essere effettuato nella copia non in linea delle sessioni dello strumento ed è immediatamente presente per la revisione.

La disposizione delle finestre contenenti informazioni relative al segnale e allo stato, compresi i componenti dell'interfaccia schematica dello strumento, viene salvata automaticamente.

Per ulteriori informazioni sull'acquisizione dei dati, consultare il Capitolo "Acquisizione dei dati", pagina 70 oppure la Guida in linea.

Blocco del tempo di ritenzione

Il tempo di ritenzione è la misura qualitativa fondamentale della cromatografia. Nella maggior parte dei casi, l'identificazione del picco viene eseguita confrontando il tempo di ritenzione del picco della sostanza incognita con quello di uno standard. L'identificazione dei picchi e la validazione dei metodi è molto più semplice se il tempo di ritenzione di ciascun analita non varia. Tuttavia, variazioni del tempo di ritenzione si verificano con una certa frequenza. Procedure di manutenzione di routine, quali l'accorciamento della colonna, alterano i tempi di ritenzione. In un laboratorio dotato di più strumenti in cui si eseguono metodi duplicati, i tempi di ritenzione registrati sui vari strumenti possono differire tra loro, anche se acquisiti in presenza di condizioni

nominalmente identiche. Tali differenze nei tempi di ritenzione rendono necessaria almeno una ricalibrazione con aggiornamento del tempo di ritenzione e possono implicare la necessità di disporre di una tavola degli eventi di calibrazione e integrazione distinta per ciascuna sessione di uno strumento, cosa che allunga i tempi del trasferimento dei metodi tra sistemi diversi. A causa delle differenze nel tempo di ritenzione, il confronto tra i dati ottenuti da strumenti diversi nel corso del tempo può non essere immediato.

Il blocco del tempo di ritenzione (RTL) permette una stretta corrispondenza tra i tempi di ritenzione ottenuti su sistemi GC diversi che utilizzano lo stesso tipo nominale di colonna (ossia fase stazionaria, diametro della colonna, lunghezza e rapporto delle fasi [spessore del film] identici). Utilizzando la calibrazione di tempo di ritenzione/pressione ottenuta dall'impostazione iniziale del blocco del tempo di ritenzione, la funzione RTL determina il nuovo valore della pressione in ingresso necessario per aggiornare (bloccare su un nuovo valore) la pressione in ingresso del metodo GC in caso di spostamento del picco di un analita. A questo punto il metodo *bloccato* può essere caricato su un altro sistema GC per aggiornare la pressione in ingresso in modo che i tempi di ritenzione corrispondano.

Analisi dei dati

Analisi dei dati – Opzioni

L'analisi dei dati "classica" è una funzionalità inclusa in ChemStation. Una panoramica è fornita nelle pagine che seguono. Per ulteriori informazioni dettagliate vedere "Analisi dei dati", pagina 149.

Analisi dei dati – Visualizzazione

La vista ChemStation Data Analysis amplia la barra degli strumenti standard integrando funzioni di analisi dei dati raggruppate per attività tra cui ricalcolo, rielaborazione, integrazione, calibrazione, redazione di report, annotazione e confronto dei segnali. È possibile eseguire le seguenti operazioni grafiche importanti:

- visualizzazione di segnale singolo o multiplo selezionabile quando si carica il cromatogramma o l'elettroferogramma;
- sovrapposizione di cromatogrammi/elettroferogrammi di campioni diversi;
- sottrazione di un cromatogramma/elettroferogramma da un altro;

- allineamento grafico verticale e orizzontale dei segnali in modo da facilitare il confronto visivo;
- inversione del segnale o visualizzazione speculare per facilitare il confronto visivo;
- visualizzazione delle caratteristiche estese sulle prestazioni dei picchi per specifici picchi integrati;
- zoom grafico e funzioni di scorrimento;
- regolazione degli attributi di visualizzazione, compresa la selezione di contrassegni, linee di base, assi, tempi di ritenzione/migrazione e nomi dei composti (è possibile anche scegliere il carattere per il tempo di ritenzione (RT) e per le etichette dei composti, regolare le dimensioni e l'orientamento della visualizzazione, selezionare la visualizzazione come sovrapposta o separata e scegliere i fattori di ingrandimento);
- la visualizzazione del cromatogramma/elettroferogramma può comprendere sovrapposizioni grafiche di parametri dello strumento a seconda della capacità dello strumento configurato;
- è possibile aggiungere in modo interattivo annotazioni definite dall'utente, con la possibilità di selezionare il tipo di carattere, le dimensioni, la rotazione e il colore del testo (una volta definite, le annotazioni possono essere spostate, modificate o eliminate graficamente);
- copiare la visualizzazione negli Appunti di Windows sia in formato metafile sia in formato bitmap;
- una funzione di *pick mode* per visualizzare i valori dei punti di dati individuali nelle unità del rivelatore;
- esportazione di punti digitalizzati di tempo/intensità negli Appunti di Microsoft Windows.

Analisi dei dati – Integrazione

L'algoritmo di integrazione della ChemStation è la seconda versione di una nuova generazione nata con lo scopo di aumentare la robustezza, l'affidabilità e la facilità d'uso.

Analisi dei dati – Quantificazione

La modalità di calibrazione della ChemStation nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati) consente la visualizzazione simultanea di:

- segnale o segnali in corso di calibrazione con un'indicazione della finestra dei tempi di ritenzione/migrazione del composto attuale;

- tavola di calibrazione la cui visualizzazione può essere configurata tramite un'ampia gamma di parametri di calibrazione;
- curva di calibrazione del composto in corso di calibrazione.

Le finestre della modalità di calibrazione sono collegate tra loro cosicché eventuali modifiche effettuate in una finestra si riflettono automaticamente in tutte le altre. Questa modalità consente la selezione grafica e la modifica dei dati di calibrazione.

La quantificazione si basa su calcoli in percentuale, percentuale normalizzata, standard esterno, standard esterno percentuale, standard interno, standard interno percentuale e i calcoli possono essere effettuati sia sull'area sia sull'altezza dei picchi. Le calibrazioni possono essere multilivello e includere più definizioni di standard interni. Le cronologie di calibrazione vengono salvate automaticamente e possono essere utilizzate per variare il peso dei calcoli di ricalibrazione.

Per informazioni su quantificazione e calibrazione vedere ["Calibrazione"](#), pagina 166.

Analisi dei dati – Revisione dei lotti

È possibile utilizzare il report di revisione dei lotti per esaminare i risultati di ciascun composto per ciascun campione. Permette di disporre delle seguenti operazioni grafiche principali:

- definizione della revisione e rielaborazione automatica o manuale dei file di dati (calibrati)
- ricalibrazione della tavola di calibrazione
- revisione delle tavole dei composti dei metodi calibrati
- creazione di report specifici su lotti

La Tavola di navigazione offre numerose operazioni grafiche importanti:

- funzioni standard di configurazione della tavola, quali ordinamento, opzioni di trascinamento, selezione di colonne, raggruppamento di voci per specificare la configurazione preferita della tavola di navigazione
- funzioni disponibili facendo clic con il pulsante destro del mouse per caricare o sovrapporre un segnale, esportare dati e stampare report
- revisione dei dettagli del segnale tramite l'espansione di una riga della tavola di navigazione
- revisione dei segnali e creazione di report ChemStation utilizzando un metodo specifico

La funzione di Revisione dei lotti permette di salvare gli eventi di integrazione manuale per ogni analisi. Permette di salvare gli eventi manuali con file di dati esterni alla Revisione dei lotti. Per evitare conflitti con due set di integrazioni manuali, qualsiasi evento manuale precedentemente memorizzato con il file di dati non verrà applicato in Revisione dei lotti.

Prestare particolare attenzione ai seguenti aspetti:

- La metodologia di ricalibrazione in Revisione dei lotti è diversa dalla ricalibrazione nella sequenza originale. Premendo il pulsante di aggiornamento della calibrazione sulla barra degli strumenti di revisione dei lotti, il sistema viene ricalibrato con tutte le analisi di calibrazione nel lotto, creando una tavola di calibrazione ricalibrata. Premendo il pulsante di avvio sulla barra degli strumenti di revisione dei lotti vengono quindi ricalcolate le quantità per ciascun composto calibrato. Le quantità di tutti i campioni verranno calcolate dalla tavola di calibrazione ricalibrata.
- Facendo clic su una riga nella tavola del campione nella revisione dei lotti viene caricato il file di dati associato. Il caricamento di file di dati di grandi dimensioni può richiedere tempi lunghi. Ciò non differisce dall'uso di Load Signals (Carica segnali) per caricare lo stesso file di dati.
- Il report della Revisione dei lotti fornisce i risultati di ciascun composto per ciascun campione. Poiché alcune tavole di calibrazione includono un numero ingente di composti, i report di revisione dei lotti corrispondenti possono assumere notevoli dimensioni.
- La funzione di Revisione dei lotti permette di salvare gli eventi di integrazione manuale per ogni analisi. Inoltre permette di salvare gli eventi manuali con file di dati esterni alla Revisione dei lotti. Per evitare conflitti con due set di integrazioni manuali, qualsiasi evento manuale precedentemente memorizzato con il file di dati non verrà applicato in Revisione dei lotti.

Per impostazione predefinita, se si utilizza ChemStation con l'archiviazione dei dati centralizzata la vista Batch (Lotto) è disattivata. È possibile abilitarla inserendo una voce nella sezione [PCS] del file ChemStation.ini: [PCS] _BatchReview=1. Il file ChemStation.ini è situato nella directory C:\ProgramData\Agilent Technologies\ChemStation.

Analisi dei dati – Ricalcolo

Le funzioni della modalità di ricalcolo permettono di generare velocemente risultati o report per qualsiasi sottoinsieme di dati visualizzati nella tavola di navigazione. È possibile generare facilmente i risultati per set di dati auto-assemblati, indipendentemente dalle sequenze in cui i campioni sono stati originariamente acquisiti. È possibile utilizzare qualsiasi metodo per il ricalcolo. Il metodo utilizzato viene copiato nei singoli file di dati (DA.M). Durante il ricalcolo non viene eseguita alcuna calibrazione.

Analisi dei dati – Rielaborazione

Le funzioni nella modalità di rielaborazione permettono di rielaborare un'intera sequenza, utilizzando i metodi definiti nella tavola di sequenza e i risultati dei campioni di calibrazione per calcolare i risultati dei campioni.

Analisi dei dati – Ultimi risultati

In questa modalità viene caricato il metodo del file di dati (DA.M) per ogni analisi. Il metodo DA.M è una copia esatta del metodo utilizzato per l'ultima analisi dei dati (durante l'acquisizione, la rielaborazione o il ricalcolo). La modalità Last Result (Ultimo risultato) consente di riprodurre i risultati dell'ultima analisi dei dati, anche se nel frattempo il metodo della sequenza è stato modificato.

Report

Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition consente di scegliere per ciascuno strumento il tipo di report da utilizzare:

- *Classic ChemStation Reporting*, invariati rispetto ai report ChemStation B. Per informazioni dettagliate vedere "[Classic Reporting](#)", pagina 195.
- *Intelligent Reporting*: Intelligent Reporting consente di...
 - Creare modelli di report mediante trascinamento (modello "Quello che vedi è quello che avrai").
 - Generare report nella nuova vista **Review** scegliendo semplicemente i dati e il modello di report.
 - Utilizzare report interattivi per la revisione dei dati: definire i criteri di ricerca per selezionare le informazioni rilevanti per l'utente.
 - Generare report inter-sequenze.

Per ulteriori informazioni dettagliate vedere "[Intelligent Reporting](#)", pagina 188.

Esportazione e importazione di dati

ANDI

ChemStation è in grado di importare ed esportare file di dati nel formato cromatografico andi (Analytical Data Interchange) creato dalla Analytical Instrument Association (AIA), versione 1.0, copyright 1992. L'importazione dei dati è supportata al livello di conformità uno (informazioni sul campione e dati del segnale) e l'esportazione dei dati al livello di conformità due (informazioni sul campione, dati del segnale e risultati di integrazione).

DDE

ChemStation include comandi e funzioni per supportare lo standard DDE (Dynamic Data Exchange) della piattaforma Microsoft Windows sia come client DDE sia come server DDE. Il set di comandi include comandi per stabilire e terminare connessioni, trasferire informazioni in entrambe le direzioni ed eseguire funzioni remote.

ADF

Lo strumento **ADFExport for OpenLab CDS ChemStation** permette di esportare i dati della ChemStation in formato ADF (Allotrope Data Format). Questo strumento è disponibile solo se è installato il componente aggiuntivo corrispondente.

Una descrizione dettagliata dello strumento **ADFExport for OpenLab CDS ChemStation** è disponibile nella guida in linea di *ChemStation ADF Export*.

Personalizzazione

ChemStation può essere personalizzato utilizzando i diversi comandi disponibili. Questi comandi possono essere raggruppati per eseguire automaticamente una funzione specifica; tale gruppo è denominato macro.

Gli utenti che scrivono macro possono definire variabili personalizzate, utilizzare costrutti condizionali o di ciclo, eseguire operazioni di I/O fisico (ad esempio la gestione dei file e l'interazione tra gli utenti), nidificare le macro nonché programmare e scambiare dati con altre applicazioni di Microsoft Windows.

Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation

La ChemStation consente di utilizzare i comandi personalizzati nelle seguenti posizioni:

- Run Queue
vedere "Utilizzo di Run Queue" , pagina 141
- Queue Planner
vedere "Utilizzo di Queue Planner" , pagina 145
- Lista di controllo del tempo di analisi
vedere "Lista di controllo del tempo di analisi" , pagina 50
- Parametri della sequenza
vedere "Parametri della sequenza" , pagina 81
- Command Scheduler
vedere "Pianificazione di comandi" , pagina 146

Da ciascuna posizione è possibile anche accedere alla finestra di dialogo che consente di creare o modificare comandi e macro.

Creazione di comandi personalizzati

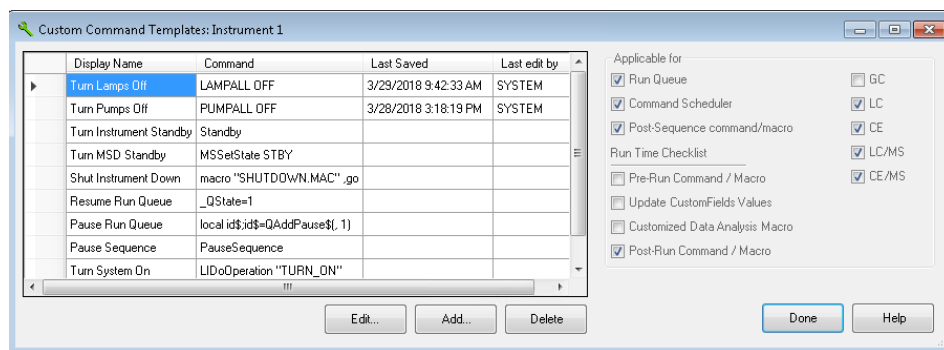
La ChemStation mette a disposizione una serie di comandi integrati che possono essere usati da qualsiasi utilizzatore. Se si dispone dell'opportuno privilegio, è possibile creare macro e comandi personalizzati.

Prerequisiti

È necessario il privilegio **ChemStation:Security > Command Line**. I privilegi vengono configurati nel pannello di controllo.

- 1 Da una qualsiasi posizione che consente l'utilizzo di comandi, selezionare **Set up Custom Command Template...**

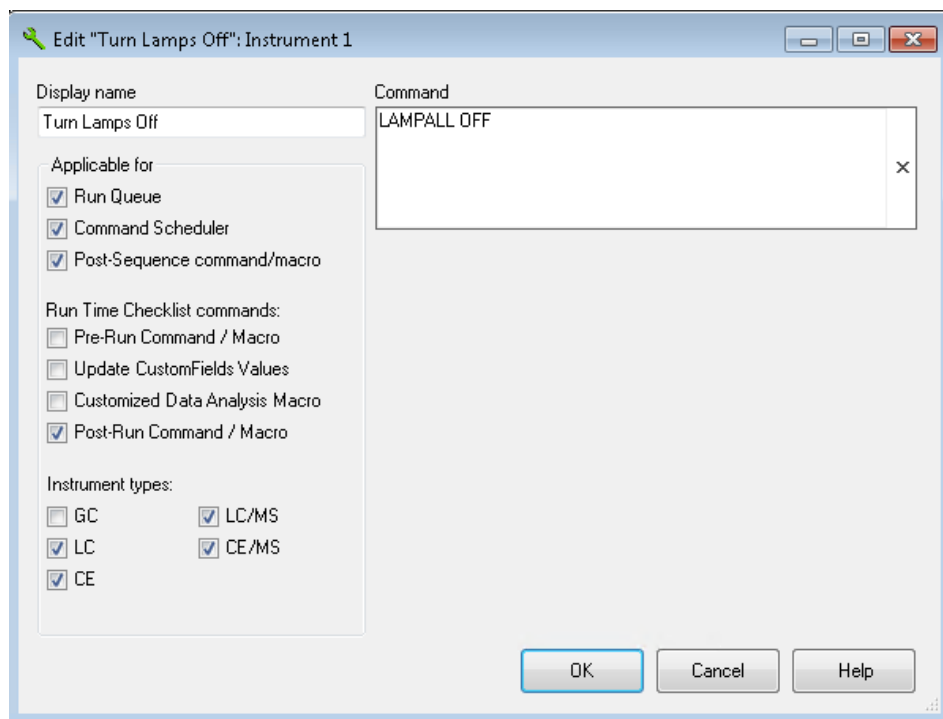
Nella finestra di dialogo **Custom Command Templates** sono elencati tutti i comandi integrati e personalizzati disponibili per il tipo di strumento corrente.



- 2 Selezionare il comando desiderato, quindi fare clic su **Edit...**

Si apre una finestra di dialogo che consente di configurare le proprietà del comando.

- Nome visualizzato nella ChemStation a tutti gli utilizzatori
- Posizione in cui il comando è disponibile (**Run Queue, Command Scheduler, Post-Sequence command/macro, Run Time Checklist** del metodo).
- **Instrument types** per i quali il comando è disponibile.



3 Confermare le modifiche.

NOTA

Le definizioni dei comandi sono salvate separatamente con la lista di controllo del tempo di analisi di un metodo, il modello della sequenza o un piano di coda. Ciò significa che se si modifica o elimina una definizione, tale operazione diviene effettiva solo nell'ambito in cui è stata richiamata la finestra di dialogo **Custom Command Templates**. Per applicare la modifica apportata alla finestra di dialogo in un altro ambito, è necessario aggiornare esplicitamente la lista di controllo del metodo pertinente, il modello della sequenza o un piano di coda.

Per ulteriori informazioni sulla personalizzazione, consultare gli argomenti della guida in linea della ChemStation relativi a *comandi* o *macro*.

Automazione

Con ChemStation è possibile pianificare ed eseguire sia singoli campioni sia sequenze multimetodo.

L'insieme dei parametri di sequenza può essere definito per utilizzare file generati automaticamente o numerati in sequenza, con un prefisso di un massimo di quindici caratteri definito dall'utente. L'utilizzatore può scegliere se effettuare analisi complete o sequenze di sola rielaborazione dei dati; inoltre può scegliere uno di una serie di comandi di spegnimento specifici per tecnica (per esempi relativi ai comandi integrati, vedere "Funzionamento post-sequenza" , pagina 119) o una macro di spegnimento definita dall'utilizzatore, che viene eseguita se una sequenza si interrompe in seguito a un errore o alla fine delle analisi.

La tavola di sequenza, o elenco di analisi da eseguire, viene creata in un'interfaccia utente di formato simile ai fogli elettronici che permette di definire i numeri dei vial e i nomi e tipi dei campioni, i metodi di analisi, i parametri di quantificazione del campione, compresa la quantità e il fattore di moltiplicazione e diluizione, la specifica di calibrazione, il parametro LIMSID di scambio dei dati e il numero di iniezioni ripetute. A seconda degli strumenti e dei moduli configurati, sono accessibili ulteriori campi; per esempio se un sistema LC Agilent 1100/1200 include un collettore di frazioni, nella tavola di sequenza viene visualizzata la colonna **Fract. Start**. L'aspetto della tavola di sequenza può essere configurato dall'utente. L'utente può spostarsi tra singole celle della tabella e copiare, tagliare o incollare singole celle o intere righe o serie di righe per costruire sequenze in modo rapido ed efficiente.

I campioni possono essere identificati nella tavola di sequenza come campioni incogniti, campioni di calibrazione, bianchi o campioni di controllo. Il tipo di campione determina l'eventuale trattamento speciale di valutazione dati del campione:

- I campioni incogniti sono oggetto di valutazione e report a seconda di quanto specificato nel metodo.
- I campioni di calibrazione vengono utilizzati per ricalibrare il componente di quantificazione del metodo come descritto di seguito.
- I bianchi vengono utilizzati per valutare il segnale di riferimento per picchi specifici, come definito dalla Farmacopea Europea. È possibile stampare il rapporto segnale-rumore nei report personalizzati. Per informazioni più dettagliate sul calcolo e sui campi di dati richiesti, consultare il manuale di riferimento.

- I campioni di controllo vengono valutati rapportandoli ai limiti di ogni componente definito nel metodo. Se i risultati non rientrano negli intervalli specificati per i parametri, l'esecuzione della sequenza viene interrotta.

I campioni di calibrazione possono essere definiti come semplici, ciclici o relativi alla tecnica del bracketing. Nel caso delle ricalibrazioni semplici ha luogo una ricalibrazione ogni volta che nella sequenza è definito un campione di calibrazione. Le ricalibrazioni cicliche hanno luogo a intervalli regolari nel corso dell'analisi di una serie di campioni incogniti. Per effettuare una calibrazione in bracketing di una serie di campioni incogniti devono essere analizzati due gruppi di calibrazione. I risultati quantitativi relativi ai campioni incogniti vengono quindi calcolati utilizzando una tavola di calibrazione di media fra i due gruppi.

La funzionalità di anteprima della sequenza consente agli utenti di visualizzare l'ordine di esecuzione della sequenza. Non appena la sequenza viene inserita in coda, nella tavola di sequenza sono mostrati anche i campioni analisi per analisi. L'utente può selezionare singoli campioni da rianalizzare o rielaborare. Quando si sceglie di rivalutare dati già acquisiti, è possibile specificare se la rielaborazione deve utilizzare i dati originali di quantificazione del campione o dati nuovi inseriti nella tavola della sequenza.

Le sequenze possono essere messe temporaneamente in pausa per iniettare campioni singoli prioritari utilizzando un altro metodo e quindi riavviate senza compromettere l'automazione del processo. Si possono anche aggiungere campioni a una tavola di sequenza mentre è in corso l'esecuzione della sequenza.

È possibile stampare sia la tavola di sequenza sia la tavola di sequenza parziale.

Per ulteriori informazioni sulle sequenze, vedere [“Automazione/sequenze”](#), pagina 78 e la guida in linea.

Run Queue e Queue Planner

Run Queue consente di eseguire automaticamente, uno dopo l'altro, diversi campioni singoli o sequenze. Il primo elemento aggiunto alla coda inizia quando il sistema di elaborazione dei dati è pronto, a meno che non sia in pausa dalla coda. Le sequenze e i campioni singoli possono essere aggiunti in base a modelli Easy Sequence, a sequenze ChemStation classiche o essere sospesi in coda. Inoltre, ogni comando **Run Method** o **Run Sequence** aggiunge automaticamente un elemento alla coda di analisi e avvia automaticamente questo elemento nella coda.

Con Queue Planner, è possibile preparare una serie di campioni singoli o sequenze e salvare il piano nel file system. Per avviare tali sequenze e campioni pianificati, è sufficiente semplicemente aprire il piano e aggiungerlo alla coda di analisi. Questa funzionalità permette di avviare attività prolungate, da effettuarsi in ore notturne o durante il fine settimana.

Per ulteriori informazioni, vedere ["Informazioni sulla coda di analisi"](#), pagina 139.

Posizioni del campione

Un'interfaccia di controllo grafica consente di scegliere le posizioni dei vial per le iniezioni e per la raccolta di frazioni.

Anziché digitare manualmente la posizione del campione, operazione che richiede una conoscenza approfondita del corretto formato di indirizzamento, è possibile scegliere la posizione del cassetto, il tipo di vassoio e la posizione del vial con un semplice clic del mouse.

L'interfaccia di controllo grafica per la selezione delle posizioni dei campioni è integrata nelle seguenti finestre di dialogo e barre degli strumenti:

- **Sample Info**
- **Sequence Table**
- **Filldown Options**
- **Fraction Collector (Start Position)**
- Barra delle applicazioni **Purify** nella vista **Data Analysis**

L'interfaccia di controllo contiene i seguenti elementi:

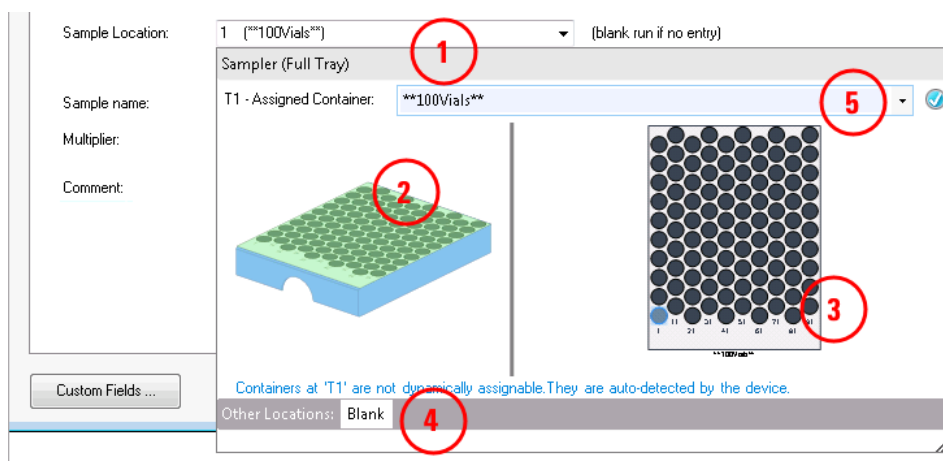


Figura 1 Selettore della posizione del campione nella finestra di dialogo Sample Info

- 1 Campo di immissione iniziale per la posizione del campione. Fare clic sulla freccia o premere **F4** per aprire l'interfaccia di controllo grafica oppure immettere manualmente la stringa della posizione.
- 2 Rappresentazione grafica del layout del dispositivo del contenitore per campione (iniettore o raccogliatore di frazioni). Se sono disponibili diverse posizioni dei contenitori, fare clic per selezionarne una.
- 3 Visualizzazione del contenitore per campione selezionato. Fare clic su una posizione del campione per selezionarla e chiudere l'interfaccia di controllo grafica.
- 4 Posizioni aggiuntive, in base alla definizione del driver. Per esempio, **Blank** per i campionatori o **Next Location**, **Next Plate**, **Pooling** per i raccoglitori di frazioni. Fare clic per selezionare la posizione e chiudere l'interfaccia di controllo grafica.
- 5 Elenco di contenitori compatibili con la posizione del dispositivo selezionata. **Use Current Configuration** seleziona il contenitore in base alla configurazione del dispositivo/driver al momento dell'iniezione. Utilizzare **<empty>**, per esempio, per i layout dei raccoglitori di frazioni per assicurarsi che un contenitore non venga considerato nell'ordine di raccolta durante l'esecuzione.

I flussi di lavoro principali sono i seguenti:

- Use current configuration (Usa configurazione corrente)
Si tratta dell'approccio predefinito. Quando viene eseguita la sequenza o analizzato il campione, il sistema rileva automaticamente il dispositivo.
- Assign container to be applied on acquisition (Assegna contenitore da applicare all'acquisizione)
Questo flusso di lavoro riguarda i contenitori definibili che il sistema non è in grado di rilevare, per esempio le piastre. È necessario specificare quale contenitore utilizzare in occasione dell'esecuzione della sequenza o dell'analisi del campione.
- Assign container to be validated (Assegna contenitore da validare)
Questo flusso di lavoro riguarda i contenitori non definibili che il dispositivo rileva automaticamente, per esempio i vassoi. In occasione dell'esecuzione della sequenza o dell'analisi del campione, il sistema valida il contenitore specificato. Se il contenitore fisico non corrisponde a quello specificato, l'analisi viene interrotta. Ciò assicura che venga utilizzato il tipo di contenitore corretto.
- Prepare unassigned container (Prepara contenitore non assegnato)
Questo flusso di lavoro riguarda i contenitori riempiti in anticipo ma non ancora inseriti nel campionatore. Vengono assegnati a un cassetto e a una posizione in un secondo momento.

L'interfaccia di controllo grafica delle posizioni del campione è supportata, per esempio, dai driver **Agilent LC RC.Net**.

Buone pratiche di laboratorio

ChemStation è stata progettata nel rispetto di standard riconosciuti a livello internazionale con determinate funzioni che permettono all'utente di lavorare in un ambiente regolamentato. Queste funzioni si applicano alla completa costruzione dei metodi e alla verifica della loro conformità agli usi previsti, al controllo del funzionamento del sistema al fine di garantirne la rintracciabilità, all'originalità e alla qualità dei dati.

Processo di sviluppo

Il Certificato di Validazione allegato a tutti i pacchetti software documenta il processo di sviluppo e le verifiche eseguite come parte del ciclo di sviluppo. Il processo di sviluppo è registrato secondo gli standard di qualità previsti da ISO 9001.

Specifica dei metodi e uso

- Metodi globali: le specifiche complete relative allo strumento e all'analisi dei dati sono archiviate in una singola directory. I metodi comprendono le specifiche dei limiti di concentrazione dei composti, che permettono di controllare che i risultati delle quantificazioni non vengano applicati al di fuori della serie calibrata.
- Il registro elettronico delle modifiche dello strumento offre agli utilizzatori un metodo validato che registra automaticamente i dati relativi alla data e al tipo di modifiche. Gli utilizzatori possono aggiungere un commento relativo al motivo della modifica. Il registro elettronico delle modifiche viene memorizzato automaticamente in formato binario insieme al metodo. Per impedire l'accesso non autorizzato alle registrazioni, queste vengono protette da uno schema di accesso, come descritto di seguito. Il registro delle modifiche può essere visualizzato e stampato.
- Possono essere assegnati limiti, a seconda dei composti di ciascun metodo, per un determinato numero di parametri cromatografici/elettroferografici e di prestazioni del sistema, come descritto nella sezione relativa all'analisi dei dati e alla quantificazione. I risultati che superano gli intervalli di parametri previsti vengono utilizzati per controllare l'esecuzione delle sequenze automatizzate come descritto nell'apposita sezione. Tutti questi elementi sono riportati nel rapporto di stampa di analisi appropriato.
- I rapporti di stampa relativi alla prestazione del sistema o di system suitability (vedere la sezione precedente relativa ai rapporti di stampa) forniscono analisi dettagliate sulla qualità della separazione.

È possibile configurare ruoli e privilegi diversi nei Shared Services OpenLab. I ruoli preconfigurati **ChemStation Administrator**, **ChemStation Lab Manager**, **ChemStation Analyst** e **ChemStation Operator** offrono una base per i ruoli nell'ambiente dell'utilizzatore.

Robustezza del metodo

I rapporti riassuntivi della sequenza (vedere la sezione "[Classic Reporting e Intelligent Reporting](#)", pagina 187) consentono di verificare la robustezza di un metodo. Con i report classici, i rapporti di stampa in formato esteso per criteri scelti dall'utente vengono riportati sotto forma di diagrammi di tendenza e possono essere usati per determinare i limiti reali di funzionamento. Con i report intelligenti, è possibile creare i propri modelli di report riepilogativi di sequenza, inclusi i grafici di tendenza con linee limite. Tali limiti possono quindi essere incorporati nel metodo per verificare, mediante l'analisi di campioni di controllo, che funzioni secondo le specifiche.

Funzionamento del sistema

Il kit di verifica della ChemStation, che fa parte del software standard, controlla automaticamente che l'installazione e il funzionamento delle parti di elaborazione dei dati siano corretti, confrontando i risultati generati dall'esecuzione del test con valori conosciuti preregistrati. Il kit di verifica permette agli utenti di definire i propri file di dati e metodi come base per il test.

Rintracciabilità, qualità e originalità dei dati

Il registro elettronico riferito al periodo di analisi tiene traccia delle transazioni dell'intero sistema. Inoltre, registra eventi non ricorrenti (come errori o modifiche di parametri effettuati durante l'analisi) così come le condizioni dello strumento prima e dopo ciascuna analisi. Insieme a ciascun file di dati viene salvata una copia del relativo estratto del registro elettronico.

Le condizioni reali dello strumento, come la pressione, il flusso e la temperatura durante l'analisi vengono registrate se lo strumento configurato supporta questa funzionalità. Questi dati possono in seguito essere visualizzati in forma grafica con il cromatogramma/elettroferogramma per mostrare le condizioni reali dello strumento durante una particolare analisi o essere inclusi nel rapporto di stampa.

I metodi salvati con il file di dati registrano il metodo reale al momento dell'analisi e consentono la ricostruzione completa dei dati registrati anche in una data successiva. Il metodo viene salvato dopo il completamento di tutte le fasi dell'analisi.

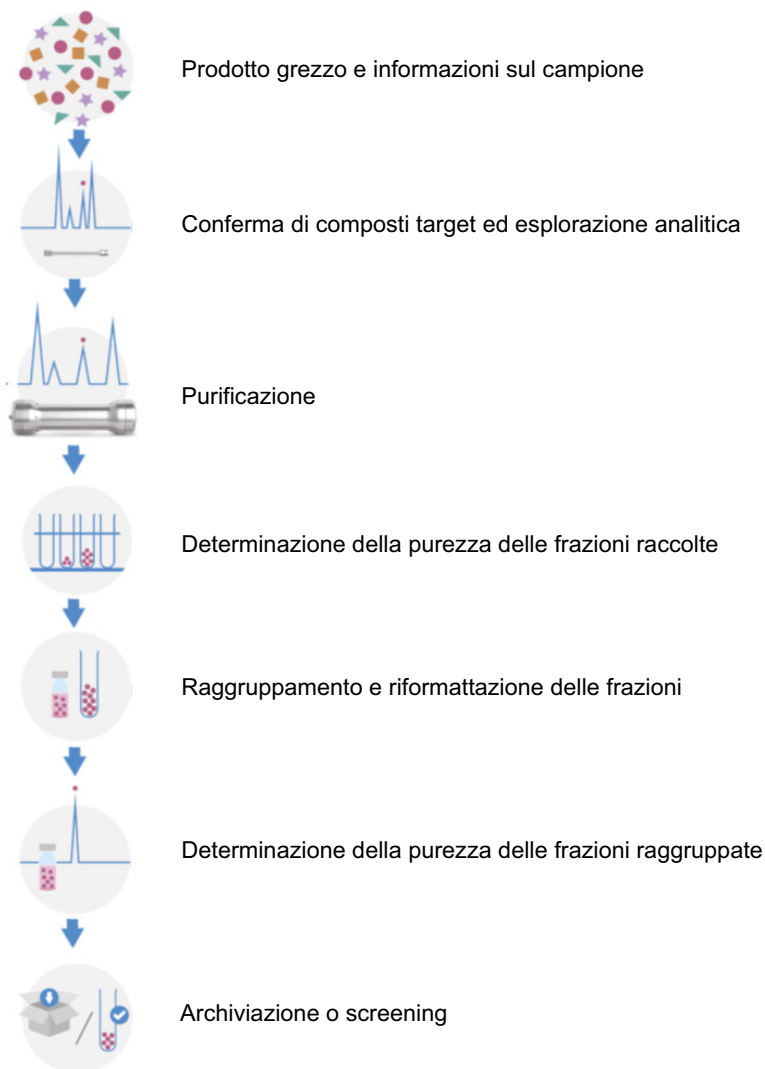
Per impostazione predefinita, tutti i report indicano la data e l'ora e hanno pagine numerate (nel formato *pagina x di y*). L'utente può selezionare il livello di dettaglio desiderato, dal semplice rapporto di stampa in forma di riassunto a descrizioni più dettagliate di tutto il sistema.

I file creati con Registro salvataggio GLP, specificati come parte della configurazione del metodo, vengono usati per salvare tutti i dati originali, comprese le informazioni relative ai campioni, il metodo di analisi dei dati, i segnali cromatografici/elettroferografici, le condizioni dello strumento, i risultati dell'integrazione e della quantificazione, i dati dei rapporti di stampa e il registro elettronico dell'analisi, in un file binario protetto da somma di controllo (checksum). Questo è un formato binario non modificabile che assicura l'originalità del risultato. Il file include uno schema di revisione che indica se i dati sono stati rielaborati.

I tipi di campione di controllo possono essere definiti nella tavola di sequenza e utilizzati per confrontare automaticamente le prestazioni dello strumento con i risultati relativi al controllo della qualità del campione, quando lo strumento viene usato in modalità automatica. Eventuali risultati non compresi nell'intervallo specificato dall'utente determinano l'interruzione del funzionamento automatico.

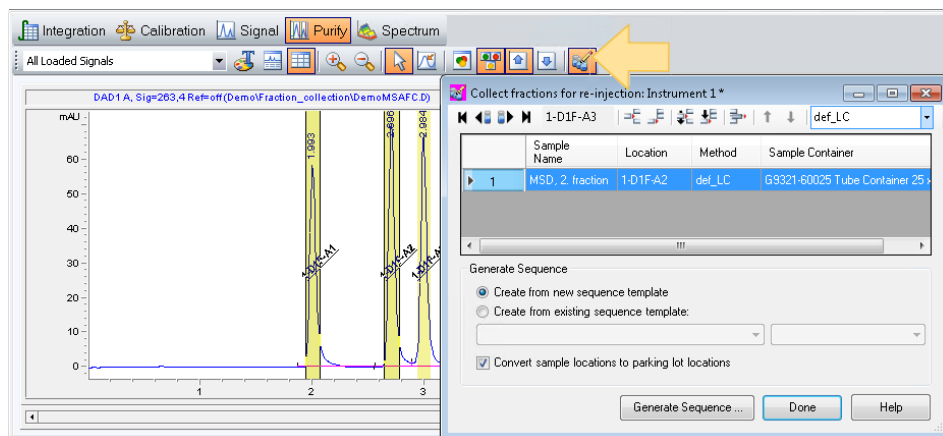
Cromatografia liquida preparativa

ChemStation supporta l'automazione dei flussi di lavoro per la purificazione e la preparazione. Il flusso di lavoro tipico prevede l'utilizzo di un raccogliatore di frazioni con raggruppamento delle frazioni.



Determinazione della purezza delle frazioni raccolte

Per verificare la purezza delle frazioni raccolte, è possibile convertirle in campioni e aggiungerle a una sequenza da reiniettare. L'elenco delle frazioni da sottoporre a nuove analisi viene creato nella finestra di dialogo **Collect fractions for re-injection** accessibile tramite la barra degli strumenti **Purify** in Data Analysis.



Nella tavola della finestra di dialogo è possibile configurare l'elenco di frazioni per generare la sequenza e specificare il metodo e la posizione dei campioni.

Fraction list (Elenco delle frazioni)

È possibile aggiungere frazioni selezionandole dal cromatogramma, dalla tavola delle frazioni o dall'immagine del contenitore per campione.

Method (Metodo)

Un elenco a discesa mostra tutti i metodi memorizzati nel computer. Se il metodo si trova in un altro strumento che verrà utilizzato per la reiniezione, è possibile digitare il nome del metodo nel campo o lasciarlo vuoto per compilarlo in seguito.

Sequence (Sequenza)

È possibile creare una nuova sequenza utilizzando l'opzione **Create from new sequence template**. Inoltre, è possibile aggiungere le frazioni a una sequenza esistente utilizzando l'opzione **Create from existing sequence template**.

Location (Posizione)

Se si desidera trasferire il contenitore per campione in un altro strumento per procedere alla reiniezione delle frazioni, selezionare la casella di controllo **Convert sample locations to parking lot locations**.

Questa operazione converte le posizioni nella tavola in posizioni di parcheggio neutre che possono essere utilizzate in un diverso campionatore.

A seconda della configurazione, a questo punto è possibile eseguire la sequenza o modificarla nuovamente in **Sample List** della scheda **Sample Entry**. Per ulteriori informazioni, vedere "Immissione dei campioni per via grafica", pagina 82.

Raggruppamento di frazioni

Il raggruppamento consiste nella raccolta di più frazioni nello stesso recipiente di raccolta. ChemStation supporta varie opzioni di raggruppamento:

- Iniezione ripetuta dalla stessa posizione del campione e raccolta nello stesso (o negli stessi) vessel
Nella finestra di dialogo **Sample Info** scegliere il numero di analisi necessario per il singolo campione e selezionare una posizione fissa di inizio frazioni per la prima analisi.
- Iniezione da diverse posizioni del campione ma raccolta nello stesso (o negli stessi) vessel

Per configurare il raggruppamento, impostare la posizione di inizio del raccogliatore di frazioni per la prima analisi e, se necessario, per le analisi successive.

Calibrazione del ritardo del raccogliatore di frazioni

Il tempo necessario a un composto per spostarsi dal punto di rivelazione in un rivelatore al punto di raccolta in un raccogliatore di frazioni è detto tempo di ritardo. Questo può essere stabilito eseguendo una calibrazione del tempo di ritardo.

La procedura guidata per la calibrazione del ritardo permette di eseguire e valutare una calibrazione di ritardo del raccogliatore di frazioni. La procedura guidata è accessibile dal menu **Instrument** di **Method and Run Control**.

In primo luogo, impostare ed eseguire la calibrazione del ritardo tramite **Perform Delay Calibration Run**. Quindi valutare i risultati della calibrazione del ritardo tramite **Evaluate Delay Calibration Data**. La calibrazione del ritardo è riassunta nel report **Delay Calibration Summary**.

La valutazione dei dati aiuta a calcolare il ritardo tra il(i) rivelatore(i) dei picchi e il(i) modulo(i) del raccogliatore di frazioni. I tempi di ritardo vengono determinati in base ai segnali del rivelatore e al segnale del sensore del ritardo del raccogliatore di frazioni di un file di dati relativo a un'analisi di calibrazione. I volumi di ritardo vengono calcolati in base alle informazioni sui flussi.

Per ulteriori informazioni, consultare la guida in linea di ChemStation.

Struttura di dati della ChemStation

Per rafforzare l'associazione tra file di dati e metodi, a partire da ChemStation B.02.01 è stato implementato l'utilizzo dei set di risultati (fino ad allora i set di risultati erano noti come contenitori di sequenze):

- I dati vengono memorizzati con tutte le informazioni necessarie per l'analisi dei dati: copie del file di sequenza, di tutti i metodi e, nel caso di Intelligent Reporting, anche dei modelli di report impiegati insieme alla sequenza. È possibile modificare i metodi della sequenza con l'input specifico della sequenza, senza influenzare il metodo master originale. Il concetto di set di risultati rafforza il significato della sequenza come set di file di dati e metodi, in quanto coinvolti nella creazione del risultato.
- I dati della sequenza non vengono sovrascritti. I file di dati risultanti da ogni acquisizione della sequenza vengono memorizzati con un nome esclusivo nel relativo set di risultati della sequenza.
- Il ricalcolo e la rielaborazione dei dati sono entrambi disponibili nella vista **Data Analysis** attraverso la tavola di navigazione.
- Se si utilizza un sistema di archiviazione centralizzata dei dati (*OpenLab ECM 3.x*, *OpenLab ECM XT* oppure *OpenLab Server*), l'intero set di risultati (sequenza/metodi/file di dati/modelli di report) viene trasferito all'archivio centralizzato come singola entità.

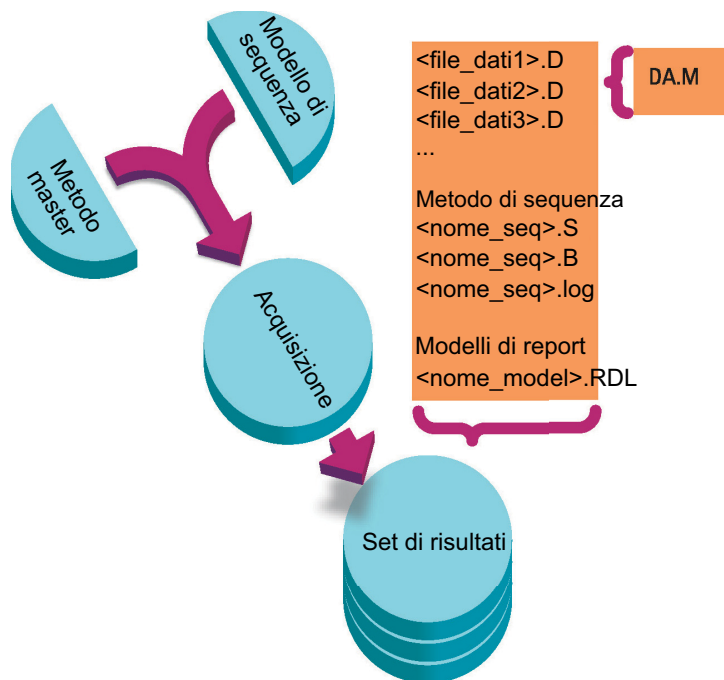


Figura 2 Acquisizione della sequenza

I metodi nella cartella ChemStation\x\methods¹ fungono da metodi master. Essi rimangono invariati durante l'acquisizione e l'analisi dei dati.

Analogamente, le sequenze nella cartella dei documenti pubblici ChemStation\1\sequence fungono da modelli di sequenza, che possono essere utilizzati per rieseguire (ma non rielaborare) diverse volte una sequenza.

I modelli di report nella cartella dei documenti pubblici ChemStation\REPSTYLE fungono da punto di partenza per sviluppare modelli di report personalizzati.

Il pattern di archiviazione dei dati varia a seconda che vengano acquisiti i dati di una singola analisi o i dati di una sequenza:

- 1 Se viene eseguita una sequenza, nella sottodirectory specificata viene creata automaticamente una nuova cartella (**result set**) a cui viene assegnato un nome esclusivo. Quando viene analizzato un singolo campione, il file di dati (*.d) viene scritto nella sottodirectory specificata.

¹ x corrisponde al numero dello strumento. Per impostazione predefinita, la cartella si trova nei documenti pubblici ma può essere configurata durante l'installazione.

- 2 Per i dati di sequenza, nel set di risultati vengono copiati il modello di sequenza eseguito (*.s) e tutti i metodi (*.m) coinvolti. Le copie dei metodi sono denominate **sequence methods** per distinguerle dai metodi master originali. Se si usa Intelligent Reporting, tutti i modelli di report interessati (*.rdl) sono copiati anche nel set di risultati.

Tutte le attività correlate alla sequenza (come l'acquisizione e l'analisi dei dati) vengono eseguite sulle copie delle sequenze e dei metodi. Pertanto, il modello di sequenza e i metodi master rimangono inalterati per l'esecuzione di sequenze future.

Qualsiasi modifica apportata alla sequenza durante l'acquisizione di una sequenza, come l'aggiunta di righe alla tavola di sequenza, viene eseguita sulla copia del file della sequenza nel set di risultati del file della sequenza. Il modello di sequenza rimane invariato.

In modo analogo, qualsiasi modifica apportata al metodo, ad esempio, aggiornamenti alla tavola di calibrazione in caso di calibrazioni, viene riportata nei metodi di sequenza ma non nei metodi master.

Nell'esecuzione della sequenza, tutti i file di dati generati (*.d) vengono memorizzati nella cartella di dati della sequenza, insieme al file batch corrispondente (*.b) e al file di log della sequenza (*.log).

- 3 Ciascun file di dati contiene una copia del metodo usato per creare l'analisi. Sono memorizzate le seguenti informazioni sul metodo:
- Per visualizzare i parametri originali del metodo per ciascuno specifico file di dati, fare clic con il pulsante destro del mouse sulla riga pertinente nella tavola di navigazione, quindi selezionare **View ACQ Method**.
 - ChemStation permette di salvare una copia del metodo completo (RUN.M) dopo ogni analisi (vedere "Salvataggio di una copia del metodo con dati", pagina 69).
 - Viene sempre salvata una copia dei parametri dell'analisi dei dati (DA.M, vedere "Salvataggio di una copia del metodo con dati come metodo DA.M (predefinito di ChemStation)", pagina 69).

Secure Workstation

ChemStation Edition è disponibile come versione compatibile: Secure Workstation per OpenLab CDS ChemStation Edition combina la workstation ChemStation e il componente Content Management in un unico PC.

Per garantire la conformità alla normativa 21 CFR Part 11, Secure Workstation offre archiviazione sicura dei dati e una serie di audit trail e registri elettronici, tra cui:

- audit trail del metodo
- audit trail dei risultati
- audit trail delle sequenze

Per ulteriori informazioni su Secure Workstation per OpenLab CDS ChemStation Edition fare riferimento a *Secure Workstation per OpenLab CDS ChemStation Edition Manuale per l'utente*.

Controllo remoto degli strumenti

Con una configurazione del sistema distribuito, è possibile configurare e avviare gli strumenti ChemStation da qualsiasi pannello di controllo di OpenLab connesso al server Shared Services OpenLab.

Avvio degli strumenti

Per configurare o avviare gli strumenti, è possibile usare i pulsanti *Configura strumento*, *Avvia in linea* e *Avvia non in linea* del pannello di controllo di OpenLab. Come accade nelle configurazioni workstation o workstation in rete, la finestra di dialogo di configurazione strumento viene eseguita sul PC locale. Tuttavia, con una configurazione a sistema distribuito, l'applicazione ChemStation in sé viene eseguita su un computer AIC (unità di controllo dello strumento analitico) ed è possibile accedere all'applicazione per mezzo di un collegamento desktop remoto al computer AIC.

Le finestre ChemStation remote vengono mostrate indipendentemente dal pannello di controllo di OpenLab; è possibile avviare uno strumento, chiudere il pannello di controllo e continuare a lavorare con lo strumento. È inoltre possibile eseguire più istanze del pannello di controllo di OpenLab sullo stesso client usando credenziali di accesso diverse. Le varie credenziali saranno propagate sugli strumenti avviati dal corrispondente pannello di controllo di OpenLab.

Su un computer AIC remoto è possibile identificare gli strumenti in esecuzione dal titolo della finestra, che contiene sia il nome dello strumento, sia il nome dell'AIC.

Disconnessione della sessione

Gli strumenti in esecuzione su un AIC sono indipendenti dal client da cui è stata aperta la connessione desktop remoto. Se il client si disconnette, per esempio a causa di un errore di rete, una sequenza in esecuzione sullo strumento continua regolarmente. Per riprendere il controllo della sessione dello strumento una volta risolto l'errore di rete, è sufficiente fare nuovamente clic sul pulsante *Avvia in linea* o *Avvia non in linea*.

Per disconnettersi volontariamente, fare clic sul pulsante **Close** o selezionare **File > Exit**. La finestra di dialogo **Close** presenta un pulsante **Disconnect** aggiuntivo. Eseguendo la disconnessione, si interrompe la connessione desktop remoto lasciando in funzione lo strumento.

NOTA

È possibile disconnettere la connessione desktop remoto mentre è in esecuzione una sequenza.

Per riconnettersi alla sessione dello strumento, è sufficiente fare nuovamente clic sul pulsante *Avvia in linea* o *Avvia non in linea* nel pannello di controllo di OpenLab. È possibile riconnettersi da qualsiasi pannello di controllo di OpenLab connesso al server OpenLab Shared Services.

Se si fa clic su *Avvia non in linea* per riconnettersi a uno strumento in linea, o viceversa, si ottengono due finestre di strumento, una per lo strumento in linea e una per lo strumento non in linea.

Acquisizione del controllo di una sessione

È possibile acquisire il controllo di una sessione esistente facendo clic sul tasto *Avvia in linea* o *Avvia non in linea* del **OpenLab Control Panel** su un altro PC:

- Se si è avviato uno strumento dal pannello di controllo di OpenLab sul PC 1 e quindi si accede a un pannello di controllo di OpenLab sul PC 2 con le stesse credenziali e si avvia dal PC 2 lo stesso strumento, si acquisisce semplicemente il controllo della sessione esistente ed è possibile continuare sul PC 2 le attività iniziate sul PC 1.

NOTA

Se il nuovo utilizzatore e l'utilizzatore precedente possiedono le stesse credenziali, non viene visualizzato alcun avviso.

- Se un altro utilizzatore ha avviato lo strumento dal pannello di controllo di OpenLab su un altro PC e si dispone dei privilegi necessari, è possibile anche acquisire il controllo di quella sessione. È necessario disporre del privilegio **Take over ChemStation Remote Session** e, se l'altro utilizzatore ha bloccato privatamente la ChemStation, è necessario disporre anche del privilegio **Break Session Lock**. Per ulteriori informazioni sulla gestione degli utilizzatori, sui privilegi o sulla configurazione di blocco della sessione, fare riferimento alla *Guida alla configurazione di OpenLab CDS ChemStation Edition* (CDS_CS_configure.pdf).

Lo stato di blocco attuale di uno strumento/una sessione è illustrato mediante una icona a sinistra del nome utente nel campo **used by** del pannello **Instrument** e nella colonna **used by** nella tabella **Instruments**:



Lo strumento/la sessione è usato/a da un altro utilizzatore; non acquisirne il controllo.



Lo strumento/la sessione è bloccato/a privatamente; non acquisirne il controllo.



Lo strumento/la sessione è bloccato/a non privatamente o è scollegato/a; un altro utilizzatore può acquisirne il controllo.

Se si acquisisce il controllo della sessione, l'altro utilizzatore riceve un messaggio che segnala quale utilizzatore ha acquisito il controllo della sessione.

Il report visualizza sia l'**Acquisition Operator** che è connesso come utilizzatore attuale, sia l'**Sample Operator** che ha inviato il singolo campione o la singola sequenza alla coda di analisi.

Gli strumenti in linea e non in linea sono inclusi nella stessa sessione e quindi vengono sempre trasferiti insieme. Se uno strumento in linea e uno strumento non in linea sono già avviati in una sessione, l'acquisizione del controllo trasferisce il controllo per entrambi gli strumenti, indipendentemente dal fatto che si sia fatto clic sul tasto *Avvia in linea* o *Avvia non in linea*. Se si fa clic su *Avvia non in linea* e la sessione comprende solo uno strumento in linea, o viceversa, si ottengono due finestre di strumento, una per lo strumento in linea e una per lo strumento non in linea.

Spegnimento forzato

Per spegnere strumenti che non rispondono e non possono più essere utilizzati, è possibile fare clic con il pulsante destro del mouse sullo strumento nel pannello di controllo di OpenLab e selezionare **Force Shutdown** dal pannello di controllo sul client CDS.

È necessario disporre del privilegio **Instrument Administration** per utilizzare questa funzione.

Forzare lo spegnimento non aggiorna immediatamente lo stato dello strumento, ma comporta una temporanea visualizzazione incoerente dello stato, finché lo stato viene automaticamente reimpostato su "non avviato". Si raccomanda di attendere per almeno due minuti prima di avviare una nuova sessione di ChemStation.

2

Utilizzo dei metodi

| | |
|--|----|
| Che cos'è un metodo? | 47 |
| Metodi master | 47 |
| Metodi di sequenza | 47 |
| Metodi dei file di dati | 48 |
| Parti di un metodo | 49 |
| Creazione di metodi | 51 |
| Modifica dei metodi | 52 |
| Parti di metodo da modificare | 52 |
| Struttura della directory dei metodi | 53 |
| Modifica dei metodi nella modalità in linea | 54 |
| Modifica dei metodi nella modalità non in linea | 55 |
| Amministrazione dei metodi | 56 |
| Struttura dei metodi in ChemStation Explorer | 56 |
| Visualizzazione del metodo di acquisizione | 57 |
| Aggiornamento dei parametri DA nel metodo master | 59 |
| Aggiornamento dei metodi | 60 |
| Salvataggio di un metodo come nuovo metodo master | 62 |
| Che cosa accade quando si esegue un metodo? | 63 |
| Riepilogo del funzionamento di un metodo | 63 |
| Comando o macro in pre-analisi (Lista di controllo del periodo di funzionamento) | 65 |
| Acquisizione dati (Lista di controllo del periodo di funzionamento) | 66 |
| Analisi dei dati (lista di controllo del tempo di analisi) | 66 |
| Aggiornamento dei valori dei campi personalizzati | 67 |
| Elaborazione dei dati personalizzata | 68 |
| Salvataggio dei dati secondo la Buona Prassi di Laboratorio (GLP) | 68 |
| Comando o macro post-analisi | 69 |
| Salvataggio di una copia del metodo con dati | 69 |
| Salvataggio di una copia del metodo con dati come metodo DA.M (predefinito di ChemStation) | 69 |

I metodi sono elementi cardine di ChemStation e nel presente capitolo ne sono illustrati in dettaglio i concetti.

Che cos'è un metodo?

Un metodo include tutti i parametri per l'acquisizione e l'analisi dei dati, insieme a eventuali funzioni pre- e post-analisi, per un determinato campione.

I file dei metodi disponibili (*.m) sono visualizzati in ChemStation Explorer. Per una navigazione rapida e semplice, è possibile aggiungere altri percorsi dei metodi alla struttura di selezione ad albero di ChemStation Explorer utilizzando la scheda **Paths** della finestra di dialogo **Preferences**.

Esistono diversi tipi di metodi. A seconda della posizione di archiviazione, i metodi sono utilizzati come metodi master, come riferimenti all'interno del set di risultati di una sequenza o come record effettivi delle impostazioni utilizzate durante l'acquisizione dei dati.

Metodi master

Si tratta di metodi memorizzati sul disco del computer. I metodi archiviati hanno un nome costituito da un massimo di quaranta caratteri alfanumerici seguiti dall'estensione *.M. Le directory dei metodi master sono configurate nelle Preferenze (vedere ["Selezione del percorso"](#), pagina 71).

Il metodo master viene memorizzato in una sottodirectory di metodi, disponibile nel nodo Metodi di ChemStation Explorer, e non viene direttamente associato con alcun set di risultati.

Metodi di sequenza

Quando si esegue una sequenza, le copie di tutti i metodi master usati vengono memorizzate nel set di risultati insieme ai file di dati della sequenza. Questi metodi sono direttamente collegati alla sequenza e sono utilizzati anche durante la rielaborazione della sequenza. Le modifiche apportate a questi metodi non vengono propagate ai metodi master per impostazione predefinita. Le modifiche hanno effetto non appena la sequenza parte viene avviata o continua dopo una pausa. Le modifiche vengono propagate anche ai metodi dei file di dati (DA.M) durante la rielaborazione della sequenza e la generazione di qualsiasi report.

Metodi dei file di dati

Una copia dei parametri di analisi dei dati viene memorizzata come metodo del file di dati DA.M insieme ai file di dati. Il metodo del file di dati DA.M viene aggiornato automaticamente ogni volta che vengono generati risultati (acquisizione di dati, ricalcolo o generazione di report). Inoltre, viene caricato dalla ChemStation anche quando si ricalcolano i risultati in modalità Last Result (Ultimo risultato) (vedere "Modalità ultimo risultato", pagina 153).

Se si utilizza l'opzione **Save method with Data** nella lista di controllo del periodo di funzionamento, il metodo viene memorizzato anche come run.m nel file di dati.

In ChemStation Explorer è possibile caricare facilmente un metodo master o un metodo di sequenza facendo doppio clic sulla voce del metodo.

Parti di un metodo

Un metodo è identificato da un nome composto da un massimo di 40 caratteri alfanumerici. Il nome del file avrà sempre un'estensione .M per identificarlo come metodo. I metodi vengono memorizzati come directory che contengono singoli file relativi ai componenti del metodo.

Ogni metodo ha quattro componenti:

- informazioni sul metodo;
- controllo dello strumento;
- analisi dei dati;
- lista di controllo del periodo di funzionamento.

Informazioni sui metodi

Questa sezione viene usata per definire informazioni di tipo descrittivo sul metodo.

Controllo dello strumento

Definisce i parametri di controllo di uno strumento o i suoi componenti. In uno strumento per cromatografia liquida, i parametri, come la composizione della fase mobile, il flusso, il volume di iniezione, la lunghezza d'onda del rivelatore e così via, controllano la pompa, l'iniettore ed il rivelatore. In uno strumento per gascromatografia, i parametri, come la temperatura e la pressione di iniezione, il flusso in una colonna impaccata e così via, controllano lo strumento.

Analisi dei dati

Definisce i parametri di controllo dell'elaborazione dei dati.

- *Dettagli del segnale*
Definisce i segnali e le relative proprietà usate per la valutazione dei dati.
- *Eventi di integrazione*
Definisce gli eventi programmati nel tempo che si verificano a specifici tempi di ritenzione/migrazione su un cromatogramma/elettroferogramma. Questi eventi programmati possono essere utilizzati per modificare le modalità di integrazione del segnale.

- *Identificazione dei picchi*
Definisce i parametri di elaborazione dei dati associati all'identificazione di picchi nel cromatogramma/elettroferogramma.
- *Quantificazione dei picchi*
Definisce i parametri di elaborazione dei dati con effetti sui calcoli quantitativi che determinano la quantità o la concentrazione del componente del campione che corrisponde a ogni picco.
- *Calibrazione e ricalibrazione*
Definisce i parametri di elaborazione dati che riguardano la calibrazione e la frequenza con la quale viene effettuata.
- *Campi personalizzati*
Definisce le proprietà dei campi personalizzati relativi al campione o composto disponibili per il metodo. I campi personalizzati consentono di aggiungere informazioni relative a un composto presente in un campione.
- *Report*
Con i report classici: definisce il formato del report stampato dopo un'analisi.
Con Intelligent Reporting: specifica il modello di report utilizzato per generare il report dopo un'analisi.

Lista di controllo del tempo di analisi

Definisce quali parti del metodo vengono eseguite durante il funzionamento.

La lista di controllo del tempo di analisi può essere usata per le seguenti operazioni:

- acquisire, memorizzare ed elaborare i dati per produrre un report,
- eseguire solo una parte del metodo,
- acquisire e memorizzare i dati senza analizzarli,
- rianalizzare i file di dati esistenti,
- usare comandi personalizzati per l'analisi dei dati e le elaborazioni pre- e post-analisi,
- salvare i risultati in un registro secondo la Buona Prassi di Laboratorio, e
- salvare il proprio metodo insieme ai dati.

Per maggiori informazioni sui comandi personalizzati e su come configurarli, vedere "Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation", pagina 26.

Creazione di metodi

La creazione di un nuovo metodo consiste sempre nella modifica di un metodo master o sequenza e nel salvataggio delle modifiche. È possibile sovrascrivere un metodo esistente o salvare un metodo come nuovo metodo master.

È importante essere consapevoli del fatto che quando si modifica un metodo, la versione su disco rimane invariata fino a quando non si salvano le modifiche.

Si può scegliere la modalità di creazione di un metodo. È possibile crearne uno che esegua una sola o tutte le parti dell'analisi. Ad esempio si può creare un metodo che acquisisca solo dati. Quando arriva il momento di analizzare i dati e produrre un report, il metodo può essere ancora modificato per eseguire queste attività di elaborazione dati.

NOTA

Non cancellare mai il metodo predefinito (DEF_LC.M, DEF_CE.M o DEF_GC.M). Questi file vengono usati come modelli per creare metodi nuovi.

Modifica dei metodi

I metodi esistenti si possono modificare con la funzione Modifica intero metodo nel menu Metodo. L'utente viene guidato attraverso tutte le finestre di dialogo e alla fine può salvare il metodo. Il processo viene illustrato di seguito:

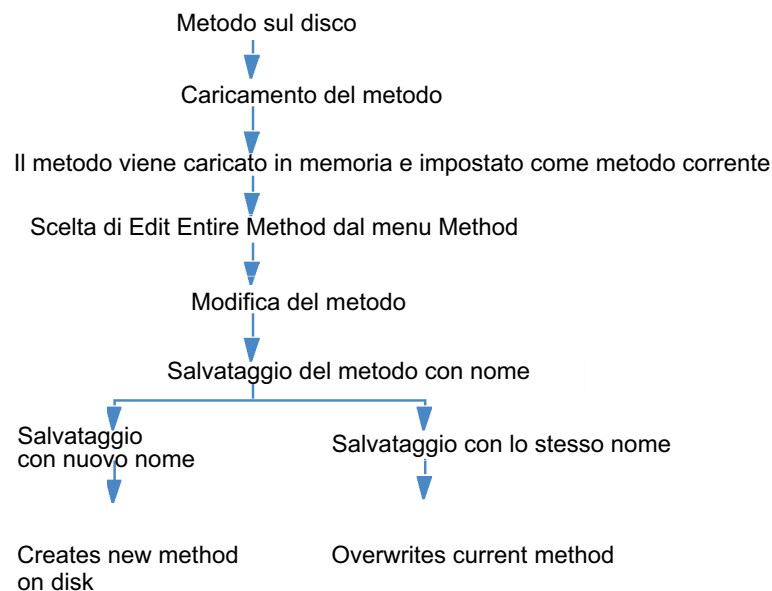


Figura 3 Modifica del metodo

Parti di metodo da modificare

Ogni metodo ha quattro componenti che possono essere modificati separatamente.

Alcune delle voci che seguono si riferiscono a finestre di dialogo specifiche, mentre altre sono solo descrittive.

- *Informazioni sul metodo* comprende:
 - una descrizione del metodo in forma di testo.

- *Controllo dello strumento* dipende dalla configurazione e può comprendere:
 - parametri del forno;
 - parametri dell'iniettore;
 - parametri del rivelatore;
- *Data Analysis* (Analisi dei dati) comprende:
 - dettagli del segnale;
 - parametri di integrazione;
 - parametri di quantificazione;
 - parametri di calibrazione,
 - parametri d'impostazione del campo personalizzato e
 - parametri per la stesura di rapporti di stampa.
- *Lista di controllo del periodo di funzionamento* comprende:
 - le parti di metodo da eseguire.

Struttura della directory dei metodi

Cartelle

Un metodo è costituito da un gruppo di file memorizzati nella directory del metodo (*.M). Per impostazione predefinita, i metodi master vengono memorizzati nella directory dei metodi dello strumento. Tale directory si trova, per esempio, nella cartella dei documenti pubblici C:\Users\Public\Documents\ChemStation\x\METHODS, in cui x corrisponde al numero dello strumento.

Il percorso dello strumento può essere definito durante l'installazione. I percorsi aggiuntivi per i metodi master possono essere aggiunti tramite le impostazioni delle preferenze.

Utilizzare il menu ChemStation **File > Open Windows Explorer...** per aprire la directory dei dati dello strumento (per esempio C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1). In alternativa, utilizzare il collegamento a **Instrument Data** nel menu Start.

I metodi di sequenza sono memorizzati nel set di risultati e i metodi dei file di dati sono memorizzati come DA.M nella sottodirectory dei file di dati.

File

I file di metodo che hanno un'estensione .MTH contengono i parametri impostati in formato UNICODE. Il file INFO.MTH comprende i parametri di controllo del metodo.

I file di metodo che contengono i parametri dello strumento hanno il nome del modulo analitico collegato. Ad esempio:

Tabella 4 Esempi di file di metodo

| | |
|--|--|
| HPCE1.MTH | Contiene il metodo di acquisizione per l'elettroforesi capillare. |
| ADC1.MTH | Contiene il metodo di acquisizione per Agilent 35900. Se vengono configurati due strumenti identici, i file di metodo saranno chiamati ADC1.MTH, ADC2.MTH. |
| DAMETHOD.REG | Per la valutazione di dati. |
| LALS1.REG | Comprende i parametri per l'autocampionatore Agilent serie 1100/1200 quando è configurato un sistema LC modulare classico. I file di metodo per gli altri moduli Agilent serie 1100/1200 seguono la stessa convenzione Lxxx1.reg dove xxx è l'acronimo del modulo. |
| AgilentSamplerDriver1.RapidControl.xxx.xml | Comprende i parametri per l'autocampionatore Agilent serie 1100/1200 quando è configurato un sistema LC modulare. Sono presenti diversi file .xml per le varie parti dei parametri (indicate dalle parti xxx del nome file). File .xml simili sono disponibili per gli altri moduli. |

Modifica dei metodi nella modalità in linea

Quando una ChemStation in linea è inattiva, è possibile modificare tutte le parti di un metodo di sequenza. Quando una sequenza è attualmente in esecuzione, è possibile modificare tutti i parametri di acquisizione e alcuni parametri di analisi dei dati, come le impostazioni sotto Specifica report.

Le modifiche vengono immediatamente salvate e rese effettive per l'analisi attuale e per tutte le successive righe della sequenza che includono lo stesso metodo. Questo significa che è possibile anche modificare il metodo durante una pausa della sequenza o una sequenza parziale.

Modifica dei metodi nella modalità non in linea

È possibile modificare un metodo di sequenza in una ChemStation non in linea, mentre lo stesso metodo viene utilizzato per un'analisi in una ChemStation in linea. In questo scenario, è possibile modificare la parte relativa all'analisi dei dati nella sessione non in linea. Una volta salvate le modifiche nella sessione non in linea, le impostazioni di analisi dei dati modificate saranno utilizzate per la successiva analisi dei dati della sequenza corrente eseguita all'interno della sessione in linea.

Gli aggiornamenti dei metodi che riguardano la calibrazione non sono presi in considerazione. Inoltre, le voci di cronologia non vengono combinate, ossia se un metodo viene eseguito in una sessione in linea e lo si modifica sia nella sessione in linea sia nella sessione non in linea, l'audit trail del metodo conterrà solo le modifiche eseguite nella ChemStation non in linea.

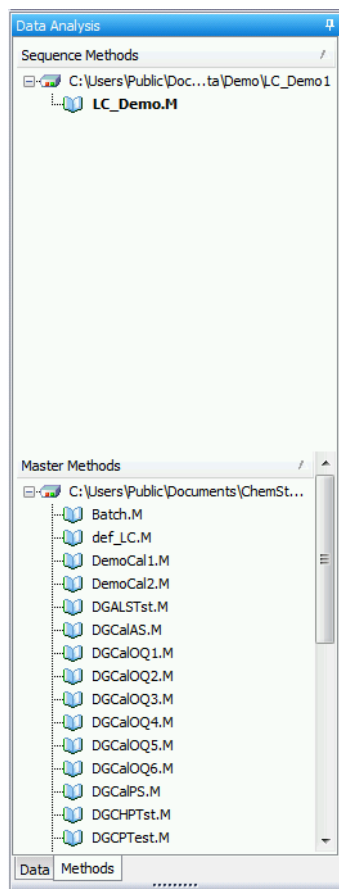
NOTA

Se lo stesso metodo master è caricato in due istanze della ChemStation dello stesso strumento, una in linea e una non in linea, è possibile modificare solo il metodo nella ChemStation in linea.

Amministrazione dei metodi

Struttura dei metodi in ChemStation Explorer

La struttura ad albero dei metodi in ChemStation Explorer è divisa in due parti. La parte superiore mostra i metodi contenuti nel set di risultati attualmente caricato. La parte inferiore mostra i metodi nelle directory dei metodi master, che si configurano nella finestra di dialogo **Preferences**.



Il metodo attualmente caricato è sempre visualizzato in grassetto.

Mediante il trascinamento della selezione è possibile copiare facilmente i metodi master nei metodi di sequenza. L'intero metodo (parametri DA e parametri ACQ) viene copiato nel set di risultati.

Visualizzazione del metodo di acquisizione

È possibile accedere ad Acquisition Method Viewer tramite il menu **Instrument > Acquisition Method Viewer...** nella finestra **Method and Run Control**. Acquisition Method Viewer è disponibile per le sessioni ChemStation in linea e non in linea.

Acquisition Method Viewer consente di controllare i parametri di acquisizione memorizzati in un metodo, indipendentemente dalla configurazione corrente dello strumento. Nella finestra di dialogo è mostrata la configurazione dello strumento che era attiva quando il metodo è stato salvato nella ChemStation. Il visualizzatore non riporta i parametri dell'analisi dei dati. Acquisition Method Viewer non consente all'utente di apportare modifiche al metodo ChemStation caricato.

Acquisition Method Viewer mostra le impostazioni del metodo in modalità di sola lettura. Non offre funzionalità di modifica e salvataggio dei metodi.

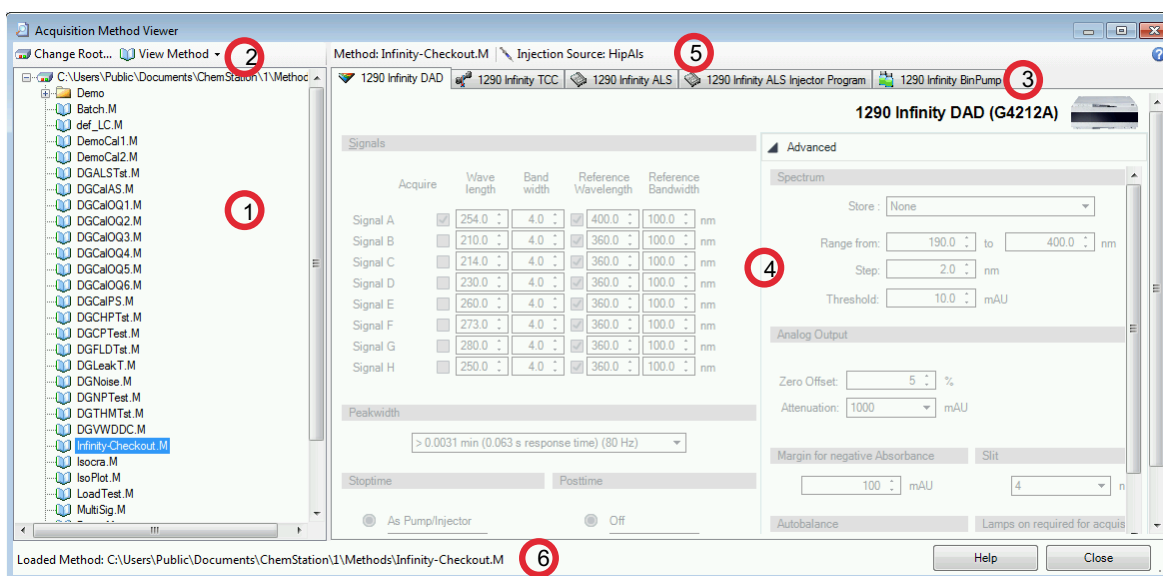


Figura 4 Finestra di dialogo Acquisition Method Viewer

| | |
|---|---|
| 1 | Browser dei metodi |
| 2 | Barra degli strumenti |
| 3 | Schede dei moduli (sono visualizzate impostazioni dei metodi e impostazioni di pre-trattamento in uno strumento di comando a schede per tutti i moduli individuati nella configurazione in uso dello strumento) |
| 4 | Area del visualizzatore dei metodi |
| 5 | Nome del metodo, informazioni sulla sorgente dell'iniezione |
| 6 | Barra di stato |

Nel browser dei metodi (1) è visualizzato per impostazione predefinita il percorso preferito dei metodi. Fare clic su **Change Root...** nella barra degli strumenti per selezionare una diversa directory.

La barra degli strumenti (2) offre le seguenti opzioni **View Method**:

- **View with Original Configuration...**: carica nello strumento le impostazioni così come sono memorizzate nel metodo.
- **View with Instrument Configuration...**: applica il metodo memorizzato alla configurazione corrente dello strumento. Questa opzione è disponibile solo per gli strumenti in linea. Il metodo memorizzato potrebbe non essere compatibile con le impostazioni correnti dello strumento; in questo caso, se possibile, le impostazioni vengono adattate automaticamente; in caso contrario è possibile esaminare le informazioni dettagliate nella finestra di dialogo **Method Resolution Info**. Nella finestra di dialogo sono elencate incongruenze e differenze tra metodo non risolto e risolto.

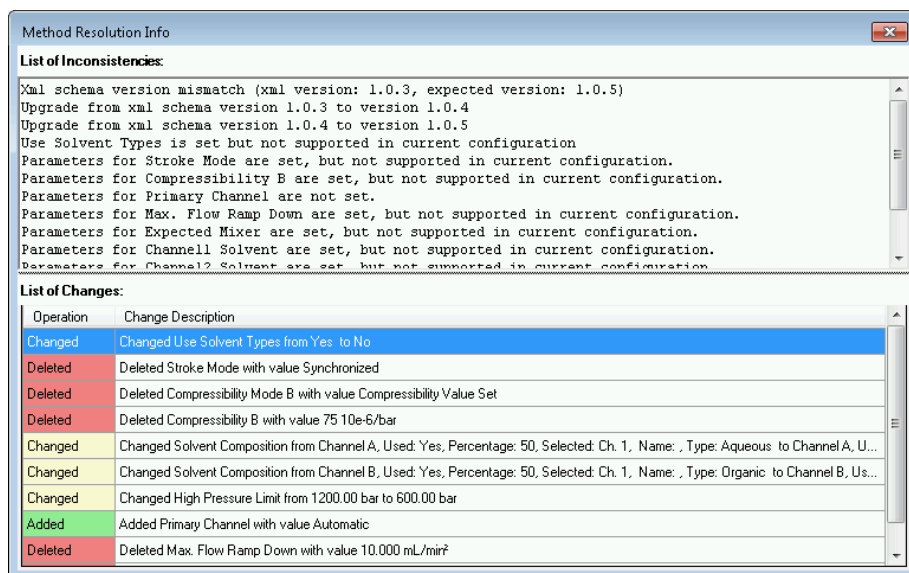


Figura 5 Finestra di dialogo Method Resolution Info

Aggiornamento dei parametri DA nel metodo master

L'opzione **Update Master Method** è disponibile nel menu **Method** e nel menu contestuale del metodo della sequenza in ChemStation Explorer. La disponibilità e l'esatto funzionamento di questa funzione variano a seconda della modalità corrente. In tutti i casi questa funzione aggiorna i parametri di analisi dei dati del metodo target.

NOTA

È importante notare che questa funzione aggiorna *solo* i parametri di analisi dei dati del metodo target e sovrascrive *tutti* i parametri di analisi dei dati.

Aggiornamento di un metodo master in modalità di rielaborazione o ricalcolo

In questa modalità, il comando **Update Master Method** è attivo solo per metodi di sequenza di un set di risultati. È possibile aggiornare il metodo master a cui si è fatto riferimento durante la creazione della sequenza. La condizione preliminare è l'esistenza del metodo master nella directory dei metodi master (il metodo master deve avere lo stesso nome del metodo della sequenza).

È possibile anche configurare i parametri della sequenza in modo da eseguire automaticamente questa funzione durante ogni acquisizione o rielaborazione di sequenza. Per ulteriori informazioni, consultare "Amministrazione dei metodi", pagina 56.

Aggiornamento di un metodo master in modalità ultimo risultato

In questa modalità, il comando **Update Master Method** è attivo sia per le sequenze sia per campioni singoli. È possibile trasferire i parametri correnti di analisi dei dati al metodo master utilizzato per l'ultima analisi dei dati. Tale metodo è mostrato nella colonna **Analysis Method** della tavola di navigazione.

Il comando è disponibile purché siano soddisfatte le seguenti condizioni:

- Il file del metodo esiste nel percorso indicato (ossia nome e percorso completo devono corrispondere).
- Per le sequenze: i dati della sequenza sono stati analizzati manualmente con un metodo master (non con il metodo della sequenza).

Aggiornamento di un metodo master qualsiasi in modalità ultimo risultato

In modalità Last Result (Ultimo risultato), è possibile trasferire i parametri di analisi dei dati a un metodo master qualsiasi, indipendentemente dal fatto che il metodo master sia correlato alla sequenza corrente o a una singola analisi. Per aggiornare un metodo master qualsiasi, selezionare **Menu > Update any Master Method...**; quindi selezionare un metodo nella finestra di dialogo **Choose Master Method to update**. I parametri di analisi dei dati verranno quindi copiati nel metodo master selezionato.

Aggiornamento dei metodi

La finestra di dialogo **Update Methods** (vedere la figura seguente) consente di copiare i metodi dalla directory dei metodi master al set di risultati e viceversa. In entrambi i casi, viene copiato l'intero metodo (parametri DA e parametri ACQ).

È possibile aprire la finestra di dialogo dal menu **Method > Update Methods...** o dal menu contestuale del metodo della sequenza in ChemStation Explorer. La funzione è disponibile per i set di risultati in modalità di ricalcolo e rielaborazione.

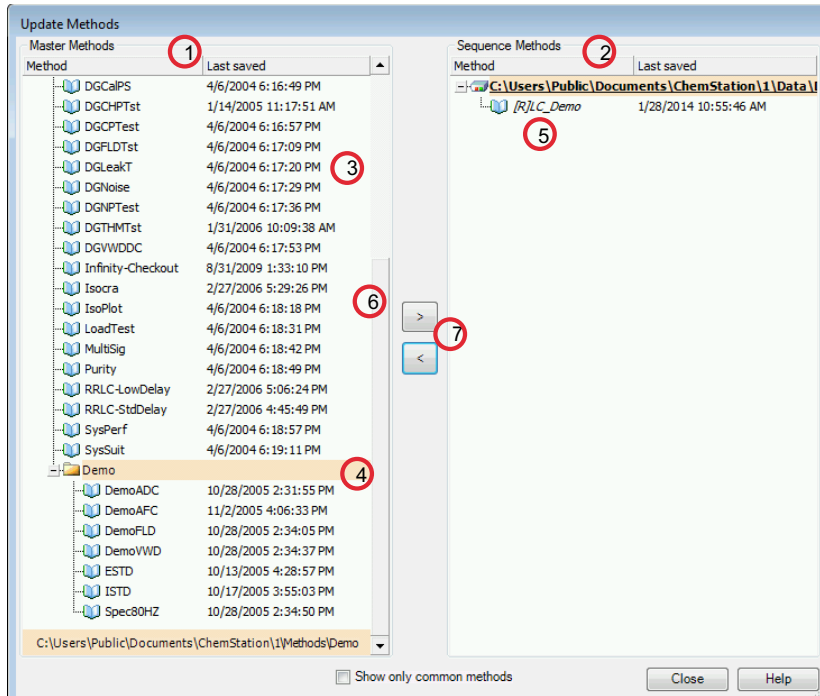


Figura 6 Update Methods, finestra di dialogo

- 1 A sinistra sono visibili i metodi in tutte le directory dei metodi master (così come sono configurati nelle preferenze).
- 2 A destra sono visibili i metodi presenti nel set di risultati attualmente caricato.
- 3 Per ogni metodo è visibile la data dell'ultimo salvataggio. Il suggerimento relativo alla data mostra l'ultima voce nella cronologia del metodo.
- 4 I metodi possono anche essere memorizzati in sottocartelle della directory dei metodi master.
- 5 I metodi a sola lettura sono indicati dal prefisso [R]. Il metodo della sequenza attualmente caricato è visualizzato in corsivo.
- 6 I metodi comuni al set di risultati della sequenza e al pool dei metodi master appaiono in grassetto. La corrispondenza dei metodi tiene conto solo del nome; se un nome di metodo esiste in più pool, ogni istanza viene considerata comune.
- 7 È possibile copiare i metodi tra un pool di metodi master e il set di risultati della sequenza usando il trascinamento o i pulsanti < e >. Non è possibile sovrascrivere i metodi contrassegnati come a sola lettura.

Salvataggio di un metodo come nuovo metodo master

È possibile salvare i parametri di analisi dei dati da DA.M come un nuovo metodo master. Tuttavia, il metodo DA.M non contiene i parametri di acquisizione. Affinché il nuovo metodo master disponga di un set valido di parametri di acquisizione, è necessario pertanto selezionare un altro metodo come modello per i parametri di acquisizione (vedere la figura seguente). Il nuovo metodo master conterrà quindi i parametri correnti di analisi dei dati ottenuti dal DA.M e i parametri di acquisizione ottenuti dal metodo modello selezionato. Il nuovo metodo viene creato nella cartella in cui è memorizzato il metodo modello di acquisizione.

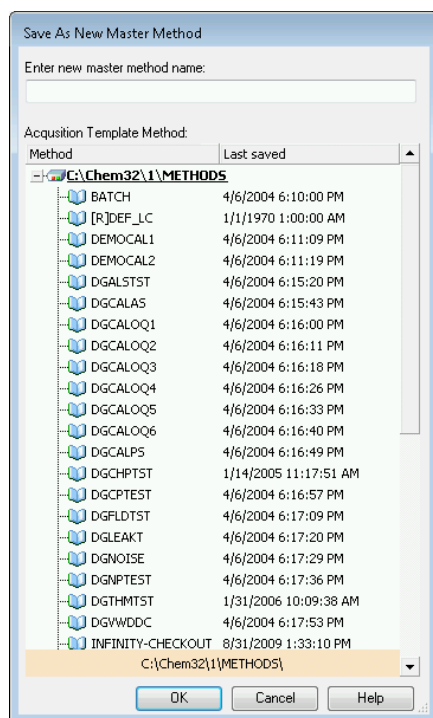


Figura 7 Finestra di dialogo Save as New Master Method

Che cosa accade quando si esegue un metodo?

Nella finestra di dialogo **Run Time Checklist** sono specificate le parti del metodo da eseguire quando si avvia l'analisi.

La lista di controllo del tempo di analisi è costituita dalle seguenti parti:

- macro o comando pre-analisi
- acquisizione dei dati
- analisi dei dati standard
- metodo di analisi per il secondo segnale (solo GC)
- aggiornamento dei valori dei campi personalizzati
- analisi dei dati personalizzata
- salvataggio dei dati GLP
- comando o macro post-analisi
- salvataggio di una copia del metodo con i relativi dati (RUN.M)

Quando si esegue un metodo, vengono eseguite le parti specificate nella finestra di dialogo della lista di controllo del tempo di analisi. Utilizzare il menu **Method > Run Time Checklist...** per visualizzare o modificare le parti specificate della lista di controllo del tempo di analisi.

Per maggiori informazioni sui comandi e su come configurarli, vedere "Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation", pagina 26.

Riepilogo del funzionamento di un metodo

Nell'elenco che segue è mostrato il flusso del funzionamento di un metodo quando sono selezionate tutte le parti della lista di controllo del tempo di analisi.

- 1 *Macro comandi pre-analisi*
Esegue un'attività prima dell'avvio dell'analisi.
- 2 *Acquisizione dei dati*
Esegue il programma dell'iniettore.
Inietta il campione.
Acquisisce i dati grezzi.
Archivia i dati.
Salva i parametri di acquisizione nel file ACQ.TXT.

Utilizzo dei metodi

Che cosa accade quando si esegue un metodo?

- 3 Come opzione, a seconda delle istruzioni della lista di controllo del tempo di analisi: *salva una copia del metodo con dati* come RUN.M.
- 4 *Analisi dei dati (elaborazione dei dati)*
Carica il file di dati.
Integra il file di dati.
Identifica e quantifica il picco.
Esegue la ricerca nella libreria spettrale, se disponibile.
Controlla la purezza del picco, se disponibile.
Salva una copia del metodo (DA.M).
Stampa i report (dopo l'aggiornamento dei valori dei campi personalizzati, se l'opzione è selezionata).
- 5 *Aggiornamento dei valori dei campi personalizzati*
Esegue le macro per aggiornare i valori dei campi personalizzati prima della stampa dei report.
- 6 *Analisi dei dati personalizzata*
Esegue le macro dopo la stampa dei report.
- 7 *Salvataggio dei dati GLP*
Salva il registro binario GLPSave.Reg
- 8 *Macro comandi post-analisi*
Esegue un'attività dopo il completamento dell'analisi, per esempio produce un report personalizzato.

Che cosa accade quando si esegue un metodo?

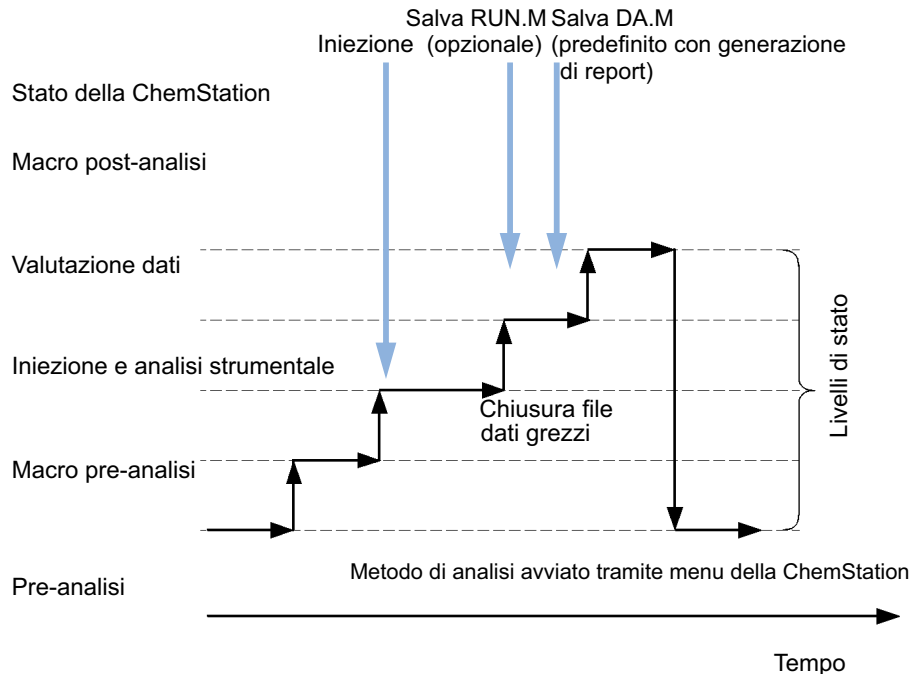


Figura 8 Funzionamento del metodo

Nella figura è mostrata una panoramica dello stato della ChemStation durante il funzionamento del metodo, nel caso in cui siano selezionate tutte le parti della lista di controllo del tempo di analisi.

Comando o macro in pre-analisi (Lista di controllo del periodo di funzionamento)

Se si specifica un comando o una macro di pre-analisi, viene eseguito prima dell'inizio dell'analisi. Questa parte viene di solito usata per personalizzare il sistema unitamente ad altri pacchetti software.

Acquisizione dati (Lista di controllo del periodo di funzionamento)

- Tutti i parametri sono stabiliti alle condizioni iniziali specificate nel metodo corrente.
- Il programma di iniezione viene eseguito se richiesto e l'iniezione viene effettuata da un vial definito come corrente.
- Il monitor mostra l'andamento dell'analisi comprese informazioni sul cromatogramma/elettroferogramma oltre ai dati spettrali, se disponibili.
- I dati vengono acquisiti e archiviati in un file.
- Quando termina l'acquisizione dei dati, i parametri di acquisizione del metodo attualmente eseguito vengono memorizzati per impostazione predefinita come ACQ.txt per il file di dati.

Analisi dei dati (lista di controllo del tempo di analisi)

Una volta raggiunto il tempo finale, l'analisi termina e tutti i dati grezzi vengono archiviati nel disco rigido del computer. La componente software che esegue l'analisi dei dati viene avviata una volta archiviati tutti i dati grezzi.

Integrazione

- Gli oggetti di cromatogrammi/elettroferogrammi contenuti nel segnale sono integrati come specificato nella finestra di dialogo Integration Events (Eventi di integrazione).
- Vengono determinati l'inizio e la fine del picco oltre all'apice e al tempo di ritenzione/migrazione.
- Le linee di base di ogni picco vengono definite per determinare l'area e l'altezza finale del picco.
- I risultati dell'integrazione compaiono in una lista in Integration Results.

Identificazione e quantificazione dei picchi

- Utilizzando tempi di ritenzione/migrazione e qualificatori del picco opzionali, il software identifica i picchi facendo riferimenti incrociati fra questi e composti conosciuti definiti nella tavola di calibrazione.
- Utilizzando le altezze o le aree dei picchi, il software calcola la quantità di ogni componente usando i parametri di calibrazione della tavola.

Utilizzo dei metodi

Che cosa accade quando si esegue un metodo?

Ricerca nelle librerie di spettri (solo per sistemi LC 3D, CE, CE/MS e LC/MS, disponibile con i report classici)

Per tutti i picchi per i quali sono disponibili spettri UV-visibile, è possibile effettuare una ricerca automatica nella libreria spettrale predefinita per identificare i componenti del campione in base agli spettri UV-visibile. Per informazioni più dettagliate, fare riferimento a *Conoscere il modulo di valutazione spettri*.

Controllo della purezza dei picchi (solo per sistemi LC 3D, CE, CE/MS e LC/MS)

Per un picco per il quale sono disponibili spettri UV-visibile, è possibile calcolare un fattore di purezza e memorizzarlo in un registro. La purezza può essere determinata automaticamente nell'ambito del metodo alla fine di ogni analisi, se la casella Check Purity (Controlla purezza) è selezionata quando si specifica l'esecuzione di una ricerca automatica nella libreria oppure quando si seleziona un opportuno stile di report. Per informazioni più dettagliate, fare riferimento a *Conoscere il modulo di valutazione spettri*.

Stampa report

Il report generato contiene le identità e le quantità dei componenti rivelati nell'analisi.

NOTA

Se si esegue una macro di aggiornamento dei valori dei campi personalizzati, i report vengono generati *dopo* l'esecuzione di tale macro.

Aggiornamento dei valori dei campi personalizzati

ChemStation consente di definire campi personalizzati per un campione e per composti specifici. I valori dei campi personalizzati possono essere inclusi nei report. Per impostazione predefinita, i valori sono statici. **Update Custom Fields Value** permette di modificare i valori dei campi personalizzati prima di generare i report. I campi aggiornati sono disponibili sia in Classic Reporting sia in Intelligent Reporting.

Una macro di esempio è disponibile nella cartella **Disk2 > UCL**.

La macro di aggiornamento dei campi personalizzati viene eseguita come segue:

- 1 nell'ambito di un'analisi dei dati standard, subito prima della creazione dei report
- 2 ogni volta che si crea un report/un'anteprima di report nella vista **Data Analysis** (anche se l'analisi dei dati standard non è selezionata nella lista di controllo del tempo di analisi)

NOTA

Durante la rielaborazione i valori dei campi personalizzati vengono sempre sovrascritti dai valori statici definiti nella sequenza/nel campione. I campi personalizzati vengono modificati soltanto poco prima della generazione dei report. Pertanto, se si rielabora una sequenza con un diverso metodo che non contiene la macro per l'aggiornamento dei campi personalizzati, i valori vengono reimpostati su quelli statici definiti.

Elaborazione dei dati personalizzata

Permette di eseguire macro personalizzate per valutare dati analitici.

Se l'analisi dei dati standard è abilitata, tali macro vengono eseguite *dopo* la generazione dei report. Pertanto i risultati non sono disponibili per la stesura dei report (né in Classic Reporting né in Intelligent Reporting). Se l'analisi dei dati standard è disabilitata, vengono eseguite dopo l'acquisizione dei dati.

Salvataggio dei dati secondo la Buona Prassi di Laboratorio (GLP)

Salva il registro binario GLPSave.Reg insieme al metodo di analisi dei dati nella directory dei dati. Questa funzione ha lo scopo di aiutare a provare l'originalità dei dati e la qualità delle singole analisi.

Il file binario GLPSave.Reg contiene le informazioni seguenti in un registro non modificabile e protetto da somma di controllo:

- valori delle impostazioni chiave dello strumento (possono essere revisionati graficamente);
- segnali cromatografici o elettroferografici;
- risultati dell'integrazione;
- risultati della quantificazione;

Utilizzo dei metodi

Che cosa accade quando si esegue un metodo?

- metodo di analisi dei dati;
- registro elettronico.

Questi dati vengono salvati solo se si attiva la funzione Save GLP Data (Salva dati GLP) selezionando l'apposita casella nella lista di controllo del tempo di analisi. È possibile riesaminare i dati, ma non modificarli, nel menu di analisi dei dati in ChemStation.

Comando o macro post-analisi

Se viene specificato questo tipo di comando, sarà eseguito dopo l'elaborazione dei dati. Ad esempio la copiatura di dati su disco per un backup.

Salvataggio di una copia del metodo con dati

Viene effettuato dopo l'acquisizione dei dati e solo se l'opzione **Save method with Data** è attiva nella lista di controllo del periodo di funzionamento. Questa operazione copia il metodo usato per l'acquisizione nella directory dei dati, con il nome RUN.M. RUN.M contiene i parametri DA e ACQ. È a sola lettura e fornisce quindi un modo per ricostruire in futuro l'analisi, anche se il metodo è cambiato nel frattempo. È possibile vedere come le modifiche del metodo o dei parametri selezionati hanno influito sull'analisi, aiutando a ottimizzarlo.

Salvataggio di una copia del metodo con dati come metodo DA.M (predefinito di ChemStation)

Indipendentemente dalle voci contrassegnate nella lista di controllo del periodo di funzionamento, una copia dei parametri di analisi dei dati del metodo eseguito viene salvata come metodo DA.M insieme al report nel file di dati. Questa operazione viene eseguita alla fine della fase di *analisi dei dati standard* e anche quando si crea un report nella finestra Data Analysis (Analisi dei dati).

3

Acquisizione dei dati

Che cosa si intende per acquisizione dei dati? 71

Monitor in linea 73

Monitor in linea per segnali 73

Monitor degli spettri in linea 73

Registro elettronico 74

Informazioni sullo stato 75

Barra di stato 75

Diagramma di sistema 75

Regole e avvisi 77

Nel presente capitolo è riportata un'introduzione al processo di acquisizione dei dati.

Che cosa si intende per acquisizione dei dati?

Durante la fase di acquisizione dei dati, tutti i segnali acquisiti dallo strumento analitico vengono convertiti da segnali analogici a segnali digitali all'interno del rivelatore. Il segnale digitale viene trasmesso a ChemStation in formato elettronico e salvato nel file dati del segnale.

Selezione del percorso

L'archiviazione flessibile dei dati per le singole analisi e le sequenze consente di specificare diverse posizioni di salvataggio senza dover rieseguire la configurazione. La scheda **Paths** nella finestra di dialogo **Preferences** del menu **View** consente di aggiungere più percorsi oltre a quello predefinito¹ C:\Users\Public\Documents\ChemStation\x\DATA (in cui x corrisponde al numero dello strumento). Utilizzando i pulsanti **Add** e **Remove** è possibile eliminare i percorsi esistenti; in alternativa, è possibile passare a una posizione selezionata e aggiungere il percorso in **Preferences**.

Non è possibile rimuovere il percorso predefinito dall'elenco ma è possibile modificarlo nella finestra di dialogo **Configure Instrument** del pannello di controllo. Per ulteriori informazioni sulla modifica dei percorsi predefiniti, fare riferimento a *OpenLab CDS ChemStation Edition Guida per gli amministratori*.

Il menu ChemStation **File > Open Windows Explorer...** consente di accedere facilmente alla directory dei dati dello strumento in uso (per esempio C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1). In alternativa, utilizzare il collegamento a **Instrument Data** nel menu Start.

¹ Il percorso può essere definito durante l'installazione.

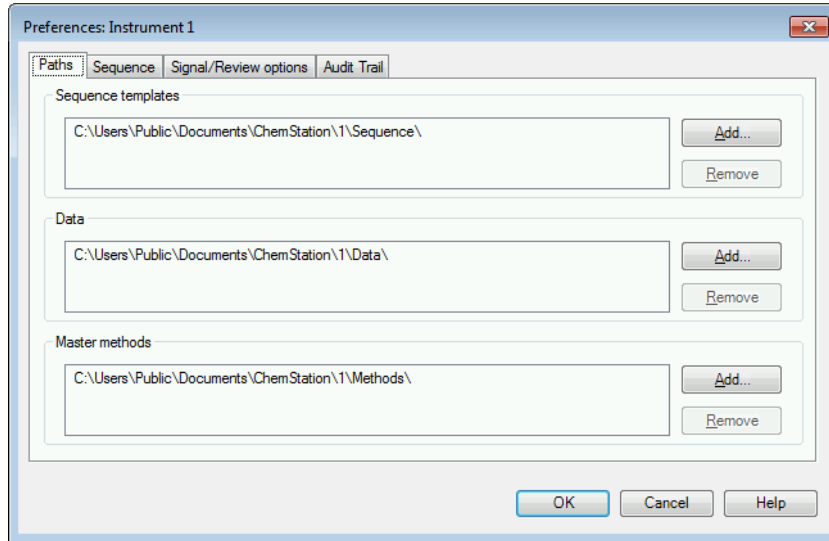


Figura 9 La scheda Paths nella finestra di dialogo Preferences

Tutti i nuovi percorsi di dati specificati sono disponibili per la selezione nelle finestre di dialogo **Sample Info** e **Sequence Parameters** quando si eseguono le analisi.

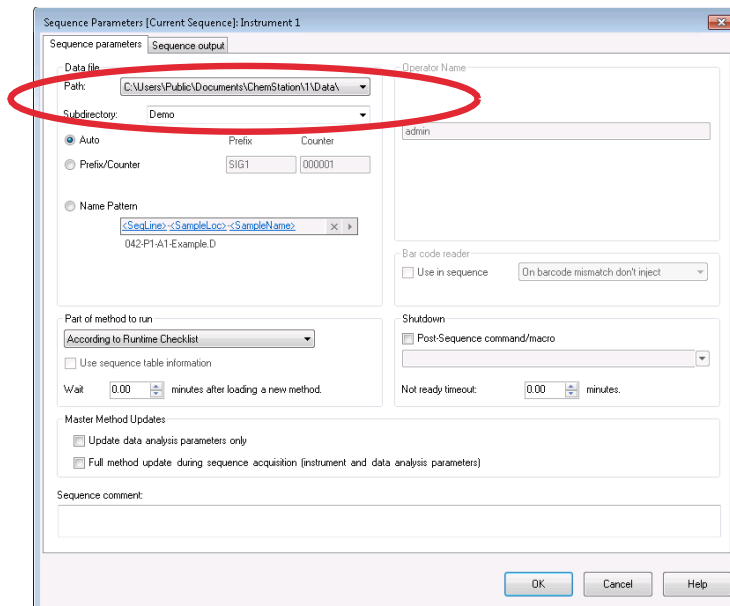


Figura 10 Selezione del percorso dei dati nella finestra di dialogo Sequence Parameters

Monitor in linea

Monitor in linea per segnali

Il monitor in linea per segnali consente di monitorare nella stessa finestra diversi segnali e, se lo strumento associato supporta questa funzione, diagrammi sulle prestazioni dello strumento. Si possono selezionare i segnali che si desidera visualizzare e regolare gli assi del tempo e della risposta. Per i rivelatori che supportano questa funzione è disponibile un tasto equilibrio.

Si può visualizzare la risposta assoluta al segnale nella linea del messaggio spostando il cursore a croce sullo schermo.

Monitor degli spettri in linea

Il monitor degli spettri in linea mostra l'assorbanza in funzione della lunghezza d'onda o del rapporto m/z nel caso degli spettri di massa. È possibile regolare sia l'intervallo di lunghezze d'onda visualizzato sia la scala di assorbanza.

Registro elettronico

Il registro elettronico mostra i messaggi generati dal sistema analitico. Questi messaggi possono essere messaggi di errore, messaggi di sistema o messaggi di evento da un modulo. Il registro elettronico registra questi eventi senza considerare se sono visualizzati o no.

Informazioni sullo stato

Barra di stato

L'interfaccia grafica per l'utilizzatore di ChemStation comprende barre di strumenti e una barra di stato nella visualizzazione Controllo metodo e delle analisi di ChemStation. La barra di stato comprende un campo che visualizza lo stato del sistema ed informazioni sul metodo corrente caricato e sulla sequenza. Se questi ultimi sono stati modificati dopo il caricamento, sono contrassegnati da un asterisco o ingranaggio giallo, a seconda dello strumento. Un simbolo di avviso di manutenzione preventiva (EMF) giallo indica limiti di utilizzo che eccedono le impostazioni configurate per i prodotti di consumo di LC (per esempio, la lampada). La barra di stato mostra anche lo stato della coda di analisi, che può essere **Resumed**, **Paused**, o **Blocked**.

Diagramma di sistema

Se supportato dagli strumenti analitici configurati (ad esempio i moduli LC Agilent serie 1200 Infinity o il sistema GC Intuvo 9000) è possibile visualizzare un diagramma del sistema gestito dalla ChemStation. Ciò consente di controllare rapidamente lo stato del sistema. Selezionare la voce **System Diagram** dal menu **View** della vista **Method and Run Control** per attivare il diagramma. Si tratta di una rappresentazione grafica del sistema della ChemStation. Lo stato corrente viene visualizzato utilizzando il codice a colori descritto di seguito.

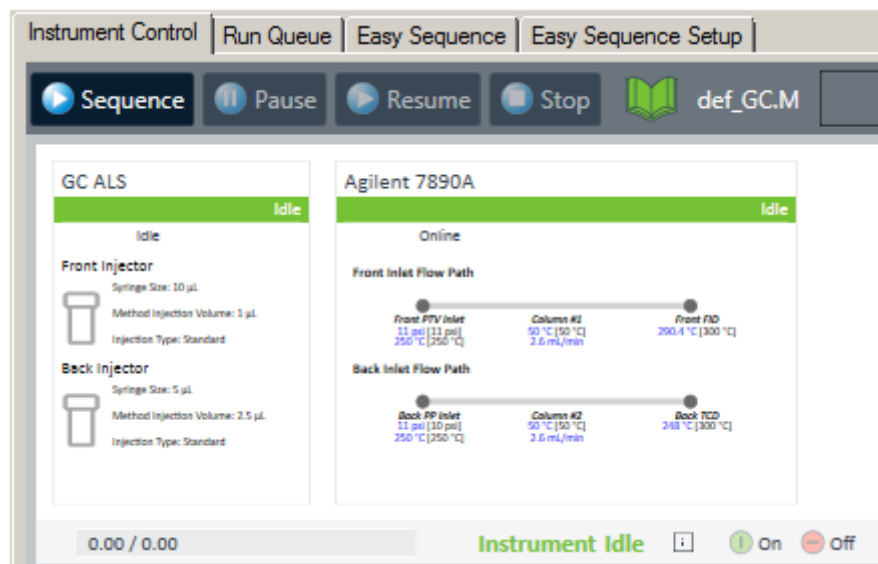


Figura 11 Diagramma di sistema, per esempio per un sistema GC

Tabella 5 Colori utilizzati per indicare lo stato del modulo o dello strumento

| Colore | Status |
|-----------|---------------------------------------|
| grigio | non in linea |
| verde | inattivo |
| arancione | non pronto |
| rosso | errore |
| ciano | standby (per esempio, lampade spente) |
| porpora | pre-analisi, post-analisi |
| magenta | iniezione in corso |
| blu | analisi in corso o post-analisi |

Inoltre, è possibile visualizzare elenchi delle impostazioni effettive dei parametri. Oltre a fornire una panoramica dello stato, il diagramma consente di accedere velocemente a finestre di dialogo per impostare i parametri di ogni componente del sistema.

Per ulteriori informazioni sul diagramma del sistema, consultare la sezione relativa agli strumenti della guida in linea.

Regole e avvisi

Per i driver degli strumenti che supportano questa funzione (per esempio il gascromatografo 7890A), è possibile scegliere **Instrument > Manage Rules and Alerts...** per configurare il modo in cui ChemStation reagisce a eventi specifici durante l'acquisizione.

Per esempio, un vial o recipiente mancante è un errore comune in cromatografia. La ChemStation può, per esempio, continuare, mettere in pausa, interrompere o abbandonare una sequenza.

NOTA

Gli eventi previsti e le possibili risposte dipendono dal driver dello strumento.

4

Automazione/sequenze

| | |
|--|-----|
| Che cos'è l'automazione? | 80 |
| Che cosa sono le sequenze e i modelli di sequenze? | 80 |
| Parametri della sequenza | 81 |
| Immissione dei campioni per via grafica | 82 |
| Tavola di sequenza | 86 |
| Creazione di sequenze (sequenze e modelli di sequenza) | 86 |
| Easy Sequence | 91 |
| Panoramica | 91 |
| Utilizzo della scheda Easy Sequence (Sequenza) | 92 |
| Utilizzo della scheda Easy Sequence Setup (Modello) | 93 |
| Utilizzo delle sequenze (sequenze e modelli di sequenza) | 95 |
| Acquisizione dei dati in una sequenza | 95 |
| Acquisizione di dati per singole analisi | 97 |
| Aggiornamento automatico dei metodi master | 97 |
| Campioni prioritari | 99 |
| Sequenze con campioni di controllo | 99 |
| Sequenze con bianchi di riferimento | 99 |
| Esecuzione di una sequenza | 100 |
| Utilizzo dell'opzione High-Throughput per alta produttività | 102 |
| Come arrestare temporaneamente una sequenza | 102 |
| Come bloccare una sequenza | 102 |
| Interruzione di una sequenza | 102 |
| Esecuzione di una sequenza parziale | 103 |
| Creazione di un set di risultati autoassemblato | 106 |
| File di registrazione della sequenza | 108 |
| Cosa succede quando si esegue una sequenza? | 109 |
| Struttura del file di dati della sequenza | 111 |
| Preferences (Preferenze) - scheda Sequence (Sequenza) | 111 |
| Struttura del file di dati | 112 |
| Attribuzione del nome ai file di dati in una sequenza | 114 |
| Denominazione automatica dei file di dati in una sequenza | 114 |
| Come inserire nomi dei file di dati manualmente | 115 |
| Uso del sistema a prefisso/caratteri a scalare per denominare i file di dati | 115 |
| Uso di un modello di nome per denominare i file di dati | 116 |
| Migrazione del set di risultati | 117 |

| | |
|---|-----|
| Funzionamento post-sequenza | 119 |
| Not Ready Timeout (Timeout non pronto) (solo cromatografia liquida ed elettroforesi capillare) | 119 |
| Wait Time (Tempo di attesa) (solo cromatografia liquida ed elettroforesi capillare) | 120 |
| Ricalibrazione automatica | 121 |
| Come specificare le ricalibrazioni | 122 |
| Parametri di ricalibrazione nella tavola di sequenza | 122 |
| Tipi di sequenze | 125 |
| Sequenze di calibrazione esplicite | 125 |
| Sequenze di calibrazione cicliche a livello singolo | 125 |
| Sequenze di calibrazione cicliche multilivello | 126 |
| Calibrazioni cicliche ed esplicite insieme | 129 |
| Sequenze di calibrazione ciclica in bracketing | 130 |
| Sequenze di ricalibrazione ciclica con più vial contenenti la stessa diluizione di uno standard | 134 |

Nel presente capitolo sono descritti i concetti relativi all'automazione. In particolare, è spiegato come utilizzare le sequenze con ChemStation, cosa accade quando si esegue una sequenza e come personalizzare le sequenze.

Che cos'è l'automazione?

L'automazione è l'analisi non sorvegliata di più iniezioni.

La parte di software della ChemStation che riguarda le sequenze permette di automatizzare l'acquisizione e la valutazione dei dati oltre che la stesura di rapporti di stampa.

Che cosa sono le sequenze e i modelli di sequenze?

Una sequenza è una serie di istruzioni che automatizza l'analisi dei campioni. Può essere utilizzata per iniettare automaticamente ogni campione, oltre che per acquisire e analizzare i dati secondo il metodo definito per lo specifico campione. Ciascun vial di campione in una sequenza può essere analizzato con un diverso metodo analitico; ciò permette di utilizzare set distinti di condizioni cromatografiche/elettroferografiche e di parametri di valutazione.

I file di sequenza (*.s) sono "modelli di sequenza" utilizzabili per eseguire più volte l'acquisizione; tuttavia, tali modelli non sono utilizzati per la rielaborazione in **Data Analysis**. Quando si esegue il modello di sequenza, viene creato un set di risultati contenente tutti i file correlati. Se si riutilizza il modello di sequenza, la ChemStation crea un nuovo set di risultati per ciascun riutilizzo.

I modelli di sequenza disponibili sono visibili in ChemStation Explorer. Per accelerare e semplificare la navigazione, è possibile aggiungere altri percorsi dei modelli di sequenza alla struttura di selezione ad albero di ChemStation Explorer utilizzando la scheda **Paths** della finestra di dialogo **Preferences**.

È possibile impostare diverse sequenze per uno strumento e programmarle nell'ordine appropriato. La scheda **Run Queue** mostra il carico di lavoro totale dello strumento (sequenze oltre a campioni singoli, pause, ecc.). Si può definire l'ordine degli elementi da elaborare direttamente nella scheda Coda di analisi. Per ulteriori informazioni sulla Coda di analisi, vedere "Informazioni sulla coda di analisi", pagina 139.

Parametri della sequenza

La finestra di dialogo **Sequence Parameters** contiene informazioni comuni a tutti i vial di campioni di una sequenza. Utilizzare questa finestra di dialogo per:

- selezionare la directory dei dati utilizzando la casella combinata **Path**,
- specificare come deve essere elaborata la sequenza scegliendo una parte specifica dei parametri di metodi e analisi, e
- specificare cosa accade al termine della sequenza, per esempio utilizzando una macro comandi **Shutdown**. Per maggiori informazioni sui comandi personalizzati e su come configurarli, vedere ["Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation"](#) , pagina 26.

Ad esempio si può scegliere di:

- eseguire la lista di controllo del tempo di analisi,
- eseguire solo l'acquisizione, oppure
- eseguire solo la rielaborazione (per i dati acquisiti fino alla versione B.01.03 della ChemStation oppure per i dati acquisiti con l'opzione **Unique Folder Creation OFF**).

NOTA

I dati della sequenza acquisiti con le versioni ChemStation fino a B.01.03 o acquisiti con l'opzione **Unique Folder Creation OFF** devono essere rielaborati tramite l'opzione **reprocess** nella vista **Method and Run Control**.

I dati della sequenza acquisiti con le versioni ChemStation B.02.01 e successive devono essere rielaborati tramite l'opzione **reprocess** nella **Data Analysis Navigation table**.

Se si seleziona l'opzione **reprocess** è possibile scegliere se usare i dati relativi al campione definiti al momento della sua analisi originaria oppure, attivando la casella di controllo **Use Sequence Table information**, utilizzare dati aggiornati inserendo nuovi dati nella tavola di sequenza:

- specificare se devono essere utilizzati i codici a barre nella sequenza e come trattare le mancate corrispondenze se nel sistema è installato un lettore di codici a barre.

Immissione dei campioni per via grafica

A partire dalla versione ChemStation C.01.07 è supportata un'intuitiva funzionalità di immissione dei campioni per via grafica basata su una rappresentazione visiva del contenitore per campione e dei campioni caricati. È possibile creare manualmente nuovi campioni o caricare sequenze esistenti alle quali assegnare parametri non ancora esistenti, quali la posizione di un contenitore o un metodo (per esempio per le sequenze di reiniezione generate da frazioni raccolte).

L'espressione *contenitori per campioni* indica le piastre o i vassoi degli strumenti in cui sono alloggiati i campioni/i vial. Il numero di vial e le dimensioni dei contenitori per campioni variano a seconda dello strumento. I tipi di contenitori per campioni descrivono in formato XML le caratteristiche fisiche di uno specifico vassoio o di una particolare piastra. È possibile memorizzare i tipi di contenitori personalizzati per campioni in una posizione centralizzata e renderli disponibili all'intero laboratorio importando un file XML contenente la definizione dei tipi di contenitori per campioni. Il pulsante **Import Sample Container Type** nel pannello di controllo OpenLab consente di importare i tipi di contenitori personalizzati per campioni.

È possibile scegliere un contenitore per campione nella scheda **Sample Entry**. È possibile immettere facilmente nuovi campioni nell'interfaccia utente grafica facendo semplicemente clic sull'immagine del contenitore. Le posizioni dei campioni sono contrassegnate con un codice a colori corrispondente al tipo di campione.

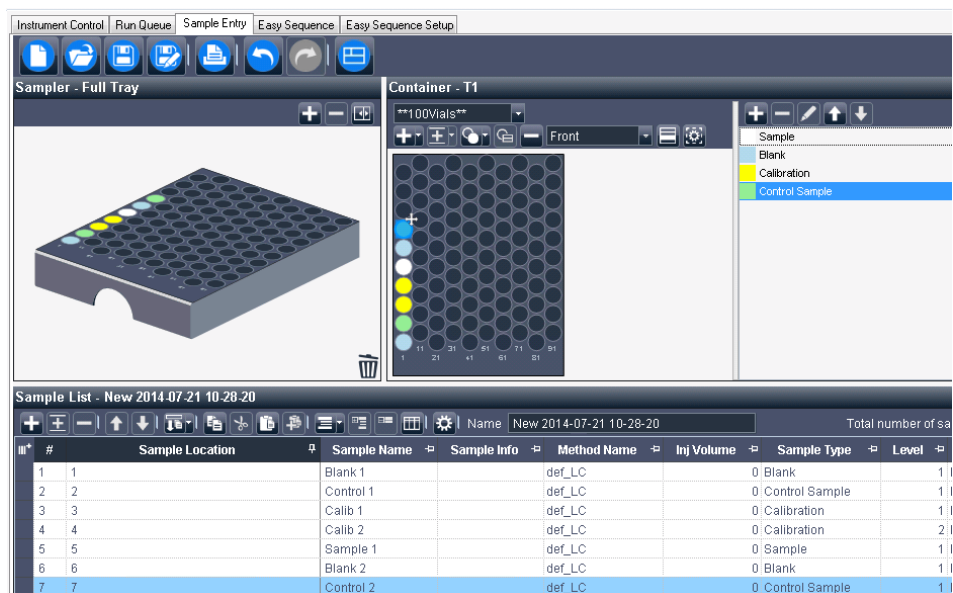


Figura 12 Scheda Sample entry

Tramite **Selection Properties** (🔧) è possibile definire la distribuzione per più campioni. Utilizzando queste opzioni, è possibile visualizzare la freccia di ordinamento. È sufficiente trascinare il mouse sopra diverse posizioni.

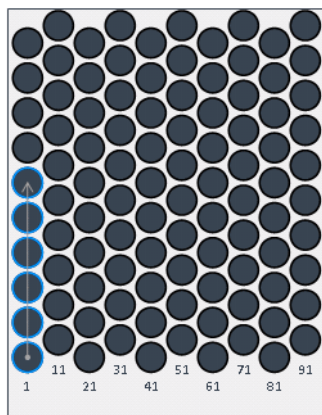


Figura 13 Freccia di ordinamento

Nel caso degli autocampionatori che permettono di modificare fisicamente la distribuzione delle piastre, è possibile persino trascinare intere piastre in altre posizioni o altri cassette. Le posizioni dei vial vengono regolate automaticamente nell'elenco dei campioni. La configurazione del contenitore può essere salvata con il modello della sequenza oppure esportata in un file PDF.

Inoltre è possibile preparare piastre che non sono associate ad alcuna posizione o ad alcun cassetto specifici. Tali piastre *in posizione di parcheggio* corrispondono alle piastre che l'operatore prepara sul banco del laboratorio. Vengono salvate insieme alle altre impostazioni nel modello di sequenza. È possibile caricare tale modello di sequenza in un secondo momento per lo strumento pertinente e assegnare quindi le piastre preparate alla posizione e al cassetto corretti.

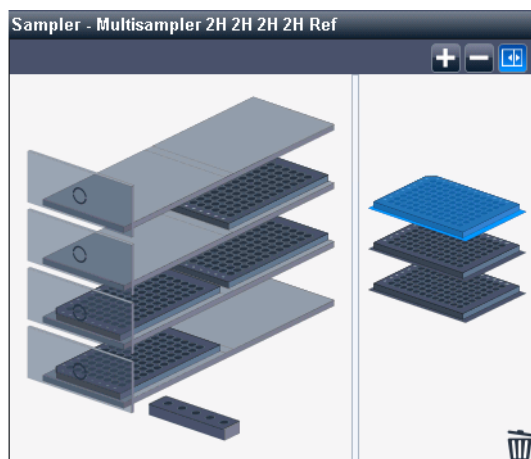


Figura 14 Multicampionatore nella scheda Sample entry

Nella tabella **Sample List** sono disponibili numerose funzioni che consentono di modificare la tabella, tra cui:

- Copia di intervalli di celle
- Aggiunta di celle o righe copiate
- Raggruppamento di campioni in base a informazioni specifiche
- Ricopiatura in basso con incremento automatico intelligente
- Riordinamento di una o più righe selezionate
- Copia negli Appunti del contenuto di singole celle o di aree selezionate della tabella

Nell'elenco dei campioni è necessario compilare le stesse informazioni della tavola di sequenza (vedere "Tavola di sequenza", pagina 86). Al termine, inviare l'elenco dei campioni come una sequenza alla coda di analisi.

NOTA

Una volta che la sequenza viene eseguita, non è più possibile modificare l'elenco dei campioni. La modifica in linea è possibile solo nella tavola di sequenza.

NOTA

Per continuare a modificare questo modello di sequenza in ChemStation, prima salvarlo usando il pulsante **Save** nella scheda **Sample Entry**. Quindi caricare nuovamente il modello della sequenza usando il menu **File** o **Sequence**.

NOTA

La configurazione del contenitore non viene aggiornata nella presentazione grafica dello scomparto nella dashboard dello strumento.

Tavola di sequenza

La tavola della sequenza determina quali metodi vengono utilizzati per analizzare i vial di campione e l'ordine di acquisizione e analisi dei dati per i vial. Questa tavola contiene anche informazioni su ciascun campione, tra cui le posizioni del campione in una piastra¹, i nomi dei campioni, i parametri di quantificazione e i parametri di ricalibrazione.

Per gli strumenti che supportano il campionamento doppio (GC), nella tavola è visualizzata un'ulteriore colonna denominata **Injector Location** (valori possibili: **Front** o **Back**) e in basso è disponibile la casella di controllo **Dual Simultaneous Injections**:

- Se si seleziona la casella di controllo **Dual Simultaneous Injections**, il sistema combina le analisi ed elabora due campioni simultaneamente in ciascuna analisi. I numeri delle righe vengono corretti di conseguenza. In questa modalità, è possibile ordinare la tavola di sequenza in base alla posizione dell'iniettore **Front** o **Back**.
- Se non si seleziona questa casella di controllo, in ciascuna analisi viene elaborato un solo campione. L'ordine delle analisi è quello visualizzato nella tavola. È possibile alternare tra l'utilizzo dell'iniettore anteriore e di quello posteriore.

Per una descrizione delle colonne di questa tavola e del modo in cui interagiscono con le informazioni archiviate con il metodo, vedere i riferimenti nella guida in linea.

Creazione di sequenze (sequenze e modelli di sequenza)


Utilizzare la tavola di sequenza per specificare i campioni, i metodi e i vial da acquisire nella sequenza. Nella tavola di sequenza ciascun campione della sequenza è elencato nell'ordine in cui verrà acquisito; sono inoltre inclusi il numero di vial o la posizione del campione, il metodo, le informazioni di calibrazione, la quantità di campione, i moltiplicatori degli standard interni e altri dati per ciascun campione.

¹ È possibile definire nuovi tipi di contenitori per campioni nella configurazione degli strumenti o importarli nel pannello di controllo

Scelta delle colonne da visualizzare

Le informazioni visualizzate nella tavola di sequenza sono configurabili:

- Spostare le colonne a sinistra o destra per visualizzare in primo piano le colonne più rilevanti per le proprie specifiche attività.
- Escludere dalla vista le colonne che non sono necessarie per le proprie specifiche attività.

Per modificare la vista e il contenuto della tavola di sequenza, fare clic su  (**Column Chooser**) nella barra degli strumenti della tavola di sequenza. Selezionare le colonne da visualizzare nella tavola di sequenza. A seconda dei pacchetti software installati, sono disponibili colonne aggiuntive, per esempio la colonna **Target Mass** se è installato un sistema LC/MS o CE/MS.

Modalità di selezione

Analogamente al caso di applicazioni quali Microsoft Excel, è possibile selezionare più celle o intervalli di celle:

- **Ctrl** + clic consente di selezionare più celle singole
- **Shift** + clic consente di selezionare un intervallo di celle

Copiare, tagliare e incollare

- *Copiare*: è possibile copiare celle selezionate e incollarle in un'altra applicazione (per esempio Microsoft Excel). Le informazioni copiate includono i tag di intestazione delle colonne. È possibile visualizzare i tag incollando le informazioni, per esempio in Microsoft Excel. Grazie ai tag di intestazione delle colonne è possibile incollare nuovamente i valori in una tavola di sequenza ChemStation anche se le colonne si trovano in un ordine diverso.
- *Tagliare*: se si tagliano intere righe, queste vengono eliminate e inserite negli Appunti. Se si tagliano solo alcune colonne o celle, le righe vengono mantenute e vengono cancellati solo i valori delle celle.
- *Incollare*: se si seleziona un'intera riga, il comando "incolla" inserisce i valori memorizzati negli Appunti come nuove righe. Se i tag di intestazione delle colonne sono disponibili nel contenuto copiato, i valori sono mappati nelle colonne opportune utilizzando tali tag di intestazione delle colonne. Se si seleziona una sola colonna, i valori negli Appunti vengono incollati verso il basso a partire dalla riga più in alto (linea per linea) e riempiono tante colonne a destra quante ve ne sono nel buffer degli Appunti. Se si seleziona una sola cella, le celle sotto la cella selezionata e a destra della stessa vengono riempite con i valori presenti negli Appunti.

Annullare e ripetere l'ultima operazione

Nella tavola di sequenza è possibile annullare o ripetere l'ultima operazione.

Inserimento, aggiunta o eliminazione di righe

Per inserire o aggiungere una nuova riga vuota, o per eliminare una riga esistente, utilizzare i pulsanti corrispondenti nella barra degli strumenti:



(Insert Line)




(Append Lines)




(Delete Lines)

Utilizzo della funzione di ricopiatura in basso

Se si dispone di numerosi campioni che utilizzano lo stesso metodo, è possibile immettere rapidamente questi campioni nella tavola di sequenza utilizzando

l'icona **Filldown** . Questa funzione copia le informazioni da una cella nelle celle o colonne precedentemente selezionate. Per la posizione del campione, il nome del campione e il nome del file di dati vengono utilizzate le regole di incremento definite nella finestra di dialogo **Filldown Options**. Per le altre colonne questa funzione copia semplicemente i campi (per esempio il nome del metodo, il numero di iniezioni per vial e, se specificati, la quantità di campione, la quantità di standard interni, il moltiplicatore e la diluizione).


Sono escluse dalla ripetizione solo le colonne con valori unici quali gli ID LIMS. Inoltre, le impostazioni di calibrazione non vengono copiate nei campioni che non sono standard di calibrazione.

La finestra di dialogo **Filldown Options**  consente di regolare in maniera precisa il comportamento della funzione di ricopiatura in basso. Questa finestra di dialogo consente di impostare le regole per la posizione dei campioni e i nomi da assegnare ai campioni. Nel caso delle piastre a pozzetti è possibile scegliere la direzione degli schemi di incremento e specificare inoltre se lo schema scelto deve riguardare soltanto un particolare rettangolo all'interno della piastra.

La ricopiatura in basso dei file di dati è una funzione speciale; acquisisce il nome completo del file di dati e aggiunge un contatore con il formato "--001". Nel caso dei sistemi GC, aggiunge anche una lettera "F" o "B", a seconda dell'iniettore utilizzato per l'analisi nell'istante in cui è stata eseguita la ricopiatura in basso.

Procedura guidata di creazione di nuove righe


Questa procedura guidata consente di creare in modo efficiente tavole di sequenza di grandi dimensioni. È possibile procedere in due modi:

- *Modalità semplice*: riempire una sola riga con tutti i valori da duplicare. Quindi selezionare la riga e utilizzare **Insert/Filldown Wizard**  per ripetere la riga n volte. È possibile anche definire una regola per inserire calibrazioni o analisi in bianco dopo un determinato numero di campioni.
- *Modalità avanzata*: riempire più righe di esempio in modo da creare un modello. Quindi selezionare tutte le righe di esempio e richiamare **Insert/Filldown Wizard**. È possibile alternare tra loro calibrazioni, campioni di controllo, analisi in bianco e un numero qualsiasi di analisi di campioni, livelli di calibrazione e impostazioni di ricalibrazione.

Inoltre è possibile scegliere, per esempio, di eseguire tutte le calibrazioni dallo stesso vial e di incrementare soltanto i vial dei campioni. Le posizioni dei campioni vengono ripetute con un incremento intelligente a partire dalle posizioni iniziali (con un offset per ciascun blocco copiato) in modo da mantenere le distanze tra le posizioni dei campioni. Se non è possibile impostare le regole nella finestra di dialogo, i valori vengono semplicemente duplicati verso il basso.

Sono escluse dalla ripetizione solo le colonne con valori unici quali gli ID LIMS.

Filtraggio della tavola di sequenza

Con **Filter Options**  è possibile applicare una serie di condizioni per visualizzare un sottoinsieme di righe nella tavola di sequenza.


Grazie al filtraggio, la tavola di sequenza viene visualizzata in forma condensata. Per esempio, è possibile selezionare che vengano visualizzati solo alcuni tipi di campioni, metodi, livelli di calibrazione, posizioni di campioni o nomi di campioni.

Ciò aiuta a verificare rapidamente la coerenza, o a modificare solo alcuni gruppi di righe di sequenza applicando la funzione di riempimento in basso all'elenco filtrato. Ad esempio:

- Aggiornare la quantità di campione per tutti i campioni in una data posizione.
- Modificare la posizione del vial o del campione per uno specifico livello di calibrazione.


Lettura di codici a barre

Se lo strumento supporta la lettura di codici a barre, fare clic su **Read Bar**


Codes  per ottenere i nomi dei campioni. Selezionare la riga della tavola di sequenza o la cella della posizione del campione del quale si desidera leggere il codice a barre. È possibile selezionare una o più righe. Il codice a barre viene inserito nella cella del nome del campione per ogni posizione del campione specificato.

Utilizzo dei pulsanti dei campi personalizzati

Se nei metodi utilizzati nella tavola di sequenza sono stati impostati campi

personalizzati, selezionare il pulsante **Custom Fields**  per modificare i valori dei campi personalizzati per ciascun campione (campi personalizzati relativi al campione) o per ciascun composto presente nel metodo di un campione (campi personalizzati relativi al composto).

Visualizzazione in anteprima della sequenza

Con **Sequence Preview**  si apre una finestra di dialogo che mostra la sequenza esattamente come verrà eseguita, con tutte le calibrazioni ripetute, i campioni QC e i bianchi inclusi nell'ordine corretto.

Easy Sequence

Panoramica

Easy Sequence è un'interfaccia utente che serve a impostare in modo rapido e facile le sequenze dai modelli. Il modello specifica i parametri che devono essere visualizzati o modificati dall'utente. L'impostazione della calibrazione fornisce un'interfaccia a trascinamento di facile utilizzo per specificare i tipi di calibrazione e le posizioni del campione, oltre a mostrare una panoramica della sequenza. Con **Easy Sequence** gli utenti possono seguire un modello specifico per creare rapidamente sequenze che differiscono per quanto riguarda il numero di campioni ma che per il resto sono simili.

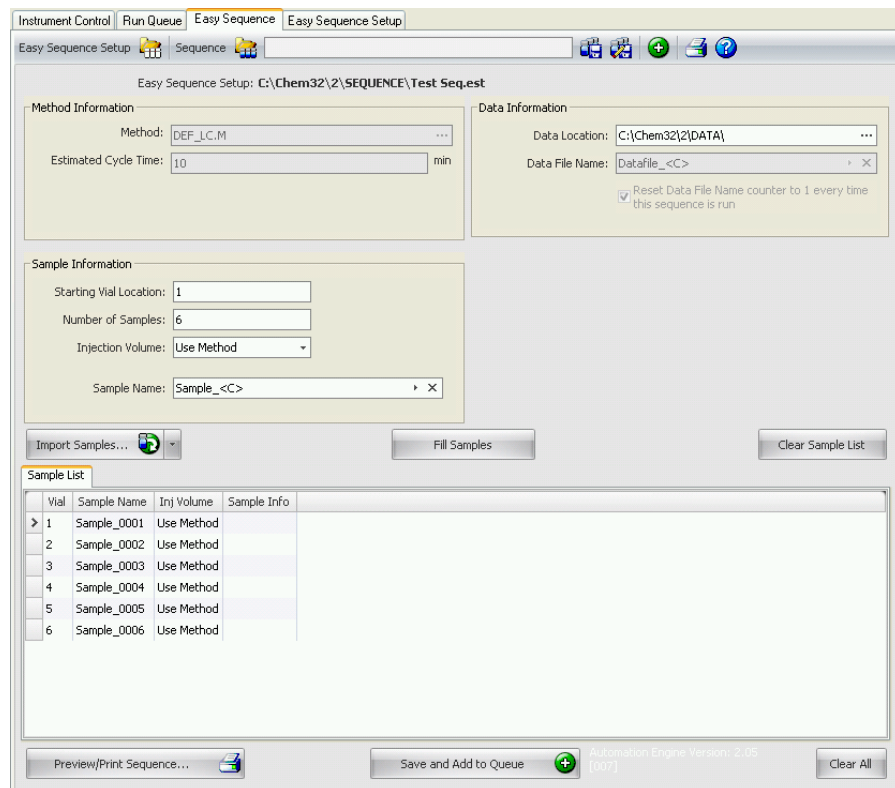


Figura 15 La scheda Easy Sequence

Utilizzo della scheda Easy Sequence (Sequenza)

La scheda **Easy Sequence** viene utilizzata per creare una sequenza a partire dal modello creato nella scheda **Easy Sequence Setup**. È possibile importare anche i campioni salvati in formato CSV.

Per definire una sequenza

- 1 Dalla scheda **Easy Sequence**, aprire un modello facendo clic sull'icona **Open Easy Sequence Setup**.
- 2 Eseguire gli aggiornamenti, se necessario. Questi possono includere posizioni del vial campione, posizioni del vial del calibrante, dati o posizione della sequenza. I parametri disponibili per la modifica dipendono dalla configurazione del modello.
- 3 Se i campioni precompilati non corrispondono alle posizioni del nuovo campione, fare clic su **Fill Samples** per riempire di nuovo la tabella.
- 4 Fare clic su **Preview/Print Sequence...** per vedere in anteprima la sequenza
- 5 Salvare la sequenza.

SUGGERIMENTO

La sequenza può essere modificata purché il suo stato sia **Pending** nella coda.

- 6 Fare clic su **Save and Add to Queue** per inviare la sequenza alla coda delle sequenze.

Per importare i dati del campione

Il set di dati del campione può essere importato in **Easy Sequence**. Prima di importare i campioni, il file CSV deve essere configurato e formattato correttamente. Fare riferimento alla guida in linea per ulteriori informazioni sul modo per creare un file di dati CSV per il campione.

- 1 Dalla scheda **Easy Sequence**, aprire un modello facendo clic sull'icona **Load Easy Sequence Setup**.
- 2 Fare clic su **Import Samples...**
- 3 Selezionare il file CSV che si desidera importare.
Vengono importati tutti i campi validi.

NOTA

Per importare i dati del campione il **Back Sample List**, assicurarsi che il **Back Sample List** sia selezionato e visualizzato prima di premere il pulsante **Import Samples**.

- 4 Verificare i campi esaminando l'elenco dei campioni.

Utilizzo della scheda Easy Sequence Setup (Modello)

Easy Sequence Setup viene utilizzata per creare i modelli che rappresentano il punto di partenza per creare le sequenze. Ci sono due pannelli: Campioni e calibrazione. Il pannello **Samples** specifica il metodo, il campione, i dati e le informazioni sulla sequenza. Il modello viene utilizzato anche per specificare quali parametri sono nascosti o a sola lettura. Il pannello **Calibration** fornisce un'interfaccia grafica per configurare e visualizzare le analisi di calibrazione. Fornisce un'interfaccia a trascinamento di facile utilizzo per specificare i tipi di calibrazione, cicliche e in bracketing, e le posizioni del campione.

Creazione di un modello Easy Sequence:

- 1 Dalla scheda **Easy Sequence Setup**, selezionare il pannello **Samples**. Aprire un modello esistente o creare un nuovo modello.
- 2 Selezionare il **Method**. Se la sorgente di iniezione del metodo è doppia, saranno mostrate le opzioni a doppia iniezione. Può essere specificato un metodo di analisi posteriore per il segnale posteriore. Il metodo è l'unico parametro richiesto per un modello.
- 3 Se lo si desidera, immettere la durata stimata (in minuti) di un'analisi campione. Questo è il tempo misurato dall'inizio di un campione parte all'inizio del campione successivo. Questo parametro si utilizza per prevedere la durata totale prevista per la sequenza. Lasciare in bianco questo campo se non si desidera usare la funzionalità Tempo di ciclo stimato.
- 4 Specificare la **Starting Vial Location**, il **Number of Samples** e il **Sample Name**.
- 5 Selezionare la **Data Location**.
- 6 Selezionare la **Sequence Location** e specificare il **Sequence Name**.
- 7 Immettere qualsiasi commento per il modello.
- 8 Specificare quale parametri sono nascosti o a sola lettura. Immettere un valore predefinito per **injections/vial**, **sample amount**, **ISTD amount**, **injection volume**, ecc. Questo aiuta a ridurre al minimo la possibilità di errori quando si crea una sequenza nella scheda **Easy Sequence**.
- 9 Salvare il modello.

Per definire le calibrazioni:**Prerequisiti**

Il metodo usato nel modello dovrebbe essere stato calibrato con i livelli necessari.

- 1 Dalla scheda **Easy Sequence Setup**, selezionare il pannello **Calibration**
- 2 Selezionare **Cyclic, Bracketing** o **Simple Calibration** dall'elenco a discesa **Calibration Mode**.
- 3 Il **Sequence Diagram** contiene le seguenti sezioni:
 - **Sequence Start**
 - **Bracketing/Cyclic**
 - **Samples/Injections**
 - **Sequence End**
- 4 Nell'area **Samples** della sequenza, impostare l'**Calibration Interval** basato sul numero di campioni o sul numero di iniezioni.
- 5 Configurare il **Sample type, Blank, Calibrant** o **QC Sample** trascinando l'icona dall'area **Sample Type** alla sezione **Sequence Diagram**.
- 6 Impostare i parametri per ogni tipo di campione e impostare a **Hide** o **Read-Only**.
- 7 Verificare la modalità di calibrazione nella Panoramica **Easy Sequence**.
- 8 Salvare il modello.

Utilizzo delle sequenze (sequenze e modelli di sequenza)

È possibile creare ed accedere alle sequenze e ai modelli di sequenza dal menu Sequenza. Le sequenze possono essere create e salvate come i metodi. Quando si salva una sequenza, viene creato un file con estensione .S. Se si desidera modificare la sequenza o usarla ancora, si può accedere alla sequenza usando ad esempio l'opzione Carica sequenza dal menu Sequenza.

Acquisizione dei dati in una sequenza

Per analizzare una sequenza, è necessario che siano disponibili metodi predefiniti. Si tratta dei metodi master descritti in precedenza. Solitamente, i metodi master e i modelli di sequenza vengono utilizzati nella finestra **Method and Run Control** di ChemStation. Per tale motivo, nella finestra **Method and Run Control** è disponibile ChemStation Explorer, che consente di accedere ai metodi master e ai modelli di sequenza.

Il modello di sequenza fa riferimento a tali metodi nella tavola di sequenza.

Come descritto in precedenza, quando viene eseguita una sequenza con il modello di sequenza <nome_sequenza>.S e viene utilizzato il metodo master <nome_metodo>.M, viene creata una nuova cartella contenente tutti i file risultanti dall'analisi della sequenza ("set di risultati").

La posizione di tale cartella è determinata dalle impostazioni della finestra di dialogo **Sequence Parameters** mentre il nome della cartella è determinato dalla scheda **Sequence** della finestra di dialogo **Preferences**. Per impostazione predefinita il nome è <SeqName> <Date> <Time>, ma può essere configurato utilizzando i token oppure inserendo manualmente qualsiasi nome. Per ulteriori informazioni sull'uso dei token, consultare la sezione "Nomi dei file e token", pagina 13. È possibile utilizzare i seguenti token:

- **Current date**
- **Current time**
- **User name**
- **Instrument name**
- **Sequence name**
- **Counter**
- **Computer name**

Se **Name Pattern** non produce nomi esclusivi per i set di risultati, ChemStation aggiunge un contatore per garantirne l'univocità.

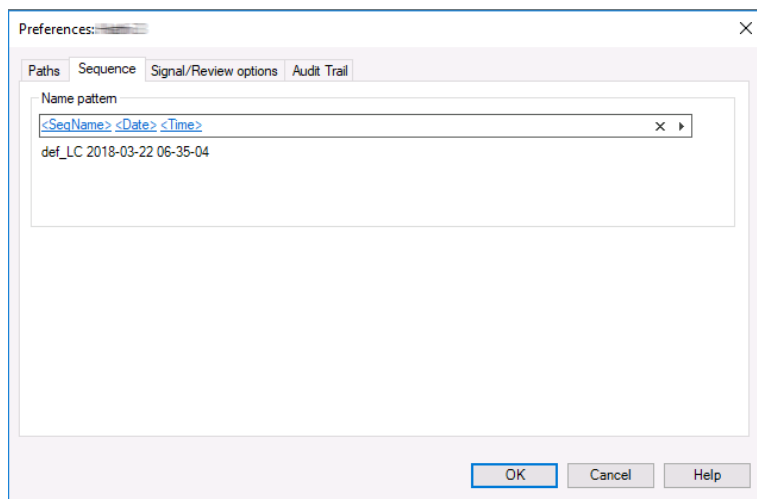


Figura 16 Finestra di dialogo Preferences / scheda Sequence

All'inizio di una sequenza di acquisizione, il metodo specificato nella tavola di sequenza viene copiato dalla cartella dei metodi master nel set di risultati. Inoltre, viene creata una copia della sequenza, che viene inserita insieme al file di log della sequenza e al file batch (*.b) nel set di risultati. Tutti gli aggiornamenti del metodo (ad esempio gli aggiornamenti della tavola di calibrazione) vengono scritti in questo metodo del set di risultati. Se si utilizza Intelligent Reporting, i modelli di report selezionati nei Parametri della sequenza o nelle Proprietà del metodo sono copiati anche nel set di risultati. Tutti i file necessari sono così disponibili per future revisioni e rielaborazioni dei dati, senza le modifiche applicate al metodo master o al modello di sequenza per altre analisi di sequenze.

Durante l'acquisizione, i file di dati vengono memorizzati nel set di risultati. All'interno di ciascun file di dati (*.D), viene salvata una copia del metodo della sequenza per l'analisi specifica. Il file ACQ.txt contiene i parametri di acquisizione del metodo della sequenza, conservando lo stato del metodo al momento dell'acquisizione del file di dati specifico. La cartella DA.M contiene una copia dei parametri di analisi dei dati utilizzati nel metodo della sequenza.

Con questi file salvati nella cartella della sequenza, tutte le attività di revisione e rielaborazione dei dati possono essere eseguite senza alterare il metodo master o il modello di sequenza. Se necessario, è possibile salvare nel metodo master anche le modifiche apportate al metodo.

NOTA

Il set di risultati deve sempre contenere la serie completa di tutti i file di dati (*.D). In caso vengano eliminate parti dei file di dati, il caricamento del set di risultati nella memorizzazione centralizzata dei dati causerà dei problemi. Se si desidera ridurre una sequenza, è sufficiente creare un set di risultati autoassemblati dalla serie ridotta di linee di sequenza (vedere "Creazione di un set di risultati autoassemblato", pagina 106).

Acquisizione di dati per singole analisi

Per singole analisi, il file di dati viene salvato direttamente nella relativa sottodirectory. Poiché viene impiegato un solo metodo per una singola analisi, non è necessario copiare tale metodo nella sottodirectory in quanto tutte le azioni vengono eseguite direttamente con il metodo master. Dopo il completamento della parte di acquisizione del metodo, una copia dei parametri di acquisizione viene salvata nel file ACQ.txt. Una copia dei parametri di analisi dei dati viene salvata nella directory di archivio dei dati (DA.M) dopo l'esecuzione della parte di analisi dei dati del metodo master.

Aggiornamento automatico dei metodi master

Queste funzioni permettono di selezionare se e quando aggiornare i metodi master usati nella sequenza. Ciò garantisce, ad esempio, che la tavola di calibrazione sia tenuta aggiornata.

È possibile attivare le funzioni nella finestra di dialogo **Sequence Parameters** (vedere la figura seguente):

- **Update data analysis parameters only:**

Selezionare questa casella di spunta se si desidera aggiornare i parametri di analisi dei dati di tutti i metodi dal set di risultati contenuto nella cartella dei metodi master alla fine della sequenza.

- **Full method update during sequence acquisition (instrument and data analysis parameters):**

Barrare questa casella di spunta se si desidera aggiornare il metodo master con modifiche ai parametri dello strumento alla fine di ogni analisi. I parametri di analisi dei dati vengono aggiornati allo stesso tempo. Se i parametri dello strumento non cambiano, i parametri di analisi dei dati vengono aggiornati alla fine della sequenza.

La condizione preliminare per aggiornare un metodo master è che il metodo master corrispondente (un metodo avente lo stesso nome del metodo di sequenza) esista ancora nella stessa directory dei metodi master in cui si trovava quando era stato copiato nel set di risultati.

Per modificare le impostazioni delle caselle di spunta e aggiornare i metodi master, bisogna disporre dei privilegi **Save method changes** e **Edit sequence summary**. Per ulteriori informazioni sulla gestione degli utilizzatori e sui privilegi, fare riferimento alla *Guida alla configurazione di OpenLab CDS ChemStation Edition* (CDS_CS_configure.pdf).

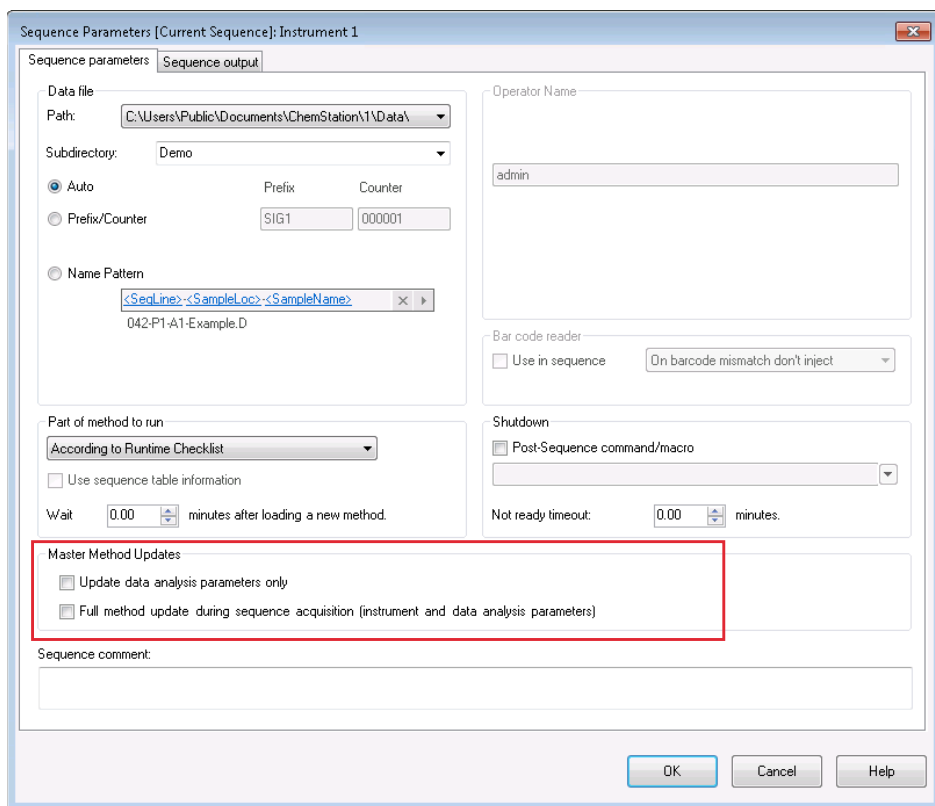


Figura 17 Opzione Aggiorna metodi master nella finestra di dialogo Parametri sequenza

NOTA

Poiché questa funzione incide sulle prestazioni, si consiglia di non utilizzarla se le sequenze includono centinaia di metodi.

Campioni prioritari

Una sequenza in esecuzione può essere temporaneamente arrestata dopo il completamento del metodo corrente. La sequenza può essere arrestata per consentire l'analisi di un campione prioritario dello stesso metodo o di un altro. La sequenza può quindi essere ripresa e continua con il campione in corso di analisi al momento dell'interruzione.

Sequenze con campioni di controllo

Nel campo Sample Type della tavola di sequenza è possibile specificare campioni di controllo. Il metodo utilizzato per analizzare il campione di controllo deve contenere una tavola di calibrazione con i limiti per uno dei composti. Se i limiti vengono superati, la sequenza viene arrestata e riportato un messaggio sul registro elettronico. Se si sta utilizzando uno dei rapporti di stampa della ChemStation, anche i limiti del campione di controllo vengono stampati sui rapporti delle analisi. Per informazioni su come definire una sequenza con campioni di controllo, consultare la Guida in linea.

Sequenze con bianchi di riferimento

Per valutare il rapporto segnale-rumore sono necessari dei segnali di riferimento come definito dalla Farmacopea Europea. È possibile specificare il file di dati di riferimento nella tavola di sequenza scegliendo il tipo di campione **Blank** per i campioni corrispondenti.

In caso vengano utilizzati più file di riferimento, l'ordine dei file è essenziale. Con la ChemStation viene utilizzato un file di riferimento per tutte le analisi successive, fino a quando non è indicato un nuovo file di riferimento nella tavola di sequenza. Il file di riferimento di un bianco viene utilizzato come proprio riferimento. La seguente panoramica mostra un esempio di sequenza contenente due bianchi:

Tabella 6 Esempio di sequenza con bianchi

| | Campione | File di dati | File di riferimento |
|---|----------------|---------------|---------------------|
| 1 | Campione1 | DF01.D | |
| 2 | <i>Bianco1</i> | <i>DF02.D</i> | <i>DF02.D</i> |
| 3 | Campione2 | DF03.D | <i>DF02.D</i> |

Tabella 6 Esempio di sequenza con bianchi

| | Campione | File di dati | File di riferimento |
|---|-----------|--------------|---------------------|
| 4 | Campione3 | DF04.D | DF02.D |
| 5 | Bianco2 | DF05.D | DF05.D |
| 6 | Campione4 | DF06.D | DF05.D |
| 7 | Campione5 | DF07.D | DF05.D |

Per informazioni più dettagliate sul calcolo del rapporto segnale-rumore, consultare il manuale di riferimento.

Esecuzione di una sequenza

Non appena si invia una sequenza alla coda, la tavola della sequenza si modifica in un elenco analisi per analisi. Mostra la sequenza esattamente come verrà eseguita, con tutte le calibrazioni ripetute, i campioni QC e i bianchi inclusi nell'ordine corretto. Il file di sequenza generato viene memorizzato nel set di risultati.

Le righe della sequenza che sono già state acquisite o sono in corso di acquisizione sono bloccate. Non possono più essere modificate. Nel caso di flussi di lavoro specifici, per esempio se si utilizza uno strumento per spazio di testa o sono state configurate iniezioni sovrapposte, viene bloccata anche una serie di altre analisi in attesa.

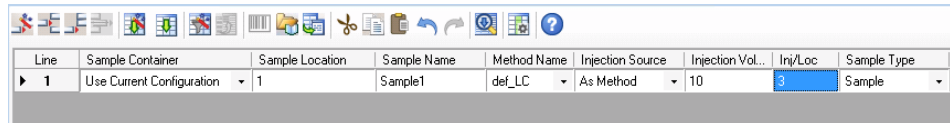
NOTA

Se si aggiungono righe di sequenza mentre è già in corso l'acquisizione di una sequenza, i nomi dei file di dati corrispondenti dipendono dallo schema di denominazione selezionato in Sequence Parameters (Parametri della sequenza). Con lo schema di denominazione **Name Pattern**, il nome del file di dati è assegnato al momento dell'avvio dell'analisi usando i token forniti. Con altri schemi di denominazione, il nome del file predefinito suggerito nella tavola di sequenza è *OnlineEdited#.D*, in cui # aumenta per ogni riga aggiuntiva.

Automazione/sequenze

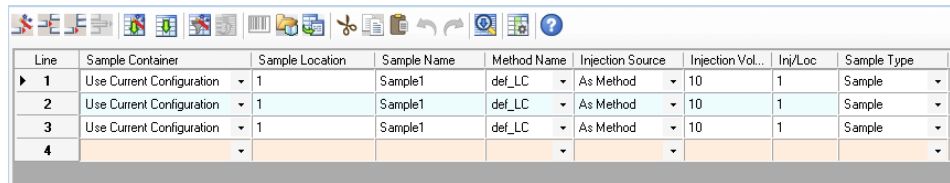
Utilizzo delle sequenze (sequenze e modelli di sequenza)

Esempio: sequenza con più iniezioni



| Line | Sample Container | Sample Location | Sample Name | Method Name | Injection Source | Injection Vol... | Inj/Loc | Sample Type |
|------|---------------------------|-----------------|-------------|-------------|------------------|------------------|---------|-------------|
| ▶ 1 | Use Current Configuration | 1 | Sample1 | def_LC | As Method | 10 | 3 | Sample |

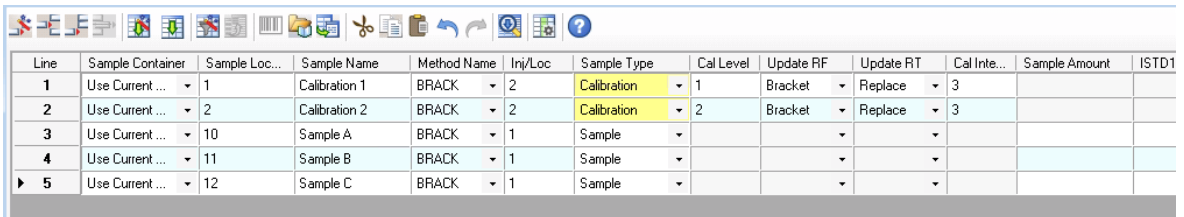
Figura 18 Modello di sequenza prima dell'invio alla coda, campione con 3 iniezioni



| Line | Sample Container | Sample Location | Sample Name | Method Name | Injection Source | Injection Vol... | Inj/Loc | Sample Type |
|------|---------------------------|-----------------|-------------|-------------|------------------|------------------|---------|-------------|
| ▶ 1 | Use Current Configuration | 1 | Sample1 | def_LC | As Method | 10 | 1 | Sample |
| 2 | Use Current Configuration | 1 | Sample1 | def_LC | As Method | 10 | 1 | Sample |
| 3 | Use Current Configuration | 1 | Sample1 | def_LC | As Method | 10 | 1 | Sample |
| 4 | | | | | | | | |

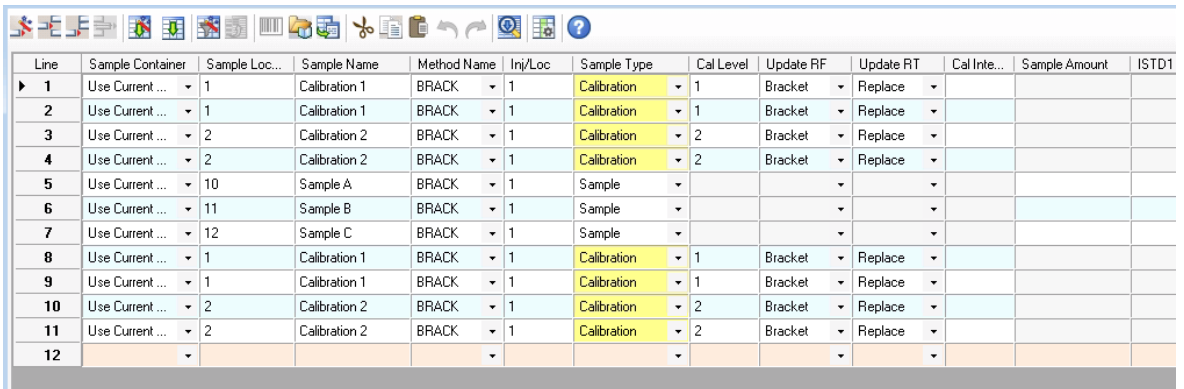
Figura 19 File di sequenza dopo l'invio alla coda, 3 righe separate

Esempio: sequenza con calibrazione ciclica



| Line | Sample Container | Sample Loc... | Sample Name | Method Name | Inj/Loc | Sample Type | Cal Level | Update RF | Update RT | Cal Inte... | Sample Amount | ISTD1 |
|------|------------------|---------------|---------------|-------------|---------|-------------|-----------|-----------|-----------|-------------|---------------|-------|
| 1 | Use Current ... | 1 | Calibration 1 | BRACK | 2 | Calibration | 1 | Bracket | Replace | 3 | | |
| 2 | Use Current ... | 2 | Calibration 2 | BRACK | 2 | Calibration | 2 | Bracket | Replace | 3 | | |
| 3 | Use Current ... | 10 | Sample A | BRACK | 1 | Sample | | | | | | |
| 4 | Use Current ... | 11 | Sample B | BRACK | 1 | Sample | | | | | | |
| ▶ 5 | Use Current ... | 12 | Sample C | BRACK | 1 | Sample | | | | | | |

Figura 20 Modello di sequenza prima dell'invio alla coda, calibrazione ciclica con bracketing



| Line | Sample Container | Sample Loc... | Sample Name | Method Name | Inj/Loc | Sample Type | Cal Level | Update RF | Update RT | Cal Inte... | Sample Amount | ISTD1 |
|------|------------------|---------------|---------------|-------------|---------|-------------|-----------|-----------|-----------|-------------|---------------|-------|
| ▶ 1 | Use Current ... | 1 | Calibration 1 | BRACK | 1 | Calibration | 1 | Bracket | Replace | | | |
| 2 | Use Current ... | 1 | Calibration 1 | BRACK | 1 | Calibration | 1 | Bracket | Replace | | | |
| 3 | Use Current ... | 2 | Calibration 2 | BRACK | 1 | Calibration | 2 | Bracket | Replace | | | |
| 4 | Use Current ... | 2 | Calibration 2 | BRACK | 1 | Calibration | 2 | Bracket | Replace | | | |
| 5 | Use Current ... | 10 | Sample A | BRACK | 1 | Sample | | | | | | |
| 6 | Use Current ... | 11 | Sample B | BRACK | 1 | Sample | | | | | | |
| 7 | Use Current ... | 12 | Sample C | BRACK | 1 | Sample | | | | | | |
| 8 | Use Current ... | 1 | Calibration 1 | BRACK | 1 | Calibration | 1 | Bracket | Replace | | | |
| 9 | Use Current ... | 1 | Calibration 1 | BRACK | 1 | Calibration | 1 | Bracket | Replace | | | |
| 10 | Use Current ... | 2 | Calibration 2 | BRACK | 1 | Calibration | 2 | Bracket | Replace | | | |
| 11 | Use Current ... | 2 | Calibration 2 | BRACK | 1 | Calibration | 2 | Bracket | Replace | | | |
| 12 | | | | | | | | | | | | |

Figura 21 File di sequenza dopo l'invio alla coda, calibrazione ciclica con bracketing

Utilizzo dell'opzione High-Throughput per alta produttività

Vari autocampionatori LC e GC offrono un'opzione *High-Throughput* ad alta produttività per ottimizzare il tempo di analisi. Questa opzione prevede la sovrapposizione delle iniezioni incluse in una sequenza; il vial successivo viene pre-selezionato e portato in posizione dall'iniettore mentre è ancora in corso l'acquisizione corrente. Questo accorgimento può permettere un notevole risparmio di tempo per analisi.

Come arrestare temporaneamente una sequenza

L'analisi in corso sarà completata prima della pausa della sequenza.

Durante la pausa di arresto il nome del file Sequence Table e i file di dati non possono essere modificati. Nella tavola si possono modificare le linee di sequenza che non sono ancora state eseguite o cambiare il numero dei vial nella linea in corso di analisi. Si possono aggiungere, togliere e modificare le linee di sequenza per analisi future.

Può essere necessario modificare una sequenza attiva per aggiungere un nuovo gruppo di campioni. Si può modificare la sequenza in modo che i vial siano i prossimi a essere elaborati da ChemStation, dopo i campioni della linea in analisi.

Come bloccare una sequenza

L'analisi attualmente attiva sarà terminata immediatamente. Tuttavia, l'esame dei dati sarà comunque eseguito per l'analisi. Una sequenza bloccata non può in nessun caso essere ripresa.

Se si desidera terminare l'analisi in corso attuale prima di interrompere la sequenza, mettere in pausa la sequenza, attendere che l'analisi sia terminata e la quindi terminare la sequenza.

Interruzione di una sequenza

La funzione di interruzione termina immediatamente una sequenza attiva. Non viene eseguita alcuna analisi dei dati. La funzione di interruzione viene implementata come misura di arresto di emergenza e richiede il riavvio della sessione corrente.

Esecuzione di una sequenza parziale

Selezione del set di risultati per un'acquisizione parziale

È possibile scegliere tra le seguenti opzioni per l'acquisizione di una sequenza parziale:

- acquisire la sequenza parziale in un nuovo set di risultati

oppure

- acquisire la sequenza parziale in un set di risultati esistente.

L'acquisizione dei file di dati dall'esecuzione di una sequenza parziale in un set di risultati esistente può risultare utile nei seguenti casi:

- È necessario sovrascrivere uno o più file di dati, ad esempio in seguito al precedente utilizzo di un vial errato.
- Solo la prima parte della sequenza è stata eseguita in precedenza e i campioni mancanti devono essere aggiunti eseguendo la sequenza parziale. Ciò si può verificare nel caso di un guasto dello strumento durante l'acquisizione della sequenza.
- Al modello di sequenza sono state aggiunte altre righe dopo l'acquisizione delle righe già esistenti. Le ulteriori analisi devono essere aggiunte ai dati già esistenti.

NOTA

L'eliminazione di righe o l'inserimento di righe nella parte già acquisita del modello di sequenza genera incongruenze gravi nell'assegnazione dei nomi ai file di dati.

Pertanto, quando si seleziona **Partial Sequence** dal menu **Sequence**, viene visualizzata una finestra di dialogo che consente di selezionare un set di risultati esistente da un elenco o di crearne uno nuovo.

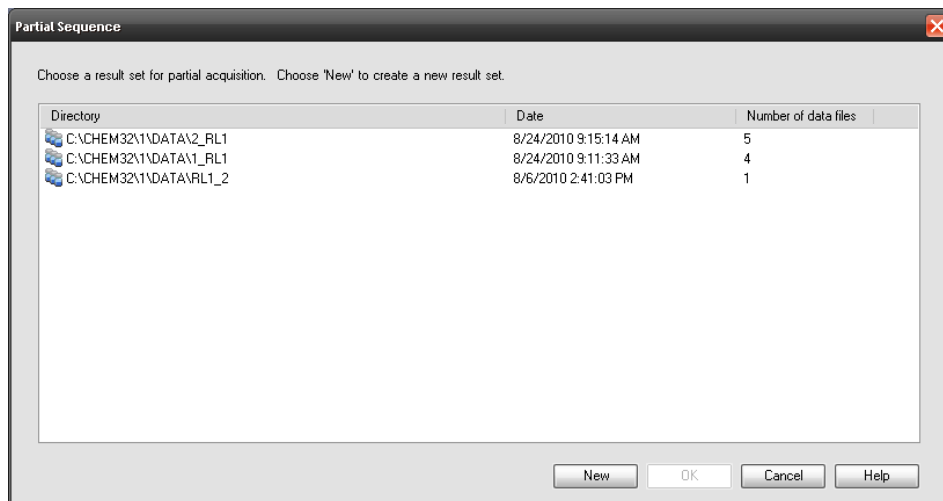


Figura 22 Finestra di dialogo Partial Sequence

Tuttavia, per assicurare la congruenza del set di risultati (in modo che possa essere rielaborato completamente in **Data Analysis**), vengono proposti per l'acquisizione parziale solo i set di risultati che soddisfano determinate condizioni:

- Il nome del modello di sequenza (sequenza di origine) e il nome del file *.S della sequenza nel set di risultati (sequenza di destinazione) sono identici.
- Sia il percorso dei dati sia la sottodirectory devono essere identici per i file di sequenza.
- Il numero di righe della sequenza di origine deve essere uguale o maggiore del numero di righe della sequenza di destinazione.
- Per ogni riga nella sequenza di destinazione, il tipo di campione e il numero di iniezioni devono essere identici ai valori nelle righe corrispondenti della sequenza di origine.
- Lo schema di denominazione dei file di dati deve essere identico per i due file delle sequenze.

Una volta chiusa la finestra di dialogo facendo clic su **OK** (per selezionare uno dei set di risultati esistenti) o su **New** (per creare un nuovo set di risultati), è possibile selezionare le righe della sequenza da eseguire durante la sequenza parziale.

Selezione delle righe della sequenza per un'acquisizione di sequenza parziale

Il sistema visualizza la finestra di dialogo **Partial Sequence** e permette di selezionare dalla tavola campioni singoli e di analizzarli.

In ogni riga della finestra di dialogo **Partial Sequence** viene riportata una sola analisi. Per ogni analisi vengono riportati il vial, il metodo, il file di dati e il nome del campione. Inoltre nelle colonne Seq Tbl e Calib:RF:RT compaiono informazioni codificate sulla tavola di sequenza e sui campioni di calibrazione. Per informazioni sui codici consultare la guida in linea.

NOTA

La funzione Partial Sequence (Sequenza parziale) popola i nomi dei file di dati all'avvio della sequenza. Di conseguenza, i token dei nomi file DATE e TIME non generano la data e l'ora accurate delle iniezioni.

Tramite il pulsante **Print** è possibile ottenere una copia cartacea della sequenza parziale.

L'opzione **Manual update ...** consente di aprire la finestra di dialogo **Update Methods**, che permette di sincronizzare manualmente i metodi master e i metodi utilizzati nel modello della sequenza. L'opzione **Automatic update for selected runs** consente di aggiornare tutti i metodi della sequenza utilizzati nelle analisi selezionate con i corrispondenti metodi master.

NOTA

Vengono aggiornati sia i parametri di acquisizione sia i parametri di analisi dei dati.

Ad esempio, l'aspetto della finestra di dialogo **Partial Sequence** può essere simile a quello riportato di seguito. È possibile contrassegnare campioni specifici per l'elaborazione.

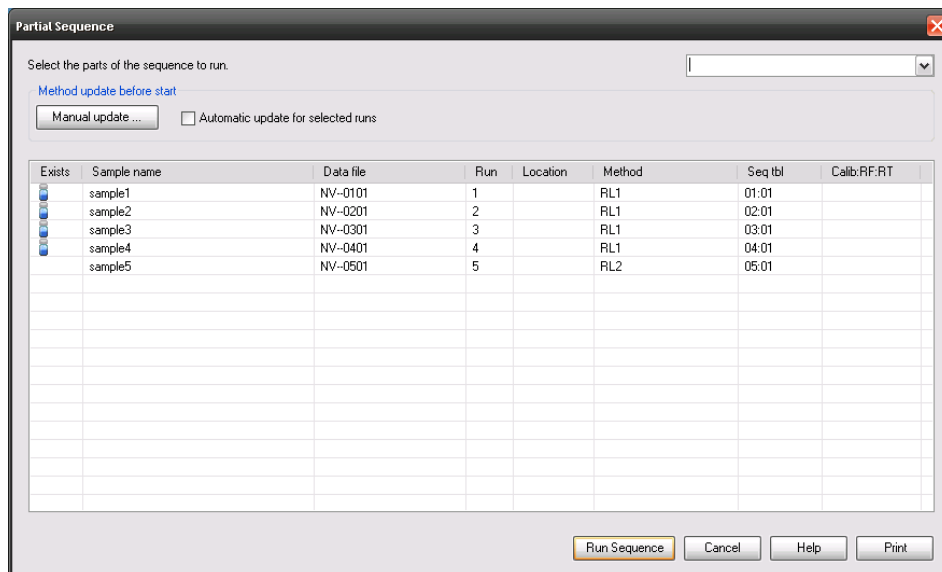


Figura 23 Finestra di dialogo Partial Sequence

Non è possibile modificare una sequenza parziale in esecuzione.

La finestra di dialogo **Partial Sequence** non supporta iniezioni sovrapposte (vedere "Utilizzo dell'opzione High-Throughput per alta produttività", pagina 102).

Creazione di un set di risultati autoassemblato


Utilizzando il comando **Sequence > Create New Result Set** nella finestra **Data Analysis**, è possibile creare un nuovo set di risultati autoassemblato dai dati correnti indicati nella Tavola di navigazione. I set di risultati autoassemblati possono essere utili ad esempio nei seguenti casi:

- per combinare singoli campioni, sequenze o una combinazione di entrambi al fine di rielaborarli con uno specifico metodo
- per ridurre una sequenza

Assemblamento di un nuovo set di risultati

- 1 Aggiungere i file di dati necessari alla tavola di navigazione.
- 2 Nella tavola di navigazione, si selezionano tutti i file di dati che si desidera includere nel nuovo set di risultati.

- 3 Selezionare poi **Sequence > Create New Result Set** per aprire la finestra di dialogo **Create New Result Set**.
- 4 Selezionare un metodo da associare al nuovo set di risultati.
- 5 Specificare una cartella per il nuovo set di risultati.
- 6 Ordinare i campioni.

I nomi dei file di dati di output vengono aggiornati automaticamente. In caso di necessità è possibile ripristinare l'ordine iniziale dei campioni utilizzando il pulsante  (**Restore initial order**).

Si osservi che la posizione di un file di bianco è rilevante per la valutazione del rapporto segnale-rumore, come definito dalla Farmacopea Europea. Consultare anche la sezione "Sequenze con bianchi di riferimento", pagina 99.

- 7 Confermare le impostazioni per assemblare la lista dei file di dati in un set di risultati nella cartella specificata.

File di registrazione della sequenza

Viene creato un registro della sequenza che indica cosa è accaduto durante l'esecuzione della stessa. Esso è utile per stabilire quando si è verificato un errore, in caso la sequenza sia stata eseguita senza sorveglianza o durante la notte. Il nome del file contenente il registro elettronico ha sempre l'estensione .log. Il file del registro elettronico si trova nella directory nella quale sono stati archiviati i dati della sequenza.

Cosa succede quando si esegue una sequenza?

Avvio di una sequenza

Il sistema crea un set di risultati sulla base della definizione del percorso nei parametri di sequenza e delle impostazioni delle preferenze per la sequenza. Il modello della sequenza *.s e tutti i metodi definiti nella tavola di sequenza appartenenti a questa particolare sequenza vengono copiati nel set di risultati. Se si utilizza Intelligent Reporting, tutti i modelli di report *.rdl che sono definiti nel metodo o nel modello della sequenza sono copiati anche nel set di risultati. Il sistema continua a operare con tali file durante l'acquisizione. All'avvio della sequenza, il metodo della riga della sequenza corrispondente viene caricato all'interno della ChemStation da questo set di risultati.

Altre operazioni eseguite durante l'esecuzione della sequenza:

Le seguenti operazioni vengono ripetute per ciascuna riga della sequenza eseguita:

- Se dotato di campionatore automatico, il software dapprima trova il campione nel campionatore automatico secondo il numero inserito nella colonna Vial
- I parametri del metodo vengono caricati nello strumento.
- Viene eseguita la macro pre-analisi.
- Il campione viene quindi iniettato nello strumento (manualmente o automaticamente).
- I dati vengono acquisiti.
- Viene effettuata la valutazione dei dati del metodo. Integrazione, quantificazione e stesura di report, comprese eventuali macro specificate dall'utilizzatore. Il sistema memorizza un metodo DA.M aggiuntivo durante l'analisi.
- Viene eseguita la macro post-analisi.
- Durante l'intero processo, ChemStation segue l'andamento della sequenza in tempo reale e produce un file di registro della sequenza.

Cosa succede quando si esegue una sequenza?

Stato della ChemStation

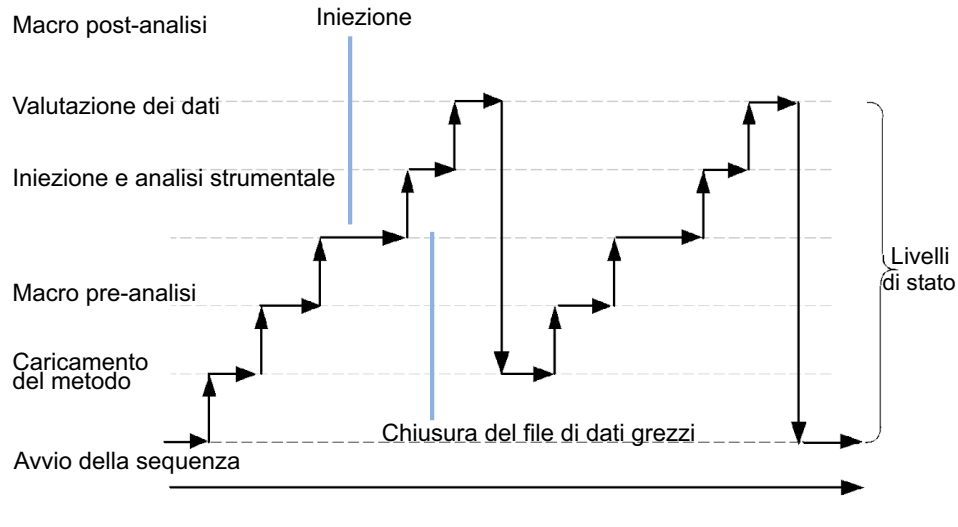


Figura 24 Stato della sequenza

Struttura del file di dati della sequenza

Preferences (Preferenze) - scheda Sequence (Sequenza)

Esiste un collegamento stretto e permanente tra i dati grezzi e il metodo. Ciascun file di dati, sia che venga acquisito all'interno di una sequenza o come singola analisi, contiene un collegamento al metodo utilizzato per l'analisi dei dati.

I dati di sequenza sono memorizzati in un set di risultati utilizzando un nome univoco per il set di risultati. È possibile specificare le convenzioni di denominazione (modello del nome) per questi set di risultati nella scheda **Sequence** della finestra di dialogo **Preferences**. Se non si specifica un modello di nome, viene utilizzato un modello di nome di sequenza predefinito. La scheda **Sequence** è utilizzata solo per l'acquisizione dei dati e, pertanto, è presente solo per i sistemi in linea.

Il modello di nome della sequenza può contenere varie sezioni. Il nome creato dal sistema per il set di risultati della sequenza dipende dalle sezioni selezionate del modello di nome della sequenza. Tutti i file di dati, i metodi, il registro elettronico delle sequenze, il file <nome_sequenza>.s e il file <nome_sequenza>.b che appartengono a questa particolare sequenza, vengono archiviati nel set di risultati. Il set di risultati viene creato all'avvio della sequenza.

I file della sequenza (*.s) sono utilizzati come modelli di sequenza e questo concetto consente di eseguire più volte qualsiasi file di sequenza senza sovrascrivere i dati esistenti e senza modificare i parametri della sequenza. Se nel modello di nome della sequenza non sono utilizzati né caratteri a scalare né l'ora, il sistema introduce automaticamente caratteri a scalare per evitare di sovrascrivere i dati. Per la seconda, la terza e tutte le sequenze successive che utilizzano lo stesso modello di sequenza, al nome del set di risultati vengono aggiunti caratteri a scalare.

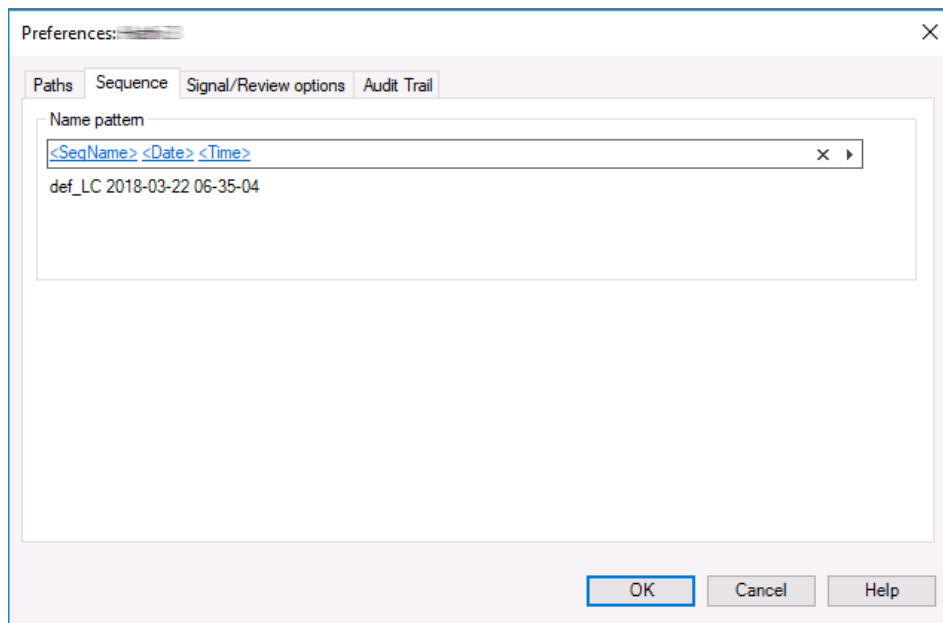


Figura 25 Finestra di dialogo Preferences / scheda Sequence

Struttura del file di dati

Esiste una stretta relazione tra dati grezzi, metodo e set di risultati, come mostrato nelle figure che seguono.

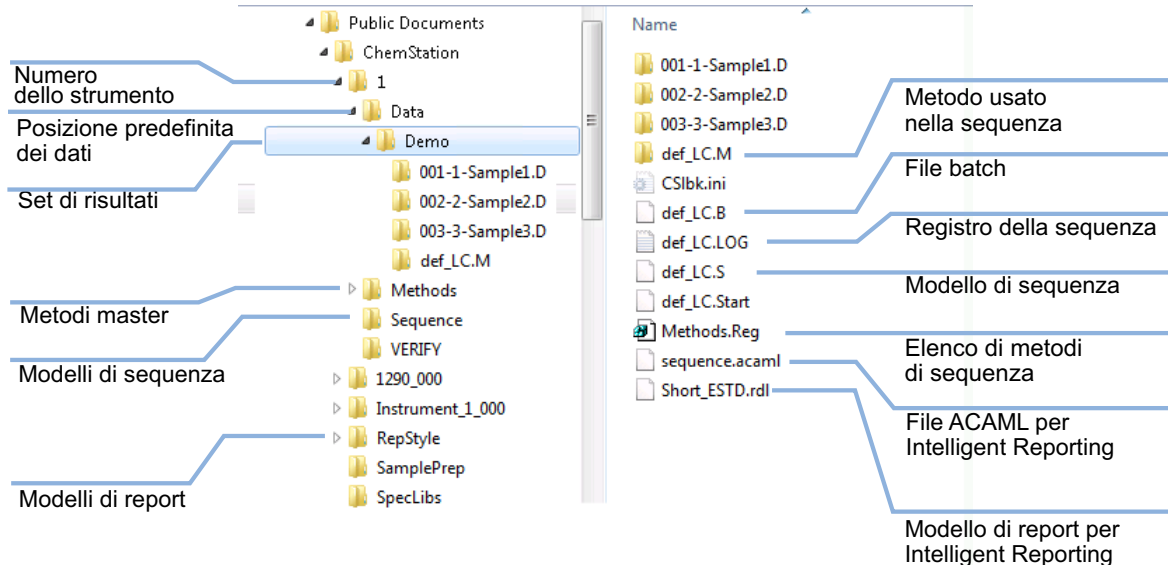


Figura 26 Struttura del file di dati della sequenza

NOTA

Il set di risultati deve sempre contenere la serie completa di tutti i file di dati (*.D). Se si elimina parte dei file di dati, il caricamento del set di risultati nell'archiviazione dei dati centralizzata dà luogo a problemi. Se è necessario accorciare una sequenza, creare un set di risultati auto-assemblati dal set ridotto di righe di sequenza (vedere "Creazione di un set di risultati autoassemblato", pagina 106).

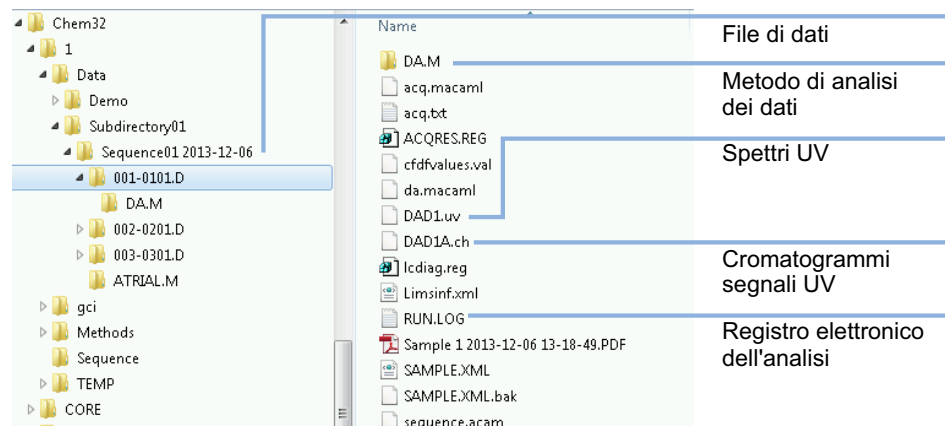


Figura 27 Contenuto del file di dati

Attribuzione del nome ai file di dati in una sequenza

La denominazione dei file di dati in una sequenza può essere effettuata nei seguenti modi:

- automaticamente,
- manualmente,
- usando un sistema a prefisso/carattere a scalare, o
- usando un modello di nome.

Denominazione automatica dei file di dati in una sequenza

Vial dei campioni nei vassoi di vial

Per esempio 017-0103.D

in cui:

- Le prime tre cifre indicano il numero del vial, per esempio 017.
- Il quarto carattere nelle applicazioni di cromatografia liquida ed elettroforesi capillare è un trattino di separazione (-); nel caso di un gascromatografo è la lettera (F) per l'iniettore anteriore o (B) per quello posteriore.
- La quinta e sesta cifra indicano la riga della sequenza che definisce il metodo utilizzato, per esempio 01 per la prima riga della sequenza.
- La settima e ottava cifra indicano il numero di iniezione per quel vial con il metodo in uso, ad esempio 03 per la terza iniezione.

Campioni in un multicampionatore

Per esempio D1F-A3-0201.D

in cui:

- D1F: posizione (in questo caso: anteriore) del contenitore per campioni nel cassetto (in questo caso: D1)
- A3: posizione del campione nel contenitore per campioni
- 0201: riga di sequenza 2, prima iniezione

Analisi in bianco

Per esempio NV--0499.D

in cui:

- NV indica nessun vial.
- - è un trattino di separazione.
- 0499 indica la 99^a analisi in bianco della riga di sequenza 4.

Come inserire nomi dei file di dati manualmente

Una delle colonne della tavola di sequenza si chiama **Datafile**. Quando non contiene dati, viene utilizzato lo schema specificato nei Parametri della sequenza (automatico, prefisso/caratteri a scalare o modello di nome) per attribuire un nome al file di dati. Se viene inserito del testo nella colonna **Datafile**, ChemStation lo utilizza per attribuire il nome al file di dati per l'analisi.

Se viene specificata più di una iniezione per vial su di una linea con un file di dati il cui nome sia stato inserito manualmente, ChemStation tronca automaticamente caratteri dalla fine del nome inserito dall'utilizzatore e aggiunge il numero di iniezione. Ciò impedisce che lo stesso nome di file di dati venga usato per più iniezioni.

Uso del sistema a prefisso/caratteri a scalare per denominare i file di dati

Utilizzando il sistema prefisso/caratteri a scalare per denominare i file di dati, ChemStation genera un nome per ogni analisi. Per uno strumento che supporta analisi a due segnali come il gascromatografo, ChemStation genererà un nome per ogni segnale.

L'impostazione della sequenza consente l'uso di nomi di file lunghi per il prefisso/caratteri a scalare. Il nome del file di dati definito da un prefisso/caratteri a scalare può essere lungo fino a quindici caratteri più l'estensione .d, per un totale di diciassette caratteri.

Al campo del prefisso/caratteri a scalare si applicano le seguenti regole:

- i caratteri a scalare possono essere al massimo 6

- se un prefisso utilizza meno di nove caratteri, i caratteri a scalare vengono automaticamente estesi a 6 cifre
- il numero utilizzato nei caratteri a scalare è il numero iniziale che viene incrementato

Tabella 7 Nomi di file

| Prefisso | Contatore | Risultati nel nome di file |
|-----------------|-----------|----------------------------|
| long | 000001 | long000001 |
| longname | 000001 | longname000001 |
| testwithalongna | 1 | testwithalongna1 |

Uso di un modello di nome per denominare i file di dati

E' possibile usare i seguenti token per creare i nomi dei file di dati per ciascuna riga di sequenza:

| | |
|-------------------------|--|
| Sample Name | L'informazione che è stata inserita tramite codice a barre o digitata nel campo Sample Name . |
| Sample Type | Il tipo di campione: Campione QC, calibrazione, campione. |
| Sample Location | Posizione del vial o della piastra del campione. |
| Method | Nome del metodo utilizzato per la riga di sequenza. |
| Sequence Line | L'attuale numero di riga della sequenza creata. |
| Replicate Number | Il numero dell'iniezione da questo vial. |
| Date | La data registrata all'avvio dell'acquisizione del campione. |
| Time | L'orario registrato all'avvio dell'acquisizione del campione. |

Se lo strumento supporta diverse posizioni di iniezione (per esempio, GC con iniettore posteriore e anteriore), si possono fornire modelli diversi per ogni posizione. Per esempio, si può usare un prefisso con un'indicazione della posizione dell'iniezione:

- F -<Riga della sequenza>-<Posizione del campione>-<Nome del campione> per le iniezioni anteriori, e
- B -<Riga della sequenza>-<Posizione del campione>- <Nome del campione> per le iniezioni posteriori.

NOTA

I nomi dei file di dati non vengono assegnati fino all'avvio dell'analisi; pertanto, la tavola di sequenza non contiene i nomi dei file di dati.

I nomi assegnati ai file di dati hanno una lunghezza massima di 40 caratteri; i nomi più lunghi vengono tagliati. Se il nome assegnato a un file non è univoco, viene aggiunto un carattere a scalare.

Migrazione del set di risultati

In ChemStation è disponibile uno strumento per eseguire la migrazione dei dati non appartenenti al set di risultati al formato del set di risultati. Per eseguire correttamente questa attività, è necessario che il file di sequenza originale sia ancora disponibile. Tale file deve contenere tutte le righe della sequenza necessarie e seguire lo schema di denominazione del file di dati originale per rielaborare tutti i file di dati della sequenza. Inoltre, è necessario che siano disponibili tutti i metodi elencati nella colonna Method della tavola di sequenza.

Per eseguire la migrazione, avviare **Result Set Migration** dal menu **Sequence** nella vista **Data Analysis**.

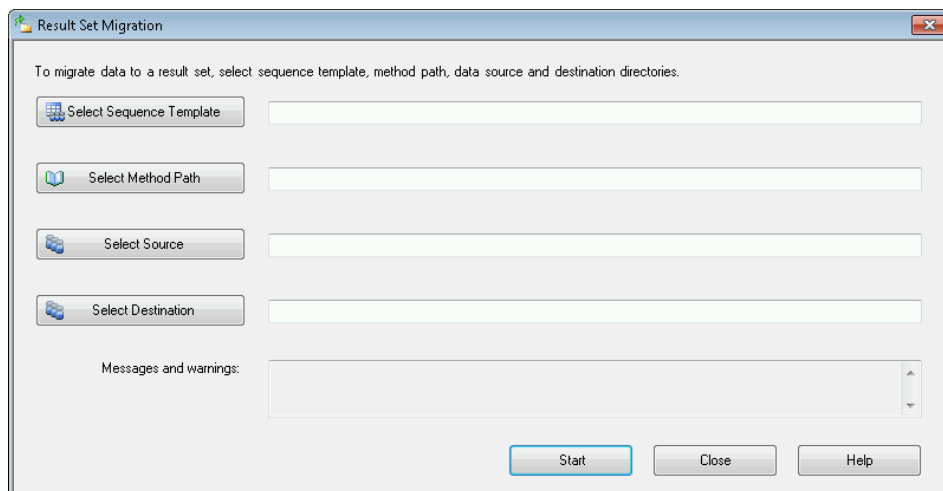


Figura 28 Migrazione del set di risultati

Inserire le informazioni pertinenti nei seguenti campi obbligatori:

Select Sequence Template: selezionare il file di sequenza (*.S) contenente la tavola di sequenza corrispondente al set di dati da migrare.

Select Method Path: selezionare la directory in cui si trovano i metodi a cui fa riferimento la tavola di sequenza.

Select Source: selezionare la directory contenente i file di dati da migrare.

Select Destination: specificare il percorso e il nome del set di risultati da creare. È possibile selezionare una cartella esistente o crearne una nuova.

Una volta inserite le informazioni in tutti i campi, è possibile avviare la migrazione.

Vengono effettuate le seguenti operazioni:

- Viene creata la directory del set di risultati.
- Il modello di sequenza viene copiato nel set di risultati. Inoltre, viene convertito in uno stato che consente di rielaborare i file di dati nella vista **Data Analysis**.
- I metodi a cui fa riferimento la tavola di sequenza vengono copiati dal percorso del metodo specificato nella cartella del set di risultati.
- I file di dati, il registro elettronico della sequenza e il file batch vengono copiati dalla directory di origine dei dati nella directory di destinazione.
- In base alle informazioni nella tavola di sequenza, una copia del metodo corrispondente viene copiata in ciascun file di dati come DA.M.

Una volta completata la migrazione del set di risultati, nel campo **Messages and warnings** viene visualizzato un messaggio che indica l'esito positivo dell'operazione. In caso contrario, viene visualizzato un messaggio di avviso in cui sono indicati gli eventuali problemi che si sono verificati durante la migrazione. Per visualizzare informazioni dettagliate sull'avviso, è sufficiente fare doppio clic sul messaggio di avviso.

Funzionamento post-sequenza

È possibile specificare cosa accade dopo che una sequenza ha terminato la sua normale esecuzione o quando ChemStation incontra un errore durante il funzionamento della sequenza stessa. A tale scopo è necessario attivare la casella di controllo **Post-Sequence command/macro** della sezione **Shutdown** di Sequence Parameters (Parametri della sequenza). È disponibile una serie di comandi integrati configurati per particolari tipi di strumento, per esempio:

- impostare il sistema nello stato di STANDBY, in cui tutte le lampade, le pompe, i termostati e i refrigeratori dei campioni sono spenti,
- impostare il sistema nello stato LAMPOFF, in cui tutte le lampade sono spente,
- impostare il sistema nello stato PUMPOFF, in cui tutte le pompe sono spente, oppure
- usare la macro predefinita SHUTDOWN o modificare SHUTDOWN.MAC per determinare funzioni specifiche.

Ad esempio se si desidera spegnere il sistema dopo che la sequenza è stata completata. Si può usare questa macro anche per impostare il flusso a zero e ridurlo gradualmente. La macro SHUTDOWN non modificata esegue il comando STANDBY.

Per maggiori informazioni sui comandi integrati disponibili, vedere l'argomento "comandi" nella guida in linea della ChemStation.

Nella sezione **Shutdown** di Sequence Parameters (Parametri della sequenza) è possibile specificare una macro o un comando personalizzati. Per maggiori informazioni sui comandi personalizzati e su come configurarli, vedere "Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation", pagina 26.

Not Ready Timeout (Timeout non pronto) (solo cromatografia liquida ed elettroforesi capillare)

La funzione Not Ready Timeout (Timeout non pronto) in Sequence Parameters (Parametri sequenza) indica l'intervallo di tempo per il quale il sistema attende che lo strumento sia pronto: trascorso questo tempo il sistema si arresta.

Wait Time (Tempo di attesa) (solo cromatografia liquida ed elettroforesi capillare)

Sequence Parameters (Parametri sequenza) permette di specificare il tempo di attesa dopo che un metodo è stato caricato e prima della prima iniezione di quel metodo. Ciò può essere utile per permettere il riequilibrio della colonna/del capillare quando si usano condizioni di analisi nuove.

Ricalibrazione automatica

La calibrazione viene spesso eseguita dopo una modifica delle condizioni operative, per esempio dopo la sostituzione di una colonna o di un capillare. La ricalibrazione automatica in genere viene eseguita all'avvio di una sequenza di analisi o a intervalli regolari durante una sequenza come parte di un programma per compensare fattori che incidono sulle prestazioni analitiche.

Quando si esegue una ricalibrazione, la tavola di calibrazione del metodo utilizzato viene aggiornata in base alle impostazioni definite per il metodo. I metodi ricalibrati sono disponibili nell'ambito della sequenza di risultati. La tavola di calibrazione del metodo della sequenza viene aggiornata durante tale processo. Inoltre, il metodo DA.M dei singoli file di dati contiene la calibrazione aggiornata utilizzata per la creazione dei risultati.

Esistono due modi per specificare la ricalibrazione automatica della sequenza:

- sequenze di calibrazione esplicite, oppure
- sequenze di calibrazione cicliche.

Come specificare le ricalibrazioni

I parametri di ricalibrazione per la sequenza vengono inseriti direttamente nella tavola apposita. I parametri definiscono come si ricalibra il metodo durante una sequenza.

Parametri di ricalibrazione nella tavola di sequenza

Fattore di risposta (RF) e tempi di ritenzione/migrazione (RT) possono essere aggiornati in vari modi. Le istruzioni relative a livello di calibrazione, aggiornamento del fattore di risposta e aggiornamento dei tempi di ritenzione/migrazione sono utilizzate nell'analisi dei dati durante la ricalibrazione della tavola di calibrazione.

Quando si immette la voce Calibration (Calibrazione) nella colonna SampleType (Tipo di campione) nella tavola dei campioni, le seguenti colonne si attivano e possono essere modificate:

- Cal Level (Livello di calibrazione)
- Update RT (Aggiorna RT)
- Update RF (Aggiorna RF)
- Interval (Intervallo)

I valori che possono essere immessi in ciascuna di queste colonne sono indicati nella tabella che segue.

Tabella 8 Parametri di ricalibrazione della tavola di sequenza

| CAL Level | Update RT | Update RF | Interval |
|---|-----------|-----------|---|
| Numero livello nella tavola di calibrazione # (1-999) | No update | No update | Numero intervallo di ricalibrazione ciclico # (1-999) |
| | Average | Average | Bianco |
| | Replace | Replace | |
| | | Bracket | |
| | | Delta% | |

Nella tabella sono mostrate le colonne della tavola di sequenza che contengono i parametri di ricalibrazione e i valori che è possibile inserire.

Automazione/sequenze

Come specificare le ricalibrazioni

No Update (Nessun aggiornamento)

Non modifica il fattore di risposta o il tempo di ritenzione/migrazione.

Replace (Sostituzione)

Sostituisce i tempi di ritenzione/migrazione precedenti e la risposta (aree o altezze) solo con quelli dell'analisi in corso. La risposta non viene modificata per i picchi non rilevati nel corso dell'analisi di ricalibrazione.

Average (Media)

Esegue la media dei tempi di ritenzione/migrazione e delle risposte (aree o altezze) per ciascun picco in base all'analisi di calibrazione originale e a tutte le successive ricalibrazioni per le quali è stata calcolata la media. Se un picco non è presente in una delle ricalibrazioni, la risposta media del picco non ne risente.

Bracket

Il bracketing dei campioni viene eseguito in base alle calibrazioni pre-campione e post-campione. La valutazione viene effettuata quando è stato analizzato l'ultimo campione di calibrazione del bracket di chiusura. I dati di calibrazione esistenti vengono sostituiti dai dati dei risultati dell'analisi di calibrazione del bracket di apertura. Le calibrazioni del bracket di chiusura vengono mediate nella tavola di calibrazione.

Interval (Intervallo)

Il parametro Interval (Intervallo) determina la frequenza con cui viene eseguita una calibrazione durante una sequenza. La frequenza di calibrazione corrisponde al numero di iniezioni di campione eseguite prima che abbia luogo il set successivo di iniezioni di calibrazione. All'inizio dell'analisi, viene eseguita una calibrazione e i risultati (fattori di risposta) vengono inseriti nella tavola di calibrazione. Tali risultati sono quindi utilizzati nei calcoli quantitativi successivi. Una volta effettuato il numero specificato di iniezioni, viene eseguita una nuova calibrazione e i risultati vengono inseriti nella tavola di calibrazione sovrascrivendo i risultati dell'analisi di calibrazione precedente.

Delta%

Il calcolo delta% consente di confrontare i fattori di risposta ottenuti da un'analisi con i fattori di risposta immessi manualmente in una tavola di calibrazione. Il valore delta% viene quindi applicato a tutti i picchi calibrati nella tavola. È possibile identificare vari standard interni i cui fattori di risposta misurati vengono quindi utilizzati per calcolare nuovi fattori di risposta per gli altri picchi. L'utente deve identificare lo standard interno da utilizzare per il calcolo delta% per ciascun picco nella tavola di calibrazione.

Tipi di sequenze

Durante la preparazione di una sequenza, è possibile utilizzare i seguenti tipi di sequenze:

- sequenze di calibrazione esplicite
- sequenze di calibrazione esplicite a livello singolo
- sequenze di calibrazione cicliche multilivello
- calibrazioni esplicite e cicliche congiuntamente in una sequenza
- sequenze di calibrazione ciclica con calibrazioni in bracketing.

NOTA

Dopo aver inviato la sequenza a Run Queue, tutte le sequenze (incluse le sequenze con calibrazioni in bracketing) sono trasformate in sequenze di calibrazione esplicite. Vedere ["Esecuzione di una sequenza"](#), pagina 100.

Durante l'analisi, la tavola di sequenza mostra semplicemente le iniezioni, analisi per analisi, mentre vengono elaborate dallo strumento. Se si aggiunge un campione durante l'analisi, tutti i campioni successivi (inclusi i campioni di calibrazione) si spostano verso il basso nella tavola di sequenza.

Sequenze di calibrazione esplicite

Questo tipo di sequenza ricalibra ad intervalli definiti scelti dall'utente nella tavola di sequenza.

Per sequenze di calibrazione esplicite, i campioni di calibrazione sono inseriti nella sequenza senza un intervallo di calibrazione nella tavola di ricalibrazione della sequenza del metodo. La ricalibrazione si effettua una volta per ogni campione di calibrazione inserito nella tavola di sequenza.

Sequenze di calibrazione cicliche a livello singolo

Questo tipo di sequenza utilizza lo stesso vial, cioè il campione di calibrazione, ad intervalli regolari nella sequenza.

Recalibration Interval (Intervallo di ricalibrazione) nella tavola di ricalibrazione della sequenza determina le modalità di effettuazione della ricalibrazione. Ad esempio, un valore di intervallo di ricalibrazione uguale a due, ricalibrerà ogni due vial di campione nella sequenza.

Sequenze di calibrazione cicliche multilivello

Questo tipo di sequenza usa campioni di calibrazione diversi per ricalibrare un metodo calibrato multilivello.

L'esempio che segue descrive una sequenza a due metodi comprendente un Metodo A e un Metodo B per analizzare due gruppi di campioni. Entrambi i metodi sono metodi di calibrazione multilivello che si ricalibreranno automaticamente a intervalli definiti.

Per ogni metodo la tavola di sequenza ha tre componenti:

- Due livelli di calibrazione
 - Righe della sequenza 1 e 2 nel metodo A;
 - Righe della sequenza 8 e 9 nel metodo B.
- Cinque voci per i campioni:
 - Righe della sequenza da 3 a 7 nel metodo A;
 - Righe della sequenza da 10 a 14 nel metodo B.

Le calibrazioni sono specificate a intervalli regolari inserendo l'intervallo di ricalibrazione nella tavola di ricalibrazione della sequenza.

- Il metodo A ricalibrerà ogni due campioni.
- Il metodo B ricalibrerà ogni tre campioni.

La tavola di sequenza riportata di seguito è incompleta per semplificare l'esempio.

Tabella 9 Tavola di sequenza per i metodi A e B

| Riga | Posizione del campione | Nome del metodo | In./Pos. | Tipo di campione | Livello calib. | Aggiorna RF | Aggiorna RT | Intervallo cal. |
|------|------------------------|-----------------|----------|------------------|----------------|-------------|----------------------|-----------------|
| 1 | 1 | Metodo A | 1 | Calibrazione | 1 | Media | Nessun aggiornamento | 2 |
| 2 | 2 | Metodo A | 1 | Calibrazione | 2 | Media | Nessun aggiornamento | 2 |
| 3 | 10 | Metodo A | 1 | | | | | |
| 4 | 11 | Metodo A | 1 | | | | | |
| 5 | 12 | Metodo A | 1 | | | | | |
| 6 | 13 | Metodo A | 1 | | | | | |

Tabella 9 Tavola di sequenza per i metodi A e B

| Riga | Posizione del campione | Nome del metodo | In./Pos. | Tipo di campione | Livello calib. | Aggiorna RF | Aggiorna RT | Intervallo cal. |
|------|------------------------|-----------------|----------|------------------|----------------|-------------|----------------------|-----------------|
| 7 | 14 | Metodo A | 1 | | | | | |
| 8 | 3 | Metodo B | 1 | Calibrazione | 1 | Media | Nessun aggiornamento | 3 |
| 9 | 5 | Metodo B | 2 | Calibrazione | 2 | Media | Nessun aggiornamento | 3 |
| 10 | 20 | Metodo B | 1 | | | | | |
| 11 | 21 | Metodo B | 1 | | | | | |
| 12 | 22 | Metodo B | 1 | | | | | |
| 13 | 23 | Metodo B | 1 | | | | | |
| 14 | 24 | Metodo B | 1 | | | | | |

Ordine di analisi - Metodo A

Il metodo A è la prima parte di una sequenza a doppio metodo.

Tabella 10 Ordine di analisi - Metodo A

| N. iniez. | Metodo | Vial | Operazione |
|-----------|----------|------|--|
| 1 | Metodo A | 1 | Livello di calibrazione 1 e rapporto di stampa |
| 2 | Metodo A | 2 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 3 | Metodo A | 10 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 4 | Metodo A | 11 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 5 | Metodo A | 1 | Livello di calibrazione 1 e rapporto di stampa |
| 6 | Metodo A | 2 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 7 | Metodo A | 12 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 8 | Metodo A | 13 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 9 | Metodo A | 1 | Livello di calibrazione 1 e rapporto di stampa |
| 10 | Metodo A | 2 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 11 | Metodo A | 14 | Analisi del campione e rapporto di stampa |

Ordine di analisi - Metodo B

Il metodo B è la seconda parte di una sequenza a doppio metodo. Il metodo B è diverso dal metodo A in quanto vi sono due iniezioni per vial per il livello di calibrazione 2. La voce relativa all'intervallo è impostata su 3.

Tabella 11 Ordine di analisi - Metodo B

| N. iniez. | Metodo | Vial | Operazione |
|-----------|----------|------|--|
| 12 | Metodo B | 3 | Livello di calibrazione 1 e rapporto di stampa |
| 13 | Metodo B | 5 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 14 | Metodo B | 5 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 15 | Metodo B | 20 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 16 | Metodo B | 21 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 17 | Metodo B | 22 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 18 | Metodo B | 3 | Livello di calibrazione 1 e rapporto di stampa |
| 19 | Metodo B | 5 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 20 | Metodo B | 5 | Livello di calibrazione 2 e rapporto di stampa |
| 21 | Metodo B | 23 | Analisi del campione e rapporto di stampa |
| 22 | Metodo B | 24 | Analisi del campione e rapporto di stampa |

Si noti che i risultati mostrati in [Tabella 10](#), pagina 127 e [Tabella 11](#), pagina 128 possono essere ottenuti utilizzando il pulsante di anteprima nella tavola di sequenza.

Calibrazioni cicliche ed esplicite insieme

Questo tipo di sequenza consente di eseguire calibrazioni esplicite e cicliche nella stessa sequenza.

Questa funzione permette di ricalibrare completamente il metodo all'inizio della sequenza (*ricalibrazione esplicita*) e quindi di aggiornare la calibrazione (*ricalibrazione ciclica*) durante la sequenza.

- *Devono essere specificate due righe di calibrazione per ciascun livello della tavola Sequenza.* Una riga di calibrazione è riservata all'inserimento della ricalibrazione esplicita e l'altra alla ricalibrazione ciclica.
- La tavola di sequenza *deve* contenere inserimenti per ogni riga di calibrazione e tutti i vial della ricalibrazione ciclica *devono* comparire prima sia della ricalibrazione esplicita sia dei campioni.

Esempio

La seguente tavola di sequenza illustra un metodo calibrato a livello singolo chiamato SimpReg. Per semplificare l'esempio, è stata troncata.

Tabella 12 Tavola di sequenza per SIMPREG

| Riga | Posizione del campione | Nome del metodo | In./Pos. | Tipo di campione | Livello calib. | Aggiorna RF | Aggiorna RT | Intervallo cal. |
|------|------------------------|-----------------|----------|------------------|----------------|--------------|--------------|-----------------|
| 1 | 1 | SimpReg | 1 | Calibrazione | 1 | Media | Media | 3 |
| 2 | 1 | SimpReg | 1 | Calibrazione | 1 | Sostituzione | Sostituzione | |
| 3 | 2 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 4 | 3 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 5 | 4 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 6 | 5 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 7 | 6 | SimpReg | 1 | | | | | |

La tavola presenta due inserimenti per il livello di calibrazione singolo.

- La prima riga di calibrazione è per lo stesso livello, ma calcola una media dei parametri di calibrazione. L'intervallo di ricalibrazione specifica che la ricalibrazione viene effettuata ogni tre campioni.
- Il secondo inserimento sostituisce tutti i parametri di ricalibrazione, ciò significa che viene effettuata una ricalibrazione completa. Non ha *nessun* intervallo di ricalibrazione.

Tavola di sequenza

Comprende sette righe. La prima riga specifica il campione di ricalibrazione ciclica. La seconda descrive la ricalibrazione esplicita effettuata una sola volta all'inizio della sequenza. Dalla terza alla settima riga sono elencati i campioni da analizzare.

L'ordine degli inserimenti nella tabella di calibrazione è molto importante. Tutti i vial relativi alla ricalibrazione ciclica *devono* essere visualizzati *prima* dei campioni o di ogni inserimento di ricalibrazione esplicita per quel metodo.

Ordine di analisi del metodo SimpReg

La seguente tabella descrive l'ordine di analisi per il metodo SimpReg.

Tabella 13 Ordine di analisi del metodo SimpReg

| Riga seq. | N. iniez. | Metodo | Vial | Operazione |
|-----------|-----------|---------|------|-----------------------|
| 2 | 1 | SimpReg | 1 | Calibrazione semplice |
| 1 | 2 | SimpReg | 1 | Calibrazione regolare |
| 3 | 3 | SimpReg | 2 | Analisi del campione |
| 3 | 4 | SimpReg | 3 | Analisi del campione |
| 4 | 5 | SimpReg | 4 | Analisi del campione |
| 5 | 6 | SimpReg | 1 | Calibrazione regolare |
| 6 | 7 | SimpReg | 5 | Analisi del campione |
| 7 | 8 | SimpReg | 6 | Analisi del campione |

Sequenze di calibrazione ciclica in bracketing

In una sequenza ciclica calibrata con bracketing, la tavola di calibrazione usata per calcolare i risultati quantitativi relativi ai campioni incogniti viene creata calcolando la media dei risultati della calibrazione attuale e di quelli della calibrazione precedente. Questa nuova tavola offre una rappresentazione più accurata della risposta dello strumento al momento dell'analisi del campione.

Esempio

Consideriamo la situazione seguente.

- Deviazione della risposta dello strumento.
- Sono state specificate tre iniezioni della stessa miscela a due componenti.

- Due iniezioni sono descritte come campioni di calibrazione ed uno come campione.
- Il primo ed il terzo sono campioni di calibrazione.
- La seconda iniezione è un campione.

Per ottenere un risultato quantitativo preciso per l'iniezione numero due (il campione), deve essere effettuata un'interpolazione fra due campioni di calibrazione, come mostra la figura. Questa procedura è nota come bracketing.

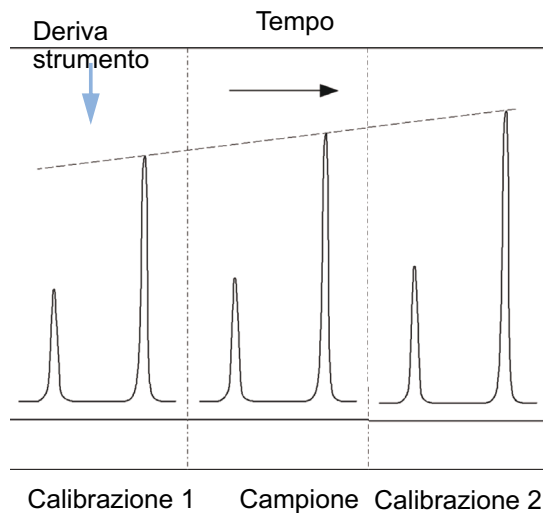


Figura 29 Tecnica del bracketing

Funzionamento della sequenza con bracketing

- I primi vial di calibrazione vengono analizzati.
- I vial di campioni vengono analizzati.
- I vial di calibrazione successivi vengono analizzati.
- Viene prodotta la tavola di calibrazione sostituendo i fattori di risposta pre-esistenti con fattori nuovi e calcolando la media delle calibrazioni successive per creare una nuova tavola.
- Vengono valutati i file di dati relativi ai campioni e creati i rapporti di stampa.
- La sequenza ritorna alla fase due se ci sono ancora vial di campioni da analizzare.

Esempio

Questa sezione riporta un esempio di sequenza in bracketing comprendente un metodo chiamato Brack.M. Questo metodo è uno standard interno a due livelli che utilizza la calibrazione ciclica.

Tavola di sequenza

La tabella di sequenza di Brack.M (illustrata nella pagina seguente) è incompleta per semplificare l'esempio. È composta da sette linee. Le prime due definiscono le condizioni di ricalibrazione per ogni livello. Le rimanenti sono campioni da analizzare.

La tavola di ricalibrazione della sequenza del metodo Brack.M ha:

- l'inserimento di Bracket nella zona Update Response Factor che specifica la bracketing fra campioni e campioni di calibrazione;
- l'inserimento di Replace in Update Retention/Migration Times che specifica la sostituzione dei tempi di ritenzione/migrazione;
- l'inserimento di 3 in Recalib Interval che precisa la ricalibrazione ogni tre campioni.

Tabella 14 Tavola di sequenza per BRACK-M

| Riga | Posizione del campione | Nome del metodo | In./Pos. | Tipo di campione | Livello calib. | Aggiorna RF | Aggiorna RT | Intervallo cal. |
|------|------------------------|-----------------|----------|------------------|----------------|-------------|--------------|-----------------|
| 1 | 1 | BRACK-M | 2 | Calibrazione | 1 | Bracket | Sostituzione | 3 |
| 2 | 2 | BRACK-M | 2 | Calibrazione | 2 | Bracket | Sostituzione | 3 |
| 3 | 10 | BRACK-M | 1 | | | | | |
| 4 | 11 | BRACK-M | 1 | | | | | |
| 5 | 12 | BRACK-M | 1 | | | | | |
| 6 | 13 | BRACK-M | 1 | | | | | |
| 7 | 14 | BRACK-M | 1 | | | | | |

| Run No. | Method Name | Vial No. | Inj No. | DataFile Name | Lvl No. | Upd RF | Upd Ret | Operation |
|---------|-------------|----------|---------|---------------|---------|--------|---------|--|
| 1 | Brack.M | 1 | 1 | c1-03001.d | 1 | R | R | Report for Calibration Run No.1 |
| 2 | Brack.M | 1 | 2 | c1-03002.d | 1 | A | R | Report for Calibration Run No.2 |
| 3 | Brack.M | 2 | 1 | c2-03001.d | 2 | R | R | Report for Calibration Run No.3 |
| 4 | Brack.M | 2 | 2 | c2-03002.d | 2 | A | R | Report for Calibration Run No.4 Print Calibration Table |
| 5 | Brack.M | 10 | 1 | 010-0301.d | | | | Sample Analysis, no report |
| 6 | Brack.M | 11 | 1 | 011-0301.d | | | | Sample Analysis, no report |
| 7 | Brack.M | 12 | 1 | 012-0301.d | | | | Sample Analysis, no report |
| 8 | Brack.M | 1 | 1 | c1-03003.d | 1 | A | R | Calibration Analysis, no report |
| 9 | Brack.M | 1 | 2 | c1-03004.d | 1 | A | R | Calibration Analysis, no report |
| 10 | Brack.M | 2 | 1 | c2-03003.d | 2 | A | R | Calibration Analysis, no report |
| 11 | Brack.M | 2 | 2 | c2-03004.d | 2 | A | R | Calibration Analysis, no report Print Calibration Table |
| | | | | 010-0301.d | | | | Report for Sample Run No.5 |
| | | | | 011-0301.d | | | | Report for Sample Run No.6 |
| | | | | 012-0301.d | | | | Report for Sample Run No.7 |
| | | | | c1-03003.d | 1 | R | | Report for Calibration Run No.8 |
| | | | | c1-03004.d | 1 | A | | Report for Calibration Run No.9 |
| | | | | c2-03003.d | 2 | R | | Report for Calibration Run No.10 |
| | | | | c2-03004.d | 2 | A | | Report for Calibration Run No.11 |
| 12 | Brack.M | 13 | 1 | 013-0301.d | | | | Sample Analysis, no report |
| 13 | Brack.M | 14 | 1 | 014-0301.d | | | | Sample Analysis, no report |
| 14 | Brack.M | 1 | 1 | c1-03005.d | 1 | A | R | Calibration Analysis, no report |
| 15 | Brack.M | 1 | 2 | c1-03006.d | 1 | A | R | Calibration Analysis, no report |
| 16 | Brack.M | 2 | 1 | c2-03005.d | 2 | A | R | Calibration Analysis, no report |
| 17 | Brack.M | 2 | 2 | c2-03006.d | 2 | A | R | Calibration Analysis, no report Print Calibration Table |
| | | | | 013-0301.d | | | | Report for Sample Run No.12 |
| | | | | 014-0301.d | | | | Report for Sample Run No.13 |
| | | | | c1-03005.d | 1 | R | | Report for Calibration Run No.14 |
| | | | | c1-03006.d | 1 | A | | Report for Calibration Run No.15 |
| | | | | c2-03005.d | 2 | R | | Report for Calibration Run No.16 |
| | | | | c2-03006.d | 2 | A | | Report for Calibration Run No.17 |

Where A = average

R = replace

Figura 30 Ordine di analisi per una sequenza di ricalibrazione in bracketing

Sequenze di ricalibrazione ciclica con più vial contenenti la stessa diluizione di uno standard

Sequenza di ricalibrazione ciclica con vial di calibrazione usati "in successione"

Quando si esegue una sequenza molto lunga che effettua ricalibrazioni cicliche, cioè che ricalibra automaticamente dopo un numero prefissato di iniezioni di campione, esiste in potenza il rischio di esaurire il volume di campione contenuto nel vial di calibrazione nel corso della sequenza. La tavola di sequenza della ChemStation consente di usare una serie di vial contenenti la stessa diluizione di uno standard da utilizzare *in successione*.

In questo modo sequenze anche molto lunghe possono essere programmate con ricalibrazioni automatiche ad intervalli prefissati, utilizzando diversi vial di calibrazione per ogni livello, dato che il contenuto di ogni vial può essere consumato nelle stesse proporzioni.

Definendo un numero adatto di vial di calibrazione è anche possibile garantire che ogni vial di calibrazione venga utilizzato una sola volta. Si tratta di un requisito importante nei casi in cui si richieda un nuovo vial di ricalibrazione per ogni calibrazione, ad esempio se un analita evapora una volta che il setto viene punto o inizia a degradarsi entrando in contatto con l'acciaio dell'ago. La sezione che segue descrive come deve essere impostata la tavola di sequenza della ChemStation per far fronte a questo tipo di esigenza.

Determinare il numero totale di vial di calibrazione per ogni livello basandosi sull'uso previsto del calibrante per la durata della sequenza.

Impostare una linea di ricalibrazione ciclica per ogni vial di calibrazione. Le linee definite per lo stesso livello di calibrazione devono essere su linee di sequenza adiacenti e le posizioni di vial definite devono essere anch'esse adiacenti. Scegliere un intervallo di ricalibrazione identico per tutte le linee di calibrazione. Ad esempio se la sequenza deve ricalibrarsi ogni 6 iniezioni di campione, impostare l'intervallo di ricalibrazione a 6.

Tabella 15 Sequenza di ricalibrazione ciclica con 3 vial definiti per ogni livello

| N. vial | Nome del campione | Tipo di campione | Nome del metodo | N.iniez. | Lvl | Upd RT | Upd RF | Interval |
|---------|-------------------|------------------|-----------------|----------|-----|--------|--------|----------|
| 1 | Cal1a | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Avg | Avg | 6 |
| 2 | Cal1b | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Avg | Avg | 6 |
| 3 | Cal1c | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Avg | Avg | 6 |

Tabella 15 Sequenza di ricalibrazione ciclica con 3 vial definiti per ogni livello

| N. vial | Nome del campione | Tipo di campione | Nome del metodo | N.iniez. | Lvl | Upd RT | Upd RF | Interval |
|---------|-------------------|------------------|-----------------|----------|-----|--------|--------|----------|
| 5 | Cal2a | Calib | Metodo A | 1 | 2 | Avg | Avg | 6 |
| 6 | Cal2b | Calib | Metodo A | 1 | 2 | Avg | Avg | 6 |
| 7 | Cal2c | Calib | Metodo A | 1 | 2 | Avg | Avg | 6 |
| 10 | Campione 10 | Campione | Metodo A | 6 | | | | |
| 11 | Campione 11 | Campione | Metodo A | 6 | | | | |
| 12 | Campione 12 | Campione | Metodo A | 6 | | | | |
| 13 | Campione 13 | Campione | Metodo A | 6 | | | | |
| 14 | Campione 14 | Campione | Metodo A | 6 | | | | |

L'ordine di esecuzione è:

- Vial 1 (Cal1a)
- Vial 5 (Cal2a)
- 6 dal vial 10 (Campione 10)
- Vial 2 (Cal1b)
- Via 6 (Cal2b)
- 6 dal vial 11 (Campione 11)
- Vial 3 (Cal1c)
- Vial 7 (Cal2c)
- 6 dal vial 12 (Campione 12)
- Vial 1 (Cal1a)
- Vial 5 (Cal2a)
- 6 iniezioni dal vial13 (Campione 13)
- Vial 2 (Cal1b)
- Vial 6 (Cal2b)
- ecc.

Ricalibrazioni cicliche con uso di un vial diverso per ogni calibrazione

Per assicurare che ogni vial di calibrazione venga iniettato una sola volta, la sequenza deve definire un numero sufficiente di vial di calibrazione diversi, in modo che *l'ordine in successione* descritto nell'esempio precedente non venga applicato. Ad esempio, se la sequenza processa 80 vial di campioni con ricalibrazioni richieste ogni 10 campioni, la tavola di sequenza deve contenere $80/10+1=9$ linee di calibrazione per ogni livello.

Come nell'esempio precedente, le linee di calibrazione devono essere adiacenti e riferirsi a posizioni di vial adiacenti.

Sequenza in bracketing che utilizza vial diversi per l'apertura e la chiusura dei bracket

La stessa funzione è disponibile per le sequenze in bracketing. Definendo la serie di vial di calibrazione adatti può essere definita una sequenza in bracketing in modo che vial di calibrazione diversi vengano usati per l'apertura e la chiusura dei bracket. Anche in questo caso le linee di calibrazione della sequenza devono essere adiacenti così come le posizioni dei vial di calibrazione.

Che i vial di calibrazione in bracketing vengano usati nella modalità "in successione" oppure per una sola iniezione dipende unicamente e semplicemente dal numero totale di vial di calibrazione per ogni livello e dal numero di ricalibrazioni richieste dalla sequenza.

L'esempio che segue definisce 3 iniezioni di campione in bracketing, fra diverse calibrazioni. Il bracket di apertura utilizza un vial di calibrazione diverso da quello di chiusura. Le ricalibrazioni sono richieste dopo ogni iniezione di campione, quindi l'intervallo di ricalibrazione deve essere 1. Il numero di linee di ricalibrazione per livello è uguale al numero di campioni più uno.

Tabella 16 Vial diversi utilizzati per l'apertura e la chiusura dei bracket

| N. vial | Nome del campione | Tipo di campione | Nome del metodo | N.iniez. | Lvl | Upd RT | Upd RF | Interval |
|---------|-------------------|------------------|-----------------|----------|-----|--------|--------|----------|
| 1 | Cal1a | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Brkt | Brkt | 1 |
| 2 | Cal1b | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Brkt | Brkt | 1 |
| 3 | Cal1c | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Brkt | Brkt | 1 |
| 4 | Cal1d | Calib | Metodo A | 1 | 1 | Brkt | Brkt | 1 |
| 10 | Campione 10 | Campione | Metodo A | 1 | | | | |
| 11 | Campione 11 | Campione | Metodo A | 1 | | | | |
| 12 | Campione 12 | Campione | Metodo A | 1 | | | | |

L'ordine di esecuzione di questa sequenza è:

- Vial 1 (Cal1a), Apertura Bracket 1
- Vial 10 (Campione 10)
- Vial 2 (Cal1b), Chiusura Bracket 1 ed apertura Bracket 2
- Vial 11 (Campione 11)
- Vial 3 (Cal1c), Chiusura Bracket 2 ed apertura Bracket 3
- Vial 12 (Campione 12)
- Vial 4 (Cal1d), Chiusura Bracket 3

5

Controllo delle analisi

| | |
|---|-----|
| Informazioni sulla coda di analisi | 139 |
| Utilizzo di Run Queue | 141 |
| Singoli campioni e singole sequenze nella Coda di analisi | 142 |
| Pause in Run Queue | 143 |
| Comandi in Run Queue | 144 |
| Utilizzo di Queue Planner | 145 |
| Pianificazione di comandi | 146 |
| Pianificazione di un evento | 146 |
| Modalità operativa del dispositivo di pianificazione | 147 |

Nel presente capitolo sono illustrati i concetti Run Queue e Queue Planner. Viene descritto come aggiungere singoli campioni, sequenze, pause o comandi a Run Queue. Viene inoltre descritto Command Scheduler, che consente di pianificare eventi per semplificare le attività quotidiane di laboratorio.

Informazioni sulla coda di analisi

La coda di analisi è molto utile quando è necessario analizzare in un breve tempo numerosi campioni (campioni singoli o sequenze) per uno strumento. Tutti i campioni singoli e le sequenze creati per lo strumento sono mostrati nella scheda Coda di analisi. Alla coda si possono aggiungere pause o comandi personalizzati dello strumento (ad esempio comandi integrati di controllo dello strumento, vedere ["Funzionamento post-sequenza"](#), pagina 119). In questo modo, si possono automatizzare attività che richiedono molto tempo come quelle notturne o del fine settimana.

Mentre lo strumento elabora il carico di lavoro visualizzato nella scheda **Run Queue**, è ancora possibile modificarlo, ad esempio:

- Cambiare la posizione degli elementi in coda o aggiungere una pausa (vedere ["Pause in Run Queue"](#), pagina 143).
- Aggiungere alla coda una serie di campioni singoli e sequenze (vedere ["Singoli campioni e singole sequenze nella Coda di analisi"](#), pagina 142).
- Modificare un elemento già presente nella coda di analisi (vedere ["Per modificare un elemento già presente nella coda di analisi"](#), pagina 143).
- Analizzare immediatamente un singolo campione o una sequenza (vedere ["Analisi di un singolo campione o di una singola sequenza"](#), pagina 143).
- Aggiungere un comando integrato o personalizzato, per esempio per spegnere il sistema al termine dell'analisi (vedere ["Analisi di un singolo campione o di una singola sequenza"](#), pagina 143).
- Aggiungere un piano di coda con un set predefinito di sequenze, creato con **Queue Planner** (vedere ["Aggiungere un piano di coda con un set predefinito di sequenze"](#), pagina 145).

La barra di stato di ChemStation mostra lo stato della coda di analisi, che può essere **Resumed**, **Paused**, o **Blocked** (se il metodo o la sequenza presenta modifiche non salvate che sarebbero sovrascritte se dovesse essere avviata l'analisi).

La **History Queue** della scheda Coda di analisi mostra quali analisi sono già state eseguite sullo strumento attuale.

Run Queue e Queue Planner sono disponibili soltanto nelle sessioni in linea della ChemStation nella finestra **Method and Run Control**.

Poiché Run Queue consente lavori di lunga durata, è molto probabile che le sessioni siano acquisite da altri utilizzatori sullo stesso strumento mentre viene elaborata la coda di analisi. I singoli utilizzatori che acquisiscono la sessione sono annotati nel report. Il report visualizza sia l'**Acquisition Operator** che è connesso come utilizzatore attuale, sia l'**Sample Operator** che ha inviato il singolo campione o la singola sequenza alla Coda di analisi.

Utilizzo di Run Queue

La coda di analisi è disponibile sia nella scheda **Instrument Control** sia nella scheda **Run Queue**. Nella scheda Instrument Control (Controllo dello strumento) è possibile visualizzare o nascondere Run Queue con il comando **View > Run Queue**.

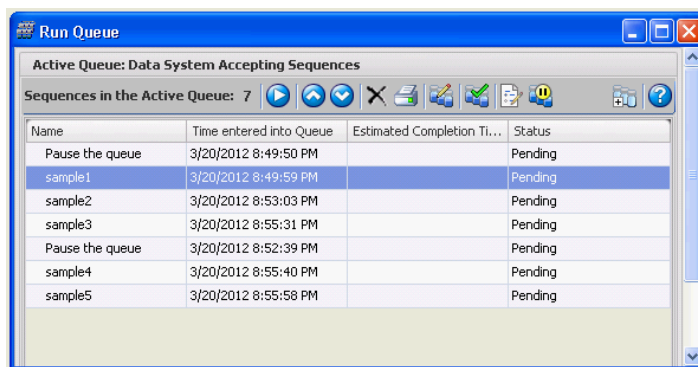


Figura 31 Finestra di dialogo Run Queue

È possibile aggiungere un elemento all'inizio o alla fine della coda. Purché lo stato degli elementi nella coda sia in sospeso, è inoltre possibile modificare sia l'ordine di esecuzione che le proprietà dell'elemento. In base alle **Active Queue Options**, il primo elemento nella coda viene avviato quando il sistema di gestione dei dati è pronto oppure quando la coda viene ripresa.

Run Queue supporta singoli campioni, modelli Easy Sequence e sequenze ChemStation classiche. Gli unici elementi che non possono essere aggiunti a Run Queue sono sequenze parziali, campioni prioritari e analisi avviate direttamente dallo strumento.

Per maggiori informazioni su Easy Sequence, consultare la guida in linea. Esercitazioni relative a **Easy Sequence Setup** sono disponibili nella guida in linea.

Singoli campioni e singole sequenze nella Coda di analisi

Accodamento di un singolo campione

- 1 Selezionare **RunControl > Queue Method...**
- 2 Nella finestra di dialogo **Queue Method**, modificare i parametri del campione.
- 3 Aggiungere il campione alla coda.

Il primo elemento aggiunto alla coda inizia quando il sistema di gestione dei dati è pronto, a meno che non sia messo in pausa dalla coda.

Accodamento di una singola sequenza

- 1 Selezionare **RunControl > Queue Sequence...**
- 2 Selezionare un modello di sequenza ChemStation classica o un modello Easy Sequence.
- 3 Modificare o rivedere la tavola di sequenza e i parametri della sequenza. È possibile modificare la tavola di sequenza e i parametri della sequenza senza cambiare la sequenza attualmente caricata.
- 4 Salvare le impostazioni. Nella finestra di dialogo **Finish Queue Sequence**, si può scegliere se aggiungere la sequenza alla coda o salvarla come nuovo modello di sequenza.


La finestra di dialogo **Finish Queue Sequence** contiene anche la casella di controllo **Delete temporary Sequence Template after completion**. ChemStation conserva sempre, in una cartella temporanea, una copia del modello di sequenza in coda. Tale modello di sequenza temporaneo viene utilizzato per eseguire la sequenza dalla coda. Poiché una stessa sequenza può essere accodata più volte con parametri diversi, ChemStation necessita di una copia separata per ogni elemento accodato. A seconda dello stato della casella di controllo, questo modello di sequenza temporaneo viene conservato o eliminato quando la coda passa all'elemento successivo.

La casella di controllo **Delete temporary Sequence Template after completion** è selezionata per impostazione predefinita. Tutte le informazioni necessarie per la rielaborazione sono già disponibili nel set di risultati; pertanto, una copia del modello di sequenza temporaneo non è necessaria. Tuttavia, se si seleziona la casella di controllo, una copia viene salvata per impostazione predefinita in **C:\Users\Public\Documents\ChemStation\<instrument>\TEMP\AESEQ**.

Per modificare un elemento già presente nella coda di analisi

Si può modificare un elemento già presente nella coda di analisi, ad esempio si può assegnare una diversa posizione di vial al singolo campione o ai campioni della sequenza, o assegnare un metodo diverso con parametri modificati.

1 Nella coda di analisi, selezionare il singolo campione o la sequenza che si vuole modificare.

2 Nella barra degli strumenti della coda di analisi, selezionare  **Edit Selection...**

A seconda che si voglia modificare un singolo campione o una sequenza, si apre la finestra di dialogo **Queue Method** o la **Sequence Table**.

3 Modificare i parametri e confermare i valori immessi.

Le impostazioni verranno applicate all'elemento contenuto nella coda di analisi.

Analisi di un singolo campione o di una singola sequenza

Per analizzare immediatamente un singolo campione o una singola sequenza, selezionare il comando **RunControl > Run Method** o **RunControl > Run Sequence**.

Il singolo campione o la singola sequenza viene dapprima aggiunto/a alla coda di analisi e quindi immediatamente analizzato/a.

Se al momento la coda di analisi è in pausa, verrà attivata automaticamente in modo che gli elementi vengano analizzati subito. Quando l'analisi è terminata lo strumento torna allo stato di pausa.

Pause in Run Queue

Per pianificare una pausa della coda, fare clic su **Add Pause to Queue** nella barra degli strumenti di Run Queue. Nelle pause la ChemStation mostra un messaggio personalizzabile e attende la conferma da parte dell'utente.

Comandi in Run Queue

Per aggiungere comandi integrati o personalizzati a Run Queue, utilizzare il menu **Run Control > Queue Command...** Tutti i comandi assegnati allo specifico strumento sono visualizzati nell'elenco a discesa. Selezionare un comando dall'elenco o configurare un comando personalizzato. Per configurare comandi personalizzati, è necessario disporre del privilegio **Command Line**.

Per maggiori informazioni sui comandi e su come configurarli, vedere "Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation", pagina 26.

Utilizzo di Queue Planner

Con Queue Planner, è possibile preparare una serie ordinata di sequenze (modello Easy Sequence *.es o modelli di sequenze ChemStation *.s), pause e comandi. L'intero piano di coda può essere aggiunto all'inizio o alla fine di Run Queue.

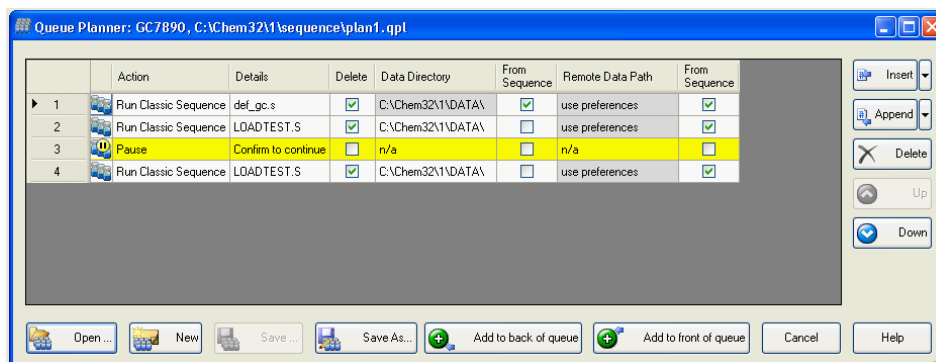


Figura 32 Queue Planner

Aggiungere un piano di coda con un set predefinito di sequenze

Queue Planner consente di creare piani di coda per le sequenze da eseguire così come di inserirvi pause e comandi. Per preparare un piano di coda:

- 1 Selezionare il comando **RunControl > Queue Planner...**
- 2 Preparare il proprio piano di coda e inserire le sequenze.
- 3 Come per Run Queue, è possibile aggiungere una pausa e inserire un messaggio personalizzato nella colonna **Details**. Quando la coda raggiunge la pausa, ChemStation si arresta e visualizza il messaggio programmato. L'utente deve confermare il messaggio per riavviare la coda.
- 4 Salvataggio del piano di coda. Il piano di coda viene salvato come file *.qpl.
- 5 Quando si desidera avviare il piano di coda, aprire Queue Planner, caricare il piano di coda e aggiungerlo alla coda di analisi.

Per maggiori informazioni sull'interfaccia utente, consultare la guida in linea.

Pianificazione di comandi

Utilizzare Command Scheduler per configurare la ChemStation per l'esecuzione automatica di comandi per eventi basati sul tempo quali:

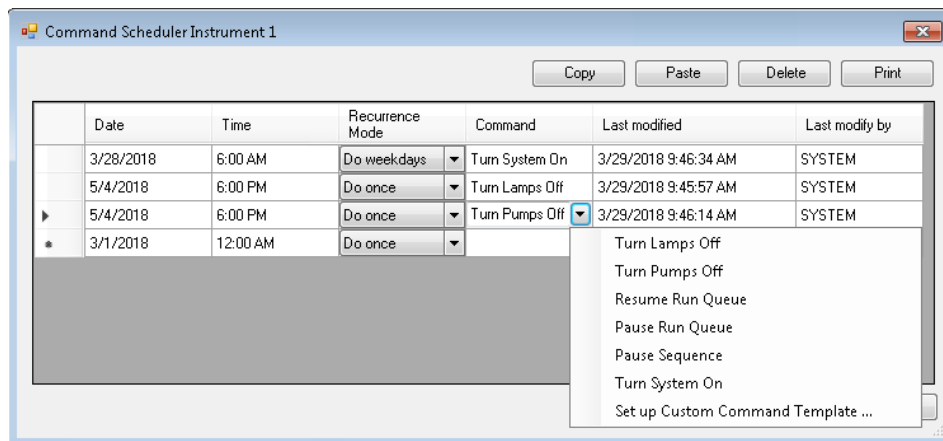
- Accensione del sistema
- Ripresa di una coda messa in pausa per preparare uno strumento per le attività della giornata
- Esecuzione di una calibrazione automatica MS
- Regolazione della deriva del rivelatore
- Caricamento di un metodo o di una sequenza
- Avvio di una sequenza o di Run Queue

Command Scheduler consente di pianificare questi eventi a un'ora e in una data specifiche e di impostare un intervallo di ricorrenza. Sono supportati i seguenti intervalli:

- Una sola volta
- Una volta al giorno
- Una volta al giorno (giorni feriali)
- Una volta a settimana (nello stesso giorno)
- Una volta al mese (nello stesso giorno)

Pianificazione di un evento

La pianificazione degli eventi viene eseguita nell'interfaccia Command Scheduler. Nella tavola è necessario specificare il comando oltre alla data e ora corrispondenti e alla modalità di ricorrenza.



Nel campo **Command** sono disponibili comandi integrati in un elenco a discesa. L'elenco di comandi può essere ampliato aggiungendo comandi definiti dall'utilizzatore. Per configurare modelli di comandi personalizzati, è necessario disporre del privilegio **Command Line**. Per ulteriori informazioni, vedere "Utilizzo di macro o comandi personalizzati nella ChemStation", pagina 26. Gli utilizzatori privi di tale privilegio possono soltanto selezionare comandi dall'elenco a discesa.

Per maggiori informazioni su macro e comandi integrati, vedere gli argomenti "comandi" e "macro" nella guida in linea della ChemStation.

Modalità operativa del dispositivo di pianificazione

Il dispositivo di pianificazione esegue una scansione ogni minuto per individuare i comandi esistenti. Le macro eseguite sono visualizzate nel registro elettronico dello strumento oltre che nel registro attività di OpenLab. Le attività la cui data di esecuzione risale a più di due settimane precedenti e che sono configurate come **Do once** vengono eliminate automaticamente.

L'esecuzione di attività può essere posticipata se la ChemStation è occupata all'ora pianificata. L'esecuzione viene effettuata quando la ChemStation è pronta. Un requisito preliminare per l'esecuzione di attività ricorrenti è che lo strumento sia in funzione.

NOTA

Le attività sono specifiche per strumento e sono associate al nome dello strumento. Se si rinomina uno strumento, tutte le attività pianificate per tale strumento vengono eliminate.

6

Concetti relativi ad analisi e revisione dei dati

| | |
|---|-----|
| Analisi dei dati | 149 |
| Modalità di analisi dei dati | 151 |
| Modalità di ricalcolo | 151 |
| Modalità ultimo risultato | 153 |
| Modalità di rielaborazione | 154 |
| Aggiornamento dei metodi | 158 |
| Visualizzatore di report per l'analisi dei dati | 159 |
| Revisione | 163 |
| Requisiti per Intelligent Reporting | 163 |
| Selezione di file di dati | 164 |
| Selezione del modello di report | 165 |
| Anteprima del report | 165 |
| Flussi di revisione possibili | 165 |

Con OpenLab CDS ChemStation Edition è possibile analizzare e revisionare i dati. Nel presente capitolo sono descritte le opzioni di analisi e revisione dei dati di ChemStation.

Analisi dei dati

Una volta acquisiti i dati, è possibile analizzarli nella finestra **ChemStation Data Analysis**. Selezionando la scheda **Data** di ChemStation Explorer, è possibile caricare tutte le analisi di una sequenza o tutte le singole analisi in una determinata cartella facendo doppio clic sul simbolo corrispondente. Il set di dati corrispondente diventa quindi disponibile nella tavola di navigazione.

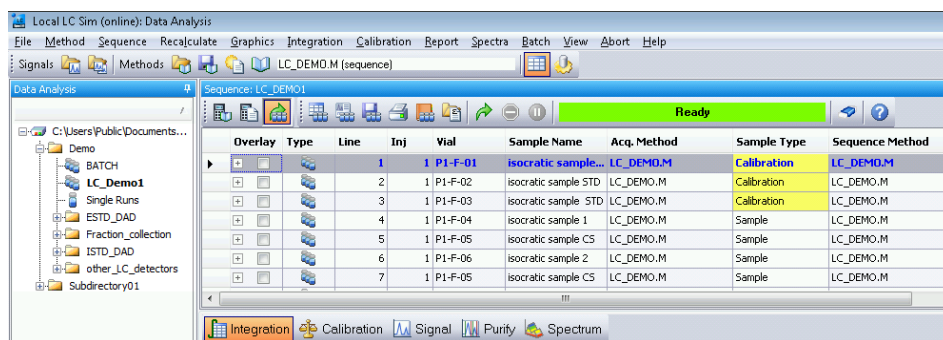


Figura 33 Caricamento di una sequenza da ChemStation Explorer nella tavola di navigazione

Il corpo principale della tavola di navigazione è costituito da un elenco di tutte le analisi del set. È possibile caricare un'analisi nella memoria della ChemStation facendo doppio clic sulla relativa riga nella tavola di navigazione. Inoltre, facendo clic con il pulsante destro del mouse su di un'analisi vengono visualizzate varie opzioni, ad esempio per caricare o sovrapporre segnali specifici dal file, esportare i dati o visualizzare i parametri del metodo di acquisizione.

Le *analisi della sequenza* sono caricate (nella modalità di rielaborazione) con il metodo della sequenza che è stato utilizzato durante l'acquisizione o la rielaborazione. Il nome del metodo è mostrato nella barra degli strumenti, oltre che nella colonna **Sequence Method** nella tavola di navigazione. Il nome del metodo di acquisizione è mostrato nella colonna **Acq Method**.

È possibile caricare *singole analisi* tramite uno dei seguenti metodi, a seconda delle impostazioni specificate in **Preferences > Signal/Review options** (vedere la figura seguente):

- Se la casella di controllo (1) è selezionata e l'ultima volta la singola analisi è stata analizzata o oggetto di report in base a un metodo memorizzato in uno dei percorsi attualmente definiti dei metodi master, la singola analisi viene caricata con tale metodo master. Il metodo è mostrato nella colonna **Analysis Method** della tavola di navigazione.

- Se la casella di controllo (1) è deselezionata, le singole analisi sono caricate con l'ultimo metodo master caricato nella ChemStation.

Il nome del metodo di acquisizione è mostrato nella colonna **Acq Method**.

La ChemStation consente di specificare le operazioni predefinite che vengono eseguite automaticamente quando un file di dati viene caricato dalla tavola di navigazione. Tali operazioni includono attività di analisi dei dati come l'integrazione del cromatogramma direttamente dopo il caricamento, oppure la stampa di un report per ogni singola iniezione (vedere la figura seguente).

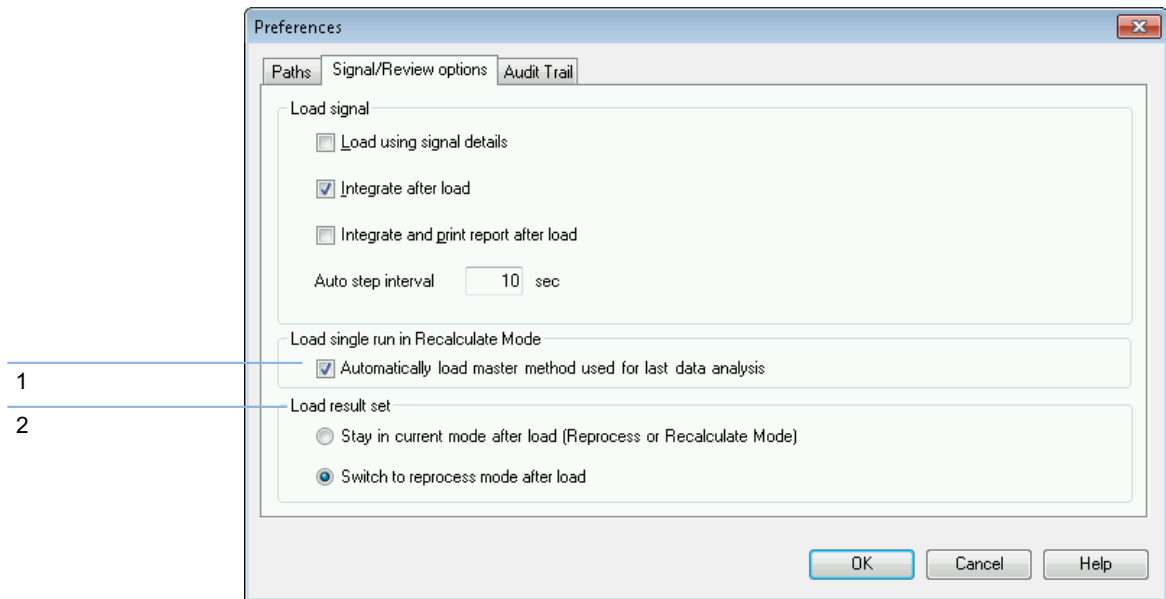


Figura 34 La scheda Signal/Review options della finestra di dialogo Preferences

Modalità di analisi dei dati

È possibile scegliere fra le seguenti modalità di analisi dei dati:

- Modalità Recalculation (Ricalcolo)
- Modalità Last Result (Ultimo risultato)
- Modalità Reprocessing (Rielaborazione)

È possibile accedere a queste modalità tramite il menu **View** o per mezzo del set di strumenti (vedere la figura seguente).



Figura 35 Selezione della modalità

Per ogni modalità, il set di strumenti contiene funzioni specifiche. Le modalità e le relative funzioni sono descritte nelle sezioni che seguono. Nella scheda **Signal/Review Options** della finestra di dialogo **Preferences** è possibile scegliere quale modalità deve essere attiva per impostazione predefinita quando si carica un set di risultati (vedere [Figura 34](#), pagina 150, indicatore 2).

Modalità di ricalcolo

Una volta caricata l'analisi, è possibile revisionarla, ossia regolare i parametri di analisi dei dati, integrare i segnali e infine stampare un report. In questo caso l'analisi viene esaminata singolarmente senza prendere in considerazione il contesto della sequenza e senza utilizzare le funzioni della tavola di sequenza. La tavola di navigazione per questo tipo di analisi dei dati fornisce il set di strumenti visualizzati nella figura che segue.



Figura 36 Set di strumenti per il ricalcolo della tavola di navigazione

Questo set di strumenti consente di passare all'inizio o alla fine della tavola di navigazione, passare all'analisi successiva o precedente, passare automaticamente da un'analisi all'altra, interrompere il passaggio automatico, ricalcolare un'analisi utilizzando un metodo specifico o cancellare la tavola di navigazione.

Per ricalcolo si intende l'analisi dei dati eseguita analisi per analisi. Vengono analizzate soltanto le analisi visualizzate nella tavola di navigazione. Se si è applicato un filtro alla tavola di navigazione, vengono ricalcolate solo le analisi effettivamente visualizzate nella tavola. Viene preso in considerazione anche l'ordinamento della tavola di navigazione.

È possibile utilizzare il ricalcolo nei seguenti flussi di lavoro, ad esempio:

- Si desidera riesaminare i file di dati di un set di risultati con un metodo diverso attualmente non presente nel set di risultati; ad esempio un metodo master non utilizzato per l'acquisizione poiché il proprio flusso di lavoro prevede metodi di acquisizione e analisi dei dati separati.
- È stato modificato un metodo di sequenza e si desidera riesaminare solo le analisi specifiche che utilizzano questo metodo per controllare l'applicabilità dei parametri per le varie analisi.

Metodo di analisi dei dati per singole analisi

Nelle versioni precedenti, non veniva caricato automaticamente alcun metodo con i file di dati in modalità di ricalcolo. A partire della versione C.01.05, è possibile selezionare la casella di controllo per caricare automaticamente il metodo master utilizzato per l'ultima analisi dei dati (vedere [Figura 34](#), pagina 150, indicatore 1). Se la casella di controllo è selezionata, le singole analisi vengono caricate insieme al metodo master corrispondente, se il metodo è ancora memorizzato nel percorso specificato.

Ricalcolo con un metodo specifico

Questa funzione consente di ricalcolare le analisi visualizzate nella tavola di navigazione utilizzando un metodo master specifico. Il metodo master richiesto viene specificato nella finestra di dialogo **Recalculate With Method** (vedere la figura seguente). Se il metodo master selezionato utilizza Intelligent Reporting (vedere [“Stesura di report”](#), pagina 182), è possibile anche specificare il modello di report che sarà utilizzato per i report delle singole iniezioni.

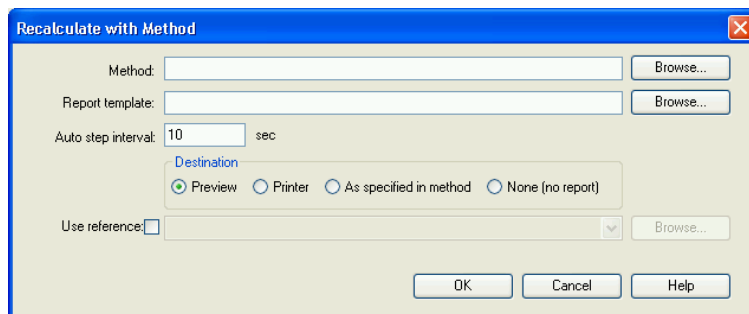


Figura 37 Finestra di dialogo Recalculate With Method

La finestra di dialogo **Browse for methods in master paths** e la finestra di dialogo **Browse for templates in master paths** offrono tutte le posizioni di file specificate nelle preferenze.

NOTA

Nelle precedenti versioni di ChemStation era possibile ricalcolare con un metodo specifico scegliendo **Use current method**, **Use method from data file** oppure **Use sequence method** nella barra degli strumenti.

Se si seleziona la casella **Use reference** è possibile scegliere un file di dati contenente un segnale di riferimento. La ChemStation utilizza questo segnale per il calcolo del rapporto segnale-rumore in base alla definizione della Farmacopea Europea. Nell'elenco a discesa sono riportati i file di dati utilizzati durante la sessione corrente. Il pulsante **Browse** consente di selezionare qualsiasi file di dati presente anche nella tavola di navigazione. Se si desidera utilizzare un file di riferimento diverso è necessario innanzitutto aggiungerlo alla tavola di navigazione.

Il nuovo riferimento sovrascrive quello precedente e in seguito verrà utilizzato per i calcoli del rapporto segnale-rumore in ogni report. Se si seleziona la casella di controllo **Use reference** ma non si specifica alcun file, vengono cancellati i riferimenti per tutti i file di dati ricalcolati e in seguito non verrà calcolato alcun valore del rapporto segnale-rumore.

Ogni volta che si ricalcola un campione o si genera un report, il metodo del file di dati (DA.M) viene aggiornato automaticamente con i parametri di analisi dei dati del metodo utilizzato. Il percorso del metodo specifico viene salvato come riferimento nel file di dati.

Modalità ultimo risultato



Figura 38 Set di strumenti della modalità ultimo risultato della tavola di navigazione

In questa modalità viene caricato il metodo del file di dati (DA.M) per ogni analisi. Il metodo DA.M è una copia esatta del metodo utilizzato per l'ultima analisi dei dati (durante l'acquisizione, la rielaborazione o il ricalcolo). Pertanto, anche se nel frattempo il metodo della sequenza è stato modificato, è possibile riprodurre l'ultimo risultato con il metodo utilizzato in origine. In tal modo è possibile, per esempio, tenere traccia delle modifiche apportate al metodo in fasi successive di ricalibrazione in un set di risultati.

Il nome del metodo nella barra degli strumenti visualizza la dicitura DA.M, a indicare che è caricato il metodo del file di dati. Quando si sposta il puntatore del mouse su questo campo, il suggerimento visualizza anche il percorso completo e il nome del metodo. Inoltre, il nome dell'ultimo metodo utilizzato per l'analisi dei

dati (che era stato copiato nel DA.M) è mostrato nella colonna **Analysis Method** della tavola di navigazione. Il suggerimento relativo a questa colonna mostra il percorso completo di tale metodo.

NOTA

Il DA.M in genere è a sola lettura. Non può essere caricato manualmente ma viene caricato soltanto dalla ChemStation in modalità Last Result (Ultimo risultato) per il ricalcolo. Può essere modificato, ma non salvato manualmente.

Se sono state apportate modifiche al metodo e si desidera stampare un report, viene visualizzato un messaggio che richiede la conferma, in quanto tale operazione genera nuovi risultati. Se si fornisce la conferma, le modifiche vengono salvate nell'ultimo metodo di analisi dei dati utilizzato. Una voce corrispondente viene aggiunta all'audit trail del metodo.

In modalità Last Result (Ultimo risultato) è possibile aggiornare il metodo master caricato o un qualsiasi metodo master con i parametri correnti di analisi dei dati ottenuti dal DA.M, oppure salvare un metodo DA.M modificato come un nuovo metodo master. Per esempio, è stato caricato un set di dati analizzato alcune settimane o mesi fa e si determina che i parametri di analisi dei dati memorizzati nel DA.M sono utili per le attività in corso. In questo caso è possibile trasferire le impostazioni in un metodo master di propria scelta. Per ulteriori informazioni, consultare "Amministrazione dei metodi", pagina 56.

Modalità di rielaborazione

Un modo diverso di analizzare i dati consiste nell'utilizzo della funzione **Reprocess** di una sequenza completa. A differenza del ricalcolo, tutte le analisi vengono rianalizzate nel contesto della sequenza, ossia le tavole di calibrazione dei metodi di sequenza vengono aggiornate in caso di calibrazioni; inoltre moltiplicatori, quantità e altri elementi possono essere modificati nella tavola di sequenza.

Il set di risultati include tutti i file necessari per la rielaborazione: i file di dati, una copia del file della sequenza, tutti i metodi della sequenza e tutti i modelli di report originariamente impiegati nell'acquisizione. Pertanto, per rielaborare una sequenza è sufficiente caricarla nella tavola di navigazione e selezionare il set di strumenti di rielaborazione.

Se è necessario propagare le modifiche apportate nel metodo di sequenza al metodo master corrispondente come input per tutte le successive acquisizioni, è possibile farlo con estrema semplicità tramite la funzionalità **Update Master Method** (vedere "Aggiornamento dei parametri DA nel metodo master", pagina 59).

Il DA.M viene aggiornato automaticamente ogni volta che si rielabora un file di dati.

Per la rielaborazione, la tavola di navigazione fornisce il seguente set di strumenti:



Figura 39 Set di strumenti per la rielaborazione della sequenza della tavola di navigazione

Questo set di strumenti consente di modificare la tavola della sequenza, modificare i parametri della sequenza, salvare la sequenza corrente, stampare la sequenza corrente, visualizzare o nascondere il registro elettronico della sequenza, visualizzare i file di report di riepilogo della sequenza salvati, avviare la rielaborazione della sequenza o arrestare la sequenza.

Tenere presente che le icone per la rielaborazione nella tavola di navigazione sono disponibili solo per i set di risultati generati con la ChemStation B.02.01 e versioni successive. La rielaborazione in **Data Analysis** non è accessibile per i dati di un'unica analisi, per i dati generati con versioni precedenti alla B.02.01 e per i dati acquisiti nella precedente modalità con cartelle non esclusive. Tali sequenze devono essere rielaborate in **Method and Run Control**, definendo il parametro della sequenza **Part of method to run** come **Reprocess Only**. Per le sequenze generate con la ChemStation B.02.01 e versioni successive, l'opzione di rielaborazione in **Method and Run Control** è stata rimossa e la rielaborazione è disponibile nella tavola di navigazione come **Data Analysis Task**.

Un'ulteriore alternativa consiste nell'aggiungere tali campioni o sequenze a un nuovo set di risultati auto-assemblato. In quel caso si assegnano anche i metodi di sequenza e in seguito è possibile rielaborare l'intera sequenza (vedere "[Set di risultati autoassemblato](#)", pagina 158).

Tenere presenti le seguenti regole relative alla rielaborazione:

- Quando carica un set di risultati nella tavola di navigazione, ChemStation carica automaticamente anche il file della sequenza (*.S) situato nel set di risultati. Il file della sequenza contiene tutte le righe della sequenza che si riferiscono a qualsiasi file di dati appartenente a questo set di risultati.
- Tutte le operazioni vengono eseguite sui metodi della sequenza. Se devono essere applicati parametri di analisi modificati, è necessario modificare i metodi della sequenza.
- Durante la rielaborazione, vengono aggiornati il file Batch (*.b), il registro esecuzione della singola analisi/sequenza (*.log) e la tavola di navigazione. Il singolo metodo di analisi dei dati (DA.M) di ciascun file di dati elaborato viene sovrascritto con il metodo della sequenza.

- Per aggiungere nuovi metodi da una delle directory dei metodi master alla tavola di sequenza, utilizzare ChemStation Explorer per copiare il metodo master nel set di risultati oppure fare clic su **Method > Update Methods...** È quindi possibile selezionare il nuovo metodo di sequenza nella tavola di sequenza. Non è possibile aggiungere o rimuovere righe nella tavola di sequenza.
- Nella finestra di dialogo Parametri della sequenza è possibile modificare solo il commento della sequenza e l'utilizzo delle informazioni della tavola di sequenza. Tutti gli altri campi devono essere impostati durante l'acquisizione dei dati o non vengono applicati alla rielaborazione.

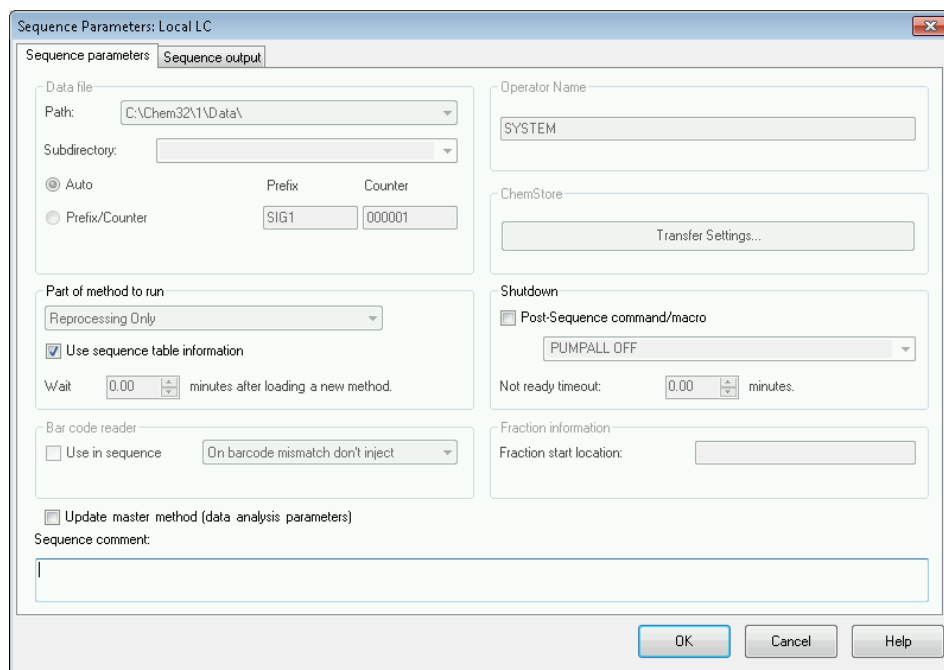


Figura 40 Parametri della sequenza nell'analisi dei dati

Gestione degli eventi manuali di integrazione

Gli eventi manuali di integrazione, come una linea di base disegnata a mano, sono file di dati ancora più specifici rispetto agli eventi di integrazione tempificati. In caso di cromatogrammi complessi, è preferibile utilizzare questo tipo di eventi per la rielaborazione.

Pertanto nella ChemStation B.04.01 e versioni superiori, gli eventi manuali di integrazione possono essere memorizzati direttamente nel file dei dati anziché con il metodo. Ogniqualvolta il file dei dati viene esaminato o rielaborato, gli eventi manuali di integrazione nel file dei dati vengono applicati automaticamente. Un'analisi contenente eventi manuali di integrazione viene segnalata nella relativa colonna della tavola di navigazione.

Oltre agli strumenti per tracciare una linea di base ed eliminare manualmente un picco, nell'interfaccia sono disponibili tre altri strumenti che consentono di:

- salvare gli eventi manuali dei cromatogrammi attualmente visualizzati nel file di dati
- rimuovere tutti gli eventi dai cromatogrammi attualmente visualizzati
- annullare gli ultimi eventi manuali di integrazione (questo è disponibile fino al salvataggio dell'evento)

Quando si passa al file di dati successivo durante la revisione nella tavola di navigazione, la ChemStation controlla se ci sono eventi manuali di integrazione non salvati e chiede all'utente se desidera salvarli.

Gli eventi manuali memorizzati nel file dei dati durante la revisione nella tavola di navigazione non interferiscono con gli eventi manuali di integrazione memorizzati durante la revisione in modalità **Batch**. Queste due modalità di revisione sono completamente diverse rispetto agli eventi manuali di un file dei dati.

Nelle versioni della ChemStation precedenti alla B.04.01, gli eventi manuali di integrazione potevano essere memorizzati solo nel metodo. Nella versione B.04.01, è ancora possibile utilizzare questo flusso di lavoro. Il menu **Integration** nella finestra **Data Analysis** fornisce le seguenti opzioni per la gestione degli eventi manuali di integrazione con il metodo:

Update Manual Events of Method: salva i nuovi eventi manuali tracciati nel metodo.

Apply Manual Events from Method: applica gli eventi manuali correntemente salvati nel metodo al file dei dati attualmente caricato.

Remove Manual Events from Method: elimina gli eventi manuali dal metodo.

Per convertire gli eventi manuali memorizzati in un metodo e memorizzarli nel file dei dati, applicare gli eventi dal metodo e memorizzare i risultati nel file dei dati. Se necessario, rimuovere gli eventi dal metodo.

Se è selezionata la casella di controllo **Manual Events** della **Integration Events Table** di un metodo, gli eventi manuali del metodo vengono sempre applicati quando si carica un file dei dati con quel metodo. Se il file dei dati contiene eventi manuali aggiuntivi, vengono utilizzati gli eventi nel file dei dati. Se la casella di controllo **Manual Events** è abilitata, all'utente non viene mai richiesto di salvare gli eventi nel file dei dati.

Set di risultati autoassemblato

Nella vista **Data Analysis**, la tavola di navigazione visualizza il contenuto della singola analisi o sequenza che è stata caricata. È possibile caricare, scaricare o aggiungere file di dati alla tavola di navigazione. Utilizzando il comando **Sequence > Create New Result Set**, è possibile creare un nuovo set di risultati autoassemblato dai dati attualmente visualizzati nella tavola di navigazione (consultare la sezione ["Assemblamento di un nuovo set di risultati"](#), pagina 106). I set di risultati autoassemblati possono essere rielaborati nello stesso modo dei set di risultati creati automaticamente.

Scaricamento del set di dati corrente

Utilizzando il comando **Unload Current Dataset** dal menu di scelta rapida della tavola di navigazione, è possibile riportare la tavola di navigazione allo stato vuoto originale, come avviene direttamente dopo l'avvio di ChemStation. Se ci sono dati non salvati, viene chiesto di salvarli.

Eliminazione del file di dati selezionato

Utilizzando il comando **Remove selected Data Files** dal menu di scelta rapida della tavola di navigazione, è possibile rimuovere le linee selezionate dalla tavola di navigazione. Questo rimuove solo il riferimento nella tavola di navigazione, non cancella il file di dati fisico dal set di risultati o dalla singola analisi nel file system. È possibile solo eliminare i riferimenti dei file aggiunti/sovrapposti.

Aggiornamento dei metodi

Nella vista **Data Analysis**, sono disponibili numerose opzioni per copiare i metodi tra le directory dei metodi master e i set di risultati. Per ulteriori informazioni, consultare ["Amministrazione dei metodi"](#), pagina 56.

Visualizzatore di report per l'analisi dei dati

A seconda delle configurazioni, ChemStation salva ad un certo punto automaticamente i report per le singole iniezioni e i report riassuntivi di sequenza nel file system. Con il Visualizzatore di report, è possibile visualizzare in modo semplice i file dei report salvati, così da poter controllare i risultati ottenuti dall'acquisizione dei dati, dall'elaborazione o dal ricalcolo.

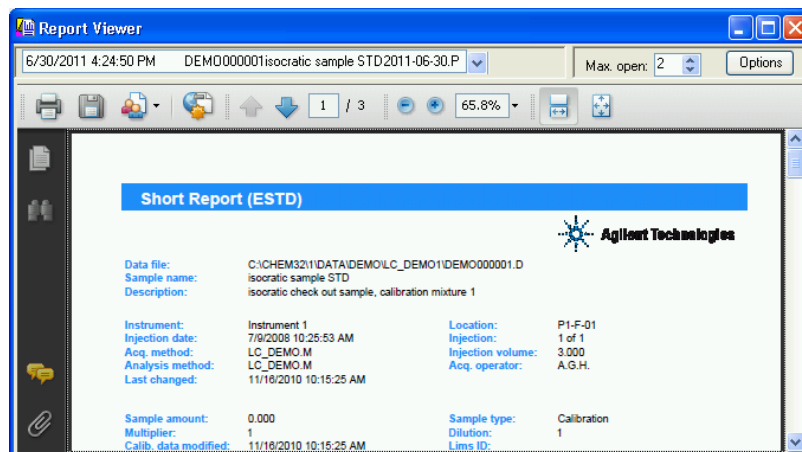


Figura 41 Visualizzatore di report

L'uso del Visualizzatore di report offre i seguenti vantaggi:

- consente di aprire i file dei report direttamente dalla piattaforma ChemStation e non è necessario cercare i file nel file system
- ogni report viene aperto in una finestra mobile separata, quindi il confronto dei report diventa più facile affiancando finestre una all'altra
- i report sono visualizzabili a schermo intero
- si possono usare le funzionalità di Adobe Reader per visualizzare i report in .pdf
- è possibile ricercare testo specifico sia nei report .txt sia nei .pdf
- quando si rielabora una sequenza, non è necessario attendere il completamento dell'operazione, possono essere aperti i file dei report salvati per i campioni della sequenza che sono già stati completati

Avvio del visualizzatore di report

È possibile aprire il visualizzatore di report da menu, tramite icone nella barra strumenti o da menu contestuale della tavola di navigazione. Vi sono diversi elementi per report riassuntivi di sequenza e report per singola iniezione.

Per visualizzare i report per singola iniezione:

- Selezionare il menu **Report > View Report File** per visualizzare i file dei report del segnale caricato.
- Selezionare il comando **View Saved Report File(s)** dal menu contestuale per un campione specifico nella tavola di navigazione. Con tale comando è possibile caricare uno o più file di report di qualsiasi segnale, anche se al momento non caricato.
- Fare clic sull'icona **View saved Report File(s)** dalla barra degli strumenti dello spazio di lavoro per visualizzare uno o più file di report del segnale caricato.



Per visualizzare i report riassuntivi di sequenza:

- selezionare il menu **Sequence > View Summary Report File**.
- Fare clic sull'icona **View Saved Sequence Summary Report File(s)** dalla barra degli strumenti di navigazione (in modalità rielaborazione).



Configurazione delle finestre del visualizzatore di report

È possibile configurare diversi aspetti del comportamento del visualizzatore di report. Tutte queste impostazioni sono accessibili tramite pulsante **Options** nella finestra del visualizzatore di report.

Può essere definito il numero massimo di finestre apribili in parallelo nel visualizzatore di report. Le finestre vengono ciclicamente riutilizzate. Quando vengono visualizzati più file di report rispetto al numero massimo di finestre consentito, le prime finestre aperte sono le prime a cambiare contenuto.

NOTA

Se non si ha necessità di raffrontare più report, si consiglia di limitare il numero di finestre del visualizzatore di report a 1.

Per il confronto dei report, potrebbe inoltre essere utile adattare la barra del titolo delle finestre del visualizzatore di report. Sono disponibili vari token per le finestre del visualizzatore di report, che visualizzano i report riassuntivi di sequenza, i report per singola iniezione per i campioni della sequenza o report per singola iniezione per analisi singole. Tali token consentono di distinguere le singole finestre del visualizzatore di report.

Le finestre del visualizzatore di report appaiono sempre nella parte superiore dell'applicazione ChemStation. Per poter lavorare contemporaneamente con ChemStation e il visualizzatore di report, è possibile ridimensionare e posizionare le due finestre in modo che siano entrambi visibili. Quando viene chiusa la ChemStation, vengono salvate posizioni e dimensioni delle finestre. All'avvio successivo della ChemStation, verranno riutilizzate le medesime impostazioni.

Organizzazione delle finestre del visualizzatore di report

Le finestre del visualizzatore di report appaiono sempre nella parte superiore dell'applicazione ChemStation. Per poter lavorare contemporaneamente con ChemStation e il visualizzatore di report, è possibile ridimensionare e posizionare le due finestre in modo che siano entrambi visibili e sia possibile lavorare comodamente.

Quando viene chiusa la ChemStation, vengono salvate posizioni e dimensioni delle finestre. All'avvio successivo della ChemStation, verranno riutilizzate le medesime impostazioni.

Attività con il visualizzatore di report

È possibile utilizzare il visualizzatore di report, ad esempio, nei seguenti flussi di lavoro:

- Impostazione del metodo e della sequenza per il salvataggio nel file system dei report in formato PDF. A completamento dell'analisi della sequenza, apertura dei file di report (report riassuntivo di sequenza o report per singola iniezione) direttamente da piattaforma ChemStation nel visualizzatore di report. Uso delle funzionalità di Adobe Reader, quali zoom o comando trova per controllare il report in dettaglio.
- Scaricamento dalla memorizzazione centralizzata dei dati di una sequenza contenente già file di report.
 - Per vedere il risultato finale, selezionare il relativo campione nella tavola di navigazione e aprire il file di report direttamente dalla ChemStation nel visualizzatore di report.

Analisi dei dati

- Se necessario, è possibile cambiare il metodo e rielaborare la sequenza. Durante la fase di rielaborazione, è già possibile visualizzare i report dei campioni completati.

Nel visualizzatore di report è possibile selezionare, dall'elenco nell'angolo in alto a sinistra, sia il report nuovo sia il report vecchio. I report sono distinguibili per data di creazione, indicata nella voce dell'elenco. In base alle impostazioni di trasferimento, i dati (inclusi i nuovi file di report) possono essere automaticamente caricati nella memorizzazione centralizzata dei dati una volta completata la rielaborazione.

- Analisi di una sequenza che salva solo file di report TXT. Tali file di report possono essere controllati anche nel visualizzatore di report.
- Rassegna di diversi report negli stessi campioni della sequenza, in base a diversi stili o modelli di report.

Come primo passo si crea una sequenza con un report prestazioni esteso. Si analizza o rielabora la sequenza per ottenere il file di report. Se il risultato visualizzato nel report è soddisfacente, si cambia il metodo della sequenza per creare un report ridotto (ad esempio, si seleziona un modello di report diverso o lo stile ridotto classico **Short**). Quindi si rielabora la sequenza per ottenere report più brevi. Quando si visualizza un report nel visualizzatore di report, è possibile passare da un report all'altro selezionando il report dall'elenco nell'angolo in alto a sinistra. La data di creazione di ciascun file è indicata nella voce dell'elenco.

Revisione

In Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition è disponibile una vista che riguarda i flussi di lavoro di pura revisione dei dati per l'analisi dei dati. In questa vista **Review**, è possibile generare report per un'intera sequenza, un sottoinsieme di una sequenza o qualsiasi selezione di file di dati da sequenze diverse o singoli campioni.

Nella vista **Review**, non si carica nessun metodo e non si crea nessun nuovo risultato come nel ricalcolo o nella rielaborazione. I report generati nella vista **Review** visualizzano solo i risultati che sono stati già calcolati.

È possibile selezionare un modello di report e applicarlo a una specifica selezione di file di dati. La combinazione del modello e della selezione di file di dati determina l'output del report generato.

Poiché la vista **Review** visualizza esclusivamente risultati esistenti, viene utilizzata nei flussi di lavoro conformi per presentare risultati esistenti senza generare una nuova versione dei risultati.

NOTA

La vista **Review** è disponibile solo se è stato attivato Intelligent Reporting nella configurazione degli strumenti nel pannello di controllo di OpenLab.

Requisiti per Intelligent Reporting

OpenLab CDS ChemStation Edition genera i dati dei risultati in un formato specifico (*.ACAML) utilizzato da Intelligent Reporting. Se si desidera creare report per i dati acquisiti con una ChemStation versione A o B, è necessario innanzitutto generare nuovamente i risultati utilizzando OpenLab CDS ChemStation Edition (per esempio, ricalcolando i dati o generando report per iniezioni singole nella vista Analisi dei dati). Se i risultati non sono disponibili nel formato richiesto, i report generati nella vista Revisione non conterranno alcun dato.

Selezione di file di dati

È possibile selezionare i file di dati richiesti caricando le sequenze o le singole analisi dalla Struttura di navigazione in ChemStation Explorer. Tutti i file di dati disponibili vengono quindi visualizzati nella tavola di navigazione. Nella tavola di navigazione si selezionano i file di dati specifici per cui si desiderano vedere i risultati nel report.

Caricamento dei file di dati

È possibile caricare tutti i file di dati da un'intera sequenza o da una cartella Analisi singole. Nella scheda **Data** di ChemStation Explorer, è possibile fare doppio clic sulla sequenza o utilizzare il comando **Load** dal menu di scelta rapida per caricare tutti i file di dati inclusi.

Quando si caricano i file di dati, la tavola di navigazione viene cancellata automaticamente prima che siano visualizzati i nuovi file di dati. È possibile quindi preparare i dati per un *Report per singolo campione* o per un *Report riassuntivo di sequenza*.

Aggiunta di file di dati

Se si desidera confrontare i risultati di sequenze diverse, è possibile prima caricare una sequenza e quindi aggiungere da un'altra sequenza i file di dati richiesti. Nella scheda **Data** di ChemStation Explorer, utilizzare il comando **Add Data Files...** dal menu di scelta rapida da aggiungere solo file di dati specifici alla selezione già caricata. Si apre una finestra di dialogo in cui è possibile selezionare i file di dati richiesti.

Quando si aggiungono file di dati, la tavola di navigazione aggiunge i file di dati all'elenco dei file di dati già caricati. È possibile preparare quindi i dati, ad esempio, per i *Report su più sequenze*.

Selezione dei file di dati per i report

La tavola di navigazione visualizza che tutti i file di dati della sequenza o della raccolta di singoli campioni su cui si è fatto doppio clic in ChemStation Explorer. Nella tavola di navigazione, si selezionano i file di dati per cui si desidera creare il report. Quando si genera un report saranno incluse solo le linee selezionate.

Selezione del modello di report

È possibile selezionare i modelli di report desiderati dalla scheda **Report Templates** in ChemStation Explorer. La struttura di navigazione ad albero visualizza tutti i modelli di report nella directory REPSTYLE.

Per impostazione predefinita, la directory REPSTYLE si trova in C:\Users\Public\Documents\ChemStation. Tale percorso viene definito durante l'installazione.

Utilizzare il menu ChemStation **File > Open Windows Explorer...** per aprire il percorso per lo strumento corrente (per esempio C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1). In alternativa, utilizzare il collegamento a **Instrument Data** nel menu Start.

Anteprima del report

Il report risultante è determinato sempre dalla selezione dei dati e dal modello del report. Quindi ChemStation genera il report corrispondente e visualizza l'anteprima del report quando sono stati selezionati uno o più file di dati ed è stato caricato un modello di report.

È possibile inviare il report a una stampante o salvarlo come file (PDF, XLSX, DOCX o TXT). In caso di utilizzo di un sistema di memorizzazione centralizzata dei dati, è possibile anche caricare direttamente il report nell'archivio centralizzato.

Flussi di revisione possibili

È possibile utilizzare la vista **Review**, ad esempio, nei seguenti flussi di lavoro:

- Viene caricata una sequenza e si selezionano tutti i file di dati della sequenza. Si carica un modello di report e si genera un *report riassuntivo di sequenza*.
- Dopo avere generato un report riassuntivo di sequenza, si carica un altro modello di report. Si esaminano gli stessi dati utilizzando un *layout di report diverso*.
- Si carica una sequenza e si seleziona solo un sottoinsieme dei file di dati. Si carica un modello di report e si genera un report riassuntivo di sequenza per *una sola parte della sequenza*.
- Dopo aver caricato un sottoinsieme dei file di dati, si aggiungono altri file di dati (da una sequenza o da una raccolta di singoli campioni). Si carica un modello di report e si genera un *report su più campioni o su più sequenze*.

7

Calibrazione

| | |
|--|-----|
| Definizione dei termini | 167 |
| Tipi di calibrazione | 168 |
| Calibrazione a livello singolo | 168 |
| Calibrazione multilivello | 169 |
| Intervalli di calibrazione | 171 |
| Corrispondenze delle curve di calibrazione | 171 |
| Trattamento dell'origine | 172 |
| La tavola di calibrazione | 175 |
| Somma dei picchi | 176 |
| Gruppi di composti | 177 |
| Campioni incogniti | 178 |
| Ricalibrazione | 179 |
| Che cos'è la ricalibrazione? | 179 |
| Perché ricalibrare? | 179 |
| Ricalibrazione manuale | 180 |
| Ricalibrazioni con somma dei picchi | 180 |
| Modalità di ricalibrazione | 180 |
| Ricalibrazione in caso di picchi mancanti | 181 |
| Ricalibrazione in Revisione dei lotti | 181 |

Questo capitolo descrive i concetti relativi alla calibrazione.

Definizione dei termini

- Calibrazione** La calibrazione è il procedimento di determinazione dei fattori di risposta utilizzati per calcolare le concentrazioni assolute dei componenti iniettando campioni di calibrazione appositamente preparati. La tavola di calibrazione è utilizzata anche per l'identificazione.
- Composto** Un composto chimico può comprendere diversi picchi, in una calibrazione multisegnale, in genere uno per segnale. In una calibrazione a un solo segnale il composto fa riferimento a un solo picco.
- Livello di calibrazione** Un livello di calibrazione comprende i punti di calibrazione per la concentrazione di un campione di calibrazione. In una calibrazione multisegnale, i diversi composti possono essere calibrati utilizzando segnali diversi.
- Punto di calibrazione** Un punto di calibrazione fa riferimento a un rapporto quantità/risposta per un picco sulla curva di calibrazione.
- Campione di calibrazione** Un campione di calibrazione, denominato anche standard di calibrazione o miscela standard, è un campione contenente una quantità nota del composto da quantificare. Nel software si fa riferimento al campione di calibrazione come un'iniezione dal relativo vial, ossia dal vial del campione di calibrazione.
- I campioni di calibrazione possono essere acquistati da fornitori di prodotti chimici o preparati direttamente utilizzando una quantità accuratamente misurata di composto puro. La quantità di composto nel campione di calibrazione viene espressa in genere come concentrazione, di solito in unità ng/ μ L.

Tipi di calibrazione

ChemStation offre due tipi di calibrazione, a livello singolo e multiplo.

Calibrazione a livello singolo

La curva di calibrazione illustrata nella [Figura 42](#), pagina 168 contiene un punto, cioè un livello. Per la curva di calibrazione a livello singolo, la risposta del rivelatore si suppone lineare, nell'intervallo di lavoro delle concentrazioni per il campione di interesse. Il fattore di risposta per il picco di un determinato componente è dato dall'inverso dell'inclinazione della curva di calibrazione passante attraverso il punto e per l'origine. Uno svantaggio della calibrazione a livello singolo è dato dal fatto che la risposta del rivelatore alla concentrazione del campione si suppone lineare e passa per l'origine in un diagramma di concentrazione contro risposta. Ciò non è sempre vero e può portare a risultati non accurati.

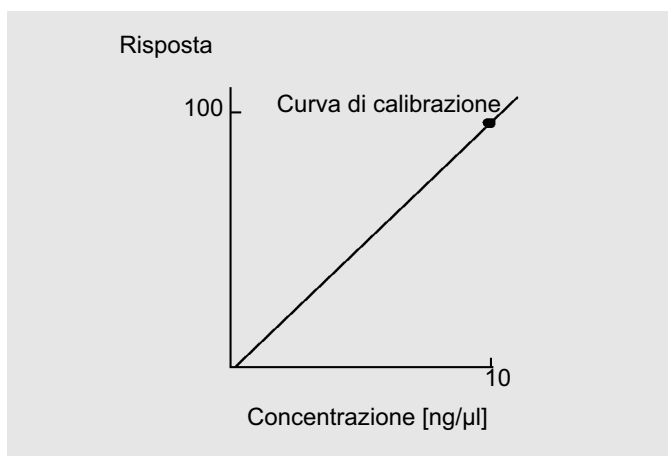


Figura 42 Curva di calibrazione a livello singolo

Per ottenere risultati quantitativi accurati, la curva di calibrazione deve avere almeno due livelli. Questi livelli devono comprendere le quantità che ci si aspetta di trovare nei campioni incogniti.

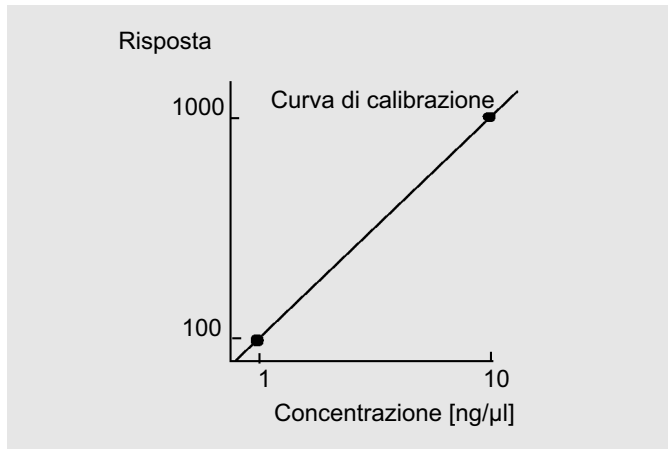


Figura 43 Curva di calibrazione a due livelli

Ad esempio se si desidera quantificare un composto e si suppone che i campioni incogniti possano contenere da 1 a 10 ng/μl, allora la curva di calibrazione deve comprendere almeno due livelli, come mostrato in [Figura 43](#), pagina 169.

Limiti di quantità

ChemStation permette di definire scale quantitative valide per le quantità assolute di ciascun componente.

Calibrazione multilivello

La calibrazione multilivello si usa quando non è abbastanza accurato supporre che un componente mostri una risposta lineare o confermare la linearità della scala di calibrazione. Ciascun livello di calibrazione corrisponde ad un campione con una particolare concentrazione di componenti. I campioni devono essere preparati in modo che la concentrazione di ciascun componente vari lungo la scala di concentrazioni attese nei campioni sconosciuti. In questo modo si permette una modifica della risposta del rivelatore in funzione della concentrazione e si calcolano i nuovi fattori di risposta.

Questa curva di calibrazione ha tre livelli e mostra una corrispondenza lineare passante per l'origine. Questo metodo di corrispondenza è simile alla calibrazione a punto singolo. La risposta del rivelatore alla concentrazione si suppone lineare. La differenza fra i due tipi di calibrazione è tale che con

corrispondenza lineare, l'inclinazione della retta della risposta del rivelatore può essere determinata con la migliore corrispondenza passante per un certo numero di punti, uno per ciascun livello.

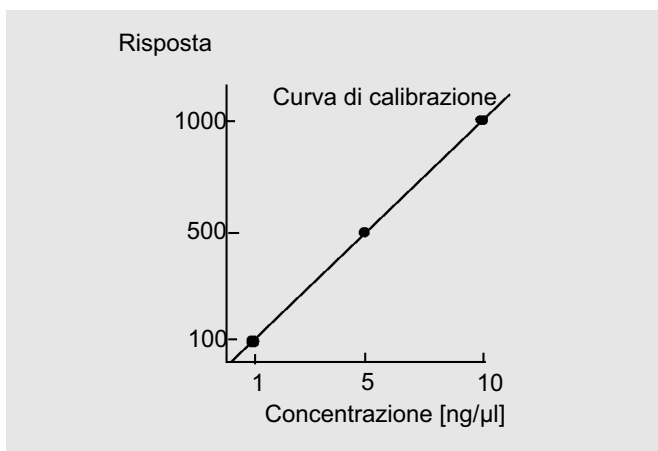


Figura 44 Curva di calibrazione multilivello con tre livelli

La tavola di calibrazione corrispondente, cioè la tabulazione delle informazioni utilizzate per produrre la curva, può risultare simile a quella riportata nella [Tabella 17](#), pagina 170.

Tabella 17 Tavola di calibrazione

| Livello | Quantità (ng/μl) | Risposta (conteggi area) |
|---------|------------------|--------------------------|
| 1 | 1 | 100 |
| 2 | 5 | 500 |
| 3 | 10 | 1000 |

In questo esempio i campioni di calibrazione usati per produrre i tre livelli sono stati identificati come 1, 2 e 3.

Intervalli di calibrazione

Ogni calibrazione multilivello è valida per l'intervallo di concentrazioni usate per i campioni di calibrazione. L'estrapolazione di una curva di calibrazione, specialmente se non lineare, è nel migliore dei casi solo un'approssimazione. La scala di calibrazione valida per ogni composto può essere definita nella finestra di dialogo **Compound Details**. Ogni valore inserito per quel composto può essere espresso come limite superiore o inferiore. Se questi limiti vengono superati il rapporto di stampa viene annotato.

Corrispondenze delle curve di calibrazione

Sono disponibili vari tipi di calcolo corrispondenti alle curve che possono essere usate per calibrazioni multilivello.

- Spezzata
- Lineare
- Logaritmica
- Potenza
- Esponenziale
- Quadratico
- Cubico
- Di media (Risposta/Quantità)

Corrispondenza non lineare

In alcuni casi, la risposta del rivelatore ai cambiamenti di concentrazione del campione non è lineare. Per questi tipi di analisi un metodo di calibrazione a regressione lineare non è adatto e si devono usare calcoli di calibrazione a livello multiplo.

Trattamento dell'origine

Esistono quattro modi di trattare l'origine tracciando una curva di risposta:

- Ignorarla
- Comprenderla
- Forzarne l'inserimento
- Collegarla

Per forzare l'origine in modo che venga inserita nella curva di calibrazione, è necessario riprodurre i punti di calibrazione ottenuti intorno all'origine, facendoli passare dal primo al terzo quadrante. L'uso di tali punti per il calcolo della regressione assicura che la curva di calibrazione che ne risulta passi attraverso l'origine. Ciò è illustrato anche nella [Figura 45](#), pagina 172.

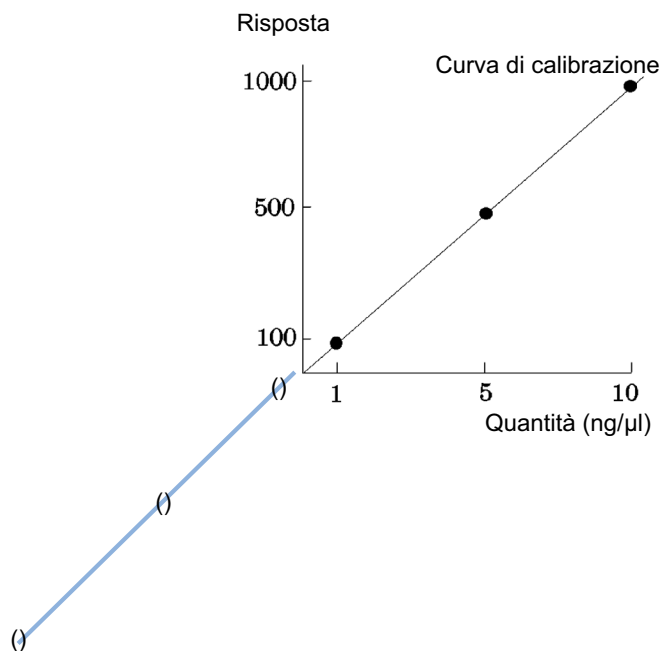


Figura 45 Forzatura dell'origine perché venga inclusa

Per ulteriori informazioni sulle corrispondenze delle curve di calibrazione e sul trattamento dell'origine, consultare la *Guida in linea*.

Calibrazione

Tipi di calibrazione

Peso dei punti di calibrazione

Quando si imposta la curva di calibrazione predefinita, è possibile specificare il peso relativo (o importanza) dei vari punti di calibrazione usati per generare la curva.

Possono essere scelte le seguenti opzioni:

| Peso | Descrizione |
|------------------------|---|
| Uguale | Tutti i punti di calibrazione hanno peso uguale nella curva. |
| Lineare (Amnt) | Un punto di calibrazione con quantità x ha il peso $1/x$ normalizzato alla quantità inferiore in modo che il fattore di peso più elevato sia 1. La normalizzazione viene effettuata moltiplicando il peso per la quantità inferiore. Ad esempio il peso di un punto di calibrazione con quantità x è $(1/x) \times a$ dove a è la quantità minore del composto calibrato, preparata negli standard di calibrazione. Se l'origine viene compresa, le viene assegnata la media dei pesi degli altri punti di calibrazione. |
| Lineare (Resp) | Per un punto di calibrazione con risposta y si normalizza il peso $1/y$ alla risposta inferiore in modo che il fattore di peso maggiore sia 1. La normalizzazione si effettua moltiplicando il peso per la risposta inferiore. Ad esempio il peso di un punto di calibrazione con quantità y è $(1/y) \times b$ dove b è la risposta corrispondente alla quantità inferiore del composto calibrato preparato negli standard di calibrazione. Se l'origine viene compresa, le viene assegnata la media dei pesi degli altri punti di calibrazione. |
| Quadratico (Amnt) | Un punto di calibrazione con quantità x ha il peso $1/x^2$ normalizzato alla quantità inferiore in modo che il fattore di peso più elevato sia 1. La normalizzazione viene effettuata moltiplicando il peso per la quantità inferiore. Ad esempio il peso di un punto di calibrazione con quantità x è $(1/x^2) \times a^2$ dove a è la quantità minore del composto calibrato, preparata negli standard di calibrazione. |
| Quadratico (Resp) | Per un punto di calibrazione con risposta y si normalizza il peso $1/y^2$ alla risposta inferiore in modo che il fattore di peso maggiore sia 1. La normalizzazione si effettua moltiplicando il peso per la risposta inferiore. Ad esempio il peso di un punto di calibrazione con quantità y è $(1/y^2) \times b^2$ dove b è la risposta corrispondente alla quantità inferiore del composto calibrato preparato negli standard di calibrazione. |
| Numero di calibrazioni | Un punto di calibrazione viene pesato secondo il numero di ricalibrations del punto. Non viene effettuato alcun tipo di normalizzazione. |

Pesi di punti di calibrazione quadratici, ad esempio, possono essere utilizzati per regolare punti di calibrazione sparsi. Ciò assicura che i punti di calibrazione più vicini all'origine, che possono essere misurati in maniera più accurata, ottengano un peso maggiore dei punti di calibrazione più lontani dall'origine, che possono essere sparsi.

La decisione di quale tipo di peso utilizzare per i punti di calibrazione dovrebbe essere basata sulle esigenze del metodo.

La tavola di calibrazione

La tavola di calibrazione specifica la conversione in unità scelte di aree o altezze di picchi secondo il procedimento di calcolo selezionato. La tavola di calibrazione contiene una lista di tempi di ritenzione/migrazione ottenuta da un'analisi di calibrazione. I tempi di ritenzione/migrazione vengono paragonati ai tempi di ritenzione/migrazione di picchi relativi all'analisi di un campione. Dove si verifica una corrispondenza si suppone che il picco del campione rappresenti lo stesso composto presente nella tavola di calibrazione. Durante un'analisi o mentre viene prodotto un report di stampa, le quantità inserite per ogni picco vengono usate per calcolare le quantità per il procedimento di calcolo selezionato per il report. Il tipo e la quantità di informazioni richieste per creare una tavola di calibrazione variano con il tipo di procedimento di calcolo desiderato.

Per creare una tavola di calibrazione sono necessarie le informazioni seguenti:

- Il tempo di ritenzione/migrazione per ogni picco componente la miscela di calibrazione e
- la quantità di ogni composto usato nel preparare la miscela di calibrazione espressa in unità significative.

Somma dei picchi

La tavola della somma dei picchi è fornita per determinate applicazioni nei settori farmaceutico e petrolchimico. Le applicazioni tipiche riguardano la stesura di report sulle impurezze totali o sui prodotti di decomposizione oppure la somma delle aree dei picchi non calibrati che giacciono entro un intervallo specifico.

La tavola della somma dei picchi è simile ma distinta dalla tavola di calibrazione standard. Analogamente alla tavola di calibrazione, è associata al metodo corrente. La somma dei picchi non è ideata per i file di dati multisegnale.

Le aree sommate di uno specifico intervallo temporale possono essere espresse come quantità utilizzando la curva di calibrazione di un composto dalla tavola di calibrazione. È possibile anche utilizzare un fattore di risposta fisso.

NOTA

È necessario creare una tavola di calibrazione per un'analisi prima di poter creare una tavola di somma dei picchi.

Gruppi di composti

I gruppi di composti permettono di raggruppare singoli composti della tavola di calibrazione per la stesura di report. Un composto può appartenere soltanto a un unico gruppo. I gruppi vengono creati nella tavola di calibrazione. La tavola di calibrazione contiene soltanto un numero per ciascun gruppo; in una casella separata si assegna il nome del gruppo al numero e si aggiungono uno o più composti. È possibile eseguire una calibrazione della quantità del gruppo, in cui si assegna una quantità totale al gruppo. Le quantità dei composti nel gruppo vengono calcolate in base al contributo della risposta alla risposta totale. Un esempio comune è una miscela di isomeri per la quale si conosce soltanto la quantità totale, ma la risposta del rivelatore agli isomeri è identica.

Campioni incogniti

È un campione che contiene una quantità sconosciuta di composto da quantificare.

Per stabilire quanto di quel composto è contenuto nel campione incognito è necessario:

- Creare una curva di calibrazione per il composto
- Iniettare un'aliquota di campione incognito ed effettuare l'analisi esattamente allo stesso modo usato per il campione di calibrazione
- Determinare, a partire dal segnale, la risposta, e quale sia l'area o l'altezza del picco dovuta alla quantità sconosciuta di composto
- Usare la curva di calibrazione per calcolare la quantità di composto nel campione incognito

Ad esempio se l'area del picco nel campione incognito è 500, è possibile determinare che la quantità nell'incognito è di 5 ng/μl, utilizzando la curva di calibrazione illustrata nella [Figura 46](#), pagina 178.

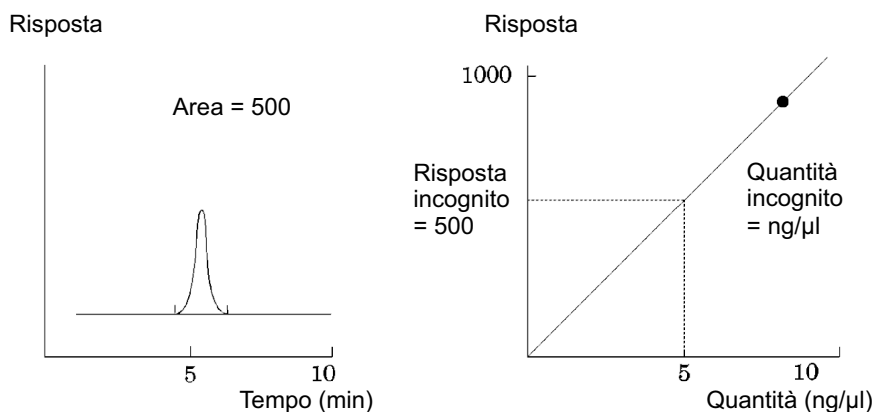


Figura 46 Segnale di un campione incognito e curva di calibrazione

Ricalibrazione

Che cos'è la ricalibrazione?

La ricalibrazione è il processo utilizzato quando si desidera aggiornare un livello sulla curva di calibrazione. Quando si ricalibra, si analizza un altro campione che contiene gli stessi composti di calibrazione dell'originale e, ciò che è più importante, nella stessa quantità. Quando si analizza un campione di calibrazione si ottengono fattori di risposta aggiornati e tempi di ritenzione/migrazione. È anche possibile scegliere i fattori di risposta medi su di un certo numero di calibrazioni, in modo che i fattori di risposta possano essere valutati uniformemente.

Perché ricalibrare?

La maggior parte delle calibrazioni hanno vita breve a causa delle continue modifiche in cromatografia. La ricalibrazione è necessaria per mantenere l'accuratezza dell'analisi. Supponiamo di aver creato una tavola di calibrazione per il composto caffeina, che sarà usata ogni volta che viene richiesta una quantificazione relativa ad un campione contenente caffeina. Ad un certo punto bisognerà sostituire la colonna/il capillare. Sebbene questi siano sostituiti con altri esattamente dello stesso tipo, non si comporteranno esattamente allo stesso modo dei precedenti usati al momento della creazione della tavola di calibrazione per la caffeina. Quindi, per assicurare che le analisi siano significative, bisogna ricalibrare i livelli della tavola di calibrazione con la nuova colonna o capillare, per analizzare poi i campioni che contengono quantità sconosciute di caffeina. Così facendo si è certi di quantificare campioni analizzati nelle stesse condizioni.

Ricalibrazione manuale

È possibile inserire informazioni sulla calibrazione dei picchi manualmente e normalizzare la tavola di calibrazione utilizzando il pulsante di opzione Manual Setup (Configurazione manuale) nella finestra di dialogo New Calibration Table (Nuova tavola di calibrazione). In genere, si ottiene un nuovo metodo di calibrazione analizzando una miscela di standard di calibrazione, creando una tavola di calibrazione e inserendo le quantità di tutti i picchi calibrati per ottenere i fattori di risposta. Questo approccio è utile per alcune applicazioni, per esempio nel settore petrolchimico, in cui si analizzano da molti anni gli stessi composti e i fattori di risposta di ciascuno di essi e dei vari rivelatori sono facilmente disponibili.

La tavola di calibrazione viene creata manualmente inserendo i picchi e i fattori di risposta nella tavola di calibrazione, ricalibrando il metodo utilizzando uno standard che contenga almeno un picco di risposta di riferimento e selezionando un aggiornamento Delta%.

Per indicare un picco specifico come riferimento per il calcolo dei rapporti dei tempi di ritenzione, è possibile impostare tale picco come picco di riferimento per il rapporto dei tempi di ritenzione. Tutti i picchi con lo stesso numero di riferimento del rapporto dei tempi di ritenzione vengono quindi riferiti a questo picco.

Ricalibrazioni con somma dei picchi

Quando si effettua una ricalibrazione, gli intervalli dei tempi di ritenzione/migrazione nella tavola Peaksum relativa al metodo verranno aggiornati prima di effettuare la ricalibrazione vera e propria. Le ricalibrazioni con somma dei picchi vengono effettuate in questo modo per assicurare che il delta venga incorporato ai calcoli di tempo.

Modalità di ricalibrazione

Dal software della ChemStation la ricalibrazione può essere effettuata in due modi. È possibile effettuare la calibrazione in modo interattivo oppure automatico durante una sequenza di analisi automatizzata. La ricalibrazione interattiva avviene quando l'utente interviene direttamente nel processo con l'aiuto del software dopo aver iniettato uno o più campioni di calibrazione. La ricalibrazione con utilizzo di una sequenza avviene al momento specificato, ma

l'operazione viene effettuata direttamente dal software. Per ulteriori informazioni, consultare la sezione "Ricalibrazione automatica", pagina 121.

Per informazioni sulle modalità di ricalibrazione da software, consultare la parte Come... della Guida in linea.

Ricalibrazione in caso di picchi mancanti

Esistono tre modi per ricalibrare i picchi non identificati.

No Recalibration

Se non è possibile identificare un composto nella tavola di calibrazione tra i risultati dell'integrazione, la calibrazione viene interrotta. Se ciò si verifica in una sequenza, anche la sequenza viene interrotta.

Partial Recalibration

Questa funzione permette la ricalibrazione dei soli picchi identificati. In caso di picchi mancanti, la calibrazione non viene interrotta ma nel report e nel registro di analisi è annotata la mancanza dei picchi.

Recalibration of all Retention/Migration Times

Questa funzione permette la ricalibrazione di tutti i tempi di ritenzione/migrazione di tutti i picchi identificati e non. Questa operazione viene effettuata utilizzando i tempi di ritenzione/migrazione dei composti identificati. I fattori di risposta per i picchi non identificati non vengono aggiornati.

Ricalibrazione in Revisione dei lotti

La metodologia di ricalibrazione in Revisione dei lotti è diversa dalla ricalibrazione nella sequenza originale.

Facendo clic sul pulsante **Update Calibration** sulla barra degli strumenti di Revisione dei lotti, il sistema viene ricalibrato con tutte le analisi di calibrazione nel lotto, creando una tavola di calibrazione ricalibrata. Facendo clic sul pulsante **Start** sulla barra degli strumenti di Revisione dei lotti verranno quindi ricalcolate le quantità per ciascun composto calibrato. Le quantità di tutti i campioni verranno calcolate dalla tavola di calibrazione ricalibrata.

8

Stesura di report

| | |
|---|-----|
| Che cos'è un report? | 183 |
| Rapporti sui risultati | 184 |
| Risultati quantitativi | 185 |
| Classic Reporting e Intelligent Reporting | 187 |
| Conseguenze dell'attivazione di Intelligent Reporting | 187 |
| Intelligent Reporting | 188 |
| Vantaggi di Intelligent Reporting | 188 |
| Editor dei modelli di report (RTE) per Intelligent Reporting | 189 |
| Registrazione dei modelli di report | 192 |
| Registrazione dei report generati | 194 |
| Modelli di report nella memorizzazione centralizzata dei dati | 194 |
| Classic Reporting | 195 |
| Rapporto relativo ai valori dei campi personalizzati | 195 |
| Stili di report | 195 |
| Altri parametri per lo stile dei rapporti di stampa | 197 |
| Report riassuntivi di sequenza | 198 |
| Formati dei file di report | 201 |

Questo capitolo descrive i concetti di Intelligent Reporting e di Classic Reporting.

Che cos'è un report?

Un rapporto di stampa può comprendere informazioni quantitative e qualitative sul campione in corso di analisi. Può essere in forma di stampa o visualizzato su schermo o file elettronico. Il rapporto di stampa può comprendere particolari relativi ai picchi rivelati durante l'analisi e la rappresentazione grafica dei segnali acquisiti.

Report per scopi diversi

È possibile specificare report che servono a scopi diversi durante l'acquisizione e la revisione dei dati:

- Il *report riassuntivo di sequenza* è definito nella scheda **Sequence Output** della finestra di dialogo **Sequence Parameters**. Questo report viene creato automaticamente da ChemStation dopo avere completato un'acquisizione di sequenza o avere rielaborato una sequenza.
- Il *report per una sola iniezione* è definito nella finestra di dialogo **Specify Report**. Questo report viene creato per ogni singolo campione durante un'acquisizione o una rielaborazione di sequenza.

Con Intelligent Reporting, si possono creare modelli per diversi tipi di report, a seconda dello scopo del report. Per ulteriori informazioni, consultare la sezione "Tipi di report", pagina 189.

Destinazione del report

Un report può essere inviato alle seguenti destinazioni:

- **Screen**
Il rapporto di stampa (comprendente testo e grafica) viene visualizzato sullo schermo nella finestra Report Preview, dalla quale può essere stampato.
- **Printer**
Il rapporto di stampa comprendente sia testo che grafici viene stampato tramite una stampante selezionata.
- **File**
Il rapporto di stampa viene salvato in un file, ad esempio, un file PDF Adobe.

Rapporti sui risultati

Sono disponibili due tipi di rapporto di stampa.

- Il rapporto di stampa non calibrato, che non corregge la risposta del rivelatore.
- Il rapporto di stampa calibrato, che mostra risultati corretti in modo da compensare le differenze di risposta del rivelatore ai vari componenti del campione.

Report non calibrati

I report non calibrati comprendono **Area%** e **Height%**. Si usano soprattutto per la preparazione di report calibrati. Possono essere validi come report finale se le quantità di composto richieste per produrre una risposta unitaria di area o altezza per i composti di interesse sono simili.

Rapporti di stampa calibrati

I rapporti di stampa calibrati correggono la differenza di risposta del rivelatore ai composti riportati. Uno o più campioni di calibrazione contenenti quantità note di composti devono essere analizzati nelle stesse condizioni usate per il campione incognito. I dati di integrazione di questi campioni di calibrazione si usano per preparare la tavola di calibrazione. È una lista di tempi di ritenzione/migrazione, quantità e risposte, usata per i rapporti di stampa. I rapporti di stampa calibrati si basano su due procedimenti di calibrazione chiamati standard interno ed esterno.

Report standard esterno

Il report ESTD elenca i risultati con le unità scelte o con ciascun composto come percentuale di tutti i composti presenti. Si utilizza un'unica quantità per tutti i composti nella tavola di calibrazione e per la quantità di campione. La procedura con standard esterno richiede che il volume relativo iniettato sia per la calibrazione sia dei campioni incogniti sia noto con accuratezza. L'affidabilità del report con standard esterno è limitata dalla riproducibilità dell'iniezione e dagli eventuali fattori che possono variare da campione a campione.

Rapporto di stampa di standard interno

I limiti della procedura di standard esterno possono essere compensati usando la procedura di standard interno. Si aggiunge una quantità perfettamente conosciuta di standard interno (non necessariamente la stessa) sia al campione di calibrazione sia al campione incognito. La risposta di ogni composto che interessa viene divisa per la risposta dello standard interno per ottenere un rapporto di risposta. Le curve di calibrazione sono una rappresentazione di questo rapporto di risposta contro il rapporto di quantità; questa informazione viene usata per calcolare i risultati del rapporto di stampa. In questo modo si eliminano errori di volume di iniezione o piccole modifiche del sistema cromatografico/elettroferografico che possono interessare tutti i composti. Il rapporto di stampa ISTD elenca i risultati con le unità scelte.

Report dei diagrammi di controllo

La funzione Report dei diagrammi di controllo tiene sotto controllo un singolo risultato durante più analisi di un composto specifico calibrato. La funzionalità **Control Chart** viene installata dopo che ChemStation è già operativo. I metodi che utilizzano questa funzione passano i risultati ottenuti al foglio elettronico di Microsoft Excel dopo ogni analisi. Excel viene quindi usato per stampare il report.

Risultati quantitativi

Il tipo di report è identificato dal nome del metodo di calcolo utilizzato per prepararlo, per esempio un report ISTD. Ciascun tipo è descritto in breve nel seguito.

Area% è il report più semplice e non richiede dati di calibrazione poiché non viene effettuata alcuna correzione della differenza nella risposta del rivelatore ai diversi componenti del campione. Il report Area% è particolarmente utile per lo sviluppo di tavole di calibrazione per l'uso con le altre opzioni di report. È anche adatto alle analisi in cui la differenza nella risposta del rivelatore ai diversi componenti non è significativa.

Height% produce un report simile ad Area% ma per i calcoli si utilizza l'altezza del picco anziché l'area.

Norm% produce un report in cui ogni componente viene riportato come quantità percentuale rispetto a tutti i componenti presenti.

ESTD produce un report della quantità effettiva di ogni sostanza. Le quantità vengono calcolate utilizzando una tavola di calibrazione determinata in precedenza. L'uso di uno standard esterno richiede che il volume iniettato della miscela di calibrazione sia noto.

Stesura di report

Che cos'è un report?

ESTD% produce un report della quantità relativa di ogni sostanza come percentuale della quantità di campione iniettato. Le quantità vengono calcolate utilizzando una tavola di calibrazione determinata in precedenza. L'uso di uno standard esterno richiede che il volume iniettato della miscela di calibrazione sia noto.

ISTD produce un report della quantità effettiva di ogni sostanza. Le quantità vengono calcolate utilizzando una curva di calibrazione determinata in precedenza. L'uso di uno standard interno sia nel campione sia nella miscela di calibrazione elimina la necessità di conoscere e controllare il volume di campione iniettato. Ciò corregge anche eventuali variazioni nelle prestazioni dello strumento da analisi ad analisi.

ISTD% produce un report della quantità relativa di ogni sostanza come percentuale della quantità di campione iniettato. L'uso di uno standard interno sia nel campione sia nella miscela di calibrazione elimina la necessità di conoscere e controllare il volume di campione iniettato. Ciò corregge anche eventuali variazioni nelle prestazioni dello strumento da analisi ad analisi.

Classic Reporting e Intelligent Reporting

Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition consente di scegliere il tipo di report da utilizzare: *Classic ChemStation Reporting*, invariati rispetto ai report ChemStation B, oppure nel nuovo formato *Intelligent Reporting*.

Nelle seguenti sezioni sono descritti i due tipi di report.

Conseguenze dell'attivazione di Intelligent Reporting

Se si desidera utilizzare Intelligent Reporting, è necessario abilitare Intelligent Reporting in Configurazione dello strumento nel pannello di controllo di OpenLab.

L'attivazione di Intelligent Reporting comporta le seguenti conseguenze per ChemStation:

- La vista **Report Layout** mostra l'editor dei modelli di report per Intelligent Reporting. Anziché i modelli di report classici, ora in questa vista è possibile modificare i modelli di report per Intelligent Reporting.
- La vista **Review** è visibile.
- Nelle finestre di dialogo **Sequence Parameters** e **Specify Report** è possibile scegliere tra Classic Reporting e Intelligent Reporting. È possibile continuare a utilizzare le impostazioni per Classic Reporting e i modelli di report "classici" già esistenti per lo strumento.

Intelligent Reporting

Vantaggi di Intelligent Reporting

Intelligent Reporting offre i seguenti vantaggi:

- È possibile utilizzare la vista **Review**.
- La maggior parte delle funzionalità che sono disponibili in diverse impostazioni e in numerose finestre di dialogo per Classic Reporting fanno ora parte dei modelli di report. È possibile creare o modificare i modelli di report utilizzando la vista **Report Layout**, quale contiene il nuovo Editor del modelli di report per Intelligent Reporting. L'Editor del modelli di report offre numerose potenti funzioni:
 - È possibile accedere a tutti dati risultanti generati da ChemStation selezionando il campo di dati corrispondente.
 - È possibile creare le proprie espressioni per eseguire calcoli sui campi di dati. È possibile utilizzare qualsiasi espressione Microsoft Visual Basic valida.
 - È possibile creare espressioni in cui eseguire calcoli con i campi personalizzati di ChemStation.
 - Evidenziazione dei risultati: È possibile fornire espressioni che evidenziano specifici risultati a seconda del loro valore.
 - Snippet: L'Editor dei modelli di report fornisce elementi preconfigurati del report, i cosiddetti *snippet*, che è possibile inserire nel modello del report trascinando la selezione.
- Per la creazione delle descrizioni di modelli di report personalizzati è possibile utilizzare lo strumento Documentazione modello di report.
- È possibile eseguire report sui seguenti valori, come definito dalla Farmacopea Europea (il rapporto picco-valle è disponibile anche con Classic Reporting; per informazioni più dettagliate sui campi obbligatori, consultare il *manuale di riferimento*):
 - Rapporto segnale-rumore
 - Ritenzione relativa
 - Tempo di ritenzione relativo

Editor dei modelli di report (RTE) per Intelligent Reporting

Tipi di report

È possibile creare tipi diversi di report. A seconda del tipo di report, in un modello di report sono disponibili diversi campi di dati e gli elementi del report sono raggruppati in modo diverso.

Sono disponibili i seguenti tipi di report:

- **Single Injection**

Il report generato visualizza gli elementi del report del modello in modo separato per ogni iniezione nell'ambito di dati attuale. È possibile visualizzare i dati per ogni iniezione, ma non è possibile confrontare i risultati di iniezioni diverse in una tabella o in una matrice.

- **Single Sequence Summary**

Il report generato visualizza gli elementi del report del modello in modo separato per ogni sequenza nell'ambito di dati attuale. È possibile confrontare i risultati di iniezioni diverse in una tabella o in una matrice, ma non i risultati di diverse sequenze.

- **Cross-Sequence Summary**

Con questo tipo di report, i dati *non* sono raggruppati automaticamente. È quindi necessario prestare più attenzione al raggruppamento degli elementi del report, ma in compenso è possibile creare elementi del report che confrontano i dati di più sequenze.

Formato del modello

Tutti i modelli di report sono basati su RDL (Report Definition Language), un formato XML standardizzato fornito da Microsoft.

RTE fornisce un'interfaccia di facile utilizzo che aiuta a creare i modelli di report in pochi passaggi. Supporta tutti i tipi di elementi dei report e la maggior parte delle relative opzioni di configurazione.

Campi dati

È possibile accedere a tutti dati risultanti generati da ChemStation durante un'acquisizione. Per ogni valore è possibile selezionare il relativo campo dati in cui è memorizzato il valore. I campi dati del modello di report possono essere organizzati secondo i propri requisiti. I campi di dati disponibili sono organizzati nelle seguenti categorie:

- Sequenza
- Campione
- Iniezione
- Segnale
- Composto
- Picco
- Curva di calibrazione
- Strumento
- File
- Progetto

Elementi del report

A un modello di report è possibile aggiungere diversi elementi del report, a seconda dei requisiti. Per ogni elemento del report è possibile configurare numerose proprietà come il formato del carattere, il colore di sfondo, espressioni, ecc. Sono disponibili i seguenti elementi del report:

- Campi di testo
- Campi dati
- Tabelle
- Matrici
- Gruppi compositi
- Immagini
- Cromatogrammi
- Curve di calibrazione
- Spettri
- Grafici
- Informazioni sui metodi

Snippet

L'Editor dei modelli di report fornisce gli snippet, multipli elementi preconfigurati del report o del gruppo di report, che è possibile inserire nel modello del report trascinando la selezione.

Gli snippet sono, ad esempio, tabelle preconfigurate per risultati composti o per l'idoneità del sistema, cromatogrammi per il plottaggio di un singolo segnale o di più segnali o diagrammi di controllo della precisione di calibrazione o della stabilità di conservazione nel tempo. È possibile utilizzare gli snippet come punto di partenza e adattarli secondo i requisiti.

Calcolo personalizzato

Nell'Editor dei modelli di report è possibile visualizzare i valori dei campi dati man mano che vengono generati da ChemStation, oppure è possibile calcolare nuovi valori per scopi diversi. È possibile creare espressioni utilizzando i campi dati esistenti o anche utilizzando campi personalizzati.

I valori possono essere memorizzati come variabili ed è possibile accedere a queste variabili da un elemento del report situato più avanti nel modello.

L'Editor dei modelli di report fornisce un Editor di espressioni che aiuta a creare espressioni valide. Tutte le espressioni sono basate su Microsoft Visual Basic.

Formattazione condizionale

A seconda dei valori che derivano dall'espressione, è possibile configurare alcune proprietà di un campo o di una cella. Ad esempio, se viene visualizzata la quantità del composto, è possibile creare una condizione per uno sfondo rosso se la quantità supera un determinato valore.

Dati dimostrativi

Quando si sviluppa un nuovo modello di report nella vista Layout report, ChemStation fornisce dati dimostrativi che vengono visualizzati nell'Editor dei modelli di report quando si modifica o si visualizza in anteprima un modello. I dati di demo corrispondono al set di dati (sequenza o singole analisi) che è attualmente selezionato nella tavola di navigazione della vista **Data Analysis**. Se si sviluppa un modello per un report riassuntivo di sequenza, è necessario caricare una sequenza nella vista Analisi dati e selezionare un sottoinsieme di campioni. Se si sviluppa un modello per un report su una singola iniezione, è sufficiente selezionare un solo campione nella vista Analisi dati.

Registrazione dei modelli di report

ChemStation fornisce numerosi modelli di report predefiniti. Tali modelli predefiniti sono memorizzati nella cartella dei documenti pubblici nella directory REPSTYLE.

Per impostazione predefinita, la directory REPSTYLE si trova in C:\Users\Public\Documents\ChemStation. Tale percorso viene definito durante l'installazione. Utilizzare il menu ChemStation **File > Open Windows Explorer...** per aprire il percorso nel sistema in uso (per esempio C:\Users\Public\Documents\ChemStation\1). In alternativa, utilizzare il collegamento a **Instrument Data** nel menu Start.

Per la sequenze, i modelli di report utilizzati per i report di riepilogo della sequenza e i report per singole iniezioni sono situati nel set di risultati allo stesso livello dei metodi di sequenza. Nessun modello di report è memorizzato al livello dei file di dati di una sequenza.

Finestra di dialogo Sfoglia modelli

Se si sfogliano i modelli di report nella finestra di dialogo **Sequence Parameters** o nella finestra di dialogo **Specify Report**, è possibile sincronizzare i modelli nella directory dei modelli predefiniti e nel set di risultati.

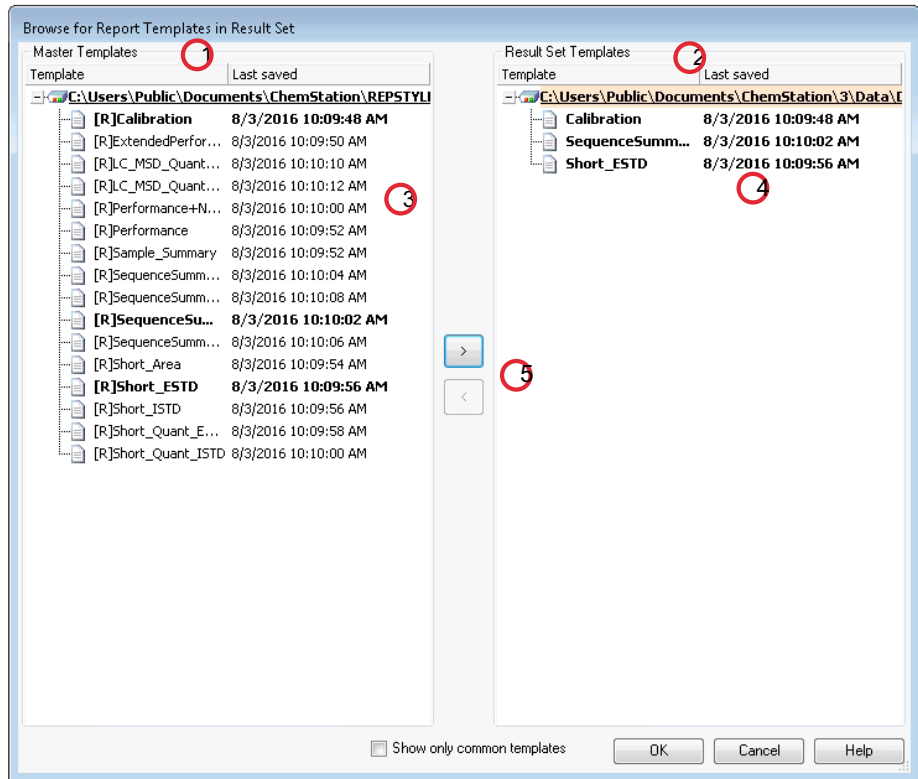


Figura 47 La finestra di dialogo **Browse for Report Templates in Result Set**

- 1 A sinistra sono visibili i modelli nella directory dei modelli predefiniti (definita durante l'installazione).
- 2 A destra sono visibili i modelli presenti nel set di risultati attualmente caricato.
- 3 Per ogni modello è visibile la data dell'ultimo salvataggio. Il suggerimento relativo alla data mostra l'ultima voce nella cronologia del modello.
- 4 I modelli comuni al set di risultati e alla directory dei modelli predefiniti sono visualizzati in grassetto. Per la corrispondenza dei modelli viene utilizzato solo il nome.
- 5 È possibile copiare modelli dalla directory dei modelli predefiniti al set di risultati utilizzando la funzione di trascinamento della selezione o il pulsante >.

Registrazione dei report generati

Denominazione dei file dei report per singola iniezione

Quando si fornisce un nome file per il report per singola iniezione nella finestra di dialogo **Specify Report**, è possibile utilizzare i seguenti token:

- <Date> data corrente
- <Time> ora corrente
- <SeqName> nome del file di sequenza ("_" per un singolo campione)
- <ResultSet> nome del set di risultati ("_" per un singolo campione)
- <SampleName> nome del campione
- <LimsID> ID LIMS
- <InjDateTime> data e ora dell'iniezione
- <DataFile> nome del file di dati
- <SampleLoc> posizione del campione

Denominazione dei file dei report riassuntivi di sequenza

Quando si fornisce un nome file per il report di riepilogo della sequenza nella scheda **Sequence Output** della finestra di dialogo **Sequence Parameters** è possibile utilizzare i seguenti token:

- <Date> data corrente
- <Time> ora corrente
- <SeqName> nome del file di sequenza
- <ResultSet> nome del set di risultati
- <LimsID> ID LIMS

Modelli di report nella memorizzazione centralizzata dei dati

Se si utilizza un sistema di memorizzazione centralizzata dei dati, i modelli di report vengono considerati come un tipo di documento separato. È possibile caricare i modelli nella memorizzazione centralizzata dei dati, scaricare i modelli dalla memorizzazione centralizzata dei dati oppure aggiornare tutti i modelli di report locali con l'ultima versione disponibile nella memorizzazione centralizzata dei dati.

Classic Reporting

Rapporto relativo ai valori dei campi personalizzati

I valori dei campi personalizzati collegati ad un dato campione in base al suo metodo di acquisizione possono essere aggiunti al rapporto. I campi personalizzati del campione sono elencati al termine dell'intestazione del campione che contiene le informazioni generali sul campione. I campi personalizzati relativi ai composti vengono visualizzati alla fine del rapporto.

Stili di report

Si può scegliere di aggiungere un segnale a ciascuno dei tipi di report classico selezionando l'apposita casella nella finestra di dialogo Specify Report (Specifica report).

Sono disponibili i seguenti stili di report:

- **None:** non viene incluso alcun tipo di testo. Il cromatogramma viene riportato solo se è stata selezionata l'opzione Add Chromatogram Output (Aggiungi output cromatogramma).
- **Short:** contiene risultati di testo quantitativi.
- **Detail:** contiene intestazione, risultati quantitativi e curve di calibrazione. L'intestazione viene archiviata in un file denominato RPTHEAD.TXT nella directory del metodo. È possibile modificarla utilizzando un elaboratore di testi per inserire un testo specifico per metodo.
- **Header + Short:** contiene l'intestazione del file e i risultati di testo quantitativi. L'intestazione viene archiviata in un file denominato RPTHEAD.TXT nella directory del metodo. È possibile modificarla utilizzando un elaboratore di testi per inserire un testo specifico per metodo.
- **GLP + Short:** contiene l'intestazione, le informazioni sul campione, le condizioni dello strumento, il registro elettronico, il segnale e i risultati quantitativi. L'intestazione viene archiviata in un file denominato RPTHEAD.TXT nella directory del metodo. È possibile modificarla utilizzando un elaboratore di testi per inserire un testo specifico per metodo.

- **GLP + Detail:** contiene l'intestazione, le informazioni sul campione, le condizioni dello strumento, il registro elettronico, il segnale, i risultati quantitativi e le curve di calibrazione. L'intestazione viene archiviata in un file denominato RPTHEAD.TXT nella directory del metodo. È possibile modificarla utilizzando un elaboratore di testi per inserire un testo specifico per metodo.
- **Full:** contiene l'intestazione, le informazioni sul campione, le condizioni dello strumento, il registro elettronico, i segnali e i risultati quantitativi. L'intestazione viene archiviata in un file denominato RPTHEAD.TXT nella directory del metodo. È possibile modificarla utilizzando un elaboratore di testi per inserire un testo specifico per metodo. Nel caso dei file di dati che contengono spettri, è riportato anche lo spettro dell'apice per ciascun picco.
- **Performance:** produce un report secondo i limiti specificati nella finestra di dialogo Edit Performance Limits (Modifica limiti prestazioni) del menu System Suitability (Adeguatezza del sistema).

Per i metodi non calibrati i parametri del report comprendono, per ciascun picco, il numero del picco, il tempo di ritenzione/migrazione, l'area e l'altezza del picco, la descrizione del segnale, la larghezza reale del picco a metà altezza (fare riferimento all'argomento *True Peak Width W_x [min]* (Larghezza reale del picco W_x [min]) nel manuale di riferimento), la simmetria, il fattore k', l'efficienza (piatti) e la risoluzione.

Per i metodi calibrati i parametri del report comprendono, per ciascun picco, il numero del picco, il tempo di ritenzione/migrazione, il nome del composto, la quantità, la descrizione del segnale, la larghezza reale del picco a metà altezza, la simmetria, il fattore k', l'efficienza (piatti) e la risoluzione.

Il calcolo del picco a metà altezza non è uguale alla formula più complessa della larghezza del picco utilizzata dall'integratore. I valori di efficienza e risoluzione si basano sulla larghezza del picco così calcolata. L'intestazione del report contiene tutte le informazioni rilevanti per il metodo, tra cui lo strumento, la colonna/il capillare, il campione e i parametri di acquisizione. Inoltre viene tracciato anche il segnale.

- **Performance + Noise:** combina lo stile del report Performance (Prestazioni) con i calcoli del rumore per gli intervalli di rumore definiti nella finestra di dialogo Edit Noise Range (Modifica intervallo rumore) nel menu System Suitability (Adeguatezza del sistema). Inoltre viene riportato il rumore come sei volte la deviazione standard, come rumore da picco a picco e come rumore ASTM. Vengono inoltre determinati deriva e variazione casuale.
- **Performance + Extended:** produce un report esteso con tutti i parametri dai calcoli sulla prestazione dei picchi ai singoli grafici per ciascun picco. I grafici includono la linea di base, le tangenti e le larghezze dei picchi ad altezze specifiche. Questo tipo di report include solo i picchi calibrati.

Oltre ai parametri stampati per lo stile di report Performance (Prestazioni), vengono determinati e stampati altri parametri per i picchi calibrati: i tempi di inizio e fine del picco, il disallineamento, l'eccesso, la larghezza del picco, lo scodamento USP, l'intervallo di tempo fra punti di dati, il numero di punti di dati, i momenti statistici, i piatti, i piatti al metro, la selettività e la risoluzione per ogni picco. La larghezza del picco, i piatti, i piatti per metro, la selettività e la risoluzione vengono calcolati attraverso i metodi: metà altezza reale, 5 sigma, tangente e scodamento (per informazioni più dettagliate fare riferimento all'argomento *Performance Test Definitions* (Definizioni di test sulle prestazioni) nel manuale di riferimento).

L'intestazione del report contiene tutte le informazioni rilevanti per il metodo, tra cui lo strumento, la colonna/il capillare, il campione e i parametri di acquisizione e una rappresentazione grafica del segnale. Per un elenco completo degli algoritmi contenenti i parametri di prestazione dei picchi, fare riferimento all'argomento *Performance Test Definitions* (Definizioni di test sulle prestazioni) nel manuale di riferimento.

Gli stili di report dello spettro (**Short + Spectrum, Detail + Spectrum, Performance + Library Search**) sono descritti in *Understanding Your Spectra Module* (Conoscere il modulo di valutazione spettri).

Come aggiungere uno stile di report personalizzato alla lista degli stili esistenti

È possibile aggiungere alla lista degli stili disponibili un modello di report personale creato nella finestra Layout report di ChemStation.

NOTA

Tutti i report, eccetto quelli sulle prestazioni, elencano le ampiezze di picchi calcolate con una formula più complessa dall'integratore (per una descrizione dettagliata del calcolo dell'ampiezza del picco, consultare *Ampiezza del picco* nel manuale di riferimento).

Altri parametri per lo stile dei rapporti di stampa

Tavola di somma dei picchi

Una volta generato il report ChemStation utilizza la tavola di somma dei picchi per produrre un report di somma dei picchi che viene stampato dopo i calcoli del report standard.

Disposizione del rapporto di stampa per picchi non calibrati

Per modificare la disposizione del rapporto di stampa relativo a picchi non calibrati, selezionare una delle seguenti funzioni dalla finestra di dialogo Specify Report (Specifica rapporto).

- Separately (Separatamente) per inserire i picchi non calibrati in una tavola separata se si sceglie la suddivisione per tempi di ritenzione/migrazione o in tavole separate se si sceglie la suddivisione per segnali.
- With Calibrated Peaks (Con picchi calibrati) per inserire i picchi non calibrati insieme ai picchi calibrati.
- Do Not Report (Nessun rapporto) per evitare l'inserimento di picchi non calibrati.

Report riassuntivi di sequenza

Panoramica

ChemStation è in grado di produrre una serie di rapporti di stampa standard per ogni singola analisi. Il rapporto di stampa di riassunto della sequenza è un ulteriore tipo di rapporto di stampa che permette di calcolare e riportare parametri in analisi diverse. È molto utile, ad esempio, per verificare la stabilità di uno strumento o la robustezza di un metodo nuovo.

Questo tipo di rapporto di stampa può comprendere vari elementi.

- Una pagina di intestazione.
- La configurazione dello strumento, compresi i numeri di revisione ed i particolari della colonna/del capillare in uso.
- La tavola di sequenza che elenca che cosa avrebbe dovuto fare la sequenza automatica.
- Un registro elettronico che descrive cosa è stato effettivamente realizzato e qualsiasi evento inaspettato prodottosi durante la sequenza.
- Liste di metodi.
- Rapporti di stampa singoli per ogni campione.
- Statistiche sulle analisi basate sui criteri selezionati. *Le statistiche vengono calcolate solo per i composti calibrati.*
- Un indice con il numero di pagina ed i riferimenti a sezioni particolari del rapporto di stampa.

Impostazione di un Report di riepilogo della sequenza

Quando si imposta un report di riepilogo della sequenza è possibile selezionare qualsiasi combinazione delle seguenti nove categorie, attivando le caselle di spunta appropriate e, laddove pertinente, selezionando uno stile di report tra le scelte di modelli disponibili. Ogni modello specifica i contenuti e il layout di quella particolare sezione di tutto il report del riepilogo della sequenza.

Gli stili di report di riepilogo della sequenza disponibili sono:

One Page Header

Il modello GLP stampa GLP a lettere grandi, sotto forma di titolo della pagina per il report seguente. Include anche i dati e lo spazio per una firma.

Configuration

Selezionare **Configuration** se si desidera includere nel report la configurazione degli strumenti e le specifiche della colonna analitica/capillare.

Sequence Table

Selezionare **Sequence Table** per includere nel report un elenco dei campioni, i parametri di quantificazione dei campioni e i nomi dei metodi. L'elenco indica ciò che il sistema ha eseguito.

Logbook

Selezionare **Logbook** per un elenco delle analisi eseguite dal sistema, comprendente le condizioni degli strumenti e qualsiasi evento insolito avvenuto nel corso dell'analisi dei campioni.

Methods

Selezionare **Methods** per elencare tutti i metodi analitici usati nella serie delle analisi automatiche.

Analysis Reports

Selezionare **Analysis Reports** per ottenere i singoli report delle analisi in base allo stile del report impostato per il metodo.

I singoli report analitici possono essere stampati dopo ogni analisi in base allo stile del report specificato per il metodo in questione, oltre alle sezioni dei report specificate in **Sequence Summary Reporting**. Si veda sotto la sezione "Output delle sequenze".

Statistics for Calibrated and Sample Runs

Selezionando le analisi di calibrazione del tipo Statistica si otterranno analisi statistiche dei trend relative ai campioni di calibrazione. Selezionando analisi dei campioni del tipo **Statistics** si otterranno analisi statistiche dei trend relative alle analisi dei campioni (non noti). Entrambe le scelte sono caratterizzate dagli stili di modello Statistica standard e Statistica ampliata. L'opzione **Extended Statistics** permette di stampare i trend statistici delle analisi in forma grafica, mentre l'opzione **Standard Statistics** stampa solo il testo. Le selezioni operate nella casella di dialogo **Items and Limits for Extended Statistics** si usano solo quando si scelgono una o più opzioni di **Extended Statistic** nella casella di dialogo **Sequence Summary Parameters**.

Scegliendo una o più opzioni di **Standard Statistic** nella casella di dialogo **Sequence Summary Parameters**, allora la statistica riportata sarà:

- tempo di ritenzione/migrazione,
- area,
- altezza,
- quantità,
- ampiezza del picco (in base allo stile del report, vedere "Stili di report", pagina 195),
- simmetria.

Il calcolo statistico non distingue tra diversi livelli di calibrazione in una sequenza che usa metodi di calibrazione a più livelli. Ciò significa che gli elementi che dipendono dalla concentrazione, come per esempio area, altezza, quantità (vedere la casella di dialogo Elementi e limiti relativa alla Statistica ampliata) vengono considerati tutti insieme, indipendentemente dal livello di calibrazione. I valori di **Statistics for Calibration Runs** pertanto non sono utili per i metodi di calibrazione a più livelli nelle sequenze.

Riepilogo

Selezionando **Summary** verrà stampata una panoramica della serie dei campioni analizzati e dei metodi usati. Se la scelta Riepilogo viene selezionata in abbinamento ad altre selezioni di Riepilogo della sequenza, verranno inclusi i numeri di pagina riferiti ad altre parti del report di riepilogo della sequenza. Sono disponibili due stili per il Riepilogo:

Il **Sample Summary** riporta in formato tabulare le informazioni dettagliate delle analisi dei campioni eseguite nella sequenza, con alcune informazioni sul campione come nome del campione, nome del file di dati, metodo e numero di vial.

Il **Compound Summary** riporta in formato tabulare le analisi dei campioni con i risultati di quantificazione principali per ciascun composto calibrato, o ciascun picco, a seconda del tipo di report specificato nel metodo.

Output della sequenza

Nella finestra di dialogo **Sequence Output** si può stabilire dove stampare il report di riepilogo della sequenza.

Selezionare **Report to file** e digitare il nome di un file per stampare il report nel file specificato. Per impostazione predefinita, i dati sono salvati nel file GLPrprt.txt. Nei sistemi GC a doppia iniezione, i dati sono salvati nei file GLPrptF.txt e GLPrptB.txt, rispettivamente per l'iniettore frontale e l'iniettore posteriore.

Selezionare **Report to PDF** per salvare il report in formato PDF. Il report è salvato nella cartella della sequenza con il nome GLPrprt.PDF

Selezionare **Report to HTML** per stampare il report nel formato HTML. Il report è salvato in una directory HTM in una sottodirectory dei dati o nella directory di un contenitore di sequenza. Il report HTML è costituito da un file indice (index.htm) e da almeno altri due file, un file di contenuti (contents.htm) e un file GIF (Graphics Interchange Format) per ciascuna pagina del report (per es. page1.gif). Per visualizzare il report html, aprire il file indice tramite il proprio browser.

Selezionare **Report to printer** per stampare il report con la stampante del sistema. La stampa dei singoli report per ciascuna analisi attiva anche la stampa dei report dei campioni dopo ogni analisi. Questi report sono stampati in aggiunta ai report specificati per il report di riepilogo della sequenza prodotti al termine di tutta la sequenza. Si può specificare una nuova destinazione per questi report nella finestra di dialogo **Sequence Output** o utilizzare la destinazione specificata nei singoli metodi.

Formati dei file di report

Un report è salvabile in diversi formati. Ogni formato ha un'estensione specifica. Per ciascun report è possibile selezionare più di un formato.

- .TXT** Il testo del report è stampato come file di testo UNICODE.
- .EMF** Ogni grafico del report (curva del segnale o curva di calibrazione) è salvato in un metafile di Microsoft Windows (WMF). Sono possibili molti file .WMF per report. Il formato di file generato è conforme al formato dei metafile di Microsoft, come definito nella documentazione dello sviluppo del software Windows. Questi file sono compatibili con il formato APM (Aldus Placeable Metafile) usato da diversi pacchetti software brevettati.

- .DIF** I dati del report in formato tabulare sono salvati come DIF (Data Interchange Format). Questo formato è accettato dai programmi per l'elaborazione di fogli di lavoro, come per esempio Microsoft Windows EXCEL. Indipendentemente dallo stile di report selezionato, verranno salvate solo le informazioni contenute nello stile di report Breve.

NOTA

I file DIF non sono generati per report delle prestazioni.

- .CSV** Questo report è in formato CSV (Comma Separated Values). Si tratta di un formato molto semplice per i dati in versione tabulare accettato da molti programmi per l'elaborazione di fogli di lavoro e molte banche dati. Indipendentemente dallo stile di report selezionato, verranno salvate solo le informazioni contenute nello stile di report "Breve".

A ogni singolo report possono corrispondere numerosi file .DIF e .CSV. Per ogni blocco di report, il primo file, per esempio REPORT00.CSV, contiene le informazioni dell'intestazione del report. I file seguenti contengono i risultati in formato tabulare.

Se i risultati sono riportati in funzione del tempo di ritenzione/migrazione, serve solo un file per la tabella completa, per esempio, REPORT01.CSV.

Se i risultati sono riportati in funzione del segnale, è necessaria una tabella diversa per ciascun segnale. In tal caso, i file sono denominati nella sequenza da Report01.CSV a ReportNN.CSV, dove NN sta per il numero di segnali.

NOTA

I file CSV non sono generati per report delle prestazioni.

- .XLSX** Il report viene esportato in un foglio di lavoro Microsoft Excel in formato (XLSX). Generalmente i dati richiedono un'ulteriore elaborazione.
- .PDF** Il report viene stampato in un file .pdf. Mentre è in esecuzione una qualsiasi sessione di ChemStation, una stampante PDF ChemStation è visibile nell'elenco in **Start Menu/Device and Printers**. L'opzione **Unique pdf file name** permette di memorizzare i report in .pdf indipendentemente dai report, con i nomi dei file <nome_contenitore_sequenza>_<nome_file_dati>.pdf

9

Concetti e funzioni specifici per CE

Funzioni specifiche della ChemStation Agilent per CE nella finestra di controllo del metodo e dell'analisi 204

Tavola di vial 204

Tavola dei conflitti di metodo 205

Tavola dei conflitti di sequenza 206

Tipo di apice 207

Tipi di calibrazione 208

Calibrazioni basate sul tempo di migrazione 209

Calibrazione mediante correzione della mobilità 209

CE-MS 211

Sottrazione del fondo 211

Sottodirectory dei metodi per modalità CE diverse 212

Questo capitolo è pertinente solo se si utilizza ChemStation per controllare gli strumenti CE.

Funzioni specifiche della ChemStation Agilent per CE nella finestra di controllo del metodo e dell'analisi

Tavola di vial

NOTA

La funzione **Vial Table** è disponibile solo nella sessione in linea della ChemStation.

La **Vial Table** consente di associare i vial del vassoio ai campioni e, aspetto ancora più importante, a vial specifici, quali tamponi, vial per lavaggio, vial per pulizia dei tubi e vial per residui. La **Vial Table** è collegata alla tavola di sequenza. Quando una sequenza viene caricata, le informazioni contenute nella tavola di sequenza vengono copiate nella tavola di vial. Tuttavia, le voci della tavola di vial non vengono trasferite nella tavola di sequenza. Quando si seleziona il pulsante **Advanced** nella **Vial Table**, viene visualizzata la finestra di dialogo **Vial Table Advanced Settings**. In questa finestra è possibile abilitare gli avvisi di conflitti tra la **Vial Table** e il metodo o la sequenza e l'uso di nomi simbolici. Per controllare l'eventuale presenza di conflitti tra la **Vial Table** e il metodo o la sequenza, selezionare l'opzione **Enable vial table checks and warnings**.

Al caricamento di un metodo o di una sequenza, viene eseguito un controllo di coerenza tra le assegnazioni dei vial nella **Vial Table** e quelle del metodo o della sequenza. Eventuali conflitti di vial possono essere risolti facilmente mediante le tavole dei **Conflict**.

NOTA

La posizione 49 nel vassoio dei vial è usata per il vial di lavaggio dell'ago, mentre la posizione 50 rimane vuota per consentire il ritorno del dispositivo di sollevamento dei vial. Queste posizioni non sono disponibili nella **Vial Table**.

La colonna **Used in** della tavola di vial consente di specificare l'uso del vial. Vi sono cinque opzioni valide per i campi **Used in**:

- Ignora** Non viene eseguito alcun controllo di coerenza.
- Metodo** Viene fatto riferimento al vial nel metodo.
- Sequenza** Viene fatto riferimento al vial nella tavola di sequenza.

Concetti e funzioni specifici per CE

Funzioni specifiche della ChemStation Agilent per CE nella finestra di controllo del metodo e dell'analisi

Sistema Si tratta di un vial speciale correlato alla configurazione del sistema. Il **Name** deve essere uno dei seguenti nomi simbolici:

- **@INLET** il vial per iniezione
- **@OUTLET** il vial per scarico
- **@FLUSH** il vial per lavaggio
- **@WASTE** il vial per residui
- **@clean tubes** il vial utilizzato per pulire i tubi di riempimento
- **@USER X** il segnaposto della sequenza (dove X può essere un numero compreso tra 1 e 10)

Questa opzione consente di specificare numeri di vial individuali per i nomi simbolici usati nel metodo. Ciò permette all'utente di specificare vial diversi per Iniezione, Scarico, Riempimento, Precondizionamento, Postcondizionamento e così via per ogni linea della sequenza.

Non usato Non è presente alcun vial in questa posizione.

Tavola dei conflitti di metodo

La **Method Conflict Table** viene visualizzata quando si carica un metodo per il quale sono definiti vial che sono in conflitto con i vial definiti nella tavola di vial. La **Method Conflict Table** è divisa in due: la parte sinistra contiene un'immagine della **Vial Table**, la parte destra indica i vial in conflitto.

Per risolvere i conflitti, è possibile sostituire (freccia singola) o spostare il vial dal metodo nella posizione libera successiva nella **Vial Table** (freccia doppia). Questa operazione può essere eseguita per ogni vial in conflitto.

Se vengono utilizzati vial definiti dall'utente (con i nomi simbolici @User1, @User2 e così via), non è possibile eseguire la verifica dei conflitti per questi vial, perché mancano le informazioni sulla sequenza, necessarie a stabilire se esiste o meno un conflitto.

Tavola dei conflitti di sequenza

La **Sequence Conflict Table** viene visualizzata quando si imposta o si carica una sequenza per la quale sono definiti vial che sono in conflitto con i vial definiti nella tavola di vial. La **Sequence Conflict Table** è divisa in due: la parte sinistra contiene un'immagine della **Vial Table**, la parte destra indica i vial in conflitto.

Per risolvere i conflitti, è possibile sovrascrivere le informazioni della **Vial Table** con le informazioni della **Sequence Table**. Tuttavia, se il conflitto è causato da una voce di sistema, le informazioni non possono essere sovrascritte. È inoltre possibile chiudere la **Sequence Conflict Table** senza risolvere i conflitti.

Se vengono utilizzati vial definiti dall'utente (nella colonne User1, User2 e così via), non è possibile eseguire la verifica dei conflitti per questi vial, perché mancano le informazioni sul metodo, necessarie a stabilire se esiste o meno un conflitto.

Tipo di apice

Diversamente dai picchi LC, GC e MS, è abbastanza normale che i picchi CE siano asimmetrici. Perciò, è molto importante selezionare parametri di integrazione che consentano di ottenere il massimo livello di accuratezza e riproducibilità nei risultati di quantificazione.

Se si seleziona **Peak Top Type** nel menu a discesa **Integration**, sono disponibili i tipi di apice seguenti:

Punto più alto

- Quando il picco è triangolare
- Quando si usano concentrazioni diverse

Interpolazione parabolica

- Usata per scodamento, picchi non separati

Centro di gravità

- Fornisce calcoli più accurati con i picchi triangolari
- Campioni con concentrazioni simili

Fit gaussiano

- Usato per picchi simmetrici

Tipi di calibrazione

La calibrazione standard è basata sull'area del picco o sull'altezza del picco. Selezionando **Standard Calibration**, sono disponibili le opzioni **Calculate Signals Separately** e **Calculate with Corrected Areas**.

Selezionare l'opzione di calcolo con aree corrette per far sì che, nel calcolo dei rapporti di normalizzazione percentuale (Norm%), il valore percentuale dei segnali indicati separatamente corrisponda a 100% per ogni segnale. Se l'opzione **Calculate signals separately** è deselezionata, il valore percentuale di tutti i segnali corrisponde a 100%. È necessario selezionare **Calculate signals separately** per eseguire l'ordinamento in base al segnale nella tavola di calibrazione.

Selezionare **Calculate with Corrected Areas** per apportare una correzione all'area del picco in base al tempo di migrazione. In questa modalità, l'area viene divisa in base al tempo di migrazione per migliorare la riproducibilità nell'analisi quantitativa in caso di instabilità dei tempi di migrazione.

Oltre alla calibrazione standard, sono disponibili tre calibrazioni specifiche per l'elettroforesi capillare caratterizzata da un segnale basato sul tempo di migrazione.

Nell'elenco a discesa relativo alla tavola di calibrazione sono disponibili i seguenti tipi di calibrazione:

- **Standard Calibration**
- **Protein Molecular Weight Calibration**
- **DNA Base-Pair Calibration**
- **Capillary Isoelectric Focusing Calibration**

Per ulteriori informazioni sulle calibrazioni specifiche per l'elettroforesi capillare, fare riferimento alla *Guida di riferimento ai principi operativi di OpenLab CDS ChemStation Edition* (CDS_CS-references.pdf).

Calibrazioni basate sul tempo di migrazione

Uso delle calibrazioni basate sul tempo di migrazione in una sequenza

Le calibrazioni e le ricalibrazioni basate sul tempo di migrazione possono essere incluse in una sequenza, ma sono supportate solo le calibrazioni esplicite e le ricalibrazioni cicliche. La calibrazione in bracketing non è supportata. Le calibrazioni basate sul tempo di migrazione non prevedono alcun rapporto riassuntivo di sequenza.

Stili di rapporto per le calibrazioni basate sul tempo di migrazione

Gli stili di rapporto disponibili per le calibrazioni basate sul tempo di migrazione sono soltanto **Short** (risultati quantitativi) e **Full** (intestazione, informazioni sul campione, condizioni dello strumento, registro elettronico, risultati quantitativi e diagramma della purezza dei picchi).

Calibrazione mediante correzione della mobilità

Piccole modifiche nella composizione del tampone, nella temperatura o nella viscosità, nonché l'adsorbimento nella parete capillare, possono condizionare il flusso elettrosmotico (EOF) e renderlo instabile. La conseguente modifica dell'EOF può creare una considerevole deviazione standard dei tempi di migrazione. Le correzioni della mobilità consentono di ridurre notevolmente l'effetto dei cambiamenti del tempo di migrazione da un'analisi all'altra, mediante il monitoraggio del tempo di migrazione di un picco di riferimento della mobilità e l'aumento significativo della riproducibilità del tempo di migrazione.

È consigliabile scegliere il picco di riferimento della mobilità in base alle priorità seguenti:

- Selezionare il picco con il segnale più alto.
- Selezionare il picco più isolato.
- Il marker EOF o lo standard interno possono essere usati come picco di riferimento della mobilità.
- Ingrandire la finestra di ricerca in modo da individuare sempre il picco di riferimento della mobilità.
- Se diversi picchi sono indicati nella finestra di ricerca, il picco con il segnale più alto viene selezionato automaticamente come picco di riferimento della mobilità.

Sono disponibili due tipi di correzione della mobilità:

**Correzione
della mobilità
effettiva**

Questo tipo di **Effective Mobility Correction** usa le mobilità effettive di tutti i picchi e richiede la disponibilità dei dati della rampa di tensione unitamente all'elettroferogramma. Inoltre, la correzione della mobilità effettiva consente di determinare le mobilità effettive vere di tutti i componenti del campione.

**Correzione
della mobilità
relativa**

Questo **Relative Mobility Correction** non richiede i dati di tensione e utilizza una tensione costante per tutte le misurazioni.

CE-MS

Sottrazione del fondo

Quando si seleziona la voce di menu **Subtract Background** (BSB), lo spettro di massa selezionato più di recente viene sottratto da ciascun punto nell'elettroferogramma corrente. I dati risultanti vengono salvati nella stessa directory e con lo stesso nome del file di dati originale; l'estensione del file, tuttavia, viene modificata in .BSB.

Il nuovo file di dati diviene il file di dati corrente e viene visualizzato l'elettroferogramma con sottrazione del fondo. Nella voce Operator dell'intestazione del file di dati viene memorizzato un record del numero di sottrazioni del fondo eseguite.

Se si visualizza un elenco tabulare di dati BSB, si possono osservare differenze a causa della precisione della rappresentazione dei dati.

NOTA

I file di testo HELP in LC/MS fanno riferimento soltanto ai parametri LC e non ai parametri CE. Alcune funzioni che sono disponibili nel software LC/MS non sono disponibili o non sono pertinenti nel caso delle applicazioni CE/MS ma sono utilizzate in LC. La funzione **peak matching** non è applicabile alle analisi CE-MS e pertanto non è attiva. Nella tecnica CE-MS, la rivelazione UV e MS avviene a lunghezze effettive differenti del capillare di separazione. A causa della diversa risoluzione a lunghezze effettive diverse, la corrispondenza dei picchi non è possibile.

Sottodirectory dei metodi per modalità CE diverse

Nei sistemi CE, i metodi dipendono dalla modalità CE selezionata. Pertanto vengono memorizzati in sottodirectory diverse all'interno della directory dei metodi:

- CE** Memorizza i metodi per la modalità CE.
- CEC** Memorizza i metodi per la modalità CEC.
- CEp** Memorizza i metodi per la modalità di pressione CE Plus.
- CEMS** Memorizza i metodi per la modalità CE MS.
- CEMSp** Memorizza i metodi per la modalità di pressione CE MS Plus.

In questo manuale

Questa guida descrive i diversi concetti di Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition. Lo scopo è permettere all'utente di acquisire una conoscenza più approfondita del funzionamento di ChemStation. Contiene informazioni sui seguenti argomenti:

- Concetti di base
- Acquisizione dei dati
- Automazione/sequenze
- Controllo delle analisi
- Concetti relativi ad analisi e revisione dei dati
- Calibrazione
- Stesura di report
- Concetti e funzioni specifici per CE

www.agilent.com

© Agilent Technologies 2010-2019

Published in Germany
04/2019



M8301-94019 Rev. C

