

PharmaHemp d.o.o., Koprška ulica 106C, SI-1000 Ljubljana, Slovenija		PharmaHemp®
NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS		
Veljavno od:	Veljavno do:	Šifra: NZD-LAB-008
		Verzija: 03
		Priloge: 2
Izdelal: Marko Dragan	Pregledal: Dr. Boštjan Jančar	Odobril: Tine Lavrič

POVZETEK SPREMEMB

Verzija	Opis
01	Prva izdaja
02	Sprememba oznake in imena dokumenta ter dopolnjene odgovornosti.
03	Posodobljene odgovornosti osebja zaradi novega delovnega mesta JLM. Dopolnitev postopka dela z natančnejšo obravnavo v poglavju 4.

RAZLAGA KRATIC IN POJMOV

NZD	Navodila za delo
CDS	Podatkovni sistem za kromatografijo (Chromatography Data System)
CMS	Informacijski sistem analitskih laboratorijev
HPLC	Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti
SOP	Standardni operativni postopek

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03

KAZALO

1.	NAMEN IN PODROČJE UPORABE	3
2.	ODGOVORNOSTI.....	3
3.	OSNOVNA OKNA PROGRAMSKE OPREME OPENLAB CDS	3
3.1	Prijava v program OpenLab	3
3.2	Osnovni pogled z nastavitvami programske opreme.....	3
3.3	Instrumentalni pogled	4
3.4	Pogled za obdelavo podatkov	4
4.	UPORABA PROGRAMSKE OPREME OPENLAB CDS	5
4.1	Nastavitev parametrov metode	5
4.2	Nadzor HPLC sistema	6
4.3	Priprava HPLC sistema na analizo	8
4.4	Priprava na analizo - pisanje sekvence	8
4.5	Kalibracija metode s certificiranimi referenčnimi standardi.....	9
4.6	Možnost injiciranja »single run«	10
4.7	Integracija vzorcev	10
4.8	Prepis rezultatov koncentracij kanabinoidov	11
4.9	Pregled in podpis rezultatov	12
4.10	Pregled rezultatov	12
4.11	Odstranitev podpisa kromatograma.....	12
5.	VLOGE UPORABNIKOV V PROGRAMSKI OPREMI OPENLAB CDS.....	13
6.	REFERENCE	13
7.	PRILOGE	13

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03

1. NAMEN IN PODROČJE UPORABE

Namen tega navodila za delo je opisati osnovno uporabo programske opreme OpenLAB CDS, ki jo uporabljamo za delo na instrumentu HPLC1. Programska oprema se uporablja skladno z dokumentoma MET-LAB-001 - Quantitative determination of cannabinoids by reverse phase chromatography in NZD-LAB-002 - Navodilo za delo s sistemom za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) Infinity II Agilent. Bolj podrobno in napredno uporabo programske opreme opisuje priročnik »Agilent OpenLAB Chromatography Data System (CDS) EZChrom Edition«.

2. ODGOVORNOSTI

Seznanitev in odgovornosti osebja so povzete v spodnji preglednici.

Tabela 1: Odgovornosti osebja za ravnanje s programsko opremo OpenLAB CDS

ODGOVORNOST	ALT	JLM	MAN/LAB	CDO/LAB
Seznanjenje in upoštevanje navodil za ravnanje s programsko opremo OpenLAB CDS	Z	Z	Z	I
Dodelitev profilov uporabnikov in določevanje pravic	I	S	Z	I
Uporaba programske opreme OpenLAB CDS	Z	Z	Z	I

ODGOVORNE FUNKCIJE	OZNAKA
Analytical Laboratory Technician	ALT
Junior Laboratory Manager	JLM
Analytical Laboratory Manager	MAN/LAB
Chief Department Officer/LAB	CDO/LAB

OBSEG ODGOVORNOSTI	OZNAKA
Zadolžen	Z
Sodeluje	S
Informiran	I

Funkcije posameznega osebja v analitskih laboratorijih so bolj podrobno opredeljene v dokumentu SOP-LAB-009 - Delovne naloge, odgovornosti in pooblastila.

3. OSNOVNA OKNA PROGRAMSKE OPREME OPENLAB CDS

V OpenLAB-u so ustvarjeni različni uporabniški profili, s katerimi nadziramo pravice in omejitve uporabnikov ter tako omogočamo le spremembe, za katere so določeni uporabniki usposobljeni. S prijavo v program zagotavljamo, da ima uporabnik na voljo le pravice, ki so za njega potrebne in za katere je tudi ustrezno usposobljen. Za določitev pravic uporabnikov je odgovoren MAN/LAB.

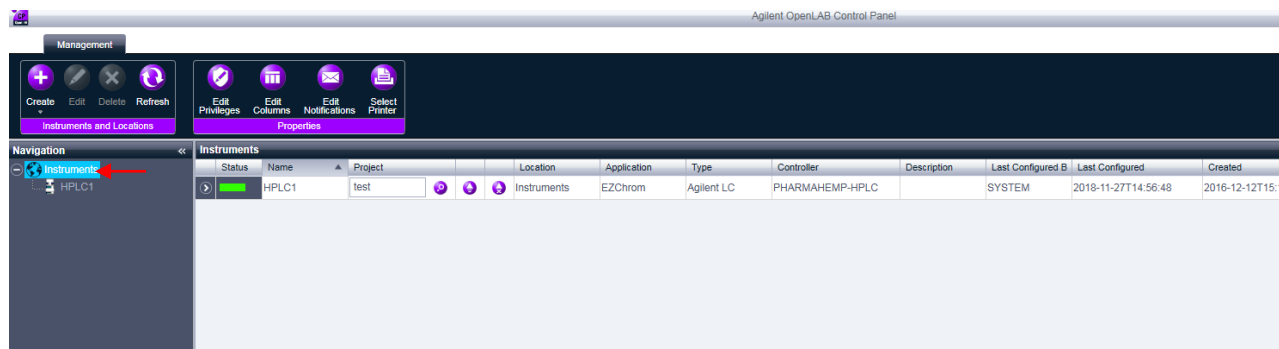
3.1 Prijava v program OpenLab

Prijava uporabnika v programsko opremo poteka preko prijavnega okna, kjer uporabnik vpiše svoje uporabniško ime in geslo. Po poteku **15 min** ali več neaktivnosti se uporabniški račun v aplikaciji zaklene in tako prepreči nepooblaščen uporabo programske opreme. Na ta način zagotavljamo kontrolirano uporabo in preprečujemo nedovoljeno poseganje v podatkovno bazo.

3.2 Osnovni pogled z nastavitvami programske opreme

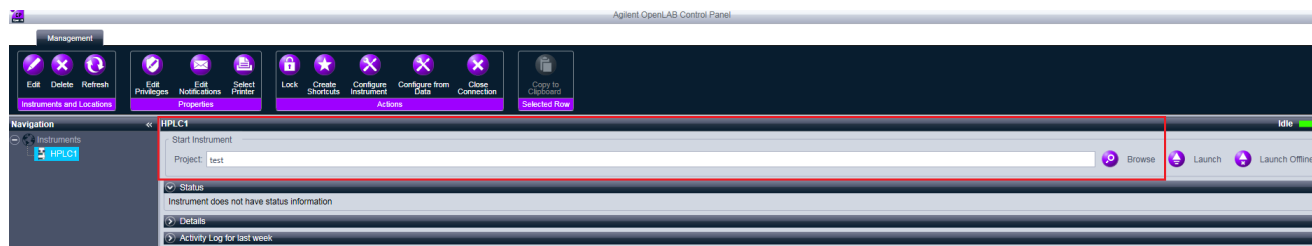
Po prijavi uporabnika v programski paket se nam na zaslonu prikaže osnovni pogled z nastavitvami programske opreme. Pri osnovni uporabi uporabnik preklaplja med sistemi HPLC (v kolikor bi jih bilo več) in med projekti, v katerih so shranjeni kromatografski podatki. Vse ostale nastavitve in možnosti se uporabljajo pri napredni uporabi programske opreme.

Gumb za izbiro sistema HPLC se nahaja v levem zgornjem kotu osnovnega pogleda, kot je prikazano na spodnji sliki. Pred prijavo v »Instrumentalni pogled« ali »Pogled za obdelavo podatkov« je potrebno izbrati HPLC sistem, na katerem smo ali pa želimo posneti kromatografske podatke.



Slika 1: Izbira sistema HPLC1 (prikazano z rdečo puščico)

Po izbiri sistema HPLC1 je potrebno izbrati še projekt, v katerem želimo delati. V izbranem polju se nahaja zadnji projekt, v katerem je bila zabeležena sprememba, v primeru pa da ga želimo zamenjati, pritisnemo na gumb »Browse«, pri čemer se nam odpre pojavno okno za izbiro projekta. Izbiro potrdimo s klikom na ikono projekta.



Slika 2: Izbira projekta v katerem želimo izvesti analizo ali obdelati kromatografske podatke (v rdečem okvirju)

Po izbiri projekta imamo na voljo dva gumba, ki odpirata navidezno enako pojavno okno v projektu. S pritiskom na gumb »Launch« odpremo instrumentalni pogled, ki nam omogoča kontrolo nad sistemom ter s tem zaganjanje analiz. Gumb deluje le v primeru, ko je HPLC sistem vključen. Pogled nam omogoča tudi obdelavo kromatografskih podatkov, vendar le takrat, ko ne analiziramo vzorcev. S pritiskom na gumb »Launch Offline« pa pridemo v pogled za obdelavo podatkov, ki nam omogoča obdelavo podatkov, ne glede na to, ali je instrument vključen ali morebiti deluje. V tem pogledu ne moremo kontrolirati ali spreminjati instrumentalnih parametrov.

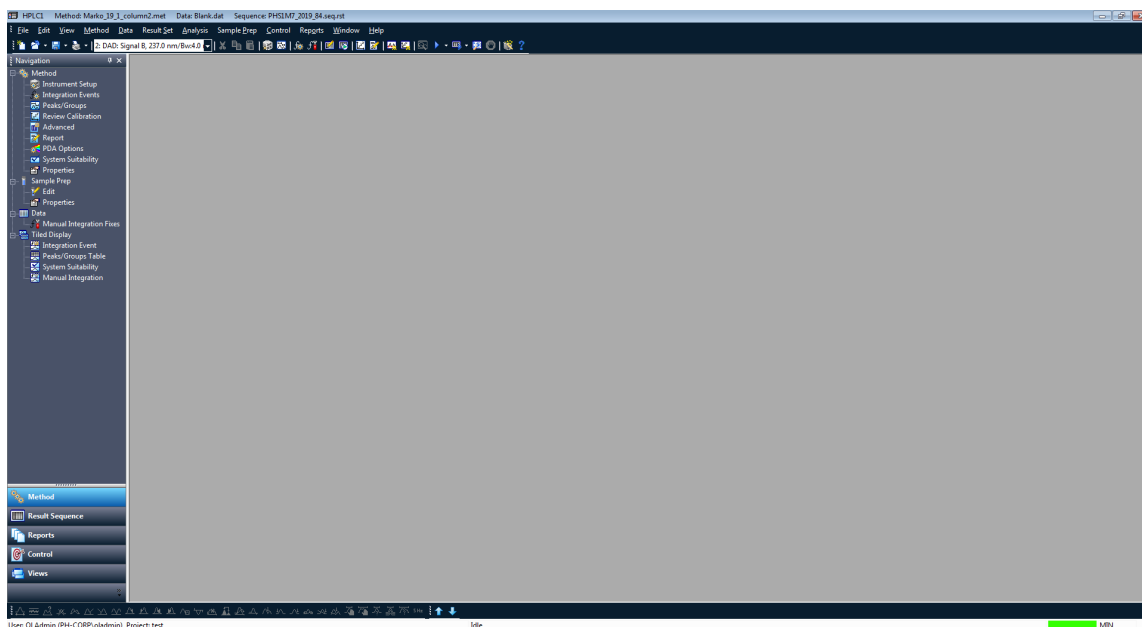
3.3 Instrumentalni pogled

V instrumentalnem pogledu se nam lahko prikazujejo različna podokna glede na izbor v vrstici na vrhu okna. Na levi strani okna se nahajajo tako imenovane hitre tipke, ki so namenjene hitremu dostopu do najpogostejših funkcij. Vse funkcije na levi strani so na voljo tudi v vrsticah na vrhu okna. V instrumentalnem pogledu lahko dostopamo in urejamo vse parametre, predstavljene v poglavju 4; vendar le ko HPLC sistem ni v uporabi. V primeru da je HPLC sistem v uporabi, se poslužujemo pogleda za obdelavo podatkov.

3.4 Pogled za obdelavo podatkov

Pogled za obdelavo podatkov je enak instrumentalnemu pogledu in ga uporabljamo v primeru poteka analize na HPLC sistemu, saj nam je takrat obdelava podatkov v instrumentalnem pogledu onemogočena. V pogledu za obdelavo podatkov ne moremo nadzirati sistema HPLC ali spreminjati instrumentalnih parametrov.

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03



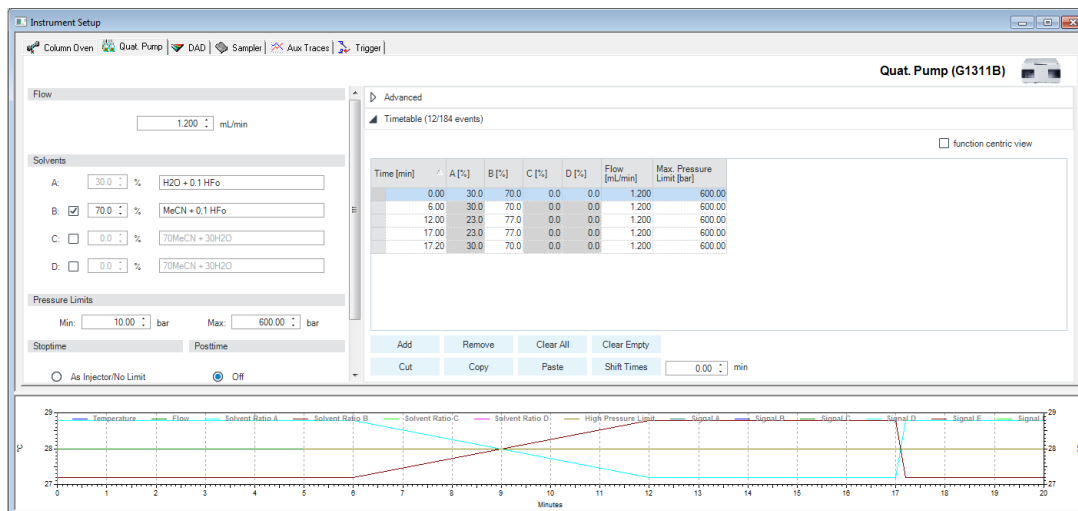
Slika 3: Pogled v instrumentalnem pogledu ali pogledu za obdelavo podatkov

4. UPORABA PROGRAMSKE OPREME OPENLAB CDS

Funkcije osebja v LAB so v programski opremi natančno definirane s strani vodje laboratorija in pregledane s strani osebja zagotavljanja kakovosti. Določene funkcije za urejanje so omogočene le vodji laboratorija in njegovemu namestniku, nekatere pa samo pooblaščenim serviserjem in se uporabljajo pri servisnih posegih ali rednih letnih kvalifikacijah inštrumenta. Funkcije, ki jih uporabljamo ob rutinskem delu, so podane v spodnjih podpoglavjih, dodatne pa so obrazložene v priročniku za napredno uporabo. Opis vlog in omejitev posameznih nivojev uporabnikov so opisane v priročniku za napredno uporabo.

4.1 Nastavitev parametrov metode

Posamezno metodo lahko urejamo tako v instrumentalnem kot tudi pogledu za obdelavo podatkov. Po prijavi v projekt na vrhu izberemo »File« in nato »Open - Method«. Odpre se nam okno, v katerem izberemo metodo, ki jo želimo urejati. Nato pod »Method« - »Instrument Setup« odpremo spodnji pogled, v katerem lahko urejamo parametre za posamezno komponento HPLC sistema.



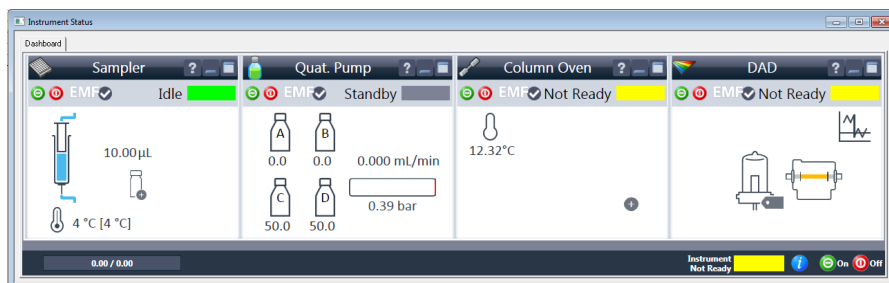
Slika 4: Pogled za spreminjanje parametrov metode

Pri analizah na HPLC1 sistemu uporabljamo projekt in metode glede na vrsto analiz. V metodi na sistemu HPLC1 je tako instrumentalna metoda kot tudi procesirna metoda. Vsako spremembo v metodi je potrebno ustrezno obrazložiti, vse spremembe pa se hranijo v zgodovini sprememb ter so vedno na voljo za pregled. V dnevnik izvedbe metod oziroma postopkov za določevanje vsebnosti kanabinoidov je potrebno vedno vpisati metodo, ki smo jo uporabljali v programski opre.

Za razvojne in druge aktivnosti vedno uporabljamo drug projekt, kot za akreditirane aktivnosti v LAB. Glede na tip aktivnosti pa lahko v programski opre dodamo ločene projekte, ki nam olajšajo pregled izvedenih LAB aktivnosti.

4.2 Nadzor HPLC sistema

HPLC sistem nadzorujemo preko vmesnika za nadzor HPLC sistema, ki ga odpremo preko menija v zgornji vrstici, tako da kliknemo na »Control« in nato na »Instrument status«. Do nabora lahko pridemo tudi preko bližnjice na levi strani zaslona (gumb »Control« se nahaja na enem izmed zavihkov). Po kliku na polje »Instrument status« se nam odpre pogled na spodnji sliki.

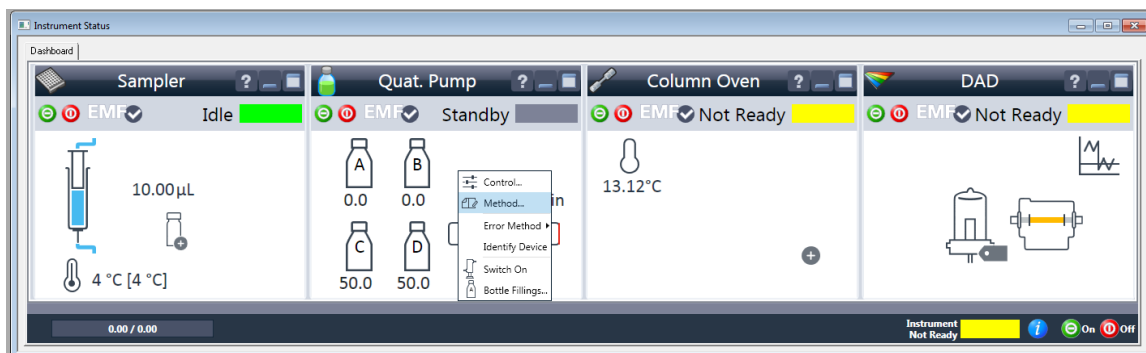


Slika 5: Vmesnik za nadzor HPLC sistema

Vmesnik vsebuje 4 podokna, ki kontrolirajo vsako izmed komponent sistema (»Sampler«, »Quat. Pump«, »Column Oven«, »DAD«). V zgornjem levem kotu vsake komponente se nahajata gumba za vklop in izklop komponente, komponento pa lahko vključimo tudi preko desnega klika in gumba »Control«. Ob pritisku na zeleni gumb ON se komponenta prižge s konfiguracijo, ki je nastavljena v metodi, ki je trenutno odprta (trenutno izbrana metoda je prikazana na vrhu okna - napis »Method: ____«). V primeru, da ni izbrana nobena izmed metod, ostane komponenta pripravljena za uporabo in se konfigurira takoj po izboru metode.

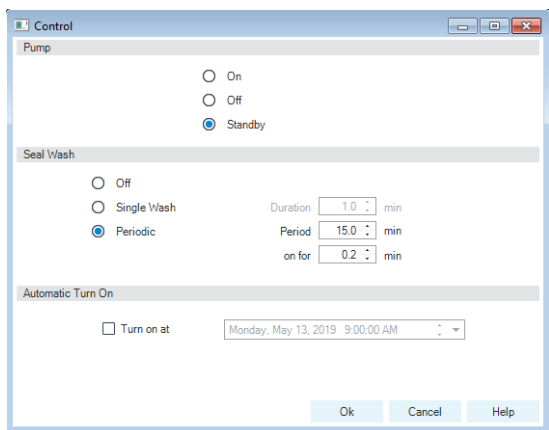
Metodo lahko izberemo tako, da na vrhu strani kliknemo na meni »File« in nato izberemo možnost »Open → Method«. Odpre se nam pojavno okno, v katerem izberemo želeno metodo.

Pri rutinskem delu spreminjamo le konfiguracijo kvartarne črpalke. Spodnja slika prikazuje nabor funkcij, ki so nam na voljo pri desnem kliku na komponento.



Slika 6: Nabor funkcij komponente "Quat Pump«

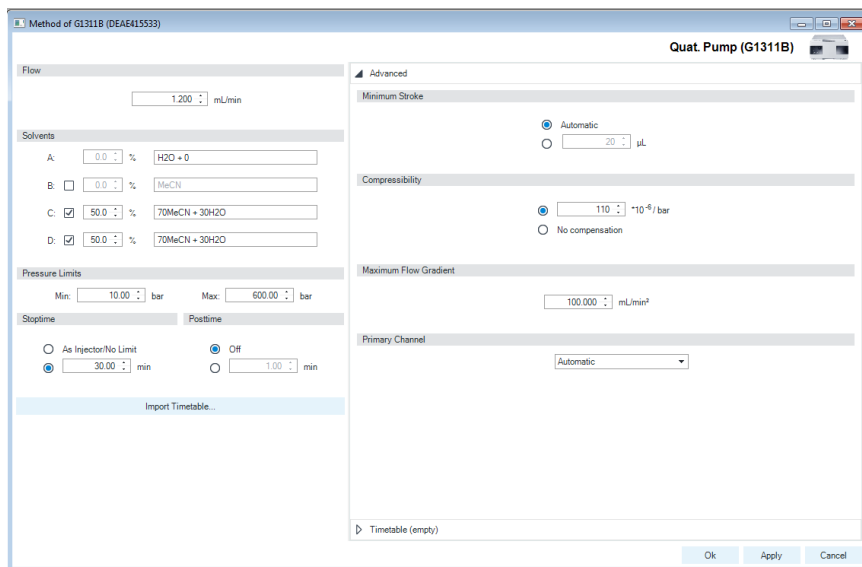
S klikom na gumb »Control...« se nam odpre pojavno okno, prikazano na spodnji sliki.



Slika 7: Nabor funkcij v pojavnem oknu »Control...«

Na vrhu pojavnega okna je možnost vklopa ali izklopa komponente. Izbor »Standby« pomeni, da se komponenta avtomatsko vklopi pri prenosu metode (»Download method«). Na sredini je možnost vklopa »Seal Wash« za spiranje batnih tesnil črpalke. Pravilna konfiguracija je prikazana na sliki in jo je potrebno vedno potrditi, saj se po vsakem fizičnem izklopu (pritisk na tipko ON/OFF na komponenti HPLC sistema) konfiguracija povrne v prvotno stanje, torej brez funkcije spiranja. Na dnu pojavnega okna je časovna možnost vklopitve komponente, ki je pri rutinskem delu ne uporabljamo. Po izboru pravilne konfiguracije za spiranje batnih tesnil črpalke okno zapremo s klikom na polje »Ok«.

S klikom na gumb »Method...« pa se nam odpre pojavno okno, prikazano na spodnji sliki.



Slika 8: Nabor funkcij v pojavnem oknu »Method...«

Funkcije na levi strani zgoraj uporabljamo le pri spiranju posameznega ali več kanalov (glej poglavje 4.3). Pod poljem »Flow« nastavimo pretok na HPLC sistemu (v ml/min). Pod napisom »Solvents« pa so na voljo 4 kanali (A in B uporabljamo za mobilni fazi A in B; kanala C in D pa uporabljamo za spiranje kolone z raztopino 70 % ACN). Ob posameznemu kanalu je polje za izbor ☐, v katerega kliknemo (prikaže se kljukica) ter polje, v katerem definiramo % črpanja posameznega kanala. V prikazani konfiguraciji na sliki črpalka črpa raztopino iz kanala C in D v razmerju 1:1.

Meni na desni strani prikazuje mešanje mobilnih faz glede na čas (gradientni pretok raztopin na črpalki), na spodnji strani pa se s klikom na gumb »Advanced« nahajajo napredne možnosti. S spremembo vrednosti v polju »Maximum Flow Gradient« iz 100 mL/min² v 0.1 mL/min² preprečimo nagle spremembe v pretoku, ki bi lahko poškodovale kolono. Po spremembi polja kliknemo na gumb »Ok« in s tem zapremo pojavno okno. Pomembno je, da spremembo potrdimo pred vklopom črpalke. Z izbrano konfiguracijo ob vklopu črpalke na pretok 1.2 ml/min slednji enakomerno narašča s pospeškom 0.1 ml/min².

4.3 Priprava HPLC sistema na analizo

Pred zagonom sekvence je potrebno HPLC sistem pripraviti na pogoje analize. V primeru menjave mobilne faze na enem ali obeh kanalih A ali B ter ob menjavi raztopine za spiranje kolone na kanalu C in D je potrebno tisti kanal, pri katerem smo zamenjali raztopino tudi odzračiti. To naredimo tako, da na HPLC sistemu odpremo »purge« ventil, ter za posamezni kanal nastavimo vrednost 100% in pretok 5 ml/min (glej poglavje 4.2). Potrdimo izbiro in prižgemo črpalko ter pustimo na pretoku 5 ml/min vsaj 3 min, da se morebitni zračni mehurčki na kanalu odzračijo. Postopek ponovimo na vseh kanalih na katerih smo zamenjali raztopino v steklenici. Po postopku ustavimo pretok in na sistemu zapremo »purge« ventil. Sistem je pripravljen za nadaljnjo uporabo.

4.4 Priprava na analizo - pisanje sekvence

Sekvenca je nabor vseh injiciranj v eni analizi in jo delimo na injiciranje kontrolnih vzorcev in vzorcev. Pri pisanju sekvence vedno izhajamo iz odobrene predloge, v kateri se že nahaja vrstni red injiciranj in vsi potrebni podatki za kontrolne vzorce, s katerimi potrjujemo ustreznost analize. Sekvenco lahko pišemo tako v instrumentalnem kot tudi pogledu za obdelavo podatkov (slednjo lahko zaženemo le v instrumentalnem pogledu). Do odobrene predloge pridemo tako, da kliknemo na polje »File« in nato »Open → Sequence«. Odpre se nam pojavno okno v katerem izberemo predhodno shranjeno in odobreno predlogo z imenom »Template«. Primer take predloge je prikazana na spodnji sliki.

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS



Šifra: NZD-LAB-008

Verzija: 03

Run #	Status	Run Type	Level	Custom Parameters	Reps	Vial	Volume	Sample ID	Method	Filename	Sample Amt.	Multiplier
1	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A1 Use Method	Blank1_1		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	Blank1_1.dat	100	1
2	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A1 Use Method	Blank1_2		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	Blank1_2.dat	100	1
3	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A2 Use Method	LOQ 06		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	LOQ 06.dat	100	1
4	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A3 Use Method	QCS 07 10x		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	QCS 07 10x.dat	100	39450.6
5	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A4 Use Method	QCS 07_1		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	QCS 07_1.dat	100	1
6	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A5 Use Method	REF STD 04 40xR		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	REF STD 04 40xR.dat	100	1
7	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A6 Use Method	CRM STD 06		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	CRM STD 06.dat	100	1
8	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A1 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
9	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A2 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
10	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A3 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
11	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A4 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
12	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A5 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
13	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A6 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
14	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A7 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
15	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A8 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
16	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A9 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
17	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A10 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
18	Unknown	0 Unconfigured			1	P1A11 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
19	Unknown	0 Unconfigured			1	P1B1 Use Method			DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met		0	1
20	Unknown	0 Unconfigured			1	P2A4 Use Method	QCS 07_2		DLBackup\Projects\PHL_RPC_12C_2022\Method\MET-LAB-001-06_maj_2022_column4.met	QCS 07_2.dat	100	1

Slika 9: Predloga iz katere izhajamo pri pisanju sekvence

V sekvenco moramo vpisati imena vzorcev ter vse potrebne podatke o vzorcu:

- **Vial:** V ta stolpec vpišemo mesto vzorca v avtomatskem vzorčevalniku. Napis je razdeljen na dva dela; P1/P2 pomeni številka pladnja nato pa je s črko definiran stolpec, s številko pa vrstica posameznega pladnja.
- **Sample ID:** Zaporedna številka vzorca, v primeru da je slednji redčen mu dodamo oznako _10xR ali _20xR (primer 3100_10xR za 10x redčen vzorec)
- **Filename:** Sample ID, ki ima pripono .dat
- **Sample Amt.:** V stolpec vpišemo maso vzorca v miligramih, ki jo prepisemo iz laboratorijskega dnevnika analiz. Prepis tega podatka je kritičen parameter in mora biti preverjen s strani druge pooblaščen osebe. Po pregledu prepisa pregledovalec to zabeleži v laboratorijski dnevnik analiz. Podatek mora biti vpisan z uporabo pike, brez enote (primer: 99.5)
- **Multiplier 3:** Pri vseh vzorcih je pred nastavljena vrednost 10 - izračun za vsebnost v 1 g vzorca = $100 \text{ mg} * 10 = 1000 \text{ mg} = 1 \text{ g}$. V primeru uporabe 10 ml bučke ga nastavimo na 100 - izračun za vsebnost v 1 g vzorca = $10 \text{ mg} * 100 = 1000 \text{ mg} = 1 \text{ g}$.
- **Multiplier 1:** Izpolnimo le v primeru gravimetričnega redčenja izhodnega vzorca (pred nastavljena vrednost je 1). Pri gravimetričnem redčenju v polje Multiplier 1 vpišemo maso celotne raztopine (mg).
- **Dilutor 1:** Izpolnimo le v primeru gravimetričnega redčenja izhodnega vzorca (pred nastavljena vrednost je 1). Pri gravimetričnem redčenju v polje Dilutor 1 vpišemo maso vzorca pred redčenjem (mg).
- **Multiplier 2:** Izpolnimo le v primeru ponovnega gravimetričnega redčenja. Vzorec pripravljamo iz že 10x redčene raztopine izhodnega vzorca. V polje vpišemo maso celotne raztopine po ponovnem redčenju.
- **Dilutor 2:** Izpolnimo le v primeru ponovnega gravimetričnega redčenja. Vzorec pripravljamo iz že 10x redčene raztopine izhodnega vzorca. V polje vpišemo maso vzorca, ki je predhodno že 10x redčen.

Ko so vsi podatki o vzorcu vpisani v sekvenco, le-to shranimo z imenom analize (ime je identično kot se analiza imenuje v laboratorijskem dnevniku). To naredimo tako, da kliknemo na »File → Save as → Sequence...«. Odpre se nam okno v katerega vpišemo ime analize in izbor potrdimo z gumbom »OK«.

4.5 Kalibracija metode s certificiranimi referenčnimi standardi

V primeru potrebe po ponovni kalibraciji metode pripravimo raztopine certificiranih referenčnih standardov z znano vsebnostjo in zaženemo sekvenco za kalibracijo z ustreznimi nastavitvami. Re-injiciramo lahko tudi že pripravljene raztopine, pri tem pa primerjamo površine s predhodnimi, da se prepričamo, da ni prišlo do morebitne razgradnje standardov ali izhlapevanja topila.

Primer kalibracijske sekvence je prikazana na spodnji sliki. Pomembno je, da raztopine po injiciranju vedno sledijo od najnižje do najvišje koncentracije.

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS



Šifra: NZD-LAB-008

Verzija: 03

Run #	Status	Run Type	Level	Vial	Volume	Sample ID	Method	Filename	Sample Amt.	Multiplier 1	Multiplier 2	Multiplier 3	Dilutor 1	Dilutor 2
1		CAL CCA												
2	Calibration	P2-B1 Use Method	1	CAL7N 0.3		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 0.3 dal		1	1	1	1	1	1
3	Calibration	P2-B2 Use Method	2	CAL7N 0.9		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 0.9 dal		1	1	1	1	1	1
4	Calibration	P2-B3 Use Method	3	CAL7N 1.8		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 1.8 dal		1	1	1	1	1	1
5	Calibration	P2-B4 Use Method	4	CAL7N 3.6		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 3.6 dal		1	1	1	1	1	1
6	Calibration	P2-B5 Use Method	5	CAL7N 7.3		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 7.3 dal		1	1	1	1	1	1
7	Calibration	P2-B6 Use Method	6	CAL7N 14.7		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 14.7 dal		1	1	1	1	1	1
8	Calibration	P2-B7 Use Method	7	CAL7N 30		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL7N 30 dal		1	1	1	1	1	1
9	Calibration	P2-C1 Use Method	1	CAL3A 0.3		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 0.3 dal		1	1	1	1	1	1
10	Calibration	P2-C2 Use Method	2	CAL3A 0.9		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 0.9 dal		1	1	1	1	1	1
11	Calibration	P2-C3 Use Method	3	CAL3A 1.8		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 1.8 dal		1	1	1	1	1	1
12	Calibration	P2-C4 Use Method	4	CAL3A 3.6		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 3.6 dal		1	1	1	1	1	1
13	Calibration	P2-C5 Use Method	5	CAL3A 7.3		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 7.3 dal		1	1	1	1	1	1
14	Calibration	P2-C6 Use Method	6	CAL3A 14.7		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 14.7 dal		1	1	1	1	1	1
15	Calibration	P2-C7 Use Method	7	CAL3A 30		PHL_RPC_10C_validated.met	CAL3A 30 dal		1	1	1	1	1	1
16	Shutdown	P1-A1 Use Method	0	SPIRANJE		Bozjan15.net	SPIRANJE dal		1	1	1	1	1	1

Slika 10: Primer sekvence za kalibracijo metode

Pomembno je, da je prvi standard injiciran kot »Clear all calibration« pod zavihkom »Run Type«, saj se s to funkcijo izbriše zadnja kalibracija metode. Vedno injiciramo CAL_N standarde pred CAL_A standardi in začnemo s standardom z najnižjo koncentracijo. Z izpolnjenim nivojem (»Level«) od 1 do 7 programu povemo korake za kalibracijo. V primeru, da želimo iz kalibracije odstraniti katerikoli standard (za namen razvoja metode) zamenjamo oznako nivoja na številko 0 (»Level 0«) in ponovno procesiramo sekvenco. Sistem bo standard z oznako nivoja 0 smatral kot navadni vzorec in ga ne bo upošteval pri kalibraciji.

Pred zagonom sekvence je pomembno, da standardu dodamo točno koncentracijo (glede na gravimetrično pripravo). To naredimo tako, da v meniju »Method« kliknemo na »Peak / Groups Tables« in v polja »Level 1« do »Level 7« vpišemo točno koncentracijo posameznega standarda v µg/ml (cca od 0.3 do 30 µg/ml), primer je prikazan na spodnji sliki. Po kalibraciji metode preverimo Retencijske čase kromatografskih vrhov in po potrebi spremenimo Retencijske čase v metodi (zavihek »Ret.« na spodnji sliki).

Peak / Group Tables -- DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm Ref 360.0 nm/Bw:100.0 nm																	
Named Peaks		Groups															
#	Name	Ret.	Window	Units	Analysis Channel	Quantitate	Fit Type	Zero	Calb Flag	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5	Level 6	Level 7	
1	☒ CBDV	3.874	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.93	1.86	3.71	7.39	14.78	29.51	
2	☒ CBDA	5.278	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Replace	0.3	0.92	1.84	3.65	7.3	14.63	29.26	
3	☒ CBGA	5.82	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Replace	0.3	0.92	1.84	3.67	7.33	14.69	29.38	
4	☒ CBG	6.053	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.94	1.86	3.72	7.42	14.82	29.6	
5	☒ CBD	6.305	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.94	1.86	3.72	7.42	14.83	29.62	
6	☒ THCV	6.817	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.94	1.86	3.72	7.42	14.83	29.62	
7	☒ CBN	9.85	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.94	1.87	3.74	7.45	14.89	29.73	
8	☒ THC	11.926	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.93	1.86	3.72	7.41	14.81	29.58	
9	☒ CBC	14.264	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Wt Average	0.31	0.94	1.86	3.72	7.42	14.82	29.6	
10	☒ THCA	14.958	0.3	mass%	DAD: Signal A, 237.0 nm/Bw:4.0 nm	Area	Linear	☒	Replace	0.3	0.92	1.84	3.66	7.31	14.65	29.29	
11	☒																

Slika 11: Pogled »Peak / Groups Tables«

4.6 Možnost injiciranja »single run«

Programska oprema nam omogoča izvedbo posameznega injiciranja vzorca, brez uporabe sekvence. Za to se odločamo le ob izjemnih primerih. Prepovedano je posneti vzorec brez sekvence, saj s tem ne moremo zagotavljati ustreznih pogojev analiz, ki jih preverjamo s kontrolnimi vzorci. Možnost posameznega injiciranja uporabljamo le za razvojne namene ali za namene preverjanja kontrolnih vzorcev ali pa že posnetih vzorcev. Injiciranja »single run« je dovoljeno izvajati le v projektih, v katerih ne vodimo akreditiranih aktivnosti LAB, saj rezultati takih injiciranj niso veljavni – uporabljamo jih le za informativne namene. Rezultate posameznih injiciranj lahko uporabljamo le za informativne in raziskovalne namene z ustrezno obrazložitvijo. Navodila za izvedbo »single run« injiciranja se nahajajo v priložniku za napredno uporabo programske opreme.

4.7 Integracija vzorcev

Do posnete sekvence z vzorci dostopamo preko »File« → »Open« → »Result Set«, kjer izberemo željeno sekvenco. S klikom na vzorec se nam odprejo okna kromatogramov vseh posnetih valovnih dolžin (237, 276 in 308nm), za obdelavo izberemo kromatogram valovne dolžine 237nm. Ostali kromatogrami so informativne narave in nam pomagajo pri identifikaciji vrhov.

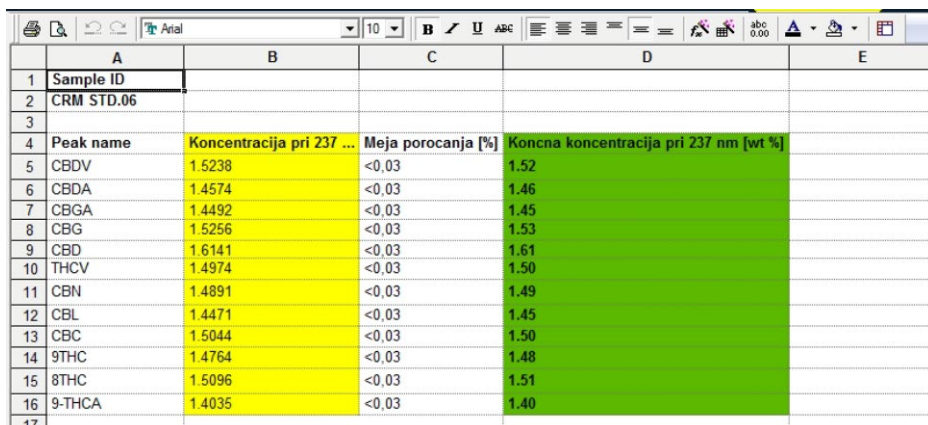
Z vsakim injiciranjem se izvede avtomatska integracija po prednastavljenih parametrih. S spremembo le-teh lahko izboljšamo avtomatsko integracijo do te stopnje, da je manipulacija uporabnika čim manjša ter da ima človeški faktor najmanjši možni vpliv na rezultate meritev. Parametre avtomatske integracije lahko spreminjamo le ob odobritvi vodje laboratorija ali njegovega namestnika. Vse spremembe parametrov avtomatske integracije so prikazane v zgodovini metode in so vedno na voljo v pogledu »audit trail« s podatki za popolno sledljivost. Parametre za avtomatsko integracijo lahko spreminjamo preko pojavnega okna, ki ga odpremo s klikom na »Method → Integration Events«. Natančne opise o delovanju posameznega parametra so na voljo v priročniku za napredno uporabo programske opreme.

Poleg avtomatske integracije je zaradi raznolikosti vzorcev dovoljena tudi ročna integracija ali popravljanje vrhov. Ročna integracija poteka preko drugega vmesnika kot pri avtomatski integraciji ter velja le za posamezno injiciranje. Parametri za ročno integracijo se ne razlikujejo od parametrov avtomatske integracije, kar pomeni, da je možno z ročnimi popravki spremeniti vse parametre, ki sicer veljajo ob avtomatskem procesiranju. Do pojavnega okna, v katerem spreminjamo parametre za ročno integracijo so na voljo s klikom na »Data → Manual Integration Fixes«. Natančni opisi in funkcije so na voljo v priročniku za napredno uporabo.

4.8 Prepis rezultatov koncentracij kanabinoidov

Pomembno je, da se rezultati vzorcev lahko vnesejo v informacijski sistem CMS šele po pregledu veljavnosti rezultatov preko kontrolnih preglednic glede na postopek SOP-LAB-001 - Zagotavljanje veljavnosti rezultatov.

Po avtomatski integraciji ter ustreznih ročnih popravkih vseh injiciranj v eni sekvenci se rezultati izpišejo v programski opremi preko tabele oziroma poročila, v kateri so napisani vsi kanabinoidi ter njihove koncentracije. Do poročila pridemo preko »File« → »Open« → »Advanced report...«, kjer izberemo ustrezno poročilo. Odpre se nam okno, ki je prikazano na spodnji sliki.



Sample ID	Peak name	Koncentracija pri 237 nm	Meja porocanja [%]	Končna koncentracija pri 237 nm [wt %]
CRM STD.06				
	CBDV	1.5238	<0,03	1.52
	CBDA	1.4574	<0,03	1.46
	CBGA	1.4492	<0,03	1.45
	CBG	1.5256	<0,03	1.53
	CBD	1.6141	<0,03	1.61
	THCV	1.4974	<0,03	1.50
	CBN	1.4891	<0,03	1.49
	CBL	1.4471	<0,03	1.45
	CBC	1.5044	<0,03	1.50
	9THC	1.4764	<0,03	1.48
	8THC	1.5096	<0,03	1.51
	9-THCA	1.4035	<0,03	1.40

Slika 12: Izgled poročila oziroma tabele iz katerega prepišemo rezultate v sistem CMS

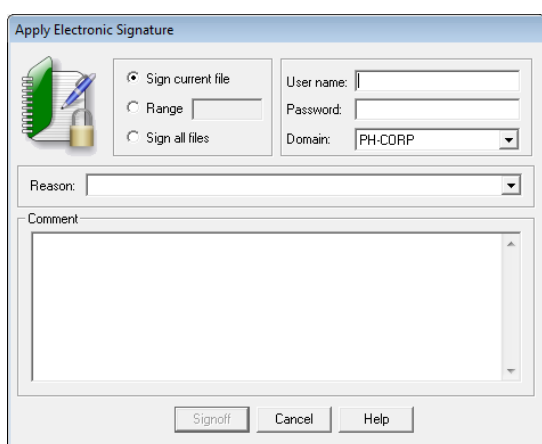
V izračunu končne koncentracije (zelena polja) je upoštevan zaokrožen rezultat na dve mesti, ob tem pa je nastavljena limita za poročanje na 0,03 %, kar pomeni, da se vsi rezultati, ki ne dosegajo 0,03 % poročajo kot <LOQ. V primeru da je določenega kanabinoida 0,028 %, se le ta zaokroži na <LOQ in ne na 0,03%. V primeru pa da je le-tega 0,038 % pa se normalno zaokroži na 0,04 %. V sistem CMS vpisovalec vpiše rezultat na 4 mesta (v rumeni barvi), na dve mesti pa vpisuje rezultate kontrolnih vzorcev.

Izvajalec integracije iz tabele v sistem CMS vpiše rezultate za posamezne kanabinoide, kot je to opisano v NZD-LAB-009 - Navodilo za delo z informacijskim sistemom CMS. Pregledovalec nato preko sistema CMS izda poročilo o preskusu.

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03

4.9 Pregled in podpis rezultatov

Po vnosu vseh rezultatov v sistem CMS je sekvenco oziroma analizo potrebno podpisati. Podpis sekvenco zaklene in onemogoči nadaljnjo urejanje. Do vmesnika za podpis kromatogramov pridemo preko klika na »Data« in nato »Apply Signature«. Med možnostmi na levi strani izberemo »Sign all files« za podpis kromatogramov celotne sekvence. Zgoraj desno odgovorna oseba vpiše svoj uporabniški račun in geslo, v spodnjem meniju (»Reason«) pa izbere možnost »Author«. S pritiskom na gumb »Signoff« izvede podpis kromatogramov. Podpis kromatogramov lahko avtor izvede naknadno, ko so že pregledani vsi rezultati (integracija vzorcev in prepis rezultatov v sistem CMS). Podpis se izvaja preko vmesnika, ki je prikazan na spodnji sliki.



Slika 13: Vmesnik za elektronski podpis kromatogramov

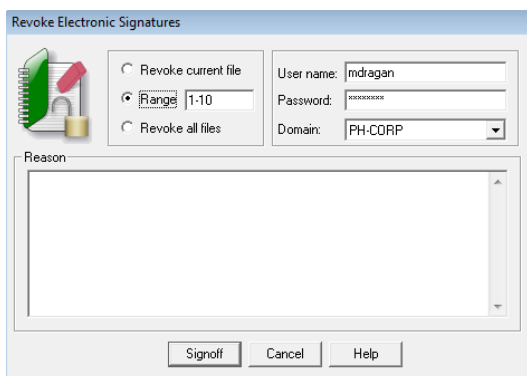
4.10 Pregled rezultatov

Druga odgovorna oseba pregleda ustreznost integracije posameznega vzorca in nato še ustreznost prepisa rezultatov v sistemu CMS.

4.11 Odstranitev podpisa kromatograma

Po elektronskem podpisu kromatograma (katerikoli nivo) je onemogočeno urejanje in spreminjanje integracije zaklenjenega kromatograma, zato je v primeru nakladnih sprememb podpis potrebno najprej odstraniti. Podpis odstranimo preko menija »Data«, s pritiskom na gumb »Revoke Signatures«. Po potrditvi zahteve za izbris elektronskih podpisov na kromatogramu, se nam odpre pogled na spodnji sliki. Med možnostmi na levi izberemo kateremu kromatogramu ali skupini le-teh želimo odstraniti podpis, v predvidenem polju spodaj pa pod polje »Comment« vpišemo obrazložitev izbrisa podpisa kromatograma. Z gumbom »Signoff« potrdimo odstranitev elektronskih podpisov kromatogramov. Vse spremembe na kromatogramih se avtomatsko beležijo, na voljo je celotna zgodovina (»Audit trail«) vseh sprememb na kromatogramih.

NAVODILO ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03



Slika 14: Pogled v načinu »Revoke Signatures«

5. VLOGE UPORABNIKOV V PROGRAMSKI OPREMI OPENLAB CDS

Natančni opisi vlog so predstavljeni v priročniku za napredno uporabo programske opreme.

6. REFERENCE

- MET-001- Quantitative determination of cannabinoids by reverse phase chromatography
- NZD-LAB-002 - Navodilo za delo s sistemom za tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC) Infinity II Agilent
- NZD-LAB-009 - Navodila za delo z informacijskim sistemom CMS
- SOP-LAB-001 – Zagotavljanje veljavnosti rezultatov
- SOP-LAB-007 - Poročanje o rezultatih
- SOP-LAB-009 - Delovne naloge, odgovornosti in pooblastila
- Agilent OpenLAB Chromatography Data System (CDS) EZChrom Edition, Users Guide
- ISO 9001:2015 - Sistemi vodenja kakovosti - Zahteve
- ISO/IEC 17025:2017 - Splošne zahteve za usposobljenost preskuševalnih in kalibracijskih laboratorijev
- ISO 22000:2018 - Sistemi vodenja varnosti živil - Zahteve za vsako organizacijo v prehranski verigi
- ISO 22716:2007 - Kozmetika - Dobra proizvodna praksa (GMP) - Smernice za dobro proizvodno prakso
- Smernice z dne 19. marca 2015 o načelih dobre distribucijske prakse za zdravilne učinkovine za zdravila za uporabo v humani medicini (2015/C 95/01) (GDP)

7. PRILOGE

- Priloga 1: List usposabljanja/seznanjenosti
- Priloga 2: Zgodovina dokumenta

NAVODILA ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS PRILOGA 1: List usposabljanja/seznanjenosti	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03

Obseg usposabljanja	
Obseg seznanjenosti	LAB

Ime in priimek	Org. enota	Delovno mesto	U - Usposabljanje S - Seznanjenost	Datum	Podpis
Janja Ahej	LAB	MAN	☐ U ☐ S		
Blaž Janežič	LAB	ALT	☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		
			☐ U ☐ S		

NAVODILA ZA DELO S PROGRAMSKO OPREMO OPENLAB CDS PRILOGA 2: Zgodovina dokumenta	Pharma  Hemp®
	Šifra: NZD-LAB-008
	Verzija: 03

Verzija	Razlog za spremembo	Veljavno od	Zamenjano z novo verzijo (datum, podpis)
01	Prva izdaja	19. 08. 2019	10. 08. 2020
02	Spremenjena oznaka dokumenta iz NZD-KAK-008 v NZD-LAB-008. Sprememba imena dokumenta - dodana kratica CDS. Dopolnjene odgovornosti s kraticami posameznih delovnih mest.	10. 08. 2020	
03	Posodobljene odgovornosti osebja zaradi novega delovnega mesta JLM. Dopolnitev postopka dela z natančnejšo obravnavo posameznih vsebin in posodobitev nekaterih slik v poglavju 4. Natančnejša obravnava podpisovanja kromatogramov v poglavju 4.8.		