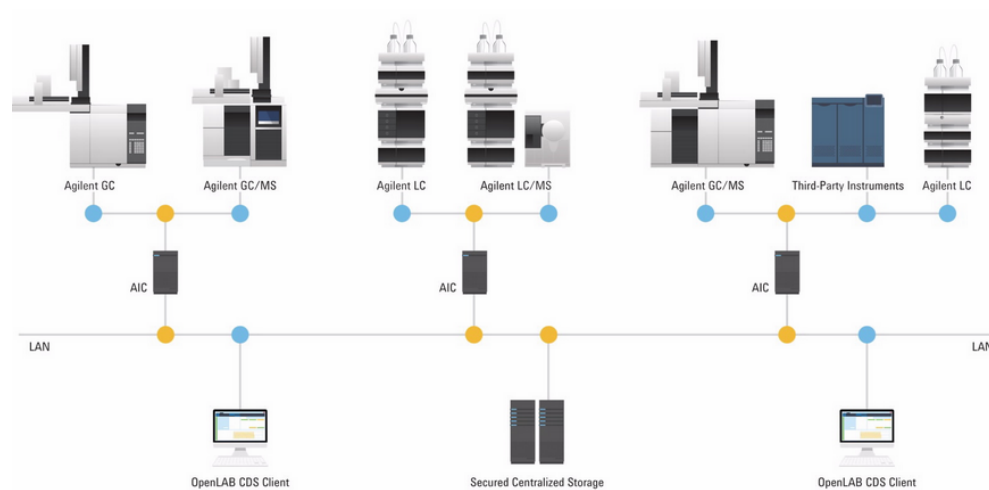


# Průvodce softwarem

## Agilent OpenLAB CDS 2.x od HPST, s.r.o.



Autor: Michal Novotný

Verze: 1.00 Leden 2018

---

# Obsah

---

<b>Obsah</b>	<b>2</b>
Úvodem . . . . .	3
OpenLAB Control Panel . . . . .	4
Instruments . . . . .	4
Projects . . . . .	4
Administration . . . . .	5
OpenLAB Acquisition . . . . .	6
Status . . . . .	6
Method . . . . .	6
Sequence . . . . .	7
Single Sample . . . . .	8
Práce s běžící analýzou . . . . .	8
OpenLAB Data Analysis . . . . .	8
Data Selection . . . . .	9
Data Processing . . . . .	9
Master metody vs. Sequence metody . . . . .	11
Práce s okny . . . . .	11
Integrace . . . . .	11
Identifikace . . . . .	13
Kalibrace . . . . .	14
System Suitability . . . . .	17
Specifická nastavení . . . . .	17
Single Injection report . . . . .	20
Sequence Summary Report . . . . .	21

---

# Úvodem

Milí zákazníci,

v následujícím dokumentu se vám pokusíme ukázat základní funkcionalitu a používání chromatografického softwaru **OpenLAB CDS 2.x**. Tento software slouží k měření a zpracování chromatografických dat z instrumentace **LC**, **GC**, **LC/MS SQ** a **GC/MS SQ**. Kompletní přehled aktuálně podporovaných modulů a jejich výrobců naleznete na adrese <https://hpst.cz/software/openlab-cds-2x> v dokumentu **Supported Modules**.



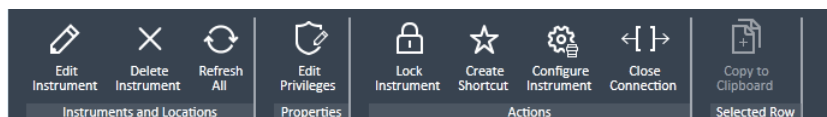
Po instalaci softwaru servisním technikem by každý z vás měl najít na ploše ikonu **Control Panelu**, která nám napovídá, že byl software na počítači nainstalován. Zdrojem cenných informací by pro vás kromě této příručky měl být **Help (F1)** a zaškolovací videa, která naleznete v nabídce **Help** v sekci **Get Started**.

# OpenLAB Control Panel

V této části softwaru naleznete záložky **Instruments**, **Projects** a **Administration**.

## Instruments

Tato sekce slouží k spuštění akvizice . Nezapomeňte zde vybrat projekt, jinak bude tlačítko zašedlé. Všimněte si ikon v horní nabídce.



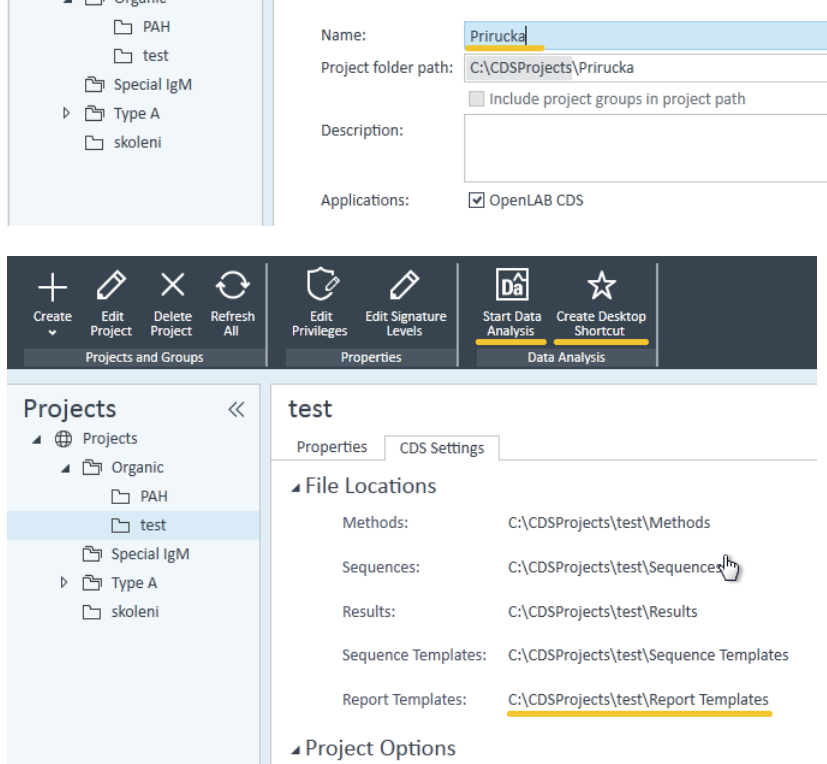
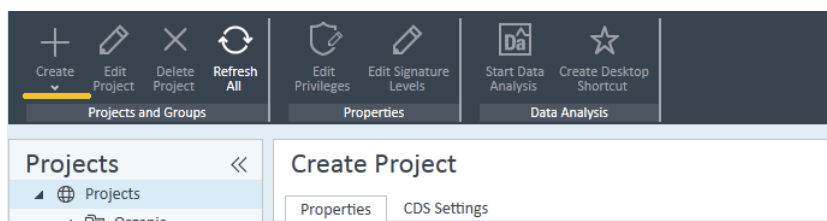
Pomocí ikony **Create Shortcut** můžete na ploše vytvořit zástupce pro spuštění akvizice. Tlačítko **Close Connection** slouží k přerušení spojení mezi PC a instrumentem.

Využijete to při problémech s komunikací nebo přepínání mezi různými konfiguracemi stejného instrumentu, kdy je toto tlačítko nezbytné.

## Projects

V této sekci se vytvářejí projekty a lze spustit vyhodnocovací **Data Analysis** software. Projekt vždy obsahuje vlastní metody, sekvence, data a šablony reportů. Reporty lze jako jediné také sdílet napříč projekty úpravou cesty v **CDS Settings**.

Nový projekt vytvoříte kliknutím na ikonu **Create -> Project** a vyplněním názvu projektu. Potvrďte **OK**.



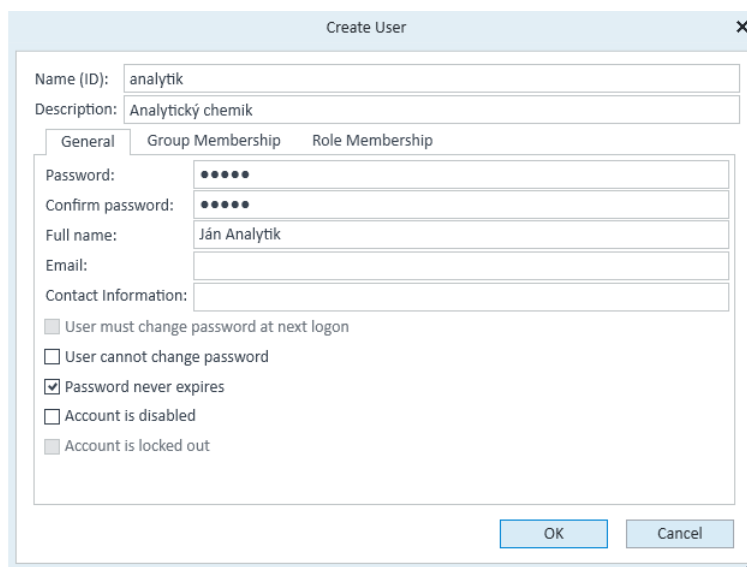
Pomocí ikony **Start Data Analysis** spustíte vyhodnocování dat v daném projektu. Ikona **Create Desktop Shortcut** vytvoří na ploše zástupce pro snadnější přístup v budoucnu.

## Administration

V administrativním okně se pod **System Configuration** zapíná/vypíná způsob autentifikace - **None**, **Internal** nebo **Windows Domain**.

<b>None</b>	Aplikace nevyžaduje přihlášení. Na reportech a v datech je autorem uživatel „SYSTEM“.
<b>Internal</b>	Vlastní definice uživatelů v rámci aplikace. Možnost vlastních skupin a rolí v aplikaci.
<b>Domain</b>	Uživatelé a jejich hesla jsou přebírány z domény. Možnost vlastních skupin a rolí v aplikaci.

Přidávání uživatelů se provádí v záložce **Users**. Nezapomeňte novým uživatelům přidat odpovídající **Role**.



Roles	
Name	Description
Everything	All privileges
System Administrator	Manage users and security settings
Instrument Administrator	Manage instruments and locations
<b>Project Administrator</b>	<b>Manage projects and project groups</b>
Instrument User	View and run instruments
Technician	Laboratory technician
Chemist	Analytical chemist
Sample Scheduler for OpenLAB Administrator	Generic Role for Sample Scheduler Administrators
Sample Scheduler for OpenLAB Analyst	Generic Role for Sample Scheduler Analysts

Typické nastavení:	Role
<b>Administrátor</b>	Everything
<b>Vedoucí laboratoře</b>	Project Administrator + Instrument Administrator
<b>Analytik</b>	Chemist + Instrument User



**Tip:** Detailní informace co za práva obsahují jednotlivé role najdete v **Administration Guide** <https://hpst.cz/software/openlab-cds-2x>

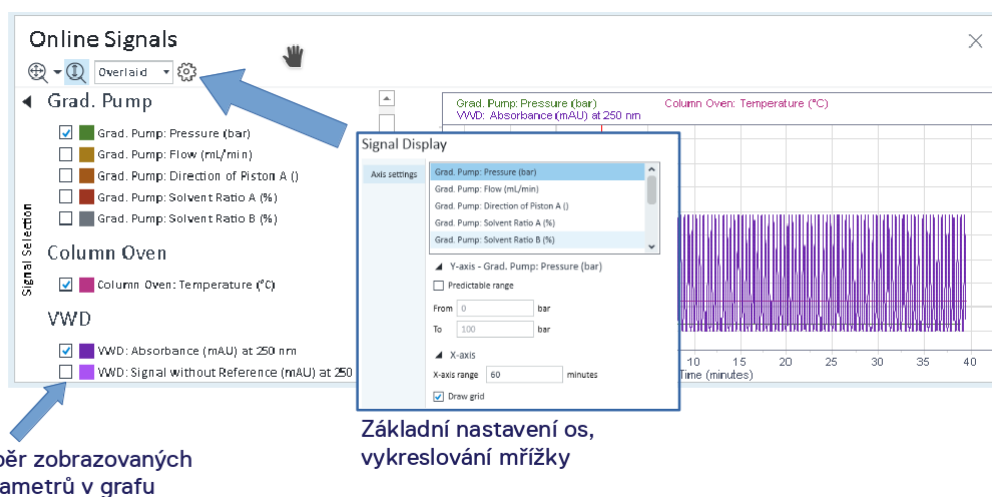
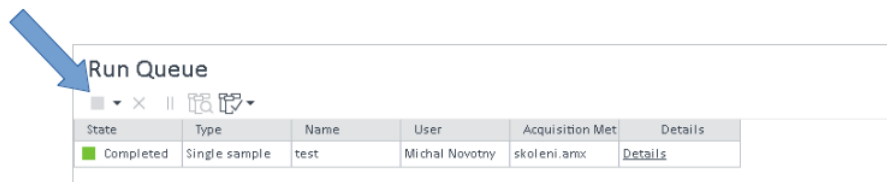
# OpenLAB Acquisition

Spuštění aplikace pro akvizici dat lze provést v **Control Panelu** nebo z plochy po vytvoření zástupce. Akvizice se skládá ze 4 pohledů.

## Status

Tato obrazovka slouží k nahlížení a ovládání instrumentu přímo přes UI (User Interface). Je zde možné si zobrazit okna Run Queue, Status, Signal, Spectrum a Activity Log.

Zastavení analýz, mazání fronty, pauza, náhled běžících sekvencí a náhled sekvence v Data Analysis



## Method


OpenLAB CDS 2.x má oddělené metody pro měření (\*.amx) a vyhodnocení dat (\*.pmx). Zde se provádí nastavení instrumentální metody (\*.amx). Nabídka se liší v závislosti na připojených modulech (LC, GC, MS). Pro posílání měřicí metody na stroj a ze stroje je nutné tuto akci provádět kliknutím na ikony . Vyplňte potřebná pole měřicí metody a metodu uložte.

Nová metoda, Otevřít, Uložit, Uložit jako, Vytisknout akviziční metodu


Posílání metod z/do instrumentu  
Upload from instrument      Download to instrument



## Sequence

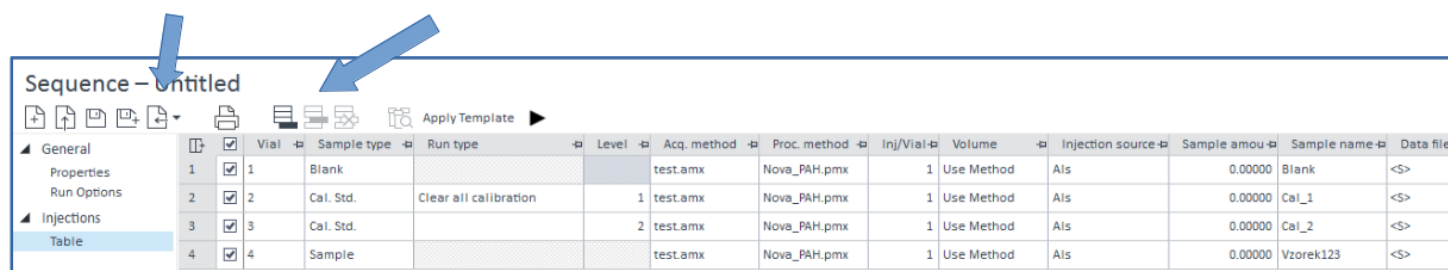
Vyplnění sekvence vzorku. Pro výběr sloupců použijte ikonu  v levém horním rohu tabulky. Pro spuštění sekvence je nezbytné vyplnit pouze akviziční metodu. Pokud některý ze sloupců nevyplníte, systém si jej nahradí většinou údajem datum-čas atp.

Při vyplňování polí využívejte funkci **Fill Down** (klik pravým tlačítkem na záhlaví sloupce). Pro některé sloupce, například **Data file**, lze využít předprogramované snippety přístupné pod

šipkou . Příklad **<S>** kopíruje sloupec **Sample name**. Většinu sloupců lze změnit i po naměření sekvence v **Data Analysis**, není tedy nutné vyplňovat všechny sloupce. Důležité jsou hlavně položky - metoda, číslo pozice vialky a Data file, které už po naměření změnit nelze.

Nová sekvence, Otevřít sekвени, Uložit, Uložit jako, Import z CSV/Result Setu a tisk tabulky

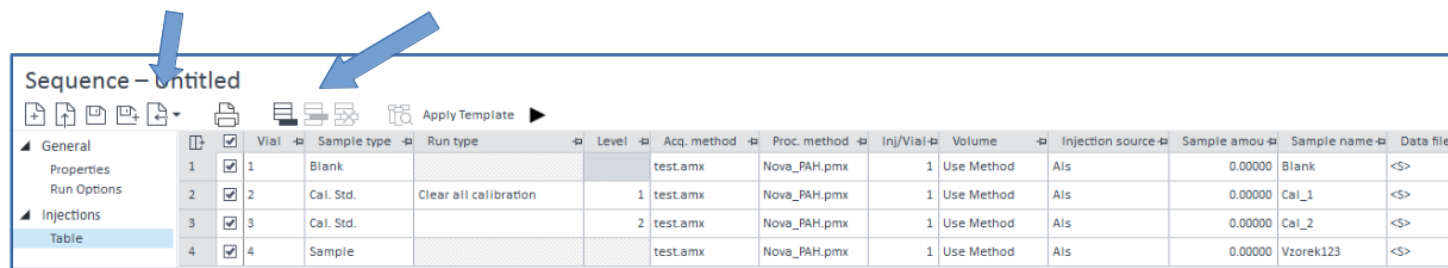
Vložit řádek na konec, nad označený řádek, smazat řádek sekvence, aplikace šablony sekvence



	Vial	Sample type	Run type	Level	Acq. method	Proc. method	Inj/Vial	Volume	Injection source	Sample amount	Sample name	Data file
1	1	Blank			test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Blank	<S>
2	2	Cal. Std.	Clear all calibration		test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Cal_1	<S>
3	3	Cal. Std.			test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Cal_2	<S>
4	4	Sample			test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Vzorek123	<S>

Nová sekvence, Otevřít sekвени, Uložit, Uložit jako, Import z CSV/Result Setu a tisk tabulky

Vložit řádek na konec, nad označený řádek, smazat řádek sekvence, aplikace šablony sekvence



	Vial	Sample type	Run type	Level	Acq. method	Proc. method	Inj/Vial	Volume	Injection source	Sample amount	Sample name	Data file
1	1	Blank			test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Blank	<S>
2	2	Cal. Std.	Clear all calibration		test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Cal_1	<S>
3	3	Cal. Std.			test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Cal_2	<S>
4	4	Sample			test.amx	Nova_PAH.pmx	1	Use Method	Als	0.00000	Vzorek123	<S>

Sloupec	Význam
<b>Vial</b>	Číslo vialky. Stačí napsat číslo, u některých samplerů se může zadávání lišit (P1-A1 - HiP Sampler, 101 - 1xx - GC Sampler, atd.).
<b>Sample Type</b>	Blank - určuje, že se jedná o blank. Pokud je v metodě při vyhodnocení nastaveno odečítání blanků, je nutné zde Blank označit.
	Cal.Std. - označuje kalibrační standard. Nezapomeňte zadat kalibrační level. Clear all calibration se zadává u prvního standardu, aby došlo k odmazání předešlé kalibrace, pokud nějakou metoda obsahuje.
	Sample, System Suitability, QC Check - slouží k lepší přehlednosti sekvence, se všemi již aplikace počítá jako s neznámými vzorky.
<b>Inj/Vial</b>	Počet nástřiků z dané vialky (v případě většího počtu než 1 se k Data File přidává suffix _rep1, _rep2, atd.).
<b>Volume</b>	Use method nebo číslo v mikrolitrech.
<b>Injection Source</b>	ALS - autosampler, No Injection - analýza bez nástřiku.
<b>Sample Amount</b>	Navážka vzorku, pokud má dojít k počítání % obsahu látky na navážku. Nezapomenout pak na sloupce Multiplier (násobící faktor) a Dilution (ředící faktor).

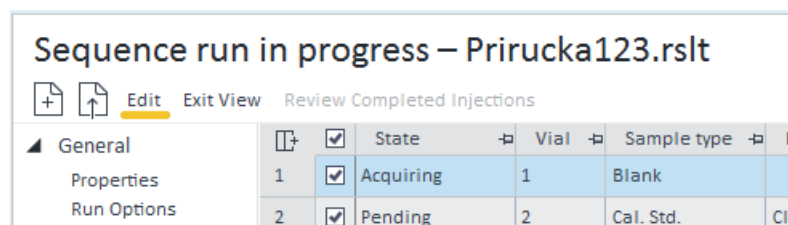
## Single Sample

Tato sekce obsahuje identické sloupce jako v sekvenci pro jednu analýzu, pouze se zde zadávají hodnoty do řádků, nikoliv do sloupců.

## Práce s běžící analýzou

Jakmile zadáte akviziční metodu, lze měření spustit klikem na ikonu **Run**. Jakmile měření probíhá, je možné upravovat běžící sekvenci kliknutím na ikonu

**Edit**. Po úpravách potvrďte změny klikem na tlačítko **Update**.

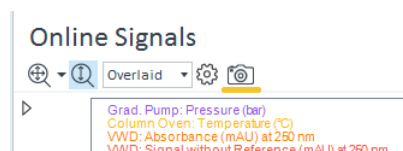


Sequence run in progress – Prirucka123.rslt

Edit Exit View Review Completed Injections

General	State	Vial	Sample type	R
1	Acquiring	1	Blank	
2	Pending	2	Cal. Std.	Cle

Během analýzy je možné provést **Snapshot** a vyhodnotit část analýzy kliknutím na ikonu foťáku v okně **Online Signal**.

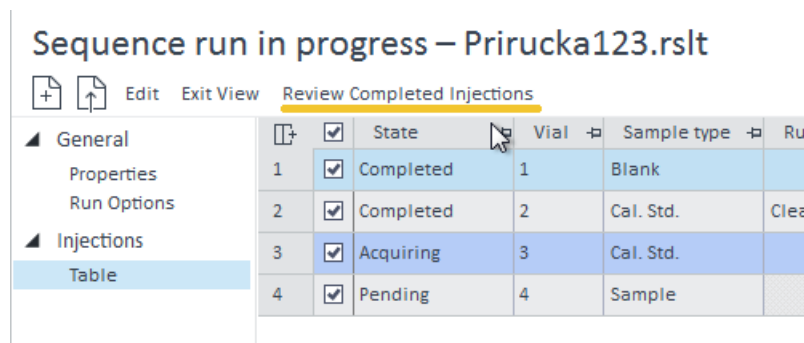


Online Signals

Overlaid

- Grad. Pump: Pressure (bar)
- Column Oven: Temperature (°C)
- WWD: Absorbance (mAU) at 250 nm
- WWD: Signal without Reference (mAU) at 250 nm

Jakmile se ukončí alespoň jeden ze řádků sekvence, je možné tyto analýzy vyhodnocovat kliknutím na **Review Completed Injections** v pohledu **Sequence**.








Sequence run in progress – Prirucka123.rslt

Edit Exit View Review Completed Injections

General	State	Vial	Sample type	Ru
1	Completed	1	Blank	
2	Completed	2	Cal. Std.	Clea
3	Acquiring	3	Cal. Std.	
4	Pending	4	Sample	

## OpenLAB Data Analysis

K vyhodnocování dat se dostanete několika způsoby:

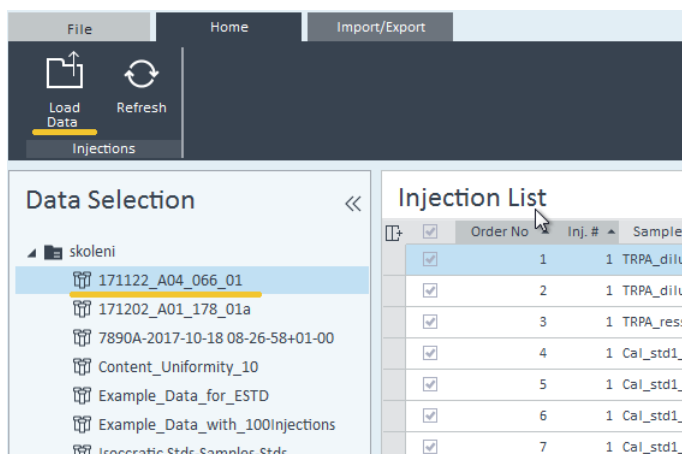
<b>Snapshot v Akvizici</b> 	Vyhodnocení běžící analýzy + dokončených analýz běžící sekvence
<b>Review Selected Injection v Akvizici</b>  Review Completed Injections	Vyhodnocení pouze dokončených analýz běžící sekvence
<b>Launch Data Analysis v Akvizici</b> 	Vyhodnocení všech dat v daném projektu kromě aktuálně běžící sekvence
<b>Zástupce na ploše</b> 	Vyhodnocení všech dat v daném projektu kromě aktuálně běžící sekvence
<b>Start Data Analysis v Control Panelu</b> 	Vyhodnocení všech dat v daném projektu kromě aktuálně běžící sekvence

OpenLAB Data Analysis se skládá opět ze tří sekcí - **Data Selection**, **Data Processing**, **Reporting**.

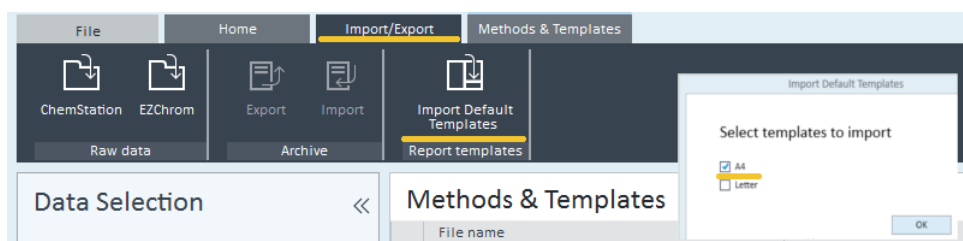


## Data Selection

Tato sekce slouží pro načtení dat k vyhodnocování. Sekvenci lze otevřít kliknutím na ikonku **Load Data** nebo dvojklikem myši. V záložkách **Methods** a **Report Templates** lze prohlížet existující metody a šablony reportů. Kliknutím pravým tlačítkem lze metody z projektu mazat.

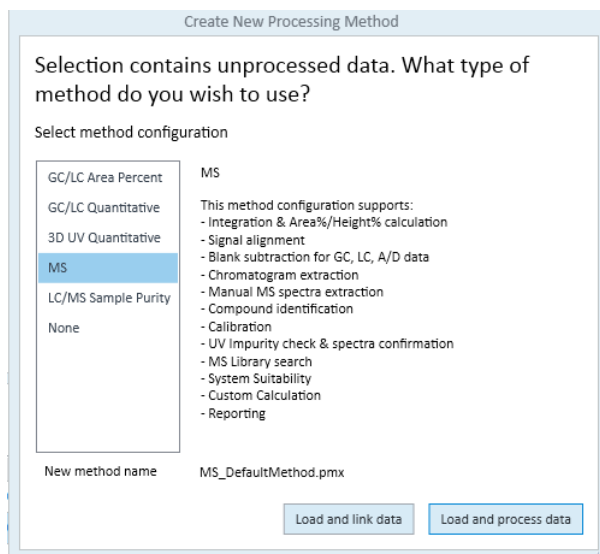


Pokud v záložce **Report Templates** nevidíte žádné reporty a chcete používat některé z výchozích, přejděte pod záložku **Import/Export** a nainportujte výchozí šablony stiskem **Import Default Templates**.

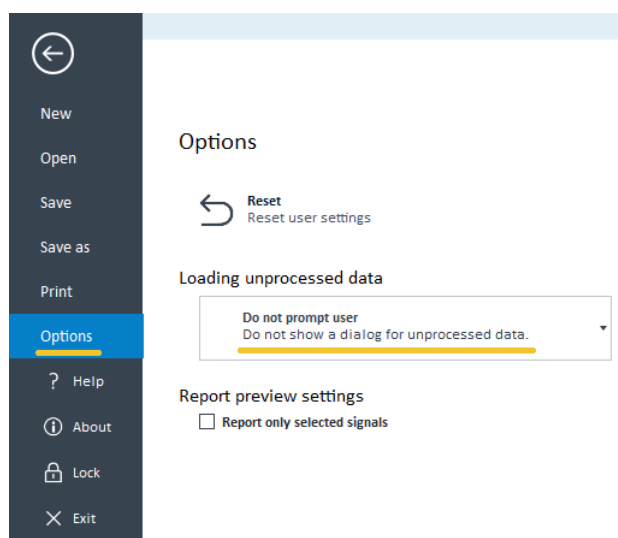


## Data Processing

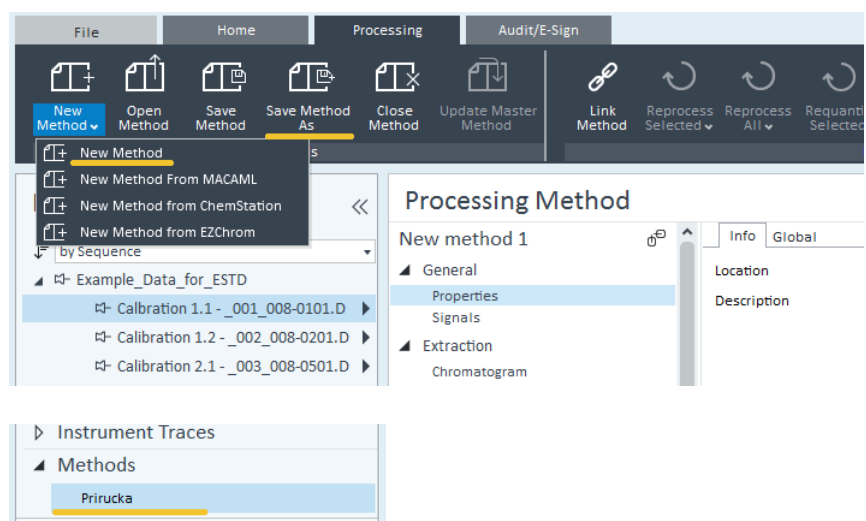
Pro vyhodnocení sekvence otevřete požadovanou sekvenci. Pro potřeby příručky je zpracovávána sekvence **Example\_Data\_for\_ESTD**, kterou najdete v archivu s příručkou. Tato sekvence nemá provázanou žádnou vyhodnocovací metodu, proto se po jejím načtení aplikace zeptá, o jaká data jde, a bude se snažit vytvořit novou metodu. Vyberte požadovaný typ metody dle typu instrumentace a zamýšleného použití.



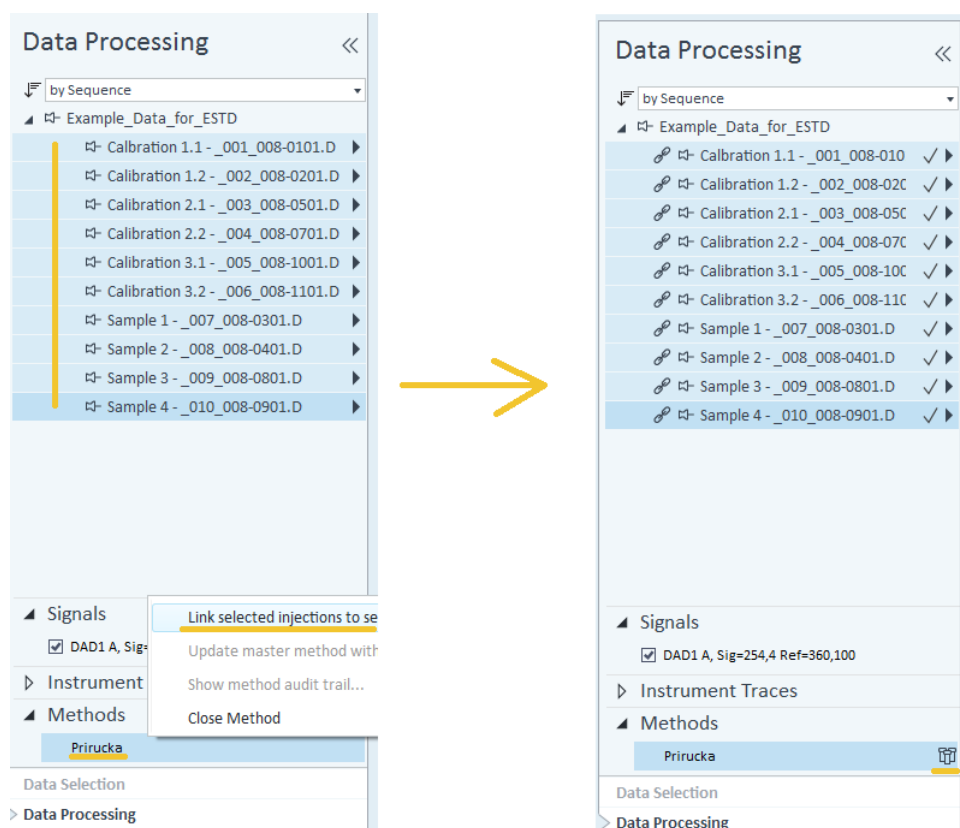
**Tip:** Toto automatické okno lze deaktivovat v nastavení **File -> Options**. Používá se to hlavně v případě, pokud nevyplňujete procesní metodu v akvizici, ale vždy až při vyhodnocování.




Po načtení sekvence musíme vytvořit novou procesní metodu. Záložka **Processing** -> **New Method**. Vyberte typ metody **3D UV Quantitative**, potvrďte a metodu ihned uložte tlačítkem **Save Method As**.



Poté je potřeba novou metodu „prolinkovat“ s analýzami, které se budou danou metodou zpracovávat. Práce s vyhodnocovacími metodami je kritickým bodem pro pochopení Data Analysis, věnujte této části náležitou pozornost. Označte libovolnou analýzu levým tlačítkem myši a pak klikněte pravým tlačítkem myši na metodu. Zvolte **Link selected injections to selected method**. Analýza se prolinkuje s metodou. Obdobně prolinkujte celou sekvenci. Můžete označit všechny runy pomocí držení klávesy **Levý Shift** a označení první a poslední analýzy.



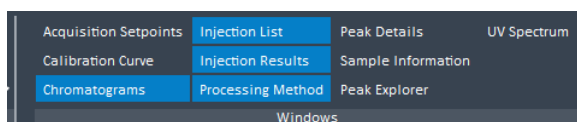
## Master metody vs. Sequence metody

V OpenLAB CDS 2.x rozlišujeme dva druhy metod. Metody **Master** nacházející se ve složce **/Projekt/Methods/** a metody **Sequence** nacházející se spolu s daty v sekvencích, kde byly použity. Typická cesta je **Projekt/Results/NazevSekvence/** a poznáte ji tak, že vedle názvu metody je ikona tří vialek .

V okamžiku, kdy dojde k provázání otevřené Master metody s jakoukoliv analýzou, proběhne na pozadí odkopírování Master metody do složky sekvence a tím vytvoření Sequence metody. Všechny úpravy jsou pak prováděny v sekvenční metodě. V případě, chceme-li Master metodu aktualizovat pro další používání, stiskneme tlačítko **Update Master Method**, které přepíše Master metodu metodou sekvenční. Takto se dosáhne toho, že je vždy možné dostat se k datům s jejich aktuální metodou, která se nepřepisuje, jelikož sekvenční metody zůstávají napořád v kontejnerech u svých dat.

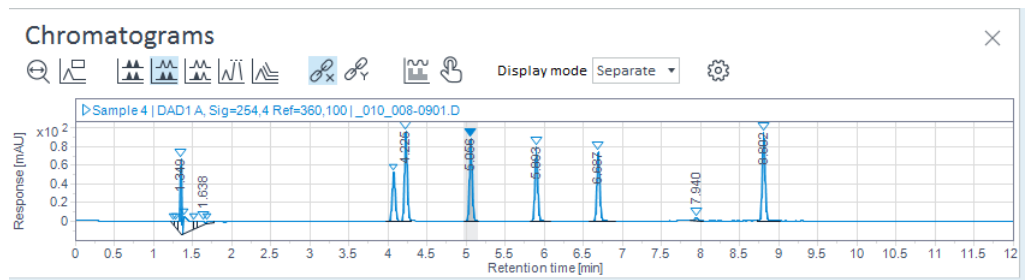
## Práce s okny

Nejčastěji používanými okny je **Chromatogram**, **Injection List**, **Injection Results** a samozřejmě **Processing Method**.



## Integrace

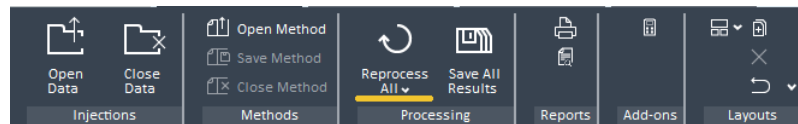
**Automatická** Po prolinkování požadované metody můžeme přejít k vlastnímu zpracování dat. Integrace se provádí při otevřených oknech **Chromatogram** a **Processing method**. Automatické integrační parametry je možné přidávat a upravovat v tabulce **Integration Events** -> **Standard**. Nezapomínejte po každé změně integračních parametrů kliknout na tlačítko **Reprocess All** nebo **Reprocess Selected**.



Processing Method window showing integration parameters for the DAD1A signal. The window is titled "Processing Method" and has a sidebar with categories: Properties, Signals, Extraction, Integration Events ChemStation, Compounds, and System Suitability. The "Integration Events ChemStation" section is expanded to show "Standard" parameters.

Global	Use	Time (min)	Event	Value
DAD1A	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	Slope sensitivity	1.000
	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	Peak width	0.020
	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	Area reject	1.000
	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	Height reject	1.700
	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	Shoulders mode	Off
	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000	Area% reject	0.000

Buttons: Add integration event, Delete integration event

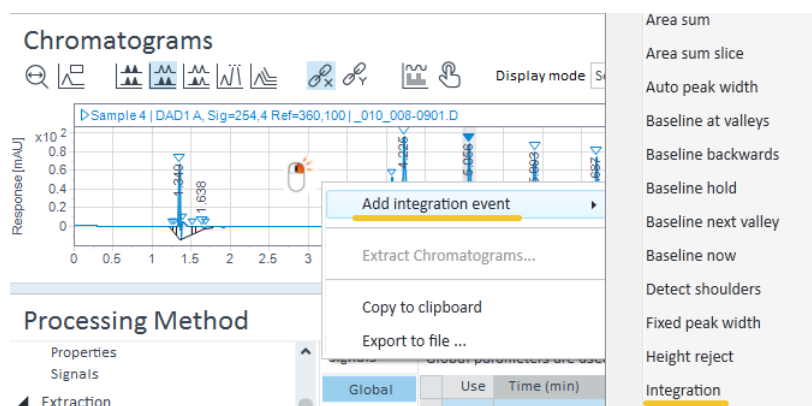




Pro grafické zadávání integrace povolte funkci **Edit timed events** v nastavení chromatogramu. Po kliku pravým tlačítkem myši v chromatogramu je pak možné přidávat parametry.

Chromatograms window with Chromatogram Properties dialog box open. The dialog box is titled "Chromatogram Properties" and has a sidebar with categories: Chromatograms, Integrator events, Spectrum extraction, Manual integration, Expected compounds, Compound windows, and Annotations. The "Integrator events" section is expanded to show "Change integrator timed events options".

**Change integrator timed events options**

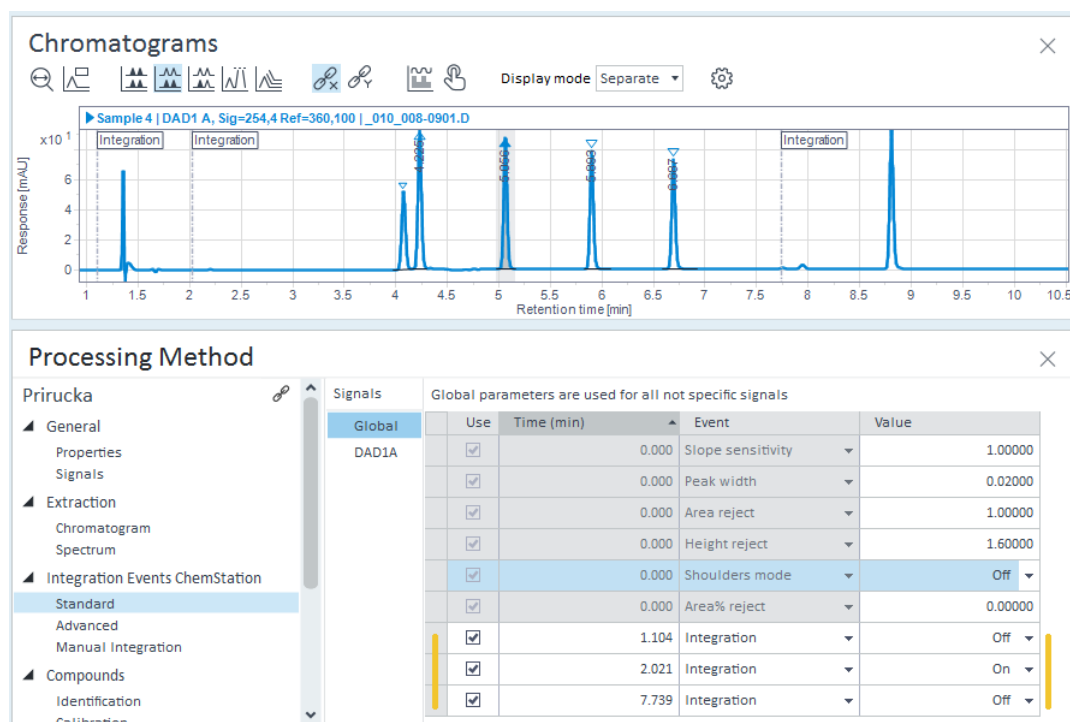
- Display options
  - Show timed events
  - Restrict to focused injection
  - Show initial events
  - Show signal specific information
  - Show method information
  - Show annotation box
  - Annotation: Event name
- Tools
  - Edit timed events
  - Show command hints



**Manuální** Manuální integrace se aktivuje ikonou  v okně chromatogramu. Pak je možné smazat jakýkoliv pík a libovolně nakreslit novou baseline. Po natažení baseline lze body jakkoliv posouvat, rozdělovat a spojovat. V případě, chcete-li použít manuální zásah i pro další analýzy, můžete kliknutím na ikonu  manuální zásahy uložit.

Pokud chcete smazat manuální zásahy, použijte **Reprocess All - Clear corrections**.

Tímto způsobem správně integrujete chromatogram. V tomto případě nás budou zajímat píky od 4. do 7. minuty.



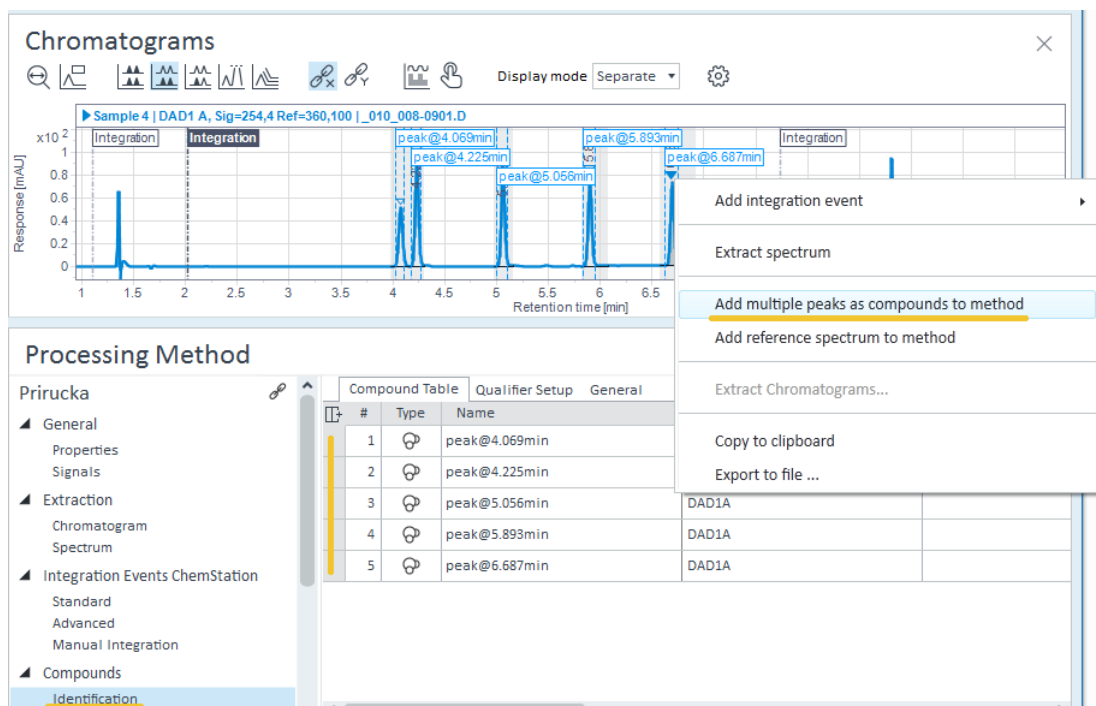
## Identifikace

Pokud máme požadované integrace, látky identifikujeme. Přepneme se v metodě do **Compounds** -> **Identification**. Klikneme pravým tlačítkem myši na integrovaný pík a zvolíme

Add peak as compound to method. Pík v tabulce přejmenujeme. Obdobně identifikujeme všechny látky.



**Tip:** Pomocí držení klávesy **Levý Shift** lze označit první a poslední pík a přidat všechny píky zájmu najednou.



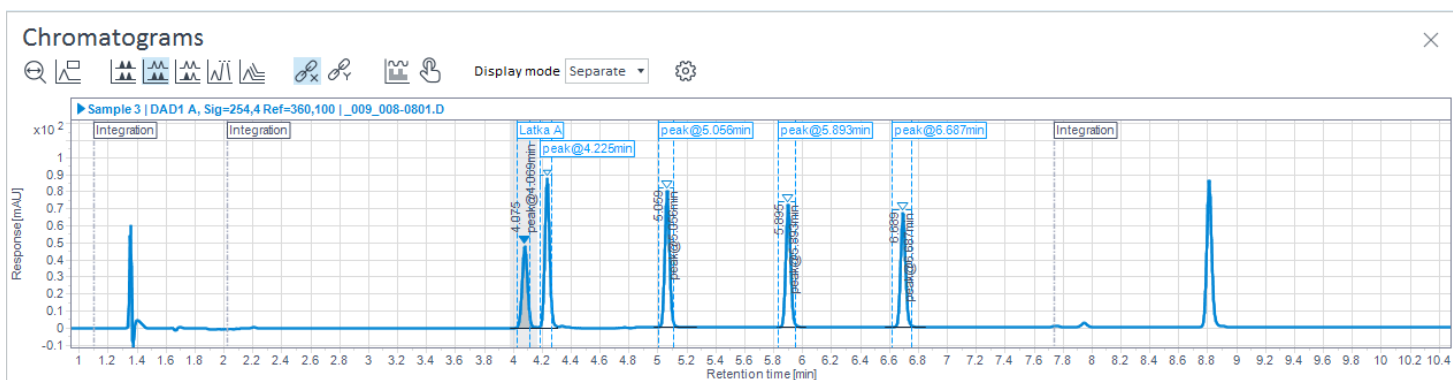
Pokud by naším cílem bylo reportovat procentuální složení poměru analyzovaných látek, po identifikaci jsme u konce a můžeme přejít do části **Reporting**. V našem případě budeme chtít metodu nakalibrovat a vypočítat % obsah látky ve vzorku.

### Kalibrace

Pro nakalibrování metody musí být splněny tři podmínky:

1	V Injection List musí být definován minimálně jeden kalibrační standard.
2	Píky musí být integrovány a identifikovány.
3	V kalibrační tabulce musí být vyplněny hodnoty koncentrací pro dané látky.

Order No	Inj. #	Sample name	Sample type	Run type	Level	Injection time (yyyy-MM)	Modification date (yyyy-MM)	Sample an
1	1	Calibration 1.1	Cal. Std.	Clear all calibrat...	1	2011-03-30 12:17:10+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	0.00000
2	1	Calibration 1.2	Cal. Std.		1	2011-03-30 12:30:47+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	0.00000
3	1	Calibration 2.1	Cal. Std.		2	2011-03-30 13:11:48+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	0.00000
4	1	Calibration 2.2	Cal. Std.		2	2011-03-30 13:39:09+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	0.00000
5	1	Calibration 3.1	Cal. Std.		3	2011-03-30 14:20:22+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	0.00000
6	1	Calibration 3.2	Cal. Std.		3	2011-03-30 14:34:07+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	0.00000
7	1	Sample 1	Sample			2011-03-30 12:44:28+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	30.00000
8	1	Sample 2	Sample			2011-03-30 12:58:08+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	32.00000
9	1	Sample 3	Sample			2011-03-30 13:52:54+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	31.00000
10	1	Sample 4	Sample			2011-03-30 14:06:37+01...	2017-12-29 14:03:40+01...	29.00000



### Processing Method

Prirucka

General

#	Type	Name	Signal	Exp. RT	Absolute RT window (min)	Relative RT window (%)
1	🔊	Latka A	DAD1A	4.069	0.000	1.000
2	🔊	peak@4.225min	DAD1A	4.225	0.000	1.000
3	🔊	peak@5.056min	DAD1A	5.056	0.000	1.000
4	🔊	peak@5.893min	DAD1A	5.893	0.000	1.000
5	🔊	peak@6.687min	DAD1A	6.687	0.000	1.000

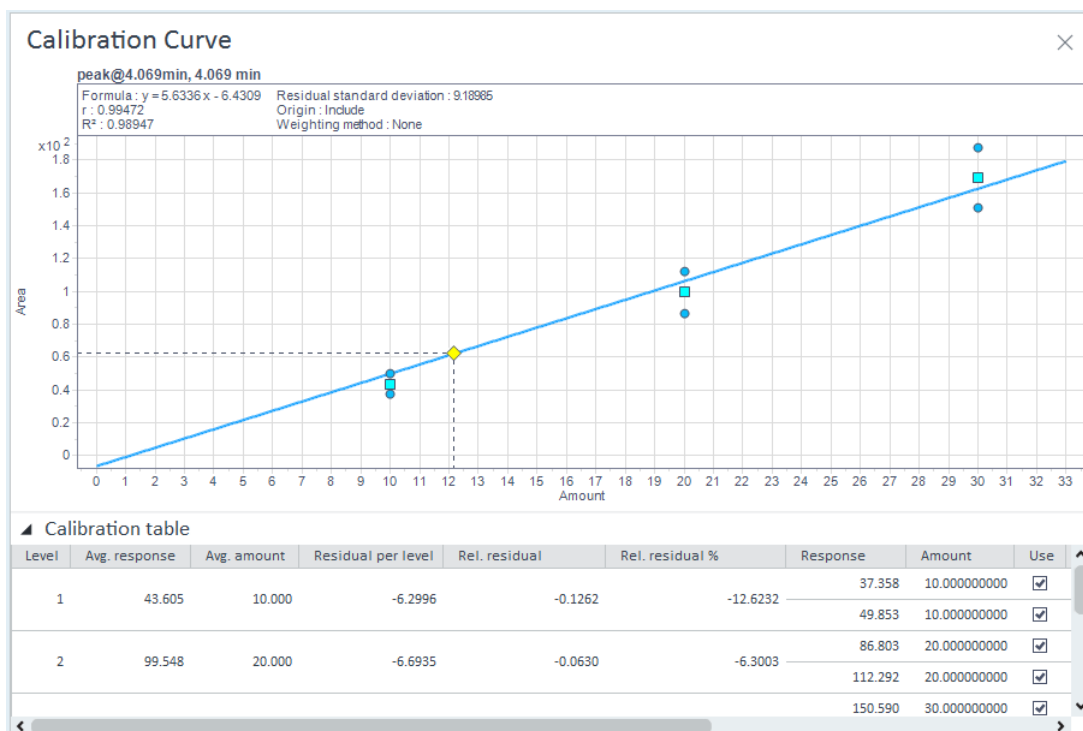
### Processing Method

Prirucka

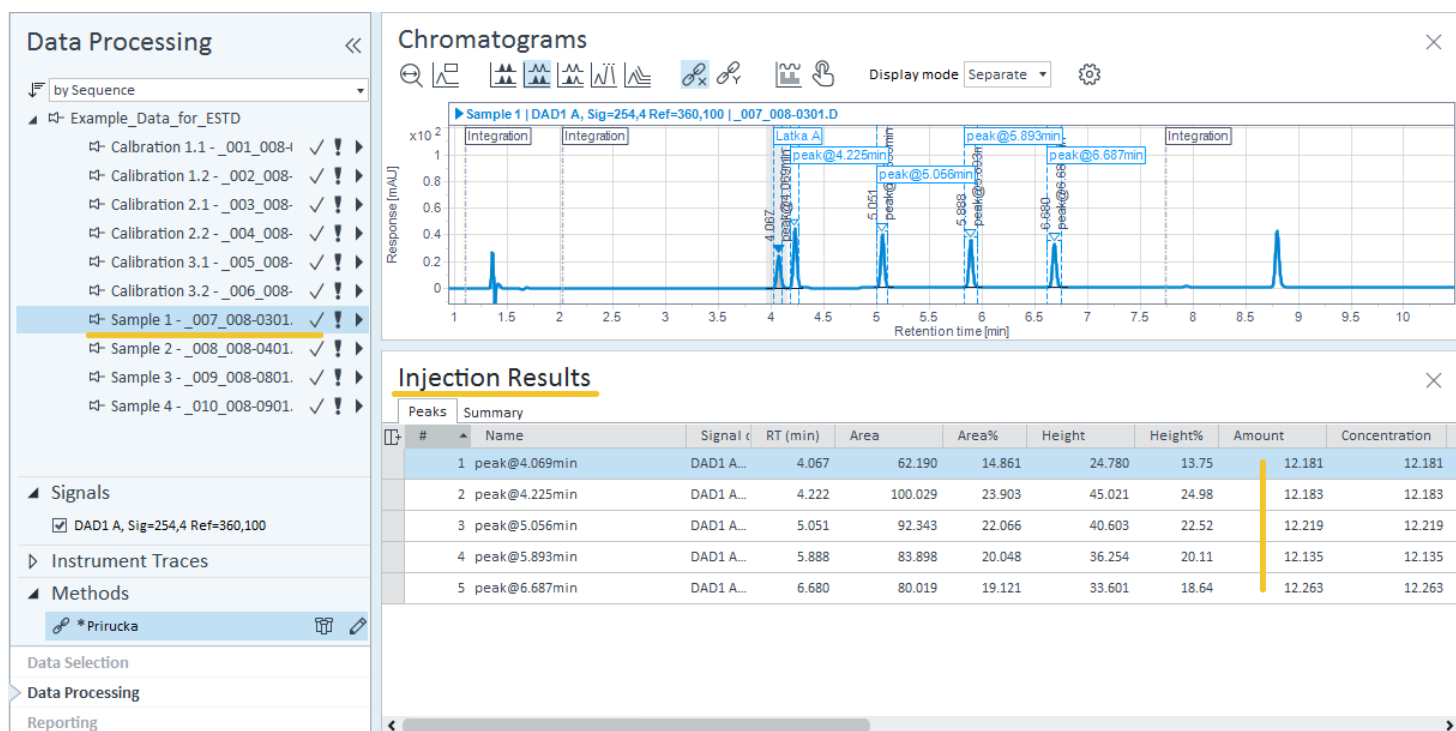
General

#	Type	Name	Multiplier	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
1	🔊	Latka A	1.00000	10.000000000	20.000000000	30.000000000		
2	🔊	peak@4.225min	1.00000	10.000000000	20.000000000	30.000000000		
3	🔊	peak@5.056min	1.00000	10.000000000	20.000000000	30.000000000		
4	🔊	peak@5.893min	1.00000	10.000000000	20.000000000	30.000000000		
5	🔊	peak@6.687min	1.00000	10.000000000	20.000000000	30.000000000		

Pak je možné po **Reprocess All** dostat v okně **Calibration Curve** kalibrační křivku.



V okně **Injection Results** si prohlédněte výsledné hodnoty **Amount**.



### Amount vs. Concentration

Sloupec **Amount** vždy počítá hodnoty odečtené přímo z kalibrační křivky. Sloupec **Concentration** navíc započítává také sloupce **Multiplier** a **Dilution Factor**. Pokud v nastavení **General** povolíme počítání **Calculate Mass %**, aktivuje se přepočít koncentrace na % ze Sample Amount dle vzorce:

$$Concentration = \frac{Amount * Multipliers * Dil. factors}{SampleAmount}$$



**Processing Method**

Properties  
Signals  
Extraction  
Chromatogram  
Spectrum  
Integration Events ChemStation  
Standard  
Advanced  
Manual Integration  
Compounds  
Identification  
**Calibration**  
Spectra

Compound Table **General**

External standard  Internal standard

Number of levels: 5

Curve calculation: From average per level

RF definition: Response per amount

**!** If you change the RF definition, you need to clear your calibration curve otherwise your results will be wrong. Use the "Clear all calibration" RunType for the 1st standard in the injection list to remove the old calibration curve.

Normalize to: 100.00 %  Include ISTD amount

Concentration calculation: Amount \* Multipliers \* Dil. factor  Calculate mass %

**Injection Results**

Peaks Summary

#	Name	Signal	RT (min)	Area	Area%	Height	Height%	Amount	Concentration
1	Latka A	DAD1 A...	4.067	62.190	14.861	24.780	13.75	12.181	40.602 %
2	peak@4.225min	DAD1 A...	4.222	100.029	23.903	45.021	24.98	12.183	40.610 %
3	peak@5.056min	DAD1 A...	5.051	92.343	22.066	40.603	22.52	12.219	40.729 %
4	peak@5.893min	DAD1 A...	5.888	83.898	20.048	36.254	20.11	12.135	40.450 %
5	peak@6.687min	DAD1 A...	6.680	80.019	19.121	33.601	18.64	12.263	40.877 %

Po vypočtení výsledků proveďte uložení pomocí ikony **Save all Results**. Ta uloží data i metody.

### System Suitability

Pro počítání různých chromatografických parametrů je potřeba v metodě v záložce **System Suitability** aktivovat počítání **Column Performance** a **Signal to noise**.

Přidejte si pak pomocí ikony v levém horním rohu požadované sloupce do tabulky **Injection Results**.

**Processing Method**

Advanced  
Manual Integration  
Compounds  
Identification  
Calibration  
Spectra  
**System Suitability**  
Properties  
Column  
Tools  
Custom Calculation  
Reports

Column performance: All peaks

Pharmacopeias:  EP  USP  JP

Signal to noise: All peaks

Noise calculation: P2P

Noise range:  Automatic (On blank recommended for EP)  Fixed from: 2.00 to 3.00 min on current  Relative from: 0.00 to 0.40 min before peak start on blank

**Injection Results**

Peaks Summary

Concentration	Start time (min)	End time (min)	S/N	Symmetry	Tailing	Width 5%	Width 5 Sigma	Width
40.602 %	3.958	4.156	108.06694	0.96504	1.02541	0.083	0.085	0.198
40.610 %	4.157	4.297	196.33500	0.91697	1.07140	0.075	0.077	0.141
40.729 %	4.982	5.157	177.07065	0.92571	1.06531	0.076	0.078	0.175
40.450 %	5.821	5.999	158.10338	0.90880	1.07438	0.078	0.080	0.178
40.877 %	6.613	6.808	146.53373	0.89499	1.07973	0.080	0.082	0.195

### Specifická nastavení

**UV DAD** V případě UV spekter lze použít funkce **UV Purity** a **UV Confirmation factor**. Referenční spektra se ukládají a zůstávají v metodě. Není zde knihovna UV spekter!

**UV Purity** Zapněte počítání **UV Purity** pro všechny píky v metodě v **Compounds -> Spectra**. Přidejte si do tabulky **Injection Results** pole **UV Purity**.

### Processing Method

Advanced  
Manual Integration

- Compounds
- Identification
- Calibration
- Spectra
- System Suitability
- Properties
- Column
- Tools
- Custom Calculation
- Reports

Compound Table   **UV Impurity Check**   UV Confirmation

Calculate UV Purity    None  
 Identified peaks  
 **All peaks**

Lower wavelength [nm]  

Upper wavelength [nm]  

Sensitivity unidentified peaks [%]

### Injection Results

Peaks	Concentration	Start time (min)	End time (min)	UV Purity	S/N	Symmetry	Tailing	Width 5%	Width 5 Sigma
12.181	40.602 %	3.958	4.156	982.25	108.06694	0.96504	1.02541	0.083	0.085
12.183	40.610 %	4.157	4.297	999.72	196.33500	0.91697	1.07140	0.075	0.077
12.219	40.729 %	4.982	5.157	999.17	177.07065	0.92571	1.06531	0.076	0.078
12.135	40.450 %	5.821	5.999	999.93	158.10338	0.90880	1.07438	0.078	0.080
12.263	40.877 %	6.613	6.808	999.67	146.53373	0.89499	1.07973	0.080	0.082

**UV Confirmation factor** Označte si požadovaný standard, ujistěte se, že máte prolínkouvanou správnou metodu, a přidejte v tabulce **Compounds table** pod záložkou **Compounds** -> **Spectra** referenční spektrum, a to pravým tlačítkem myši **Auto extract UV spectra**. Pak si v tabulce **Injection Results** přidejte pole **UV Conf. Match factor** pro zobrazení shody. Projděte si vzorky, abyste viděli, jak se jejich spektra shodují se standardem.

#### Data Processing

by Sequence

- Example\_Data\_for\_ESTD
  - Calibration 1.1 - \_001\_008-010
  - Calibration 1.2 - \_002\_008-020
  - Calibration 2.1 - \_003\_008-050
  - Calibration 2.2 - \_004\_008-070
  - Calibration 3.1 - \_005\_008-100
  - Calibration 3.2 - \_006\_008-110
  - Sample 1 - \_007\_008-0301.D
  - Sample 2 - \_008\_008-0401.D
  - Sample 3 - \_009\_008-0801.D
  - Sample 4 - \_010\_008-0901.D
- Signals
  - DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100
- Instrument Traces
- Methods
  - \* Prirucka

### Processing Method

Advanced  
Manual Integration

- Compounds
- Identification
- Calibration
- Spectra
- System Suitability
- Properties
- Column
- Tools
- Custom Calculation
- Reports

Compound Table   UV Impurity Check   UV Confirmation

#	Type	Name	Impurity sensitivity [%]	UV ref
1	☺	Latka A	50	
2	☺	peak@4.225min	50	
3	☺	peak@5.056min	50	
4	☺	peak@5.893min	50	
5	☺	peak@6.687min	50	

Spectrum at RT: 4.071

94			
----	--	--	--

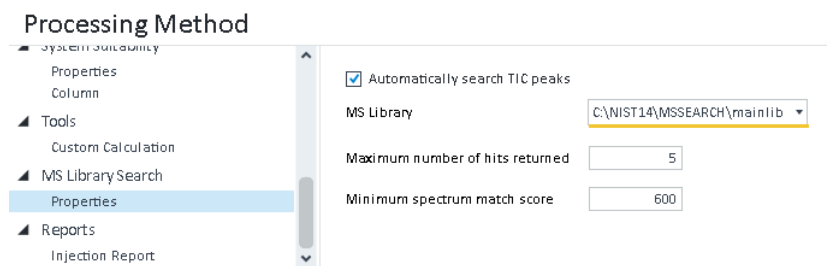
- Copy
- Paste
- Fill down
- Numeric precision...
- Add compound
- Add named group
- Add timed group
- Add/Update MS compound
- Delete selected compound
- Auto extract UV spectra
- Delete selected reference :

### Injection Results

Peaks	Concentration	Start time (min)	End time (min)	UV Conf. Match	S/N	Symmetry	Tailing	Width 5%	Width 5 Sigma
34.457	34.457 %	3.993	4.160	1000	227.96671	0.94942	1.03277		
34.491	34.491 %	4.160	4.307	1000	416.60320	0.92265	1.07346		
34.402	34.402 %	4.990	5.233	1000	393.21957	0.91866	1.06152		
34.398	34.398 %	5.815	6.013	1000	357.88662	0.90822	1.06106	0.078	0.080
34.488	34.488 %	6.607	6.841	1000	332.73770	0.90053	1.06509	0.079	0.081

## MS

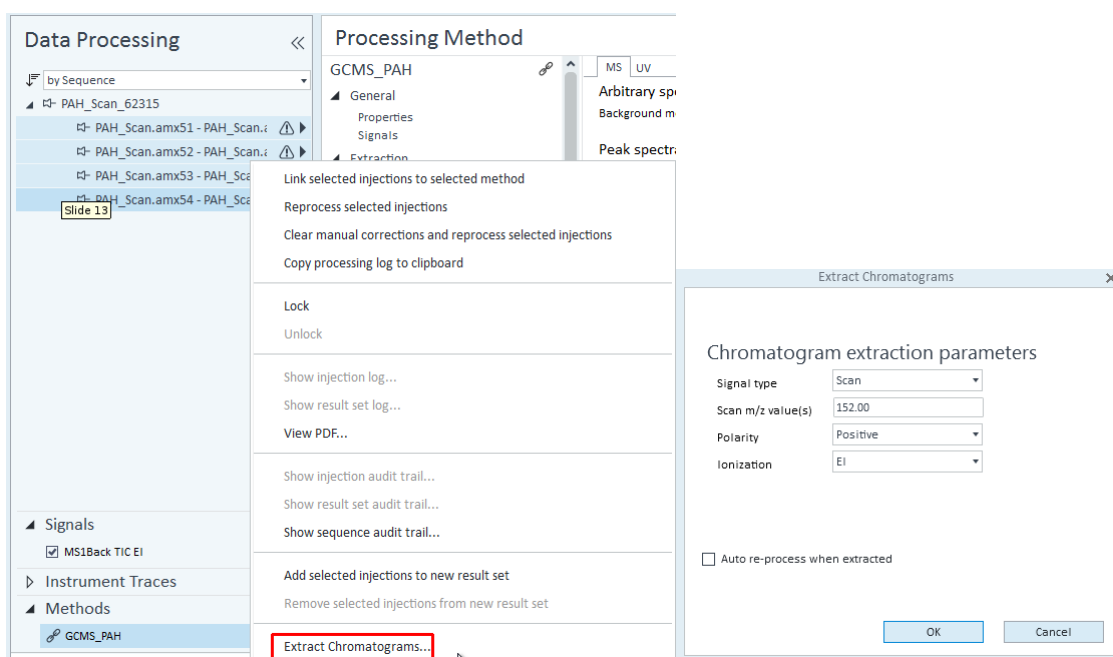
**Kvalitativní analýza** V případě vyhodnocení MS dat je potřeba zvolit typ metody MS. Tímto dostaneme v procesní metodě záložku MS Library, kde můžeme vybrat knihovnu, kterou chceme používat.



Vyhodnocení je naprosto identické s obsahem výše, pouze po integraci si můžeme látky identifikovat ručně a nechat prohledat shodu s knihovnou

nebo použít funkce automatického vyhledání a extrakce chromatogramu pomocí funkce **Add/Update MS Compounds** (klik pravým tlačítkem na seznam analýz).

**Kvantitativní analýza** Kvantita se správně provádí z plochy SIM chromatogramu o dané m/z. Začneme extrakci m/z chromatogramů buď manuálně,



nebo automaticky pomocí **Add/Update MS Compounds**. Nesmíme zapomenout zkontrolovat signály, ze kterých jsou jednotlivé látky kvantifikovány,

Processing Method					
GCMS_PAH					
		Compound Table	Qualifier Setup	General	
#	Type	Name	Signal	Exp	
1		Naphthalene-D8	MS1Back TIC EI		
2		Biphenylene	MS1Back EIC(151.7-152.7) EI		
3		Acenaphthene	MS1Back TIC EI		
4		peak@8.308min	MS1Back TIC EI		
5		2,3-Dihydrofluoranthene	MS1Back TIC EI		
6		Pyrene	MS1Back TIC EI		

doplnit koncentrační hladiny a označit v **Injection Listu** správně standardy. Výsledek po kalibraci dostaneme opět v **Injection Results**, obdobně jako v sekci kalibrace výše.

## Reporting

V záložce reporting můžeme našim výsledkům dodat formu a případně doplnit různé další výpočty a přepočty výsledků. V praxi je možné nahradit excel v téměř 90 % případů.

Jak to funguje?

K dispozici jsou dvě základní okna - Report Editor a Report Preview. Otevřete si obě. V pravém postranním okně označujete reportované analýzy. Buď jednu nebo pomocí držení levého CTRL nebo Shift více analýz. Ty se pak reportují po stisku ikony Refresh Preview.

The screenshot shows the Agilent software interface with two main windows: 'Report Editor - Short\_Estd.rdl' and 'Report Preview'. The 'Report Editor' window displays a 'Single Injection Report' for 'Sample 1'. The report includes a header with the Agilent Technologies logo and a body with a table of metadata and a chromatogram. The metadata table is as follows:

Sample name:	Sample 1	Operator:	SYSTEM
Data file:	007_008-0301.D	Injection date:	2011-03-30 12:44:28+01:00
Instrument:	wat11166	Location:	Vial 8
Ini volume:	5.0	Tune:	Sample
Acq. method:	PERF_N.M	Calib Level:	
Processing method:	*Prirucka.nm	Sample amount:	30.00
Manually modified:	None		

The chromatogram shows a plot of mAU versus time with several peaks labeled: 'A1: 1st peak @ 2.53min', 'A2: 2nd peak @ 3.25min', 'A3: 3rd peak @ 3.83min', 'A4: 4th peak @ 4.38min', and 'A5: 5th peak @ 4.93min'. The 'Report Preview' window on the right shows a summary of the report data, including 'Sample name: Sample 1', 'Data file: 007\_008-0301.D', 'Instrument: wat11166', 'Inj. volume: 5.0', 'Acq. method: PERF\_N.M', and 'Processing method: \*Prirucka.nm'. It also shows a small chromatogram plot.

Podle toho, zda chceme reportovat pouze výsledky z jedné analýzy nebo kombinovat výsledky ze dvou a více analýz, volíme typ reportu - **Single Injection** report nebo **Single Sequence Summary** report. V následujících sekcích si ukážeme, jak vytvořit základní reporty. Všechny vytvořené reporty naleznete v zipu společně s příručkou. Můžete je tak snadno překopírovat do své instalace a používat nebo upravovat dle libosti.

### Single Injection report

Pro první report využijeme výchozí report s názvem **Short\_Estd.rdl**. Nenajdete-li jej v nabídce pod **Report Templates**, opakujte **Import Default Templates** ze sekce **Data Selection** výše. Po otevření reportu dostanete v okně Report Editor vzhled reportu, který lze jakkoliv upravovat. Jednoduchým označením objektu (obdélníčky) lze objekty mazat. Případně chybějící objekty lze přetahováním levým tlačítkem myši brát z pravé nabídky **Report Items**.


#### Příklad:

Na tomto výchozím reportu chceme přepsat název, vyměnit obrázek, smazat některá pole a naopak přidat informaci o Multiplier a Dilution faktorech. Provedeme klikáním a mazáním potřebné úpravy a nová pole přetáhneme z **Report Items > Fields > Sample > Multiplier Factors**.

**Reporting**

- Injection
  - Calibration 1.1 - \_001\_008-0101.D
  - Calibration 1.2 - \_002\_008-0201.
  - Calibration 2.1 - \_003\_008-0501.
  - Calibration 2.2 - \_004\_008-0701.
  - Calibration 3.1 - \_005\_008-1001.
  - Calibration 3.2 - \_006\_008-1101.
  - Sample 1 - \_007\_008-0301.D
  - Sample 2 - \_008\_008-0401.D
  - Sample 3 - \_009\_008-0801.D
  - Sample 4 - \_010\_008-0901.D
- Report Items
  - Search: Enter search text here
  - DA Resp Factor Update
  - DA Retention Time Updat
  - DA Run Types
  - DA Update Interval
  - Description
  - Dilution Factors
  - Expected Barcode
- Report Templates

**Report Editor - Short\_Estd.rdl**

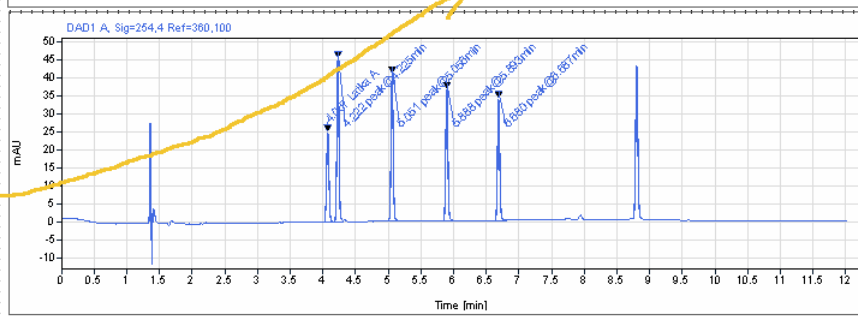
**Chromatogram Report** 

Header


Body

Sample name: Sample 1  
 Data file: 007\_008-0301.D  
 Instrument: wadt1166  
 Inj. volume: 5.0  
 Acq. method: PERF\_N.M  
 Processing method: \*Prirucka.pmx  
 Manually modified: None

Operator: SYSTEM  
 Injection date: 2011-03-30 12:44:28+01:00  
 Location: Vial 8  
 Type: Sample  
 Sample Multipliers: 1;1;1;1

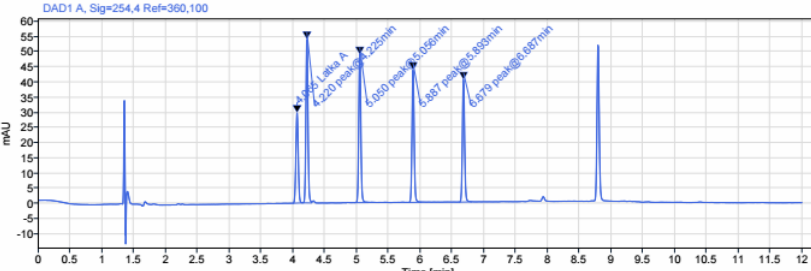


Výsledek máte pak v okně **Report Preview**. Pokud potřebujete přidat/odebrat nějaký sloupec v tabulce, lze to jednoduše kliknutím pravým tlačítkem myši na sloupec a výběrem **Delete column** nebo **Insert new column**. Uložte report. V zipu jej najdete pod názvem **Prirucka\_ESTD.rdl**.

**Chromatogram Report** 

Sample name: Sample 2  
 Data file: \_008\_008-0401.D  
 Instrument: wadt1166  
 Inj. volume: 6.0  
 Acq. method: PERF\_N.M  
 Processing method: \*Prirucka.pmx  
 Manually modified: None

Operator: SYSTEM  
 Injection date: 2011-03-30 12:58:08+01:00  
 Location: Vial 8  
 Type: Sample  
 Sample Multipliers: 1;1;1;1




Signal: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100

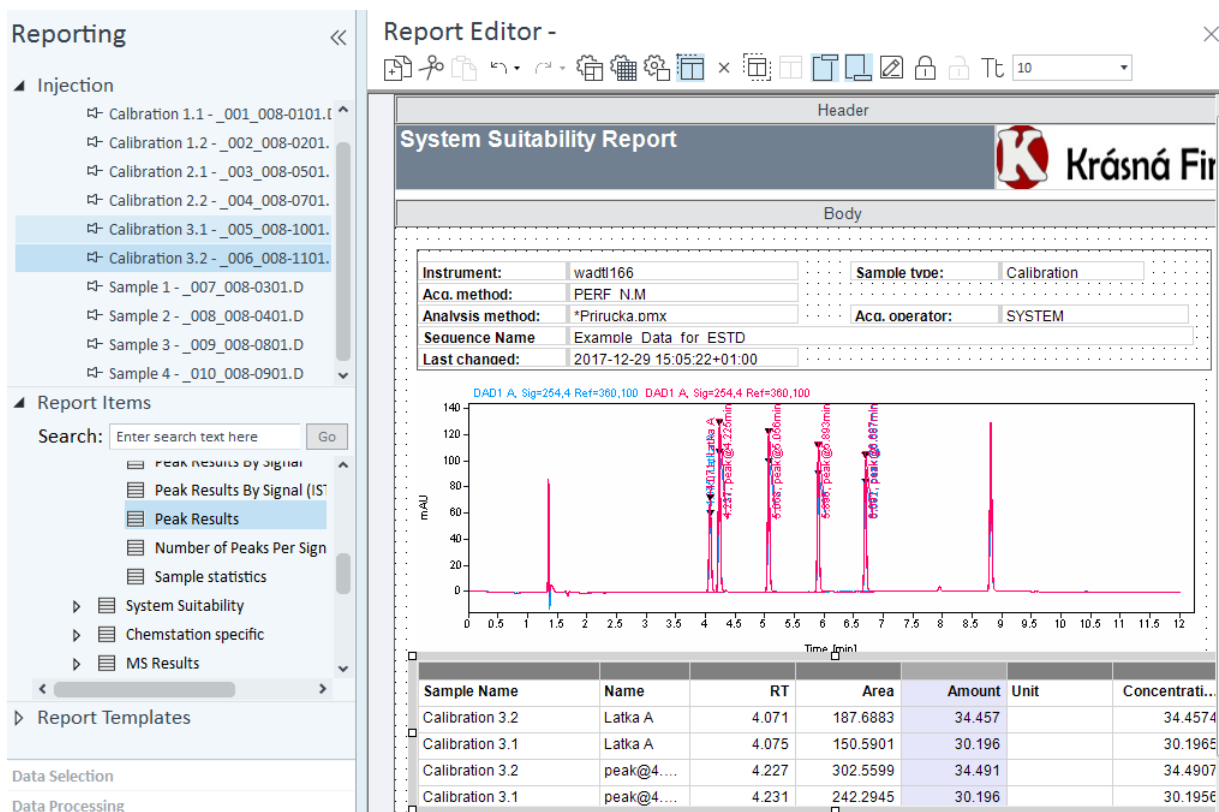
Name	RT [min]	RF	Area	Amount [g]	Concentration [%]	Group
Latka A	4.06	5.186	74.585	14.381	44.940	
peak@4.225min	4.22	8.344	120.143	14.399	44.996	
peak@5.056min	5.05	7.678	111.243	14.488	45.275	

### Sequence Summary Report

V tomto případě budeme používat data z více analýz. Jako první si připravíme report, který dle označených analýz průměruje výsledek plochy/koncentrace a zobrazuje RSD. Můžete jej použít pro opakovatelnost (označte např. 6 nástřiků a dostanete průměry a RSD) nebo při vyhodnocení jednoho vzorku při více nástřicích, zpravidla dvou.

Vytvoříme nový Report pomocí ikony . Vybereme možnost **Single Sequence Summary** a dostaneme čistý report. Změníme název a obrázek a přetáhneme na začátek **Samples > Sample Info Short** a upravíme dle potřeby. Pak přetáhneme do těla reportu objekt **Chromatograms > Multi Signal Plot Overlay** a nakonec tabulku **Tables > Peaks and Compounds > Peak Results**.

Označíme alespoň dvě analýzy a zobrazíme report.



The screenshot shows the 'Report Editor' window. The left sidebar contains 'Reporting' and 'Report Items' sections. The main area displays a 'System Suitability Report' for 'Krásná Fir'. The report includes a header with the company logo, a body with a table of instrument and sample information, a chromatogram plot, and a table of peak results.

**Instrument and Sample Information:**

Instrument:	wadt1166	Sample type:	Calibration
Acc. method:	PERF N.M	Acc. operator:	SYSTEM
Analysis method:	*Prirucka.omx		
Sequence Name	Example Data for ESTD		
Last changed:	2017-12-29 15:05:22+01:00		

**Chromatogram:** A plot showing detector response (mAU) versus time (min). The x-axis ranges from 0 to 12 minutes, and the y-axis ranges from 0 to 140 mAU. Several peaks are visible, with the most prominent ones between 4 and 7 minutes. The plot is titled 'DAD1 A, Sig=254,4 Ref=360,100'.

**Peak Results Table:**

Sample Name	Name	RT	Area	Amount	Unit	Concentrati...
Calibration 3.2	Latka A	4.071	187.6883	34.457		34.4574
Calibration 3.1	Latka A	4.075	150.5901	30.196		30.1965
Calibration 3.2	peak@4....	4.227	302.5599	34.491		34.4907
Calibration 3.1	peak@4....	4.231	242.2945	30.196		30.1956

Vidíme, že v tabulce jsou smíchaný všechny píky, dokonce i neidentifikované. Musíme přejít do vlastností tabulky - pravým tlačítkem myši a **Properties**. V záložce **Peaks and Repeating** vyškrtne neznámé píky a pod **Repeat Table On** vybereme položku **Compound > Name**. Tímto se nám tabulka pěkně roztřídí.

Table Properties - Table\_PeakResults1

Columns

**Peaks and Repeating**

Sorting

Filtering

Grouping

Format

Style

Advanced

### Customize the peaks and repeating properties

Repeat Table On

=Compound\_Name Repeat On Field Properties

Sort On:

=Compound\_Name Ascending

Set Filter On Peak Types

Identified Peaks

Compounds used for quantitation (Main Peak)

Missing Peaks

Unknown Peaks

Remove Duplicate Peak(s)

Area Rejection

Do not report peaks with area less than 0

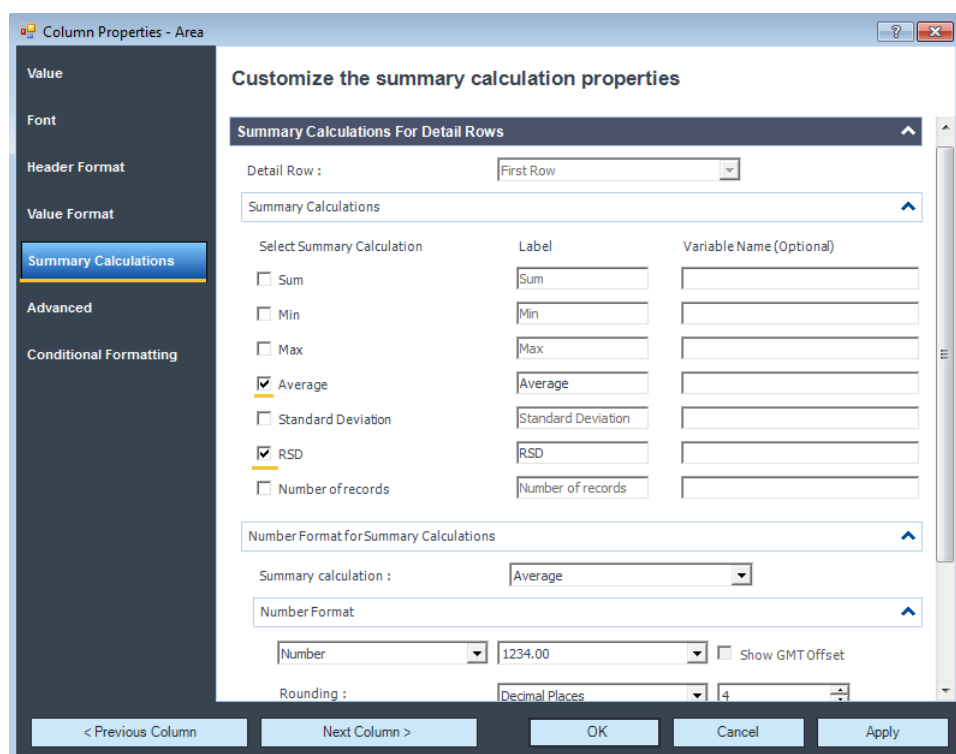
Do not report peaks with area% less than 0

OK Cancel Apply

Compound Name	Latka A				
Sample Name	Name	RT	Area	Amount Unit	Concentration [%]
Calibration 3.2	Latka A	4.071	187.6883	34.457	34.4574
Calibration 3.1	Latka A	4.075	150.5901	30.196	30.1965
Compound Name	peak@4.225min				
Sample Name	Name	RT	Area	Amount Unit	Concentration [%]
Calibration 3.2	peak@4.2 25min	4.227	302.5599	34.491	34.4907
Calibration 3.1	peak@4.2 25min	4.231	242.2945	30.196	30.1956

Nakonec přejdeme do vlastností sloupce, u kterého chceme počítat **Průměr a RSD** - pravým klikem myši -> **Column Properties** a v sekci **Summary Calculations** zapneme počítání

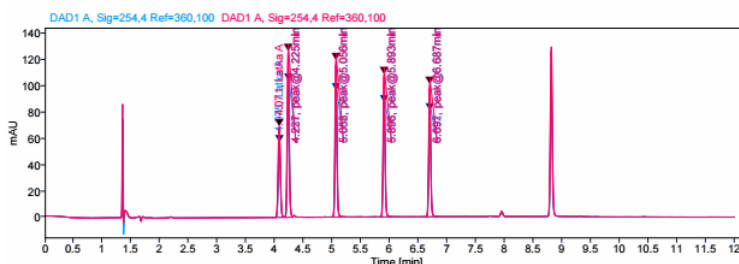
**Average a RSD.**



A výsledek opět zobrazíme v **Report Preview**. Uložte report. V zipu jej najdete pod názvem **Prirucka\_SysSuit.rdl**.

Instrument: wadt1166      Sample type: Calibration  
 Acq. method: PERF\_N.M  
 Analysis method: \*Prirucka.pmx      Acq. operator: SYSTEM  
 Sequence Name: Example\_Data\_for\_ESTD  
 Last changed: 2017-12-29 15:05:22+01:00

Instrument: wadt1166      Sample type: Calibration  
 Acq. method: PERF\_N.M  
 Analysis method: \*Prirucka.pmx      Acq. operator: SYSTEM  
 Sequence Name: Example\_Data\_for\_ESTD  
 Last changed: 2017-12-29 15:05:22+01:00



Compound Name	Latka A				
Sample Name	Name	RT	Area	Amount Unit	Concentration [%]
Calibration 3.2	Latka A	4.071	187.6883	34.457	34.4574
Calibration 3.1	Latka A	4.075	150.5901	30.196	30.1965
		Average	169.1392		
		RSD	15.5094		

V zipu příručky naleznete také **CalibrationTable** report. Ten se používá tak, že označíte všechny kalibrační standardy a zobrazíte report. Dostanete tabulku se všemi standardy, jejich teoretickými koncentracemi a reálnými plochami. **CalibrationCurve** zase po označení posledního standardu ukáže kalibrační křivku se směrnici a koeficientem  $R^{\wedge}2$ .



## Calibration Table per Compounds



**Instrument:** wadt166 **Sample type:** Calibration  
**Acq. method:** PERF\_N.M **Acq. operator:** SYSTEM  
**Analysis method:** \*Prirucka.pmx  
**Sequence Name:** Example\_Data\_for\_ESTD  
**Last changed:** 2017-12-29 15:05:22+01:00

Compound Name	Latka A			
Sample Name	Level	Calib Amount	RT	Area
Calibration 1.1	1	10.000	4.082	37.3579
Calibration 1.2	1	10.000	4.068	49.8530
Calibration 2.1	2	20.000	4.069	86.8032
Calibration 2.2	2	20.000	4.068	112.2919
Calibration 3.1	3	30.000	4.075	150.5901
Calibration 3.2	3	30.000	4.071	187.6883

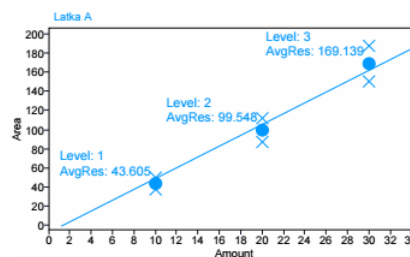
Compound Name	peak@4.225min			
Sample Name	Level	Calib Amount	RT	Area
Calibration 1.1	1	10.000	4.235	59.2781
Calibration 1.2	1	10.000	4.221	80.0910
Calibration 2.1	2	20.000	4.224	140.1595
Calibration 2.2	2	20.000	4.224	180.4457

## Calibration Table per Compounds



**Instrument:** wadt166 **Sample type:** Calibration  
**Acq. method:** PERF\_N.M **Acq. operator:** SYSTEM  
**Analysis method:** \*Prirucka.pmx  
**Sequence Name:** Example\_Data\_for\_ESTD  
**Last changed:** 2017-12-29 15:05:22+01:00

**Compound:** Latka A  
**Signal:** DAD1A  
**Exp. RT:** 4.069  
**Corr. Coeff.:** 0.994720  
**Residual:** 9.18985  
**RF RSD%:**  
**R<sup>2</sup>:** 0.98947  
**Formula:**  $y = ax + b$   
**a:** 5.63360  
**b:** -6.43090  
**c:** 0.00000  
**d:**



**Compound:** peak@4.225min

Další typy reportů, jako i speciální výpočty s proměnnými a parametry se lze naučit na externích školeních pořádaných společností HPST, s.r.o., několikrát v roce. Aktuální informace naleznete na <http://hpst.cz>.