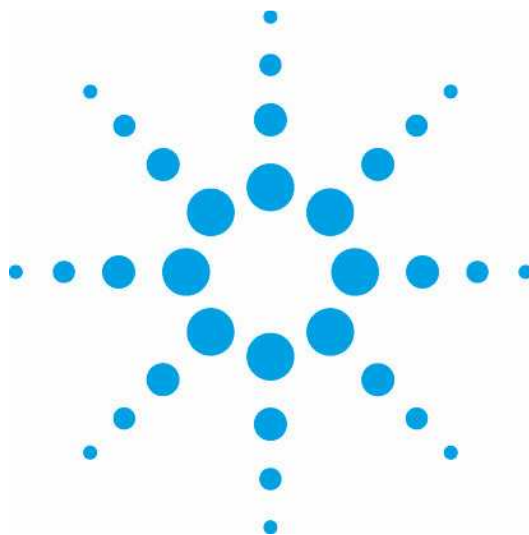

Agilent ChemStation¹



Agilent 1200 シリーズ
ケミステーション
基本操作マニュアル

2007年4月 改訂

ご注意

1. 本書に記載した内容は、予告なしに変更することがあります。
2. 本書は、内容について細心の注意をもって作成いたしました。万が一不審な点や誤り、記載もれ等、お気づきの点がございましたら当社までお知らせください。
3. 当社では、下記の項目を補償の対象から除外いたします。
 - ユーザの誤った操作に起因する機器などの損傷、性能上のトラブル、損害
 - 本装置の本来の用途以外の使用に起因する機器などの損傷、性能上のトラブル、損害
 - 本装置の不適切なユーティリティや使用環境に起因する機器などの損傷、性能上のトラブル、損害
 - 当社が指定した業者以外で本装置の修理や改造をしたことに起因する機器などの損傷、性能上のトラブル、損害
 - 当社提供外のソフトウェアの使用による信頼性、機器などの損傷、性能上のトラブル、損害
 - 分析結果に基づく損失
4. 本書の内容の一部または全部を無断で複製、転載したり、他のプログラム言語に翻訳することは法律で禁止されています。複製、転載等の必要が生じた場合は、当社にお問い合わせください。
5. 本製品パッケージとして提供した本マニュアル、フレキシブル・ディスク、テープ・カートリッジまたはCD-ROM等の媒体は本製品用だけにお使いください。プログラムをコピーする場合はバックアップ用だけにしてください。プログラムをそのままの形で、あるいは変更を加えて第三者に販売することは固く禁じられています。

分析機器を安全にお取扱いいただくために

1. 本分析機器は、当該分野に関して基礎的知識のある人が使用することを前提として設計、製作されています。
2. 分析機器内部には、高温部、高圧部、高電圧部、可燃性ガス/液体、毒性ガス/液体、高輝度部、放射線源等が存在することがあります。当該製品を取り扱う際は、本書の安全に関する指示事項に従ってください。なお、これらの指示事項に反する扱いをされた場合、当社は安全性を保証いたしません。
3. 本説明書は、お求めいただいた機器を安全に、正しく操作するために必要な事項が書かれています。本書をよく読み、内容を理解してから機器の操作を開始してください。
4. 本書を読んで不明な点、あるいは機器を操作して不明な点や異常がありましたら、本書巻末に記載されている当社コールセンターにお問い合わせください。
5. 本説明書は、必要に応じてすぐ取り出せる場所に、大切に保管してください。万一、本説明書を汚損、紛失した場合には新本を購入してください。
6. シンボルマークの種類と意味は下記の通りです。ただし、下記のシンボルマークが全て本製品に使用されているとは限りません。

シンボルマーク	意味
	一般的な警告、注意、危険の通告
	特定の条件下での、高温による傷害の可能性の注意、警告
	特定の条件下での、感電の可能性の注意、警告
	特定の条件下での、発火の可能性の注意、警告
	放射性同位元素の使用による危険の警告
	保護接地端子。接地要求
危険/DANGER	無視して取扱いを誤った場合、死亡又は重傷を負う、切迫した危険状態の存在を示す
警告/WARNING	無視して取扱いを誤った場合、重傷又は軽傷を負う、潜在的危険の存在を示す
注意/CAUTION	無視して取扱いを誤った場合、物的損害が発生する潜在的危険の存在を示す

本書について

本和文マニュアルの著作権は全てアジレント・テクノロジー㈱が所有しています。

—目次—

第1章	システムの始動	9
1-1.	装置の電源投入.....	9
1-2.	ケミステーションの起動.....	10
1-3.	ケミステーションのナビゲーションパネル.....	11
第2章	メソッド作成	13
2-1.	シーケンスコンテナ、メソッドの概念.....	15
	<メソッド/シーケンス/データ保存の設定>.....	17
2-2.	メソッドの編集.....	18
2-2-1.	初期メソッドの読み込み.....	18
2-2-2.	メソッドパラメータの連続編集.....	19
	<メソッド編集項目>.....	20
	<メソッド情報>.....	21
	<装置/データ取り込みに関する設定>.....	22
	<データ解析に関する設定>.....	49
	<ランタイムチェックリスト>.....	54
	補足：冷却機能付きオートサンプラの温度設定.....	55
2-3.	メソッドファイルの保存.....	57
2-4.	メソッドの一部変更.....	59
第3章	システムの起動	62
3-1.	分析装置の準備.....	62
3-2.	分析装置の起動順序.....	63
3-3.	分析装置の起動方法.....	66

3-4. モニタ表示.....	68
第4章 分析の実行	72
4-1. 1 サンプルのみの分析.....	72
4-1-1. サンプル情報の設定.....	72
4-1-2. メソッドの実行.....	75
4-2. シーケンス.....	77
<シーケンスコンテナの設定>.....	77
4-2-1. シーケンステーブルの設定.....	79
4-2-2. シーケンスパラメータの設定.....	85
4-2-3. シーケンスファイルの保存.....	88
4-2-4. シーケンスの実行.....	89
第5章 システムの終了	90
第6章 データ解析 (ケミステーション Ver. B. 01. 03 以前及びユニークなデータ保存をオフにした場合) ..	94
6-1. データ読み込み.....	95
6-2. 積分.....	97
6-2-1. 積分条件を変更して積分.....	97
6-2-2. 自動積分.....	99
6-2-3. マニュアル積分.....	99
6-3. 定量.....	101
6-3-1. 絶対検量線法 (ESTD) による定量.....	101
6-3-2. 内部標準法 (ISTD) による定量.....	108

第7章 データ解析 (ケミステーション Ver. B. 02. 01 以降でユニークなデータ保存をONにした場合)	110
7-1. データ読み込み.....	111
7-2. 積分.....	113
7-2-1. マニュアル積分.....	113
7-3. 定量.....	114
7-3-1. マスターメソッドを用いた各データの定量.....	114
7-3-2. シーケンスコンテナ内の連続再解析.....	115
第8章 スペクトル解析	117
8-1. スペクトルオプション.....	117
8-2. スペクトルの表示・印刷.....	123
8-2-1. スペクトルの表示方法.....	123
8-2-2. スペクトルデータの印刷.....	124
8-3. 純度チェックの実行.....	125
8-4. 等高線表示.....	128
8-4-1. クロマトグラムの表示.....	130
8-4-2. クロマトグラムの抽出.....	132
8-5. 3次元表示.....	133
8-6. スペクトルライブラリサーチ.....	134
8-6-1. 新規ライブラリの作成.....	134
8-6-2. サーチ条件の設定.....	139
8-6-3. ライブラリサーチの実行.....	141
8-6-4. ライブラリ情報の編集.....	143
8-6-5. 自動ライブラリサーチ.....	145

第1章 システムの始動

1-1. 装置の電源投入

各機器のメイン電源スイッチを下記の順番で投入します。

【LAN 接続の場合】

プリンタおよび CRT

↓

イニシャライズを確認する

コンピュータ

↓

イニシャライズを確認する

Agilent 1200/1100 各モジュール

【GPIB 接続の場合】

Windows XP（または、それ以上）を起動中、ログオンの開始（Begin Logon）ウインドウが表示されます。

指示に従って Ctrl + Alt + Delete キーを同時に押します。

ログオン情報（Logon Information）でユーザー名とパスワードを入力します。ユーザー名に対するパスワードは下表のとおりです。

ユーザー名 (User Name)	パスワード (Password)	
Chemist	Hp	通常こちらを使用します。
Administrator	3000hanover	システムを変更する権限を持っています。

1-2. ケミステーション (ChemStation) の起動

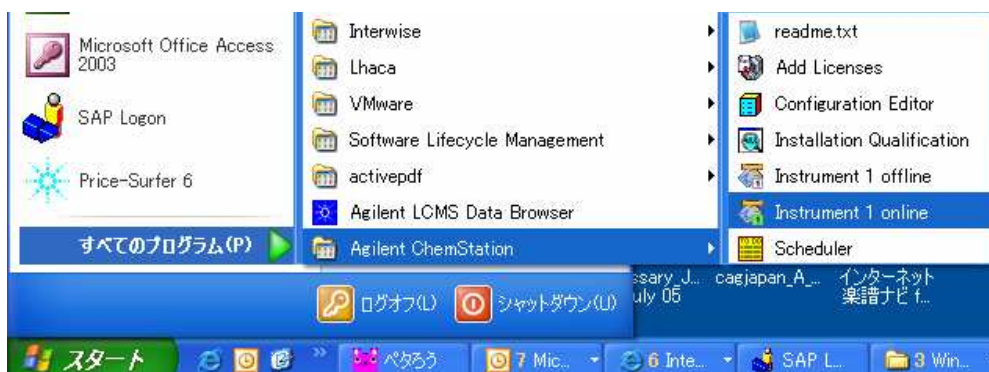
Windows XP の起動後、Windows XP のタスクバーから下記のように選択します。

スタート (Start) → プログラム (Programs)

→ ケミステーション (ChemStations) → 装置 1 オンライン (Instrument 1 Online)

以下、コンピュータのコマンドをアンダーラインで表示します。

ケミステーション (Agilent Chemstation) を選択します。

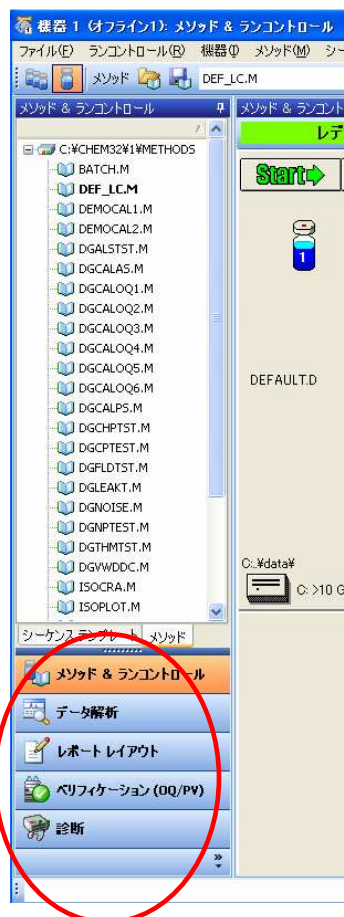


装置 1 オンライン (Instrument 1 Online) をクリックし、ケミステーションを起動します。

1-3. ケミステーション (ChemStation) のナビゲーションパネル

Agilent 1200/1100 シリーズをコントロールする場合、ケミステーションは次の5つの画面で構成されています。

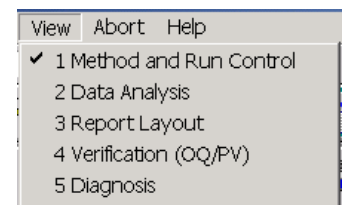
1. Method and Run Control : メソッド&ランコントロール
2. Data Analysis : データ解析
3. Report Layout : レポートレイアウト
4. Verification (OQ/PV) : ベリフィケーション (OQ/PV)
5. Diagnosis : 診断



B. 02. 01 以降のケミステーションでは、左記に示すように、画面左にナビゲーションパネルが表示され、このパネルから、各画面に移動することが可能です。

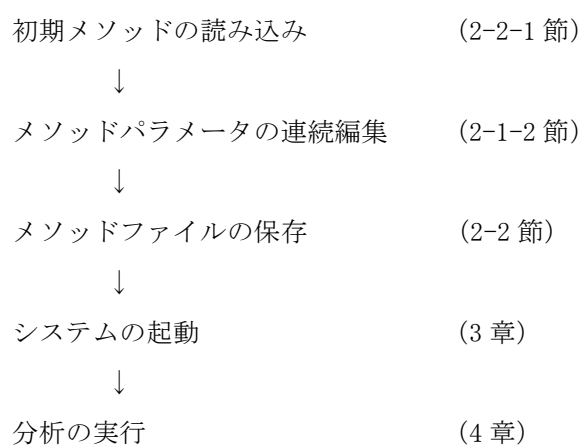
パネル上部のツリー表示からファイル選択を行うことで、直接、シーケンスファイルやメソッドファイルを読み込むことができます。(シーケンスタブ、メソッドタブ等で、ツリー表示を切り替えます。)

あるいは、表示 (View) の中で選択することにより、画面を切り替えることができます。



第2章 メソッドの作成

データ取り込みは、以下のフローで行います。

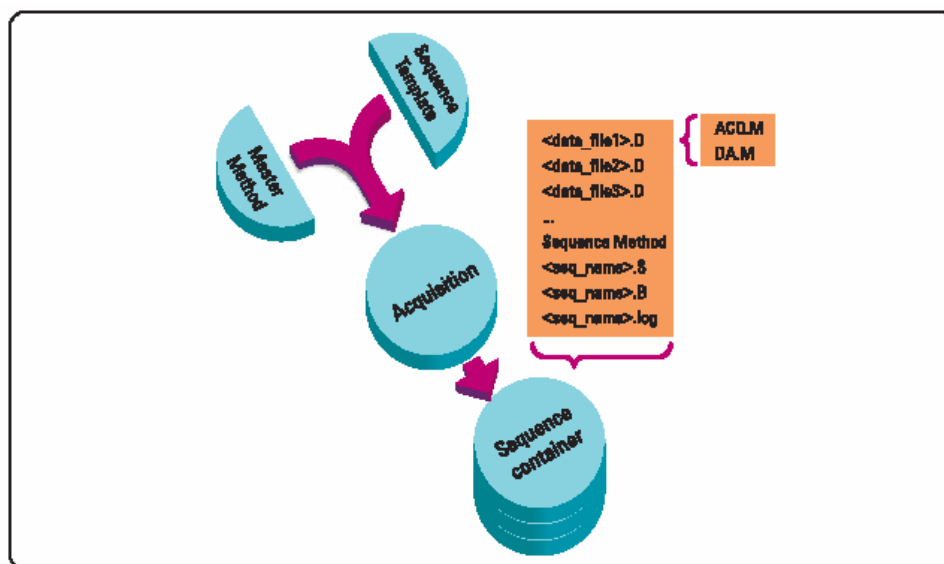


本章では弊社スタンダードカラムとサンプルを用いて分析を行うために、以下の条件のメソッドを作成します。カラムの状態により、分析条件が変更されることがあります。

条 件	
カラム	Zorbax Eclipse XDB-C8カラム 150mm x 4.6mm(内径)
サンプル	アイソクラティック標準試料*1
	ジメチルフタレート Dimethylphthalate :DMP 0.15wt%
	ジエチルフタレート Diethylphthalate :DEP 0.15wt%
	ビフェニル Biphenyl (Diphenyl) 0.01wt%
移動相	水：アセトニトリル = 30:70(V/V)
流量	1.5 mL/min
ヒーターブロック温度	25°C または 室温
検出器	ダイオードアレイ検出器(DAD)
	測定波長／バンド幅 254/4 nm
	リファレンス波長／バンド幅 500/100 nm
	ピーク幅(レスポンスタイム) >0.05 min(1 sec)
	スリット 2 nm
	UV-VIS検出器(VWD)
	測定波長 254 nm
	ピーク幅(レスポンスタイム) >0.05 min(1 sec)
	プログラマブル3D蛍光検出器(FLD)
	励起波長 246 nm
	測定波長 317 nm
	PMTゲイン 10
	ピーク幅(レスポンスタイム) >0.2 min(4 sec)
	示差屈折率検出器(RID)
	光学系温度制御 None
	ピーク幅(レスポンスタイム) >0.2 min(4 sec)
注入量	1 μL (DAD, VWD, FLD)
	20 μL (RID)

*1 プログラマブル 3D 蛍光検出器の場合には、アセトニトリルで 10 倍希釈して使用します。

2-1. シーケンスコンテナ、メソッドの概念



本節の詳細については、別冊の“新しい Chemsatation ワークフロー入門”を参照ください。

ChemstationB.02.01/B.02.01 SR1 データファイルとメソッド間の統合性を強化するために、新しいデータ管理基本構造を搭載しています。フォルダ Chem32¥1¥method (Default 設定) のメソッドはマスターメソッドとなります。この保存したマスターメソッドは変更させません。

フォルダ Chem32¥1¥sequence (Default 設定) 内のシーケンスは、再分析（但し、再解析ではない）に使用するシーケンステンプレートとなります。

データ保存パターンはシングルランかシーケンスデータ採取かによって異なります。

1. シーケンスが実行されると、新しいフォルダ（シーケンスコンテナ）が自動的に作成されます。シーケンスコンテナ名は、指定に従って自動的に特有のサブディレクトリ名がつけます。シングルサンプルの分析の場合は、データファイル (*.d) が指定したサブディレクトリの下に書き込まれます。

2. シーケンスデータに対しては、実行したシーケンステンプレート (*.s) とシーケンスで使用する全メソッド (*.m) をシーケンスコンテナ内にコピーします。メソッドのコピーは“シーケンスメソッド”と呼び、オリジナルのマスターメソッドとは区別されます。全シーケンス関連タスク（例えば、採取とデータ解析）はシーケンスとメソッドのコピーで実行されます。その

ため、シーケンステンプレートとマスターメソッドはその後のシーケンス実行に備えて変更されずに残ります。

シーケンス実行中、作成された全データファイル (*.d) はシーケンスデータフォルダにバッチファイル (*.b) やシーケンスログファイル (*.log) と共に保存されます。

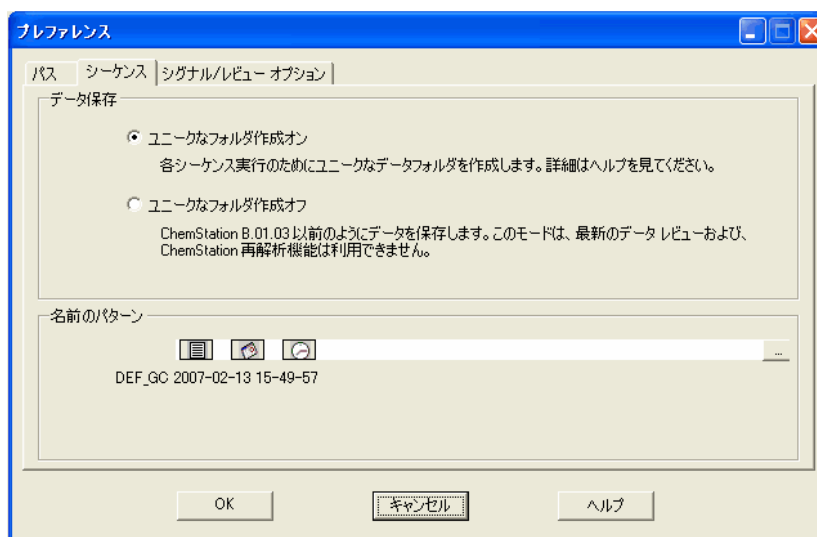
3. 個々のデータファイルには分析時に利用したメソッドのコピーが2つ存在します。

- ・最初の1つは ACQ.M と呼び、メソッドのデータ採取部分が完了した後に直接保存されます。
- ・2つめのコピーは DA.M と呼び、データ解析部分が完了した後に保存されます。

個々のデータファイルの採取時のメソッド状態がそれらのメソッドファイルによって保存されます。DA.M はデータ解析時に修正できます。この場合、キャリブレーションテーブルをアップデートしたりした場合、ACQ.M と DA.M は内容が異なることとなります。

Chemstation Ver. B.02.01 から採用されたデータ管理方法と、B.01.03 以前のデータ管理方法を B.03.01 以降のソフトウェアでは、切り替えることが可能です。

表示 (View) → プレファレンス (Preference)

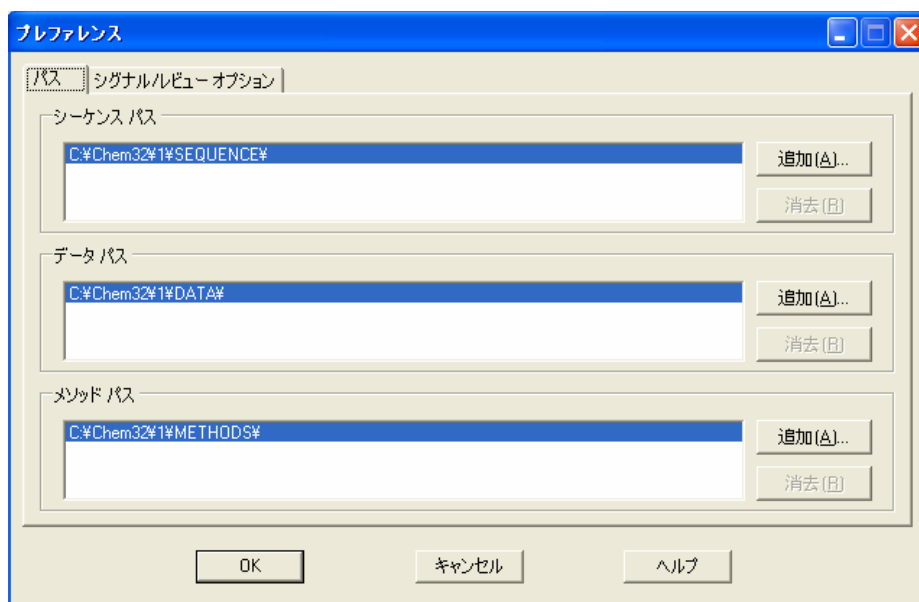


データ保存を○ユニークなフォルダ作成オフにすることで、B.01.03 以前のデータ管理方法が採用され、シーケンスコンテナ等は作成されなくなります。

<メソッド/シーケンス/データ保存パスの設定>

各ファイル保存先のパスを複数設定可能です。

表示 (View) → プレファレンス (Preference)



追加 (Add) キーを押して、保存したい先のパス名を選択してください。選択するパスは、予め、Explore 等で作成しておく必要があります。

各ファイルの Default パス (C:\Chem32\SEQUENCE、C:\Chem32\DATA、C:\Chem32\METHOD)は削除できません。

2-2. メソッドの編集

本章では、メソッド全体の編集 (Edit entire Method) を利用して分析条件 (メソッド) を

初期状態から設定します。

すでに編集したメソッドのパラメータの一部を変更する場合は 2-3 節 メソッドの一部変更

を参照して下さい。

2-2-1. 初期メソッドの読み込み

初期状態のメソッドから編集を始めるため、

メソッド (Method)

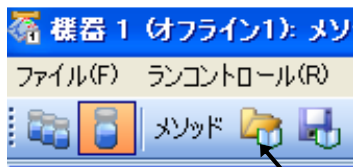
→ 新規メソッド (New Method)

を選択します。

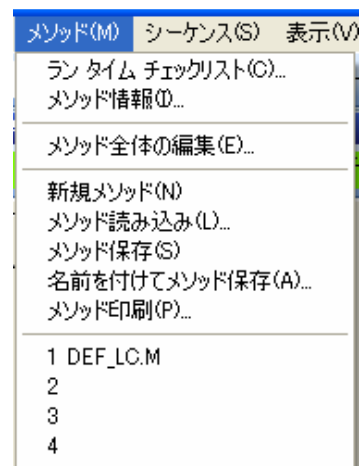
画面上には初期メソッド **DEF_LC.M** が読み込

まれます。

あるいは、メソッド読み込みのアイコンをクリックします。



DEF_LC.M を選択します。



2-2-2. メソッドパラメータの連続編集

メソッドを初期状態から編集するには、設定画面を連続的に表示するメソッド全体の編集

(Edit entire Method) が便利です。

アイコンをクリックします。

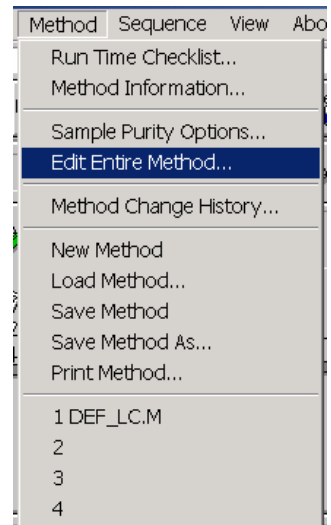


あるいは、メニューバーより

メソッド (Method)

→ メソッド全体の編集 (Edit entire Method)

を選択します。



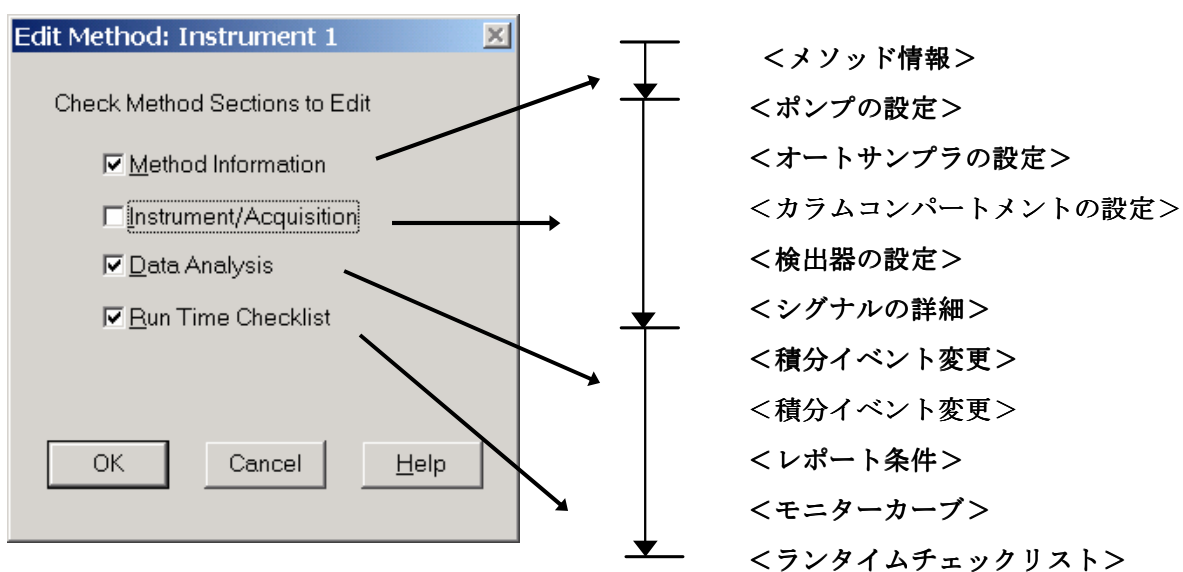
実行すると、次の画面が表示されます。

<メソッド編集項目>

メソッドを構成するパラメータの中で、今から連続的に編集したい項目を選択します。

- ① データを取り込むため 装置/データ取り込み (Instrument/Acquisition) を中心に設定します。

ここでは全ての項目をクリックし、データ解析 (Data Analysis) に関する画面も表示します。

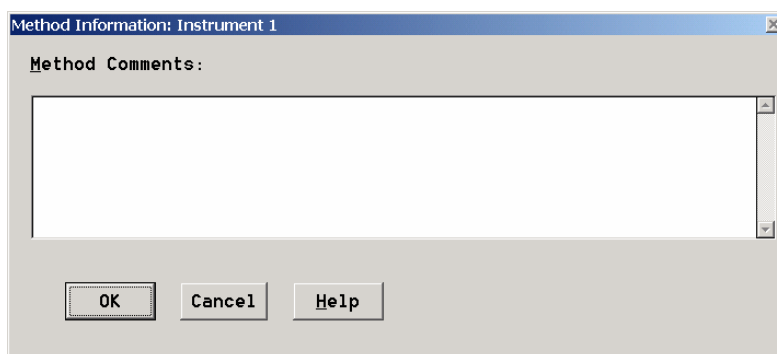


- ② **OK** をクリックします。

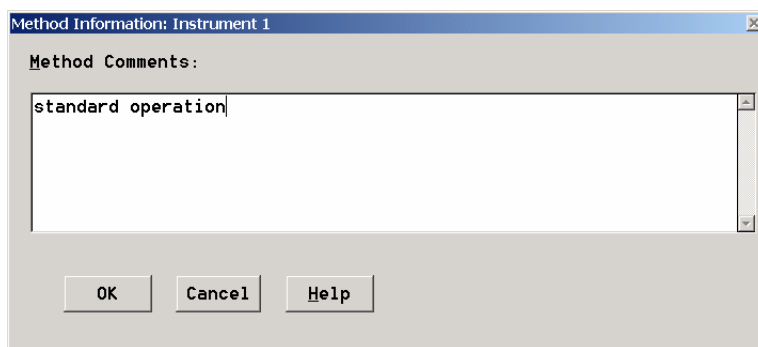
<メソッド情報>

メソッド情報 (Method Information) の画面が表示されます。

- ① 入力画面内でマウスの左ボタンをクリックし、入力モードにします。



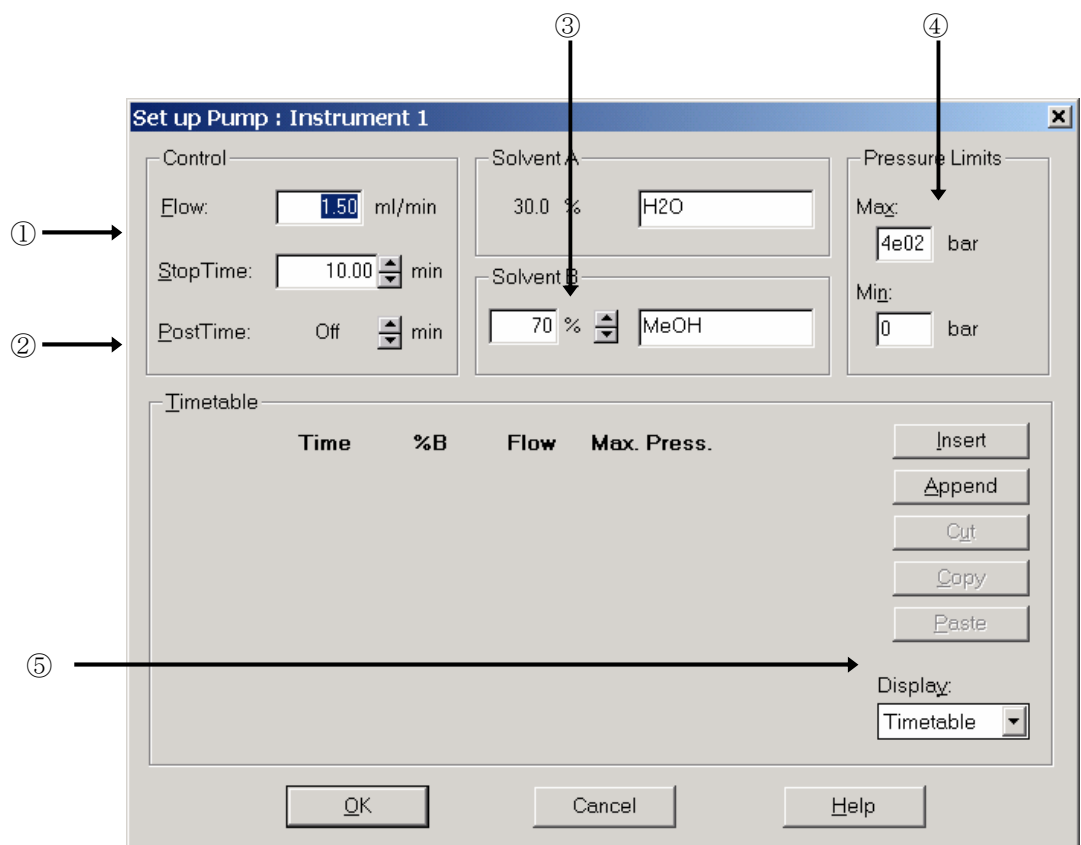
- ② 必要に応じてメソッドに関するコメントを入力して下さい。



- ③ 入力後、**OK** をクリックします。

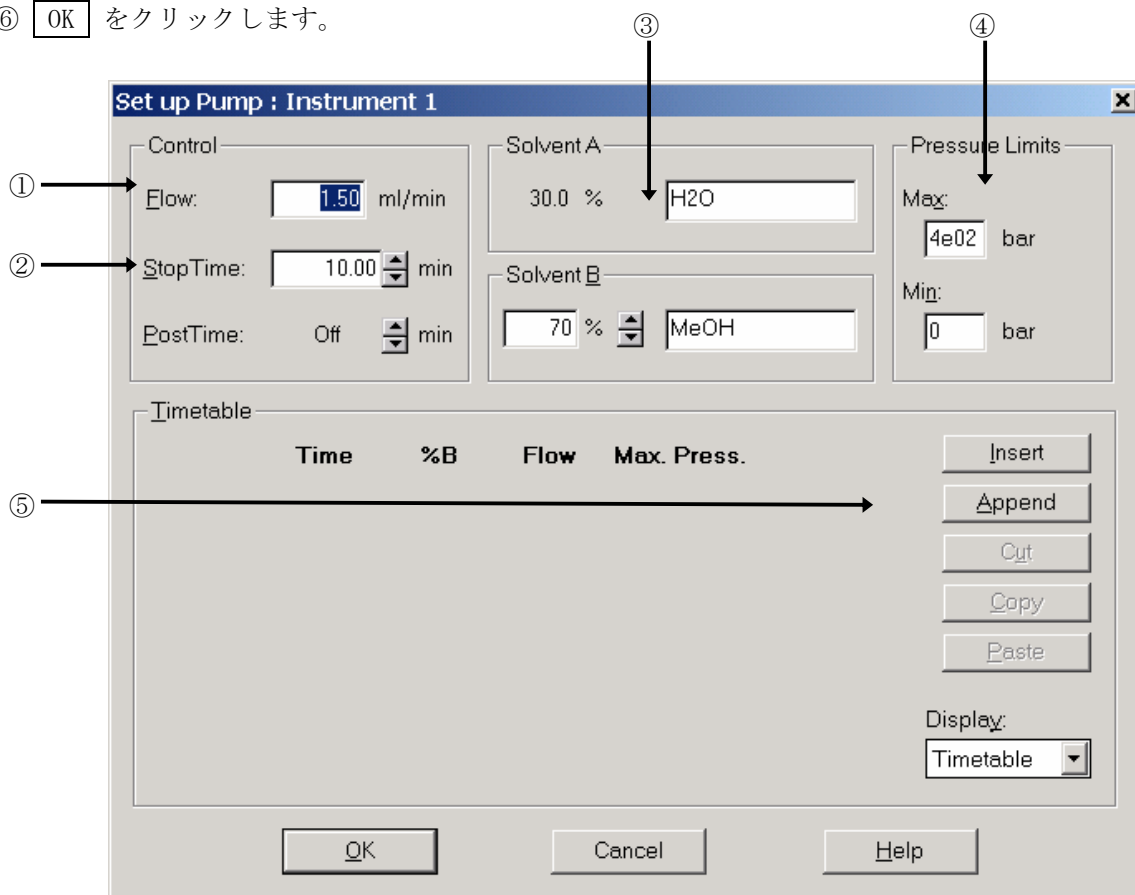
<バイナリポンプの設定>

- ① 流量 (Flow) を設定します。
- ② 一検体あたりのストップタイム (Stop Time) を設定します。
- ③ 移動相の混合比はB%の矢印をクリックして入力モードにし、B%を入力します。
A%
が自動的に変更されます。移動相の名称を入力します。
- ④ 圧力リミット (Pressure Limit) を設定します。
- ⑤ グラジエント分析などで、タイムテーブルを設定する場合、 **追加 (Append)** をクリックしてから編集します。
- ⑥ **OK** をクリックします。



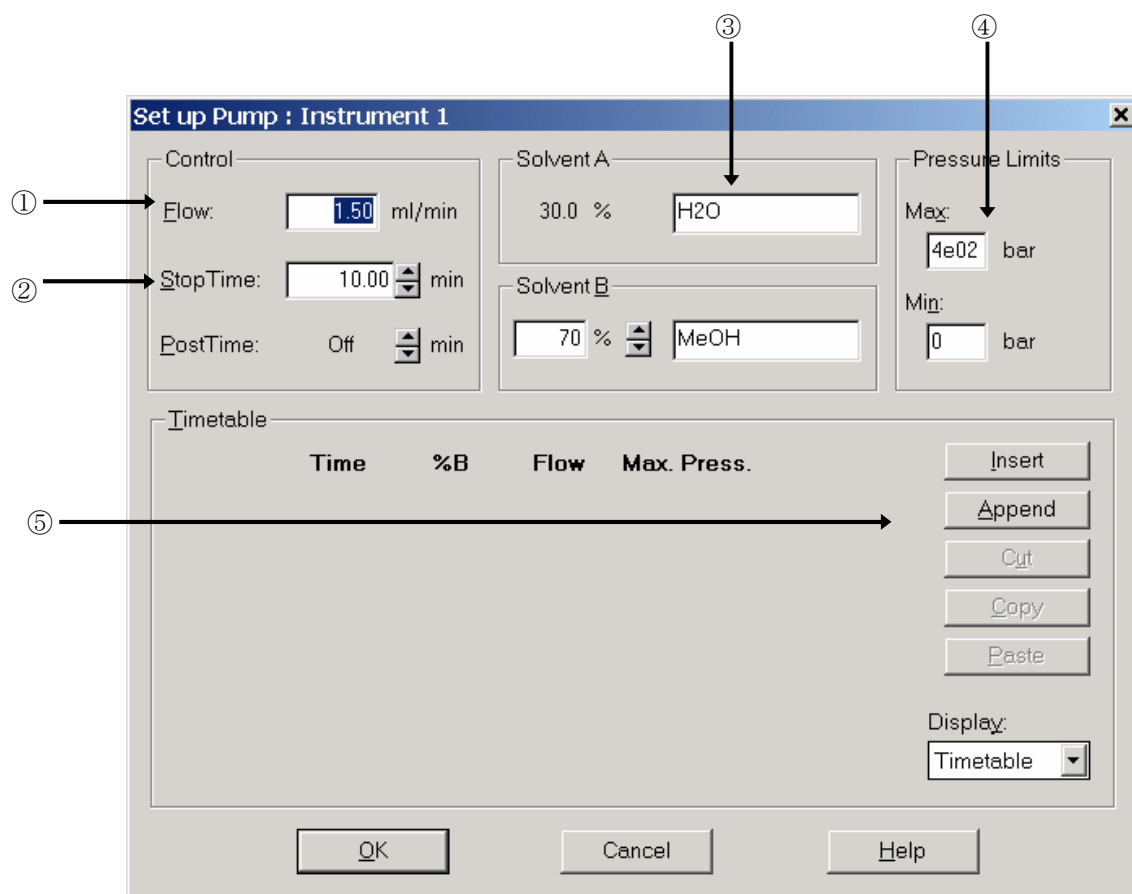
<クォータナリポンプの設定>

- ① 流量 (Flow) を設定します。
- ② 一検体あたりのストップタイム (Stop Time) を設定します。
- ③ 移動相の混合比はB%の矢印をクリックして入力モードにし、B%を入力します。
A%
が自動的に変更されます。移動相の名称を入力します。
- ④ 圧力リミット (Pressure Limit) を設定します。
- ⑤ グラジエント分析などで、タイムテーブルを設定する場合、追加 (Append) をクリック
してから編集します。
- ⑥ OK をクリックします。

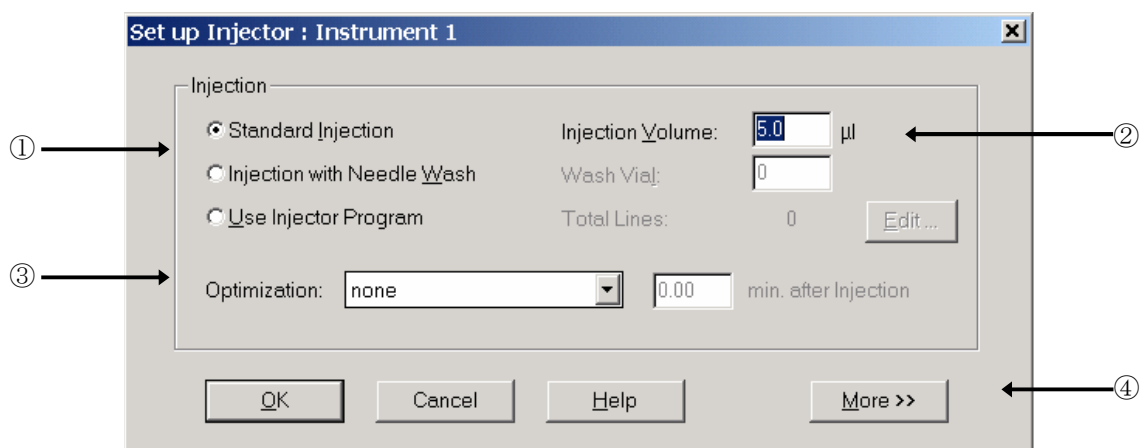


<アイソクラティックポンプの設定>

- ① 流量 (Flow) を設定します。
- ② ストップタイム (Stop Time) を設定します。
- ③ 移動相の名称を入力します。
- ④ 圧力リミット (Pressure Limit) を設定します。
- ⑤ 流量などで、タイムテーブルを設定する場合、 **追加 (Append)** をクリックしてから編集
します。
- ⑥ **OK** をクリックします。



<オートサンプラの設定>



① 注入方法を次の3つから選択します。

標準注入 (Standard Injection)

ニードル洗浄+注入 (Injection with Needle Wash) → 洗浄バイアル (Wash Vial) を設定します。

インジェクタプログラム使用 (Use Injector Program) → 編集 (Edit) で編集します。

② 注入量 (Injection Volume) を設定します。

③ 最適化 (Optimization) の方法を選択します。

1. なし (None)

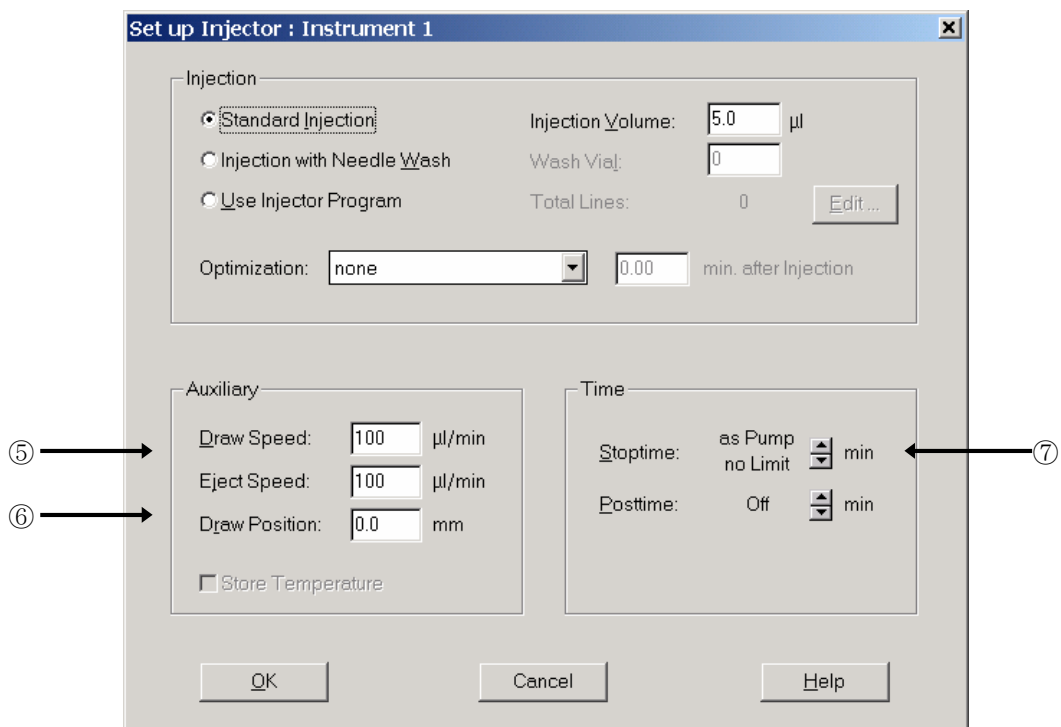
2. オーバーラップインジェクション (Overlap Injection Cycle)

: 指定時間後にバルブを切り替え、次のサンプルを吸引します。

3. サンプルバイアルを準備 (Prefetch Sample Vial)

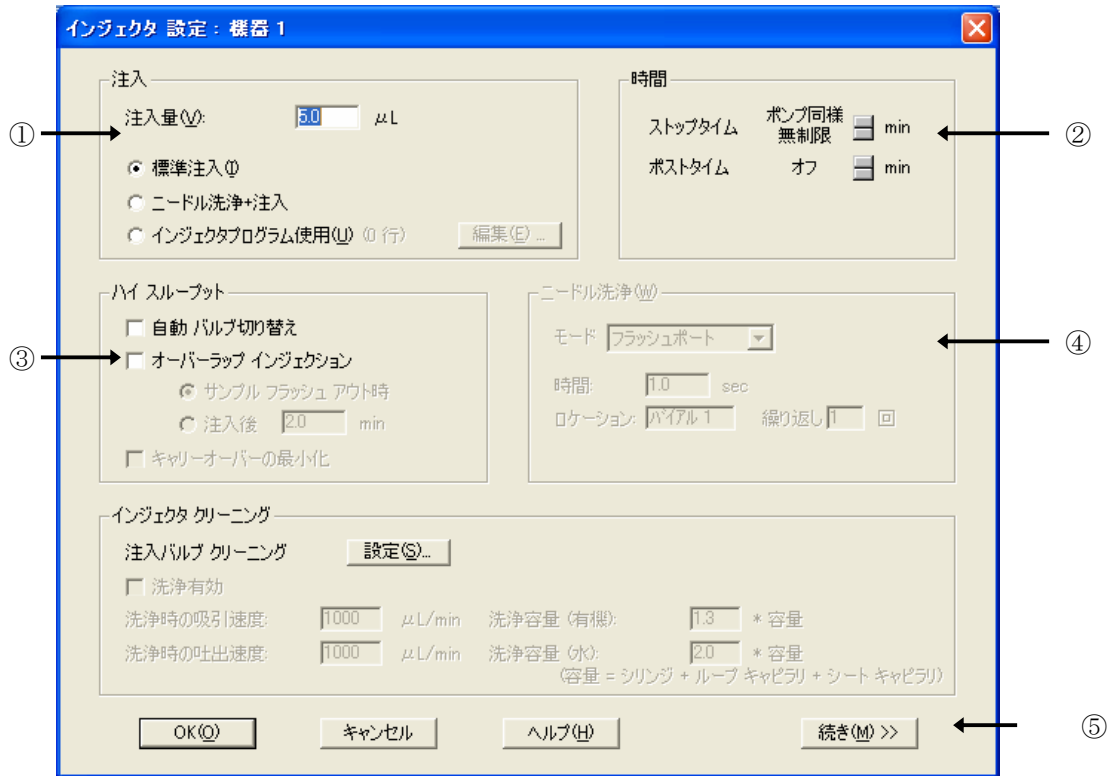
: 指定時間後にバイアルをインジェクションポートの近くに準備します。

④ さらに詳細な設定を行う為には、続き (More) >> をクリックします。



-
- ⑤ サンプル溶媒の粘性を考慮し、吸引スピード (Draw Speed) ・吐出スピード (Eject Speed) を設定します。
- ⑥ サンプルを吸引する際のニードルの位置 (Draw Position) を設定します。
- ⑦ 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は as Pump とします。
- ⑧ をクリックします。

<高性能オートサンプラ/ウェルプレートオートサンプラの設定>



① 注入量 (Injection Volume) を設定します。また、注入方法を次の3つから選択します。

標準注入 (Standard Injection)

ニードル洗浄+注入 (Injection with Needle Wash) → ④ ニードル洗浄の設定をします。

インジェクタプログラム使用 (Use Injector Program) → 編集 (Edit) で編集します。

② 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は as Pump とします。

③ ハイスループット (High Throughput) で使用する場合に選択します。

自動バルブ切り替え (Automatic Delay Volume Reduction)

オーバーラップインジェクション (Enable Overlapped Injection)

バルブを切り替えるタイミングを、次の2つから選択します。

・ サンプルフラッシュアウト時 (When Sample is flushed out)

→ ⑨ サンプルフラッシュアウトファクタ (Sample Flush-Out Factor) を設定
します。

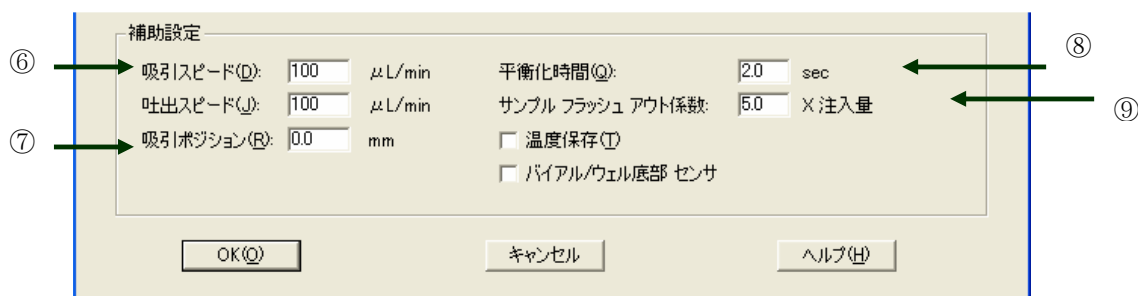
・ 注入後 min (after min)

④ ニードル洗浄 (Needle Wash) を実施する場合に設定します。

フラッシュポート (Flushport) → 洗浄時間 (Time) を設定します。

バイアル (Vial) → 洗浄バイアル (Location) と繰り返し回数 (Repeat) を設定
します。

⑤ さらに詳細な設定を行う為には、 をクリックします。



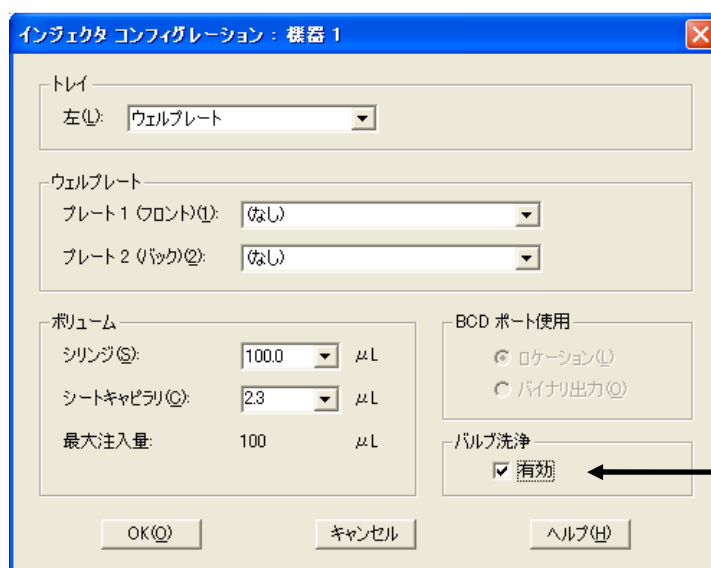
⑥ サンプルの粘性を考慮し、吸引スピード (Draw Speed) 、吐出スピード (Eject Speed)
を設定します。

-
- ⑦ サンプルを吸引する際のニードルの位置 (Draw Position) を設定します。
 - ⑧ 平衡化時間 (Equilibration Time) を設定します。
 - ⑨ サンプルフラッシュアウト係数 (Sample Flush-Out Factor) を、注入量 (+ニードルシートの容量) の倍数で設定します。
 - ⑩ をクリックします。

<インジェクタクリーニング（パージキット）の設定>

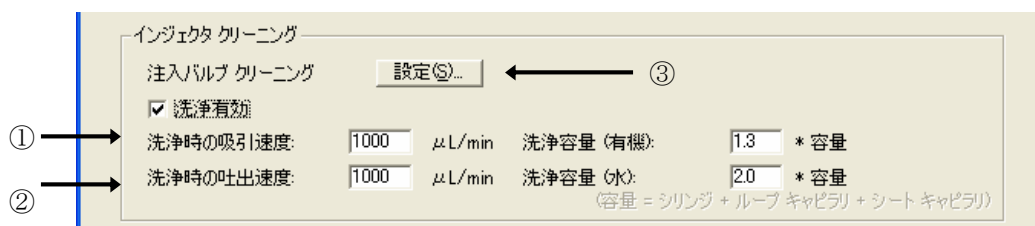
装置 (Instrument) → インジェクタ続き (More Injector)

→ コンフィグレーション (Configuration)



バルブ洗浄 (Rinse Valve) の有効 (Enable) をチェックします。

前述のインジェクタ設定画面に入り、インジェクタクリーニングを設定します。

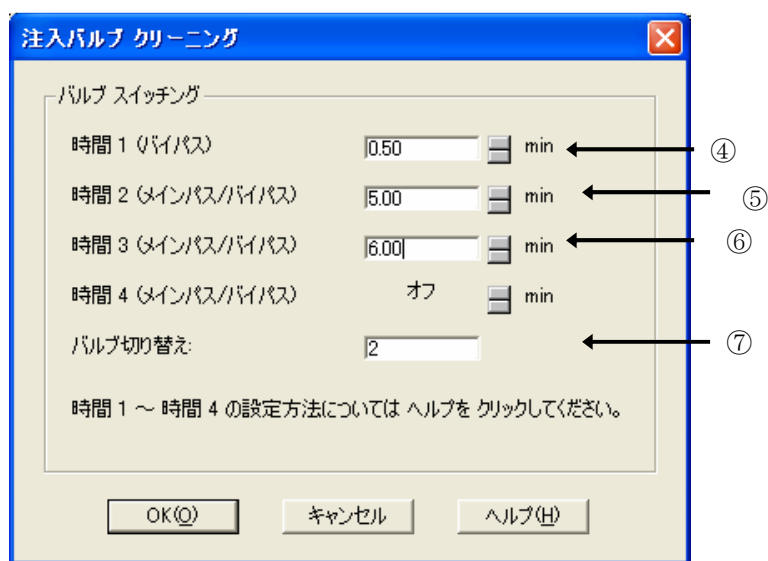


① 洗浄有効をチェックします。

② 洗浄時の吸引速度 (Rinse Draw Speed)、洗浄容量 (有機) (Rinse Volume (Organic)),

洗浄時の吐出速度 (Rinse Eject Speed) , 洗浄容量 (水) (Rinse Volume(Water))を設定します。通常、速度はDefault 設定、容量は2~3 を設定します。分析するサンプル、分析時間によって、速度/容量を調整します。

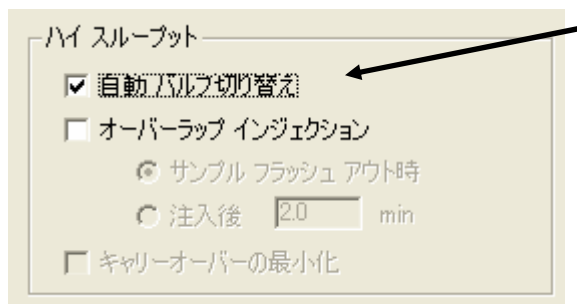
- ③ 設定 (Settings) を押して、注入バルブクリーニングの設定を行います。



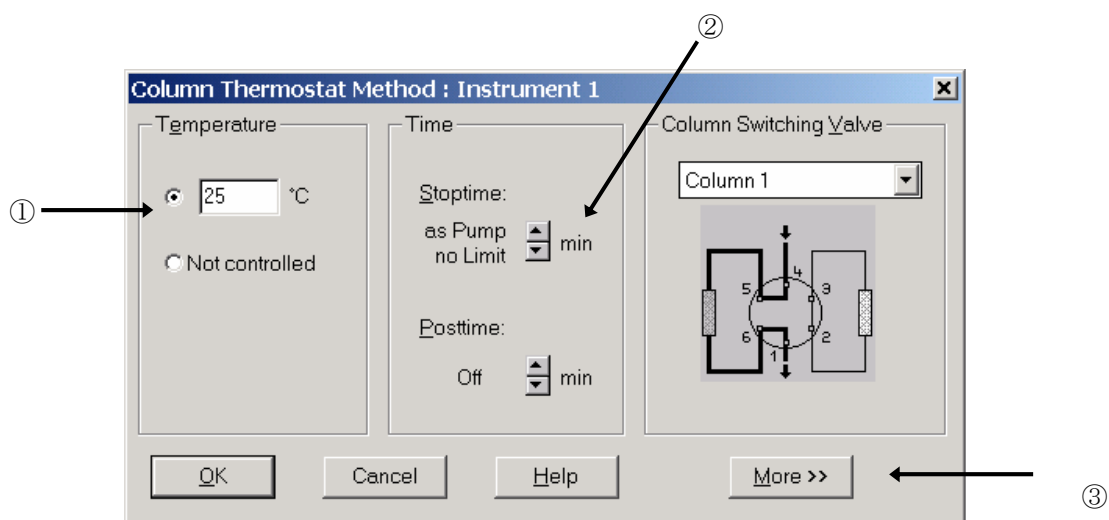
- ④ 有機溶媒で洗浄する時間を設定します。バルブが切りバイパスに切り替わり洗浄容量 (有機) で設定した値に基づいてサンプルループ、ニードル、ニードルシート、バルブ内を有機溶媒で洗浄します。
- ⑤ グラジエント溶離において、目的成分がすべて溶出した後で有機溶媒組成がリッチになった付近での時間を入力します。この時間にバルブ切り替え (Valve movement) で設定された回数、オートサンプラのインジェクションバルブが Main Pass → Bypass と切り替わります。

分析途中でバルブが切り替わるため、若干のベースラインの乱れが起こる場合がありますので、この時間はピークが溶出しない時間を設定してください。バルブ切り替え後、洗浄容量 (水) で設定した容量でサンプルループ、ニードル、ニードルシート、バルブ内をパージキットのボトル A に満たした溶媒で洗浄します。

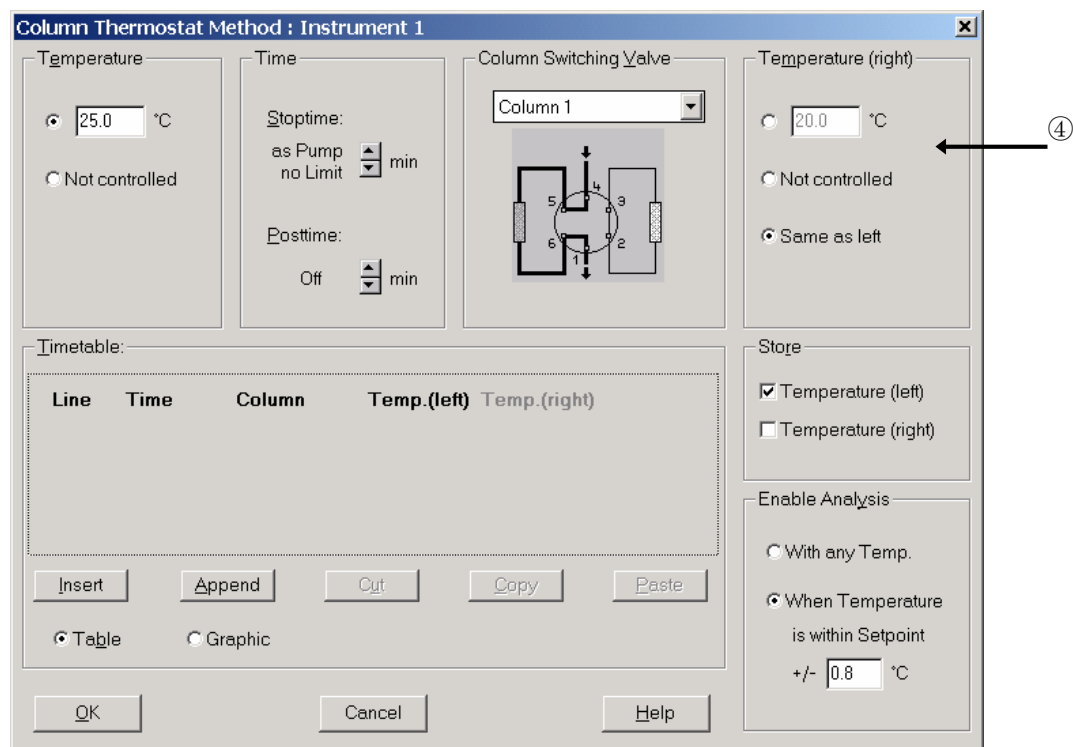
-
- ⑥ 移動相組成が初期条件になっているところでバルブ切り替え (Valve movement)
で設定した回数、オートサンプラのインジェクションバルブが Main Pass →
Bypass と切り替わります。
- ⑦ 上記で設定した各時間で、バルブを何回切り替えるかを設定します。
- ⑧ 自動バルブ切り替え (Automated Valve switching) にチェックをし、有効にして
ください



<カラムコンパートメントの設定>



- ① ボタンをクリックし、ヒーターブロックの温度を入力します。
この状態では、左右の2つのヒーターブロックは同じ温度で制御されます。
- ② 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は **as Pump** とします。
- ③ 左右のヒーターブロックをそれぞれ設定するには、**続き (More) >>** をクリックします。

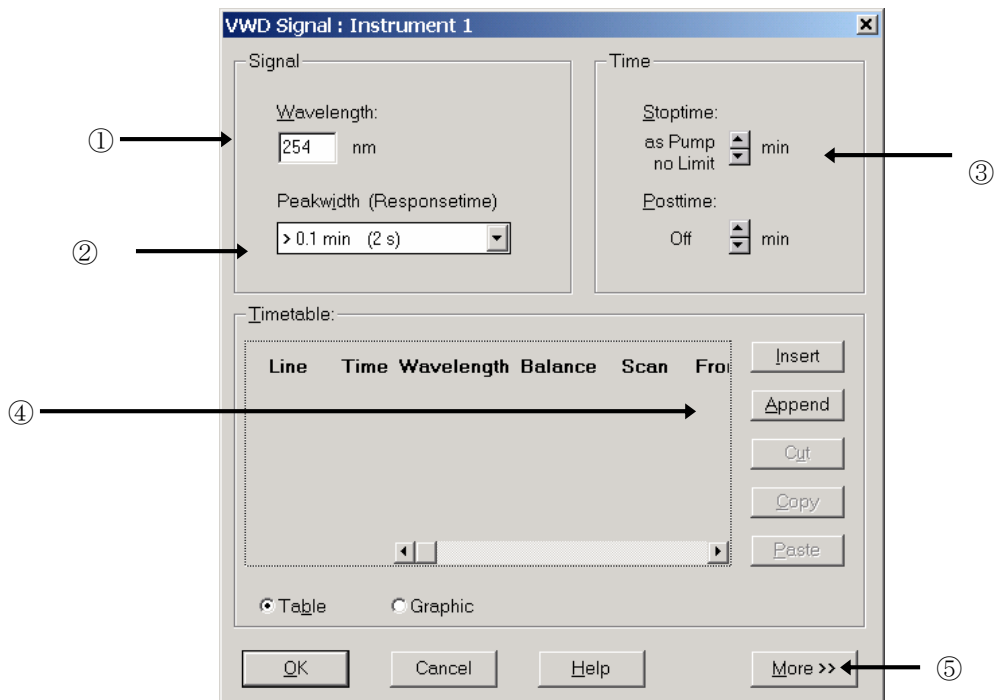


④ 右のヒーターブロックの制御方法を選択します。

⑤ **OK** をクリックします。

* カラムスイッチングバルブの設定例は付属のリファレンスマニュアルをご参照下さい。

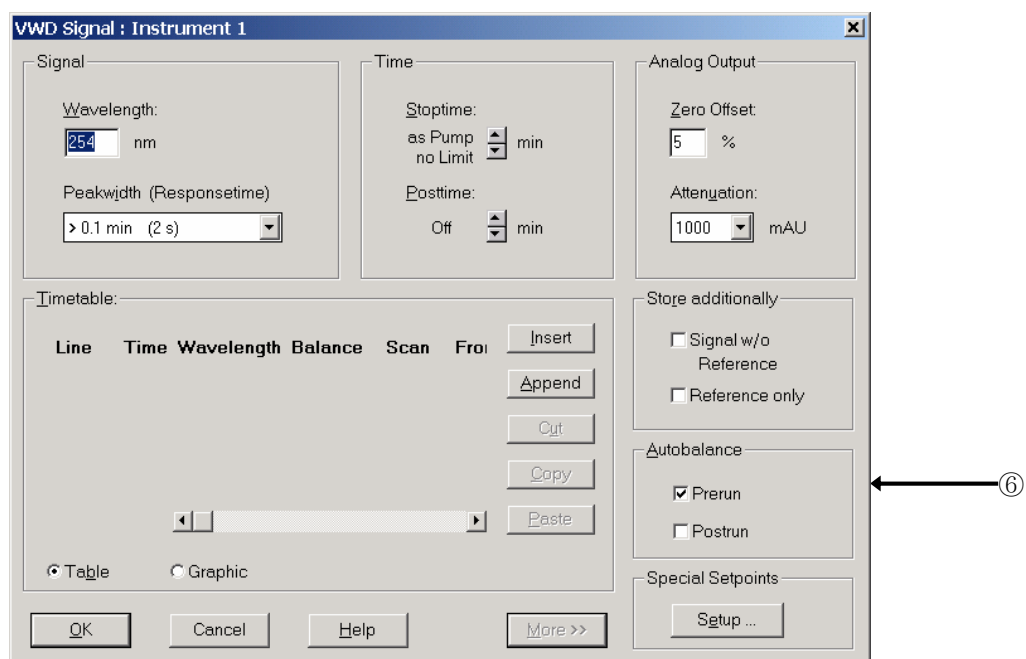
<UV-Vis 検出の設定>



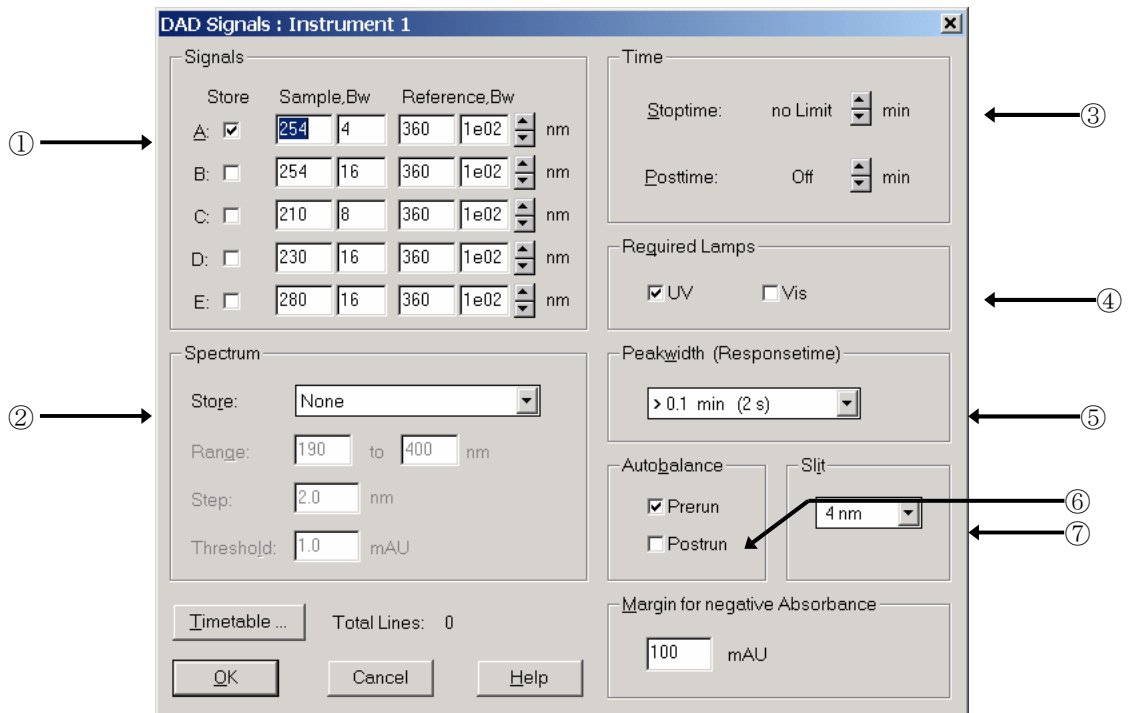
- ① 波長 (Wavelength) を設定します。
- ② 矢印をクリックし、ピーク幅 (Peakwidth) を選択します。
- ③ 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は as Pump とします。
- ④ 波長のタイムテーブルを設定する場合には、追加 (Append) をクリックして編集モードにします。
- ⑤ 詳細な設定は、続き (More) >> をクリックします。

⑥ 測定直前に自動的にバランスをかけるため、プレラン (Prerun) を選択します。

⑦ **OK** をクリックします。

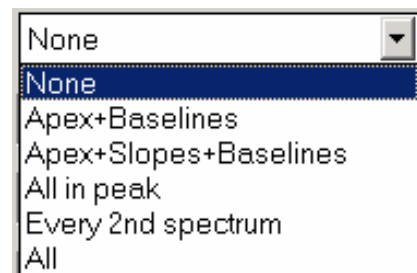


<ダイオードアレイ検出器の設定>



① シグナル (Signals) は5波長まで採取できます。採取するシグナルのチェックボックスをクリックします。サンプルおよびリファレンス波長を設定します。

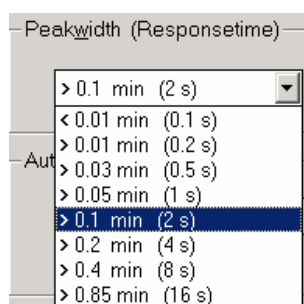
② スペクトル (Spectrum) の採取方法を選択します。また、スペクトルを取り込む波長範囲、ステップなどを設定します。



③ 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は as Pump とします。

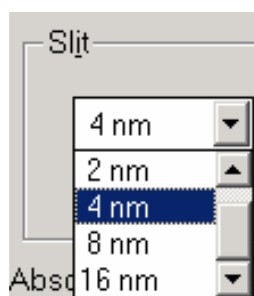
④ 分析に必要なランプを選択します。

⑤ ピーク幅 (Peakwidth) を選択する矢印をクリックし、選択します。



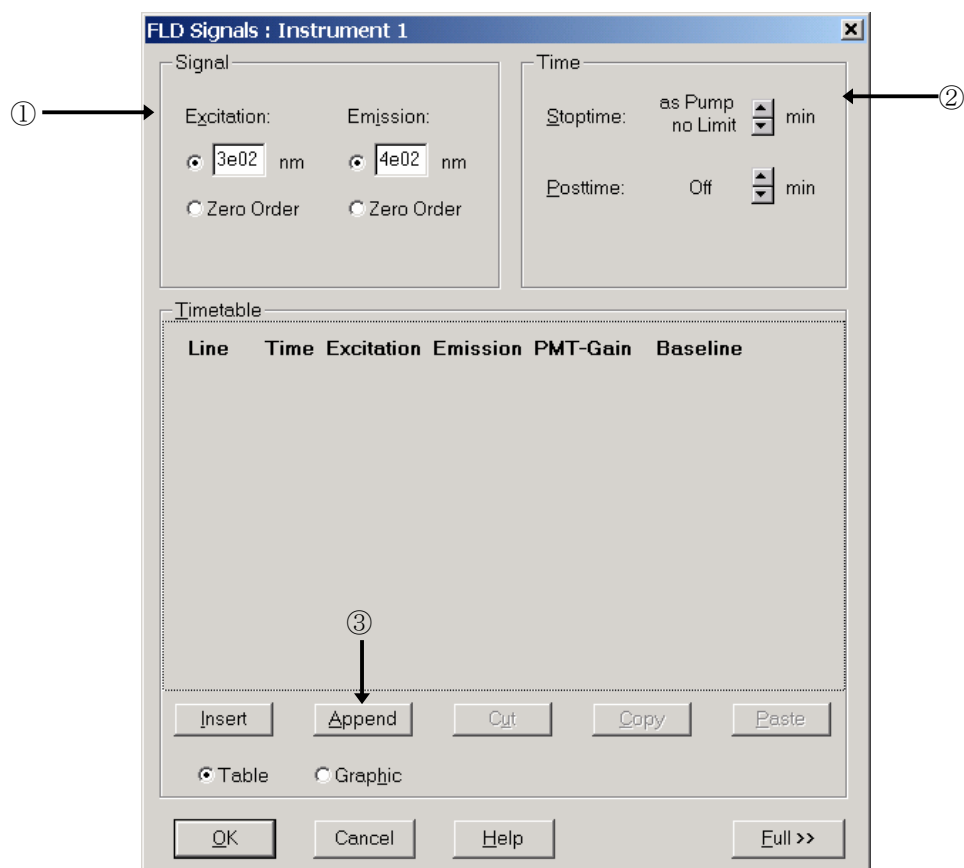
⑥ 分析直前に自動的にバランスをかけるため、プレラン (Prerun) を選択します。

⑦ スリット幅 (Slit) を選択する矢印をクリックし、選択します。



⑧ 全てを設定したら をクリックします。

<プログラマブル 3D 蛍光検出器の設定>

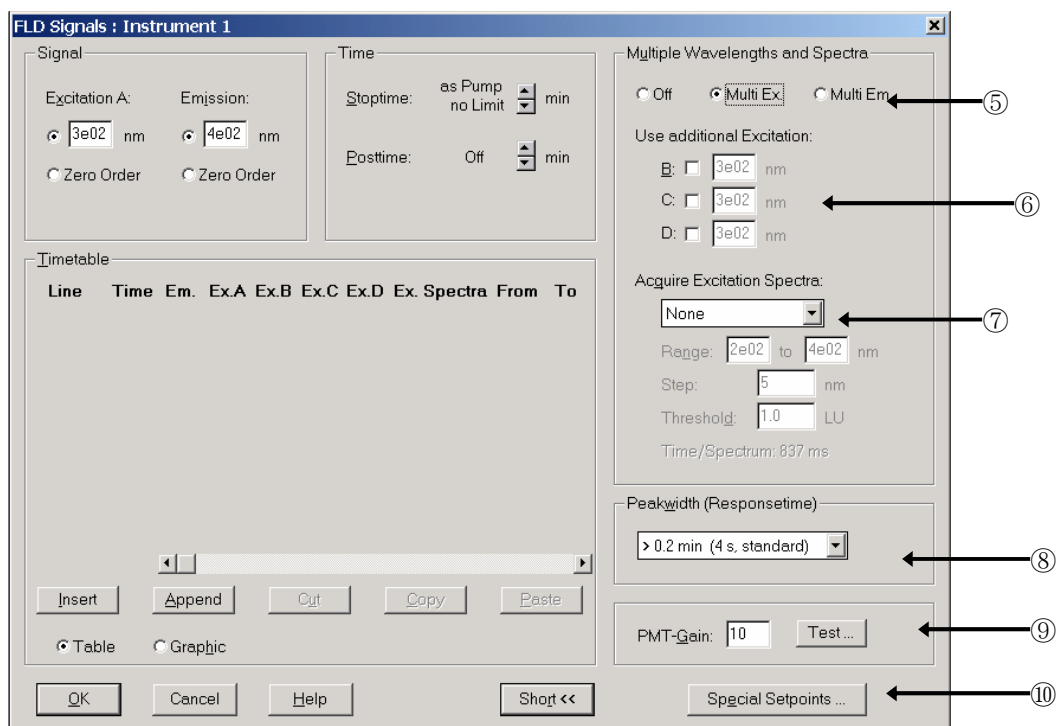


① 励起波長 (Excitation) 、蛍光波長 (Emission) を設定します。

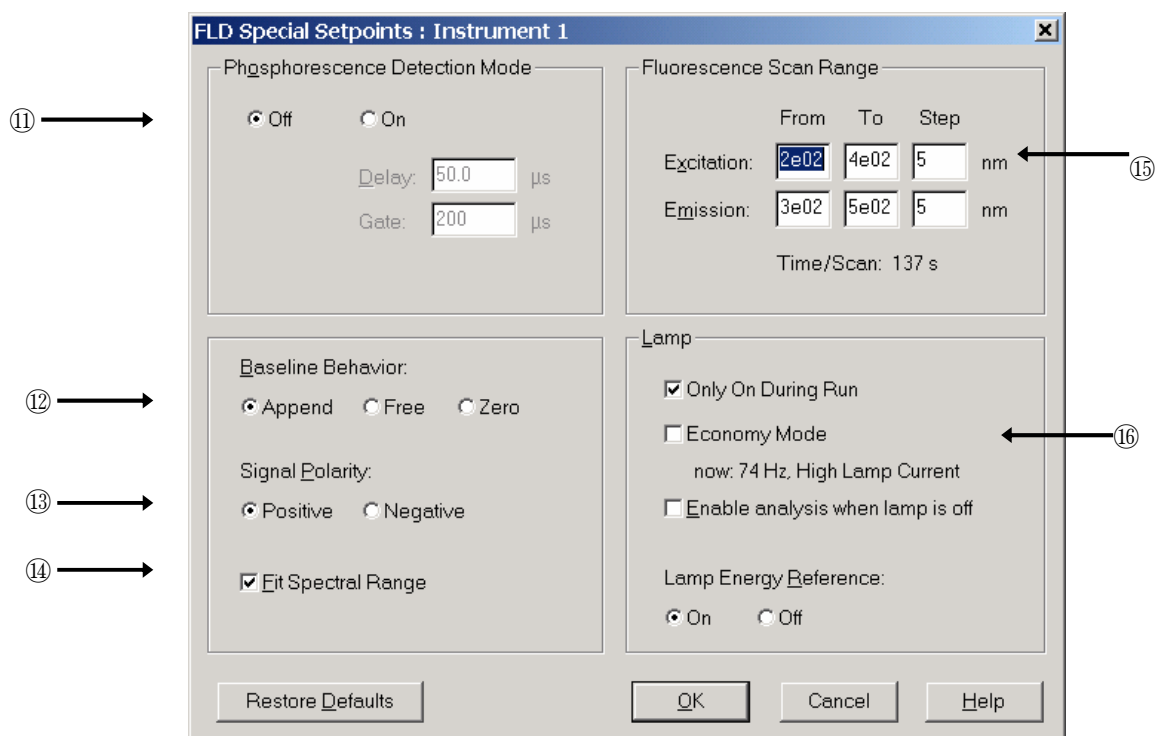
② 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は as Pump とします。

③ タイムテーブルを設定する場合には、追加 (Append) をクリックして編集モードにします。

④ 詳細な設定は、フル (Full) >> をクリックします。



- ⑤ マルチ Ex. (Multi Ex.) またはマルチ Em. (Multi Em.) を選択すると、励起または蛍光波長について多波長検出やスペクトル採取を行うことができます。
- ⑥ 励起波長または蛍光波長について、測定波長を 3 波長まで追加することができます。
- ⑦ スペクトルの採取方法を選択します。
- ⑧ 矢印をクリックし、ピーク幅 (Peakwidth) を選択します。
- ⑨ PMT-ゲイン (PMT-Gain) で信号の増幅を設定します。
- ⑩ さらに詳細な設定を行うためには、スペシャルセットポイント (Special Setpoints..) をクリックします。次ページに示します。



⑪ 燐光検出モード (Phosphorescence Detection Mode) : 燐光を測定する時に設定します。

ディレイ (Delay) : ランプ点灯から分析までの待ち時間

ゲート (Gate) : 測定時間

⑫ ベースライン処理 (Baseline Behavior) : 波長または PMT ゲインを変更した時のベースライン

の処理方法を設定します。

補正 (接続) (Append) : 元のベースライン位置にベースラインを合わせます。

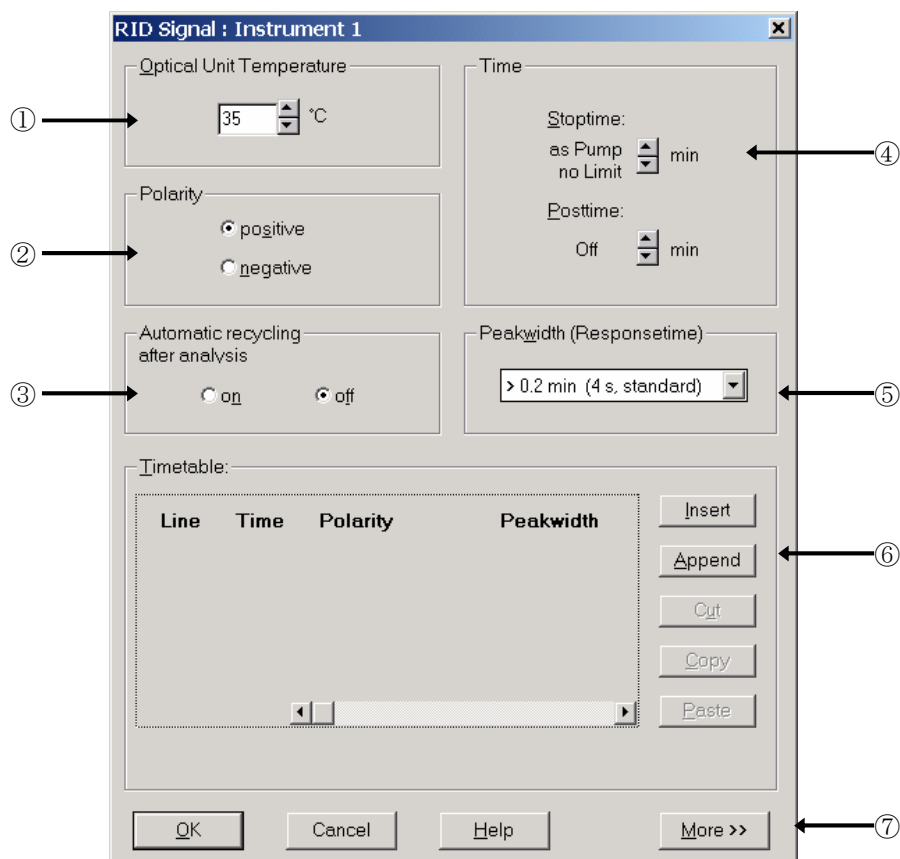
補正なし (Free) : ベースラインを調整しません。(ベースラインがシフトします。)

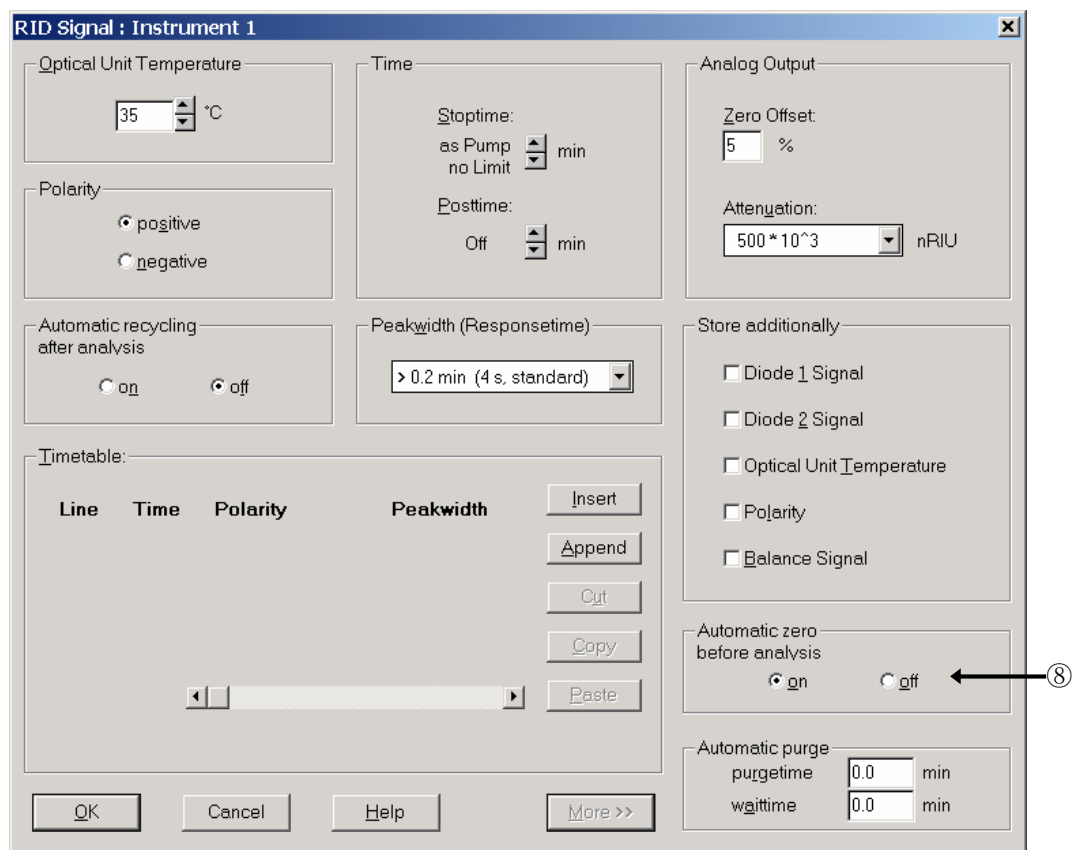
ゼロ補正 (Zero) : ベースラインを 0 LU (Luminescence Units) にします。

-
- ⑬ シグナル極性(Signal Polarity) : シグナルの極性を設定します。
- ⑭ スペクトル範囲固定(Fit Spectral Range) : 励起波長と蛍光波長の差が 25 nm 以上になるように測定範囲を調整します。
- ⑮ 蛍光スキャン範囲(Fluorescence Scan Range) : スキャンを行う波長範囲を設定します。
- ⑯ ランプ(Lamp) : ランプの点灯条件を設定します。
- 分析中のみ点灯(Only On During Mode) : 分析中のみランプを点灯します。通常この条件を選択します。
- エコノミーモード(Economy Mode) : 低周波数または低電流でランプを点灯します。
- S/N 比は小さくなりますが、ランプの寿命が長くなります。
- ランプオフ時の分析を可能にする(Enable analysis when lamp is off) :
- ランプが点灯していない時も分析が可能となります。
- ランプエネルギーリファレンス(Lamp Energy Reference) :
- リファレンスダイオードを使用して、シグナルを補正します。S/N 比が改善されます。
- ⑰ をクリックしていき、画面を閉じます。

<示差屈折率検出器の設定>

- ① 光学系温度 (Optical Unit Temperature) を設定します。
- ② 極性 (Polarity) を選択します。
- ③ 分析後に自動的に溶媒のリサイクルを行う時には **on** に設定します。
- ④ 分析時間をポンプと同期させるため、ストップタイム (Stoptime) は as Pump とします。
- ⑤ 矢印をクリックし、ピーク幅 (Peakwidth) を選択します。
- ⑥ タイムテーブルを設定する場合には、追加 (Append) をクリックして編集モードにします。
- ⑦ 詳細な設定は、続き (More) >> をクリックします。次ページに示します。





⑧ 測定直前に自動的にオートゼロをかけるため、**on** を選択します。

⑨ **OK** をクリックします。

<バルブ類の設定> (例: G1157A 2PS/10PT バルブ)

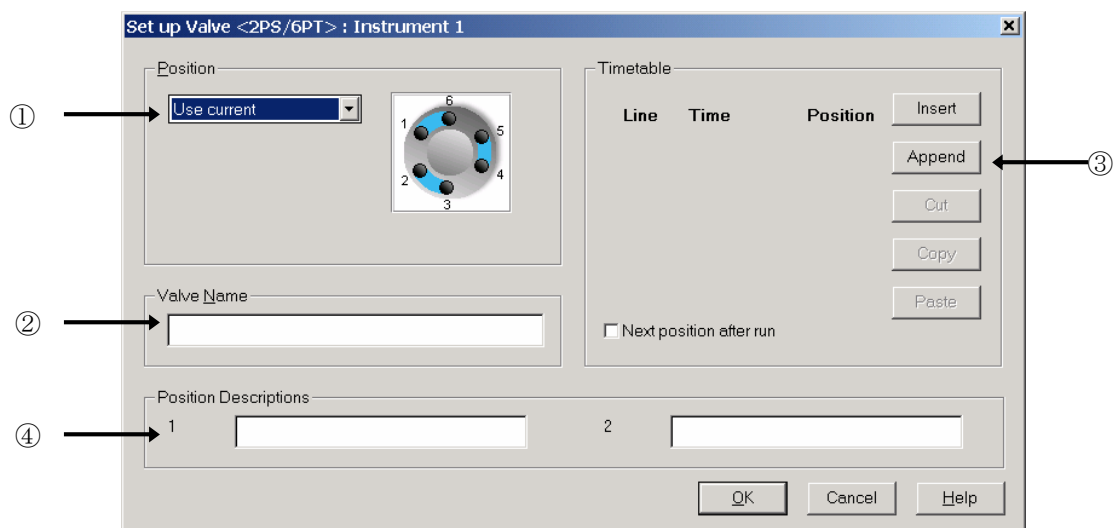
① ポジション (Position) を選択します。OK をクリックすると選択したポジションにバルブが切り替わります。

② バルブ名を入力します。

③ タイムプログラムでバルブ切替を行う場合は、タイムテーブルを設定します。

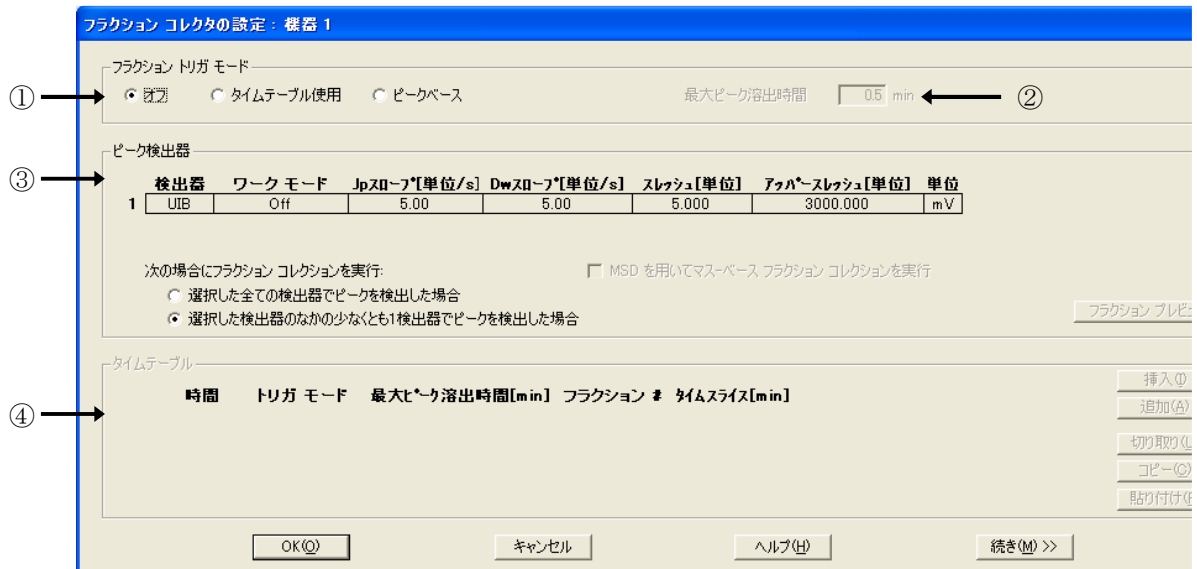
分析後、次ぎのポジションの選択が可能です。

④ ポジション説明を入力します。



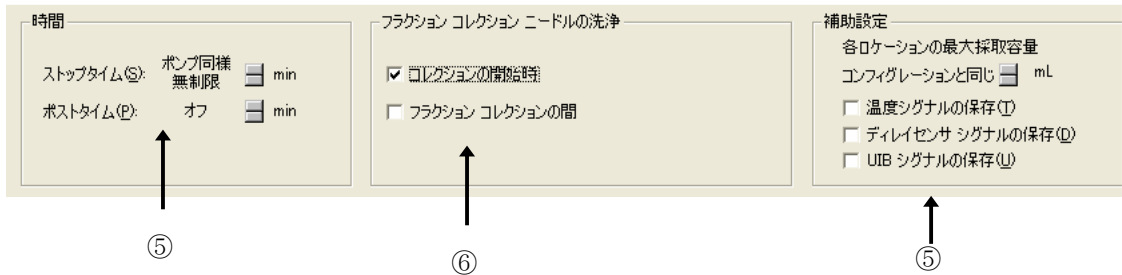
⑤ OK をクリックします。

<フラクションコレクタの設定>



- ① フラクショントリガモード (Fraction Trigger Mode) を選択します。
 オフ (off) : フラクション行わない
 タイムテーブル使用 (Use Timetable) : タイムベースフラクションまたはタイムベースをピークベースフラクションを切り替えるために使用
 ピークベース (Peak-based) : ピークベースフラクションを実施
- ② 最大ピーク容量時間 (Max Peak Duration) を設定します。
- ③ ピーク検出 (Peak Detection) を設定します。フラクショントリガモードにピークベースまたは、タイムテーブルでピークベースフラクションを設定した場合に、トリガとなる検出器の選択及びパラメータの設定を行います。検出器のワークモード (Working Mode) を On にひて、各検出パラメータを設定します。フラクションプレビュー (Fraction Preview) の画面で、採取したデータを読み込み各パラメータを画面上で最適化することができます。
- ④ フラクショントリガモードでタイムテーブル使用をした場合にタイムテーブルを設定します。

続き (More) を押して、さらに詳細な設定が行えます。

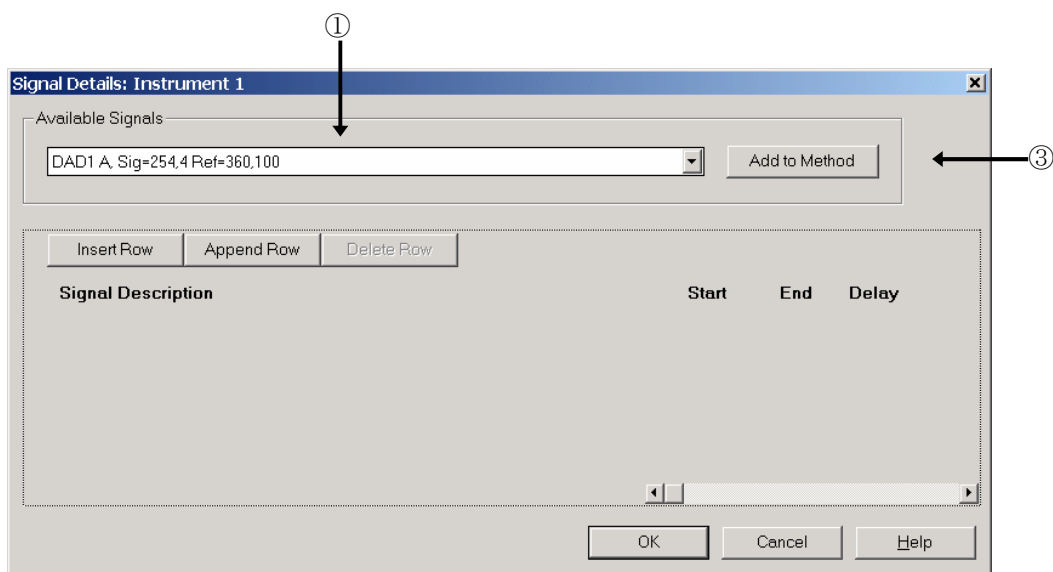


- ⑤ ストップタイム、ポストタイムを設定します。
- ⑥ フラクシオンニードル洗浄の設定を行います。□フラクシオン開始時をチェックすることをお勧めします。
- ⑦ 補助設定を設定します。
容器にフラクシオンする容量を設定できます。(プレート/試験管トレイのみ有効。ハーフトレイでは設定は無効)
その他、各装置データの保存設定が行えます。

<シグナルの詳細>

この画面からデータ解析に関連する画面が表示されます。

シグナル詳細画面では、積分およびレポート報告したいシグナル（クロマトグラム）を設定します。



① 使用可能シグナル（Available Signals）の矢印をクリックします。

② 目的のシグナルを選択します。

③ **メソッドに追加（Add to Method）** を押すと、シグナル説明欄に加わります。

スタート・エンド（Start・End）を設定すると、解析対象のシグナルの時間範囲を限定でき

ます。同様に、複数のシグナルおよびモニターカーブを選択することができます。

④ **OK** をクリックします。

* **検出器の設定**で設定したシグナルと**シグナル詳細**で選択した**使用可能シグナル**が異なると、メソッドファイルをセーブする際に警告が表示されます。

<積分イベント>

積分（インテグレーション）のイベント変更の画面が表示されます。

積分イベント変更

マニュアル イベント

OK キャンセル

全てのシグナルから:

積分イベント	値
タンジェント スキム モード	スタンダード
テール ピーク スキム 高さ	0.00
フロント ピーク スキム 高さ	0.00
スキム 谷比	20.00
ベースライン 補正	クラシカル
ピーク 谷比	500.00

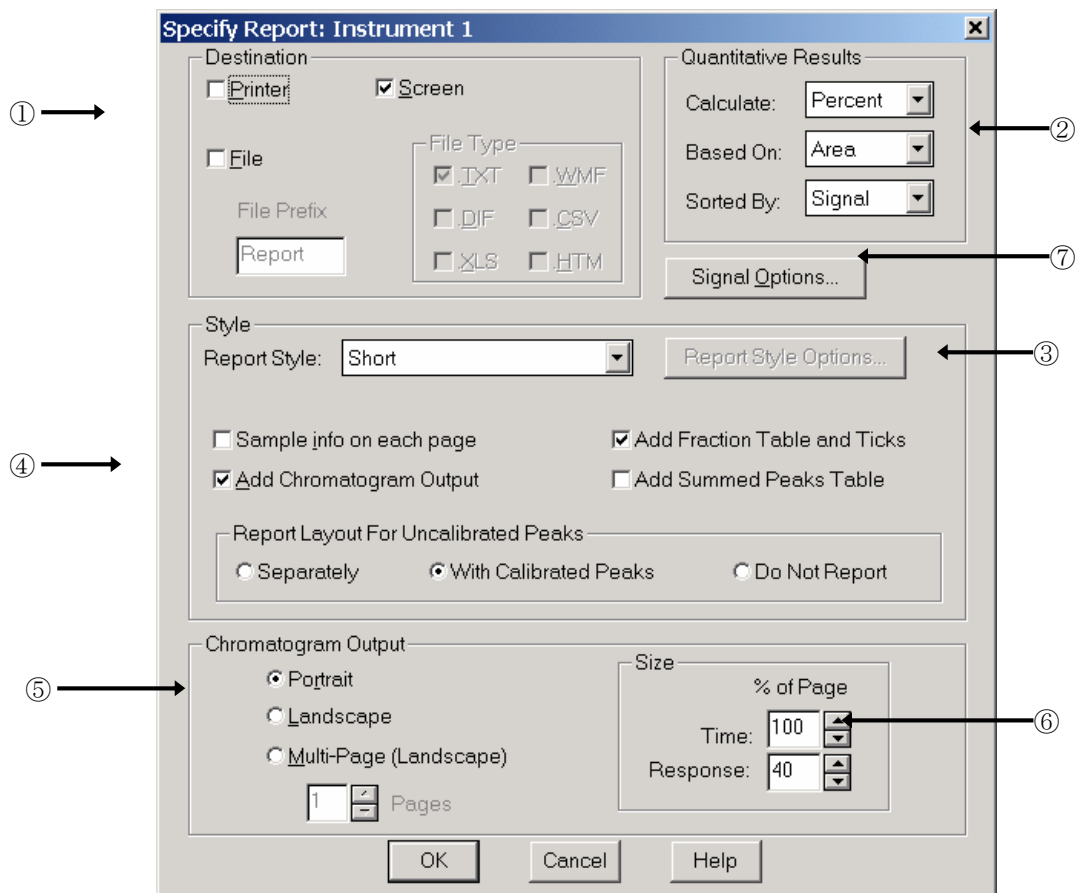
イベント テーブル MWD デフォルト

時間	積分イベント	値
初期	スロープ 感度	1
初期	ピーク 幅	0.04
初期	面積 リジェクト	1
初期	高さ リジェクト	1.7
初期	ショルダー	オフ

- ① 新しいベースラインコンセプトのために設けられた基本的な積分条件です。変更する場合は目的のイベントを選択し編集モードにします。タンジェントスキムモードとベースライン補正は、表示されるプルメニューから適切なものを選択し、その他イベントには数値を入力します。
- ② その他の基本的な積分イベントです。変更する場合は目的のイベントを選択し、編集モードにします。
- ③ その他のイベントを追加する場合は、イベント追加ボタンをクリックして選択し、値や時間を入力します。
- ④ ここでは、このまま **OK** ボタンをクリックします。

<レポート条件>

“レポート”とはシグナルやスペクトルの計算・解析結果をいいます。
レポート条件設定画面では、レポート報告の条件を設定します。



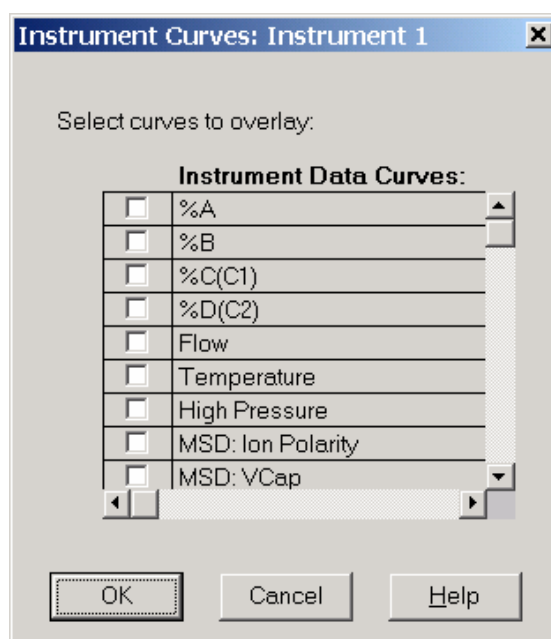
-
- ① レポートの出力先 (Destination) を選択します。
 - ② 定量方法 (Quantitative Results) を選択します。
 - ③ レポートスタイル (Report Style) を選択します。
矢印をクリックし、簡易 (Short) を選択します。
 - ④ レポートにクロマトグラムを追加する場合には、クロマトグラム出力の追加 (Add Chromatogram Output) にチェックを入れます。
 - ⑤ クロマトグラムを出力する向きを選択します。
 - ⑥ レポート用紙上に表示するクロマトグラムの割合を設定します。
 - ⑦ シグナルの表示画面を変更できます。
 - ⑧ をクリックします。

<モニターカーブ>

シグナルを読み込む際、シグナルにシステム圧力など実際の分析時の状態を重ね書きすることができます。

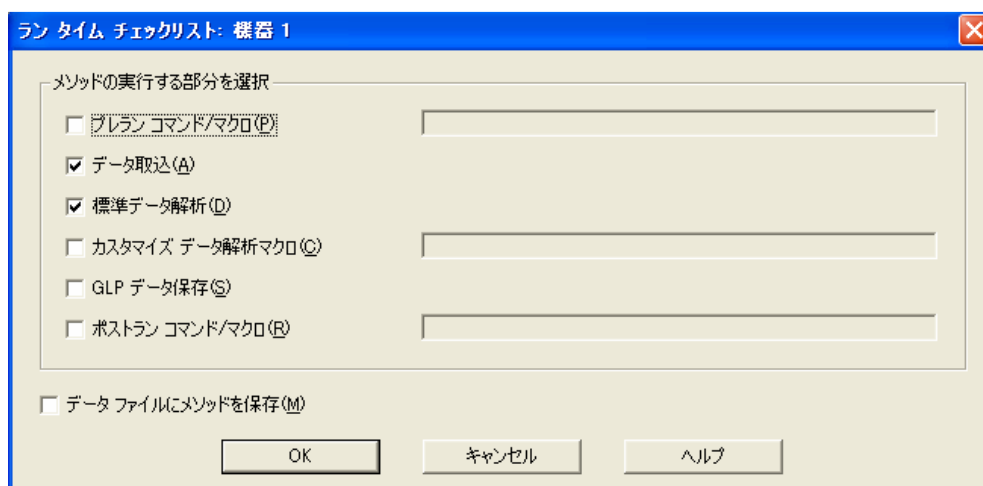
① 表示したい項目をクリックします。

② **OK** をクリックします。



<ランタイムチェックリスト>

分析を実行する際、メソッドでどの項目を実行するか設定します。



- ① データ取り込み (Data Acquisition) と標準データ解析 (Standard Data Analysis) のチェックボックスをクリックします。

これにより、分析はデータの取り込みと解析を連続して実施します。

- ② **OK** をクリックします。

* 以上で メソッド全体の編集 (Edit entire method) によるメソッドの編集が終わりました。

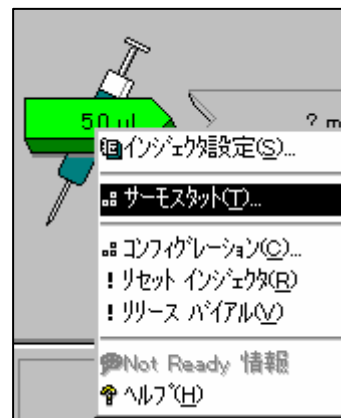
メソッドを保存する前に、再度メソッド全体の編集 (Edit entire method) を実施し、メソッドパラメータを確認してみましょう。

補足：冷却機能付きオートサンプラの温度設定

ご使用のオートサンプラが冷却機能付きの場合は、この設定を行って下さい。

トップ画面で、オートサンプラの絵をクリックします。
右のようなメニューが表示されます。

メニューからサーモスタット (Thermostat)を選択します。



あるいは、メニューバーから

装置 (Instrument) → インジェクタ続き (More Injector) → サーモスタット (Thermostat)

を選択します。

-
- ① サーモスタット (Thermostat) を ON にします。
 - ② 温度を入力します。
 - ③ 電源を入れた時に、自動的にサーモスタットを ON にする場合、チェックします。
 - ④ をクリックします。

サンプル サーモスタット : 装置 1

サーモスタット(T)

on
 off

温度(E)

20 °C
 コントロールなし

電源投入時(P)

サーモスタット on

自動 on(A)

サーモスタット on:

日付: 98/02/18 <yy/mm/dd>
時間: 13:36:36 <hh:mm:ss>

2-3. メソッドファイルの保存

編集したメソッドを保存します。

メソッドファイル名を変更して保存する場合は

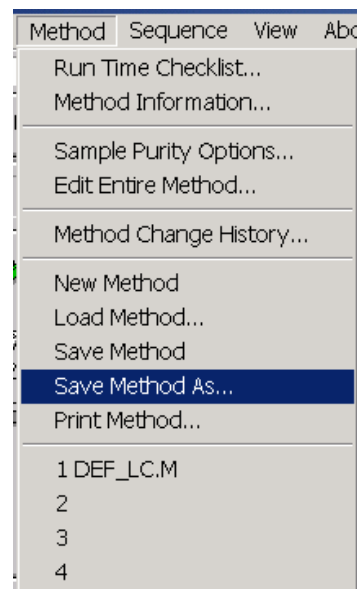
メソッド (Method)

→ 名前を付けてメソッド保存 (Save Method As) ...

を実施します。

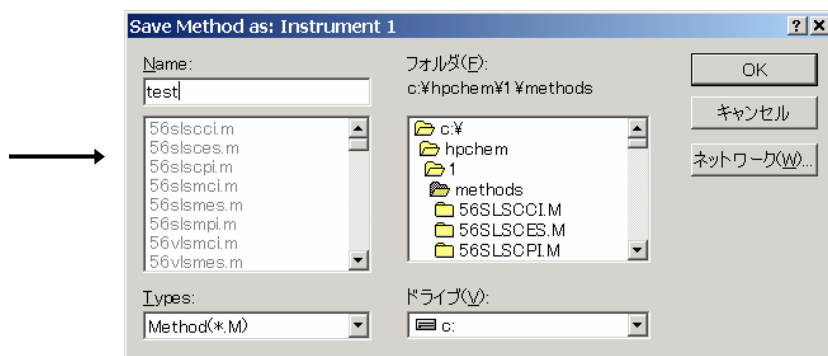
* DEF_LC.M の属性は上書き禁止になっています。

必ずファイル名を変更することになります。



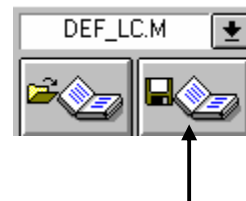
① ファイル名 (Name) を入力します。半角英数字 8 文字以内です。

メソッドファイルの拡張子 (*.M) は自動的に付けられます。



② **OK** をクリックします。

メソッド名を変更せず上書きする場合は、アイコンをクリックします。



メソッドを保存するたびに、メソッド編集に関連したコメントを残すことができます。

これによりメソッド名を上書きで保存しても履歴を見ることができます。
コメントを入力し、**OK** をクリックします。

2-4. メソッドの一部変更

すでに編集したメソッドのパラメータを部分的に変更する方法を示します。

ここではインジェクタ設定 (Setup Injector) を例にして、注入量を $1\mu\text{l}$ から $5\mu\text{l}$ に変更します。

【メソッドパラメータの一部変更】

メソッドパラメータの中で目的のパラメータだけを変更する方法は、以下の3種類があります。

(A) プルダウンメニュー

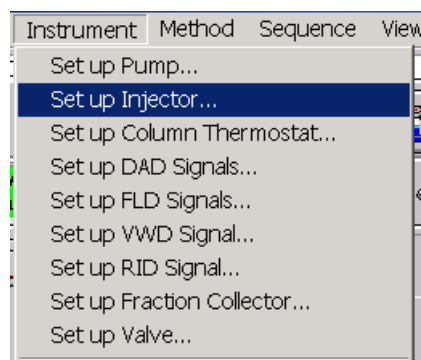
メニューバーから

装置 (Instrument)

→ インジェクタ設定 (Set up Injector)

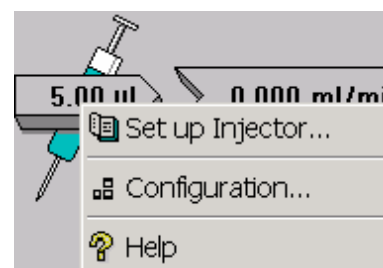
を選択します。

注入量 (Injection Volume) を $5\mu\text{l}$ に変更します。



(B) GUI (システムダイアグラム) の利用

GUI (システムダイアグラム) のインジェクタの上にマウスのポインタを動かします。ポインタの形状が変わるのを確認したら、そこでマウスの左ボタンをクリックします。



メニューからインジェクタ設定 (Set up Injector) を
選択します。

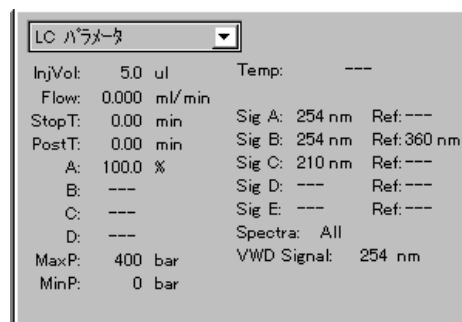
注入量 (Injection Volume) を $5\mu\text{l}$ に変更します。

(C) “ LC パラメータ”

システムダイアグラムの右下に“LC パラメータ (LC Parameters)”を表示させます。

インジェクタに関連するパラメータ（例えば注入量: **InjVol**）にマウスのポインタを動かします。ポインタの形状が変わるのを確認したら、そこでマウスの左ボタンをクリックすると、設定画面が表示されます。

注入量 (Injection Volume) を $5\mu\text{l}$ に変更します。



【メソッドの保存】

メソッドパラメータを一部でも変更した場合、そのメソッドを保存する必要があります。

2-2 節 メソッドファイルの保存を参照してメソッドを保存してください。

第3章 システムの起動

3-1. 分析装置の準備

【移動相の準備】

LC用溶媒をボトルに入れ、トレイにセットします。

- ※注意
- ・使用する溶媒は液体クロマトグラフ用を使用願います。
 - ・バッファを使用する場合は 0.45 μm 以下のフィルターで濾過して使用して下さい。
 - ・オンラインデガッサが無い場合は、超音波減圧脱気してからセットして下さい。

【オンラインデガッサ】

オンラインデガッサを使用する場合は、デガッサ内部の溶媒を置換します。付属のシリンジを以下のように接続します。(G1379A ミクロデガッサの場合は、この作業は行わないでください。)

- ・バイナリポンプ，アイソクラティックポンプ：

ボトルヘッドアセンブリからアクティブインレットバルブに接続されているテフロンチューブを外し、シリンジアダプタに接続します。

- ・クォータナリポンプ：マルチチャンネルグラジエントバルブ（4方バルブ）に接続されているテフロンチューブを外し、シリンジアダプタに接続します。

各チャンネルごとに 30ml ほど置換します。

3-2. 分析装置の起動順序

1. ポンプヘッド内の気泡抜き（パージの実施）

ポンプヘッド内の気泡を取り除くためパージ（高流量で移動相を送液）します。
ポンプヘッドのパージバルブを反時計方向に回すと、移動相はドレイン側に流れるようになります。

ポンプの流量を 5ml/min に設定し、ポンプを ON にします。各溶媒チャンネルごとに

3～5分ほど流します。

パージが終了したらポンプを OFF にし、パージバルブを時計方向に回します。

※注意 パージバルブは締めすぎに注意して下さい。

時計方向に回して手応えを感じたら（負荷が大きくなったら）、そこからさらに

20～30度ほど回します。

ポンプを ON にした際、ドレイン側チューブに移動相が流れているのが観察さ

れたら、少しずつ時計方向に回し増し締めをして下さい。

2. 検出器の準備

ランプを点灯させます。

※注意 安定したベースラインを得るために、30分以上待つてから分析を開始すること

をおすすめします。

3. 流路の溶媒の置換

カラムを保護するため、カラム入口のコネクタを外します。

設定した流量で移動相を送液し、流路（カラム入口）が十分に置換されるまで流します。

※注意 移動相としてバッファを使用した直後に有機溶媒のみを流すと、塩が析出し配管

が詰まることがあります。その際は、まず流路を純水に置換してから、有機溶

媒に置換して下さい。

4. カラムの接続

ポンプの送液が停止した状態でカラムを接続します。

5. カラムコンパートメントの準備

ヒーターブロックの温度コントロールを ON にします。

※注意 カラムが温まるまではカラムを流路に接続しないか、接続する場合は低流量で

送液することをおすすめします。

カラムを接続して送液を始めたら、カラム内部の温度が安定するまで待つてか

ら分析を開始することをおすすめします。流量が 1ml/min の場合、30 分が目安

です。

6. サンプルバイアルの設置

サンプルバイアルをトレイの 1 番に設置します。

3-3. 分析装置の起動方法

【システムの起動方法】

ポンプを例にして、システムを ON する方法を示します。

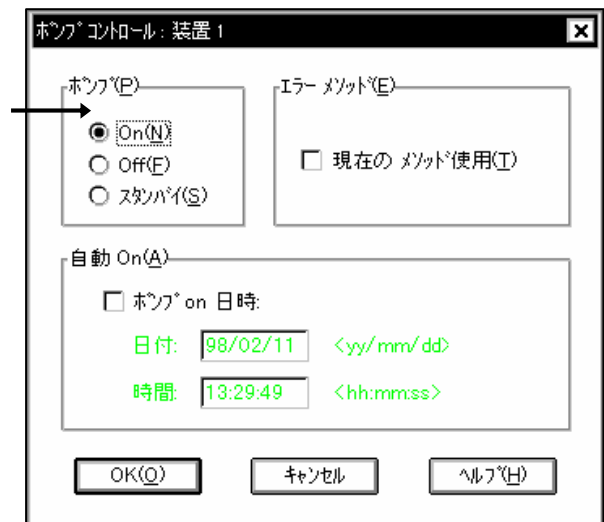
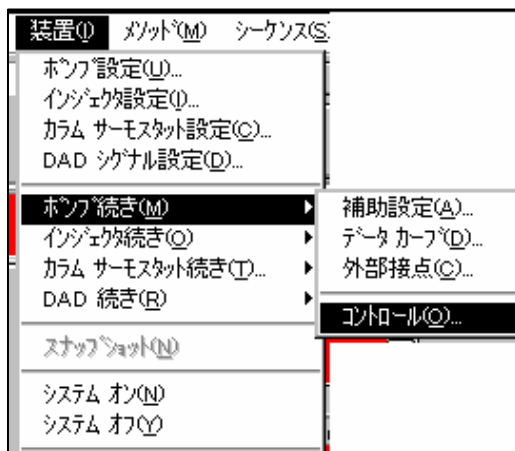
これには以下の (A), (B), (C) の方法があります。

カラム保護のため、実際にシステムを ON するのは、3-2 節 システム ON の順序に従って行って下さい。

(A) プルダウンメニュー

メニューバーより設定します。

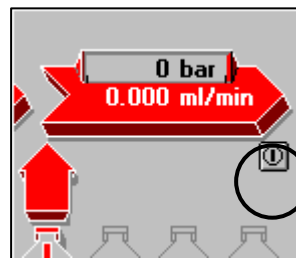
装置 (Instrument) → ポンプ続き (More Pump) → コントロール (Control)



ON を選択し、**OK** をクリックします。

(B) GUI の利用 (モジュール単位)

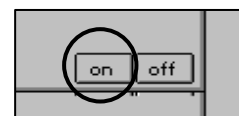
マウスでポンプ GUI 右下のボタンをクリックすると、ポンプを ON にすることができます。



(C) システム全体の ON

システムに含まれる全てのモジュールを同時に ON にすることができます。

システムダイアグラム右下の on をクリックします。



あるいは、メニューバーから

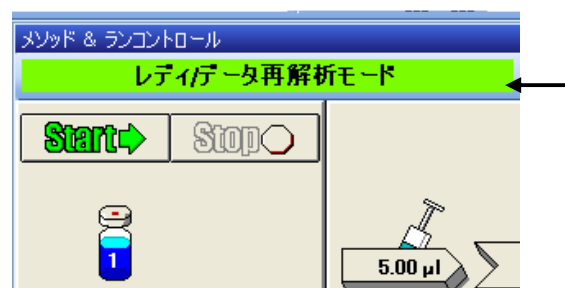
装置 (Instrument) → システム オン (System On)

を選択します。

3-4. モニタ表示

【システム “Ready”】

GUI のステータスはシステム全体が分析を開始できるかどうかの状態を次のように示します。



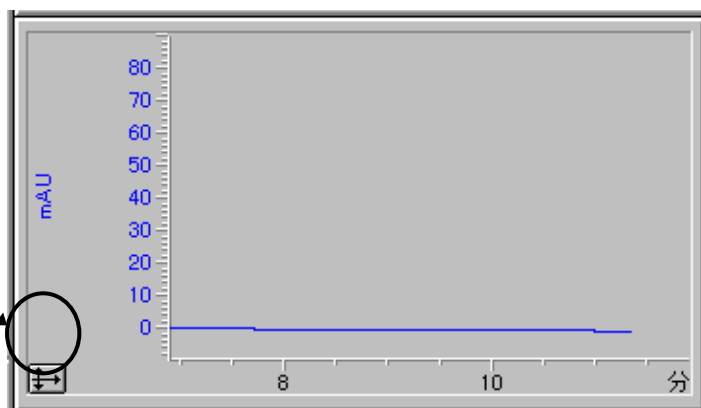
- Ready (緑)** : システム中すべてのモジュールが安定し、分析可能な状態。
- Not Ready (赤)** : システム中のモジュールの中で安定していないものがあり、分析を開始できない状態。
- Error (赤)** : エラーが発生している状態。

ステータスが **Ready** を示したら、分析を開始できます。

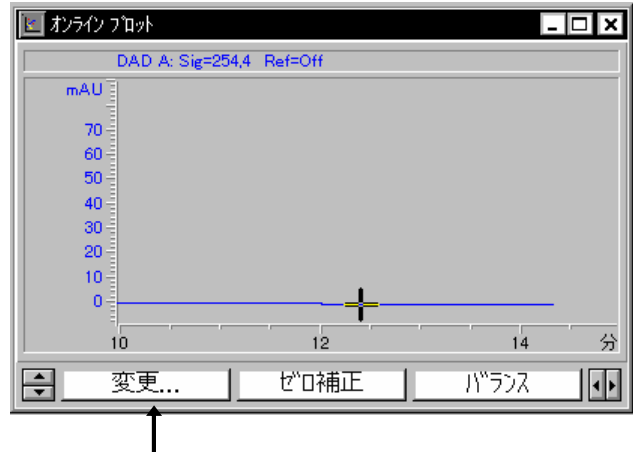
【ベースラインおよびシステム圧力のモニタリング】

オンラインシグナルモニタでベースラインおよびシステム圧力を表示させ、システムが安定するのを確認します。

GUI のシグナルモニタ左下のボタンをクリックすると、オンラインシグナルモニタを表示します。



変更 (Change...) をクリックするとシグナルプロットの編集 (Edit Signals) 画面が表示されます。



ダイオードアレイ検出器の場合、表示可能シグナル (Available Signals) 欄から **DAD A:** を選択し、追加 (Add) をクリックすると シグナル選択 (Selected Signals) 欄に加わります。

同様に バイナリポンプ圧力 (Binary Pump Pressure) を追加すると以下の画面になります。

シグナル選択 (Selected Signals) 欄のシグナルを個々にハイライトにすると、シグナルを表示する範囲 (y 軸範囲 (y-axis range)) の設定ができます。

シグナルプロットの編集

表示可能シグナル(A)

DAD B: Sig=254.4 Ref=360,100
DAD C: Sig=210,16 Ref=Off
DAD D: Sig=230,16 Ref=360,100
DAD E: Sig=280,16 Ref=360,100
バイナリポンプ: 流量
バイナリポンプ: %A
バイナリポンプ: %B

追加(A) ->

<- 削除(R)

シグナル選択(S)

DAD A: Sig=254.4 Ref=Off
バイナリポンプ: 圧力

ウィンドウ

x 軸範囲(X): 3 分

ゼロ点ライン(Z):

バイナリポンプ: 圧力

タイプ: 実測値 y 軸範囲(Y): 100 bar

y 軸自動調整(A) オフセット(O): 10 %

メソッド設定

メソッド設定使用

メソッドへ適用

OK キャンセル ヘルプ

設定後 **OK** をクリックします。

【オンラインスペクトルモニタの表示】

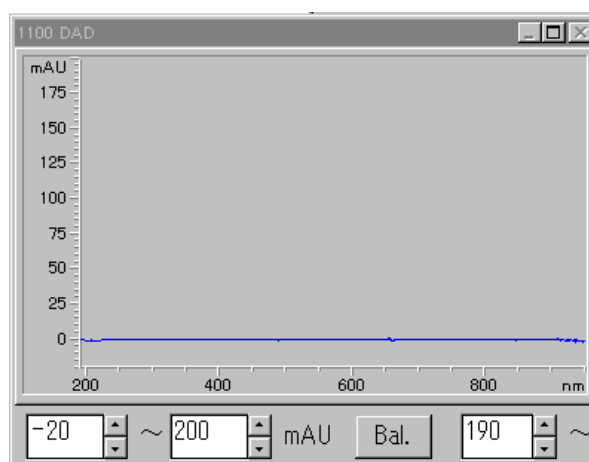
ダイオードアレイ検出器または蛍光検出器の場合、オンラインスペクトルモニタを表示することができます。

メニューバーから

表示 (View)

→ スペクトル表示 (Online Spectra)

を選択します。



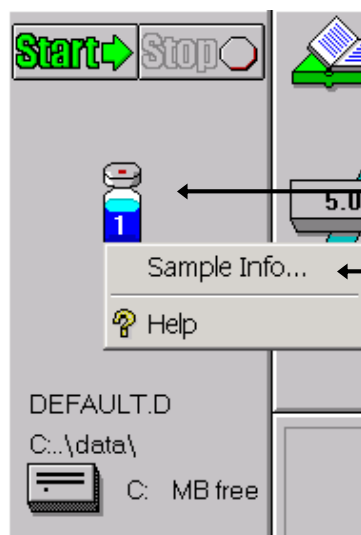
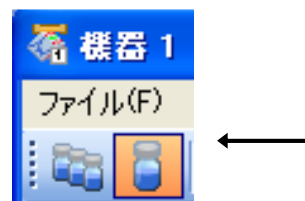
第4章 分析の実行

4-1. “1サンプルのみ”の分析

4-1-1. サンプル情報の設定

1 サンプルのみのデータを採取する場合には、サンプルバイアル番号とデータファイル名の設定を行います。

1本のバイアルのアイコンをクリックします。



- ① バイアルをクリックします。
- ② メニューが表示されますので、サンプル情報 (Sample Info...) を選択します。

サンプル情報 (Sample Info..) 画面が表示されます。

① 分析者名を入力します。

② マニュアルを選択し、ファイル名を入力します。

データファイル名は半角英数字 40 文字以内です。拡張子 (*.D) は自動的に付けられます。

③ データ管理をしやすいように、サブディレクトリを設定します。半角英数字で 40 文字以内です。入力後、他のパラメータを編集しようとするメッセージが表示されますので、**OK** をクリックします。



④ロケーション (Location) を設定します。

・バイアル

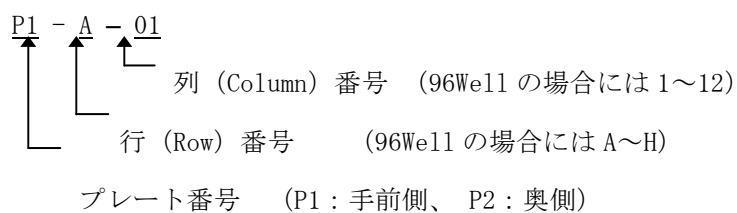
例) 1 と入力します。

入力後次の項目に進むと、"バイアル 1 (Vial 1)" と表示が変更されます。

・ウェルプレート (高性能オートサンプラ/ウェルプレートサンプラの場合のみ)

例) p1a1 と入力します。

入力後次の項目に進むと、"P1-A-01" と表示が変更されます。



⑤ サンプル名 (Sample Name) やコメント (Comment) を必要に応じて入力します。

⑥ をクリックします。

4-1-2. メソッドの実行

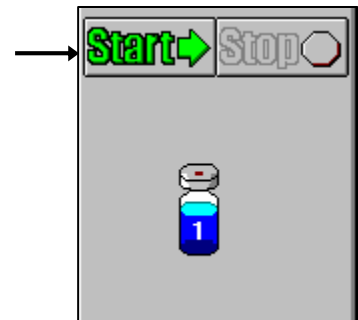
システムのステータスが **Ready** となり、ベースラインおよびシステム圧力が安定したら、データ採取を始めます。(3-4 節 参照)

1本のバイアルのアイコンをクリックします。



サンプリングダイアグラム (Sampling Diagram) の絵が1サンプルの分析モードになります。

Start をクリックすると、分析が実行されます。



あるいは、メニューバーから

ラン コントロール (Run Control) → ラン メソッド (Run Method)

を実行します。

- * メソッドを実行すると、検出器にバランスがかかり、それから注入動作をします。
- * オンラインシグナルモニタには分析スタート時点で赤い縦線が表示されます。
- * 分析が無事に終了すると、レポートがスクリーンおよびプリンタに出力されます。

スタンダードサンプルは以下の4種類の成分で構成されています。

No.1	: ジメチルフタレート	Dimethylphthalate	:DMP
No.2	: ジエチルフタレート	Diethylphthalate	:DEP
No.3	: ビフェニル	Biphenyl (Diphenyl)	
No.4	: o-ターフェニル	o-Terphenyl	

* UV-VIS 検出器、ダイオードアレイ検出器、示差屈折率検出器では、No. 1~4 の4本のピークを確認することができます。

* プログラマブル 3D 蛍光検出器では、No. 3 のピークを確認することができます。

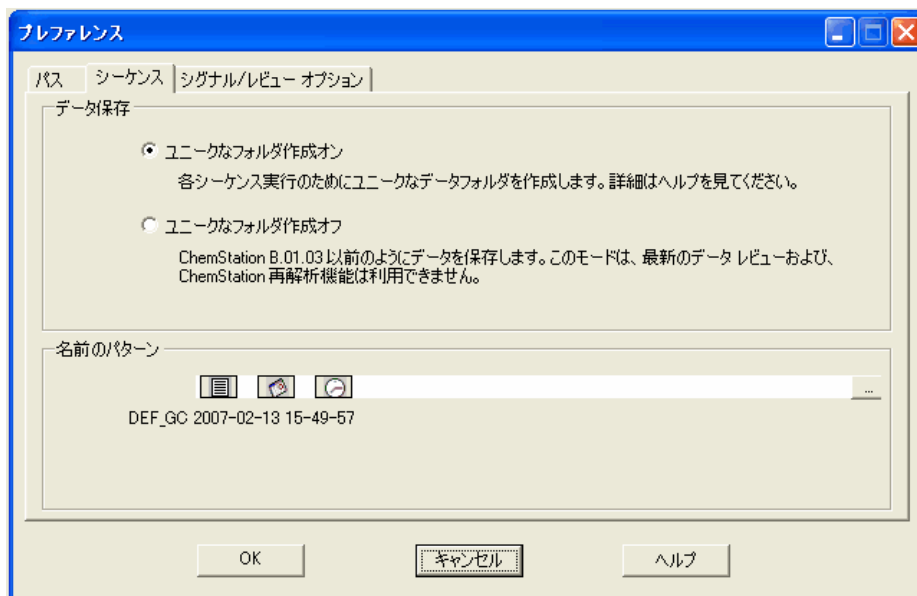
4-2. シーケンス (Sequence)

シーケンスとは、分析条件 (メソッド) の異なるサンプルを、サンプル毎に指定したメソッドに従い、連続自動分析を行うためのプログラムです。本節の詳細については、別冊の“新しい Chemstation ワークフロー入門”を参照ください。

<シーケンスコンテナの設定>

表示 (View) → Preference (プレファレンス)

シーケンスタブを選択します。




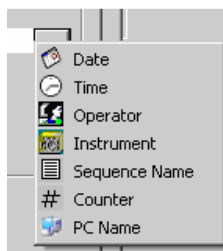
1. データ保存方法

Chemstation Ver. B.02.01 以降に取り入れられたユニークなフォルダ作成の利用の有無を選択できます。○ユニークなフォルダ作成オフ、を選択すると、B.01.03 以前のデータ保存とデータ処理方法を採用することになります。これらの保存方法を日常の分析において、途中で変更することは、お勧めできません。必ず、どちらかの保存方法に固定して使用してください。

2. シーケンスコンテナ名の設定

名前のパターンを設定します。

名前のパターンの項目を追加した位置をクリックします。、右端の  を押すと項目選択メニューが表示されるので、そのなかから項目区をクリックします。



4-2-1. シーケンステーブル (Sequence Table) の設定

シーケンスには以下の内容が含まれます。

- ・シーケンステーブル (Sequence Table)
: 実行メソッド, バイアル番号等の設定を行います。
- ・シーケンスパラメータ (Sequence Parameters)
: データの保存場所 (ディレクトリ) の指定などを行います。

3本のバイアルのアイコンをクリックします。



サンプリングダイアグラム (Sampling Diagram) の絵がシーケンス実行用に変化します。



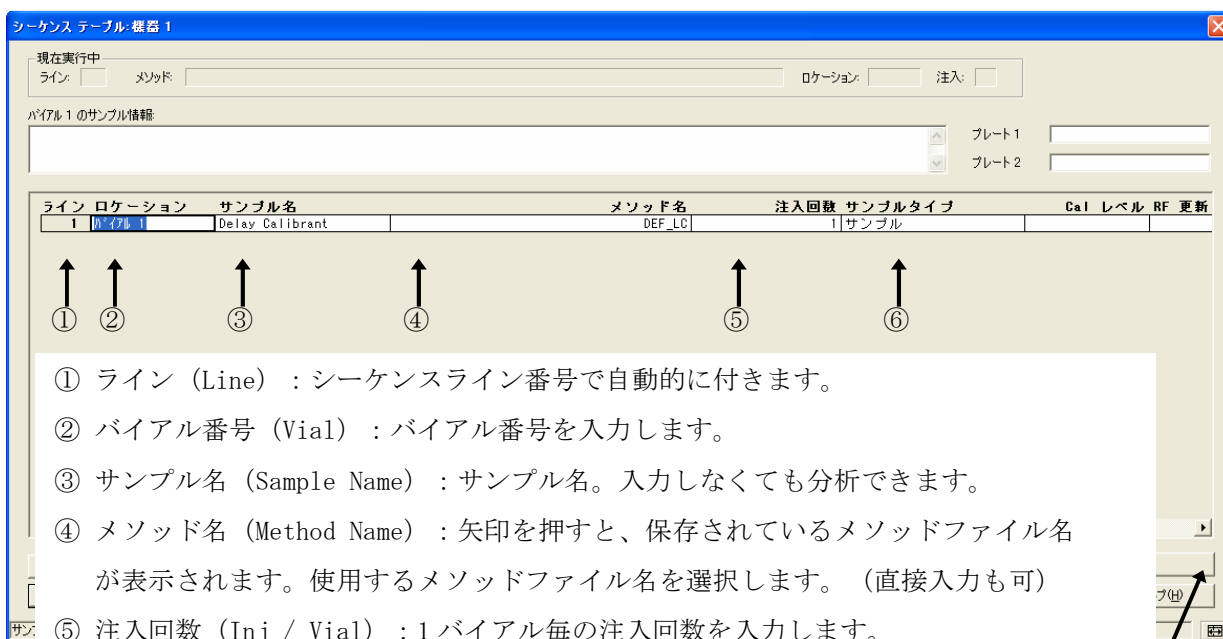
① バイアルをクリックします。

② メニューが表示されますので、シーケンステーブル

(Sequence Table) を選択します。

シーケンステーブルが表示されます。

シーケンスライン (Sequence Line) に以下の項目を設定します。



- ① ライン (Line) : シーケンスライン番号で自動的に付きます。
- ② バイアル番号 (Vial) : バイアル番号を入力します。
- ③ サンプル名 (Sample Name) : サンプル名。入力しなくても分析できます。
- ④ メソッド名 (Method Name) : 矢印を押すと、保存されているメソッドファイル名が表示されます。使用するメソッドファイル名を選択します。(直接入力も可)
- ⑤ 注入回数 (Inj / Vial) : 1 バイアル毎の注入回数を入力します。
- ⑥ サンプルタイプ (Sample Type) : 通常の分析ではサンプル(Sample)にしておきます。

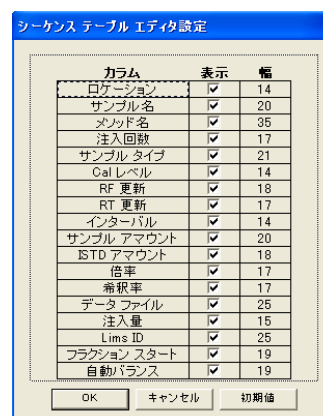
⑦ 注入量 (Inj Volume) : 一番下の矢印を押していくと、この表の一番右端にあります。

この設定を行ったラインのサンプルのみ、メソッドで設定した注入量以外の注入が可能です。

通常は設定不要です。(この画面には表示されていません)

⑧ をクリックします。

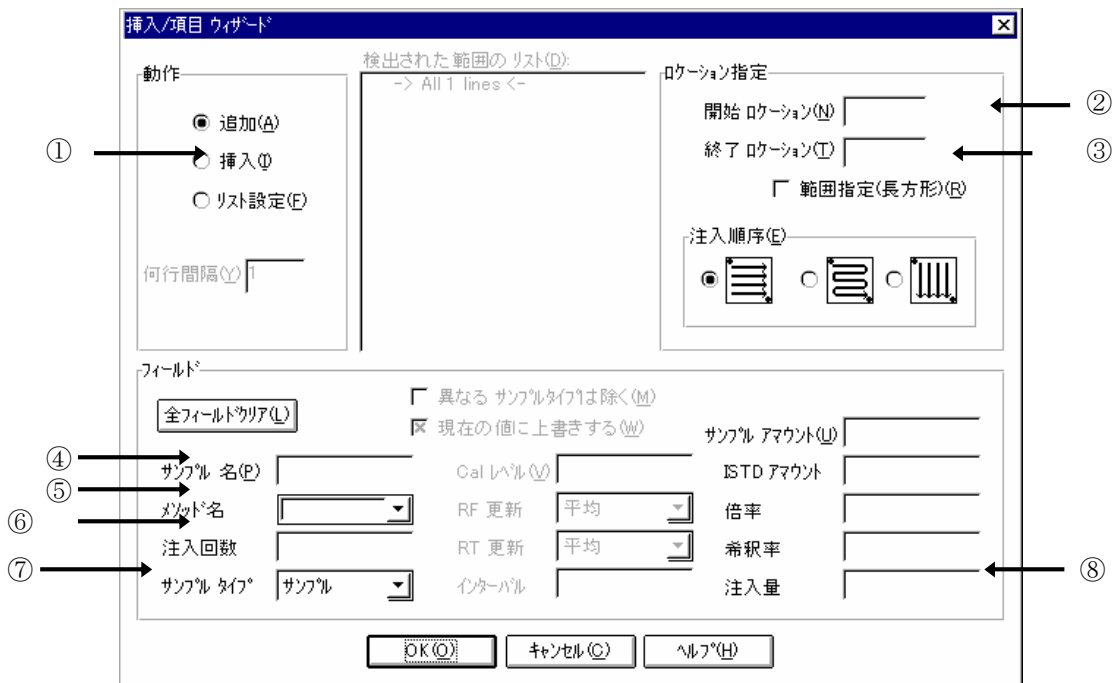
画面右下にあるキーを押すことで
シーケンステーブルの表示項目を
選択することができます。



連続したバイアルまたはウェルプレートの設定を行うには、以下の機能を使用すると簡単に設定できます。

シーケンステーブル画面で、**挿入／項目ウィザード (Insert/FillDown Wizard)** をクリックします。次の画面が表示されます。

<ウェルプレートオートサンプラ使用時>



① 動作 (Action) を選択します。新規作成の場合は、追加を選択します。

② ロケーション指定 (Location Assignments) を設定します。

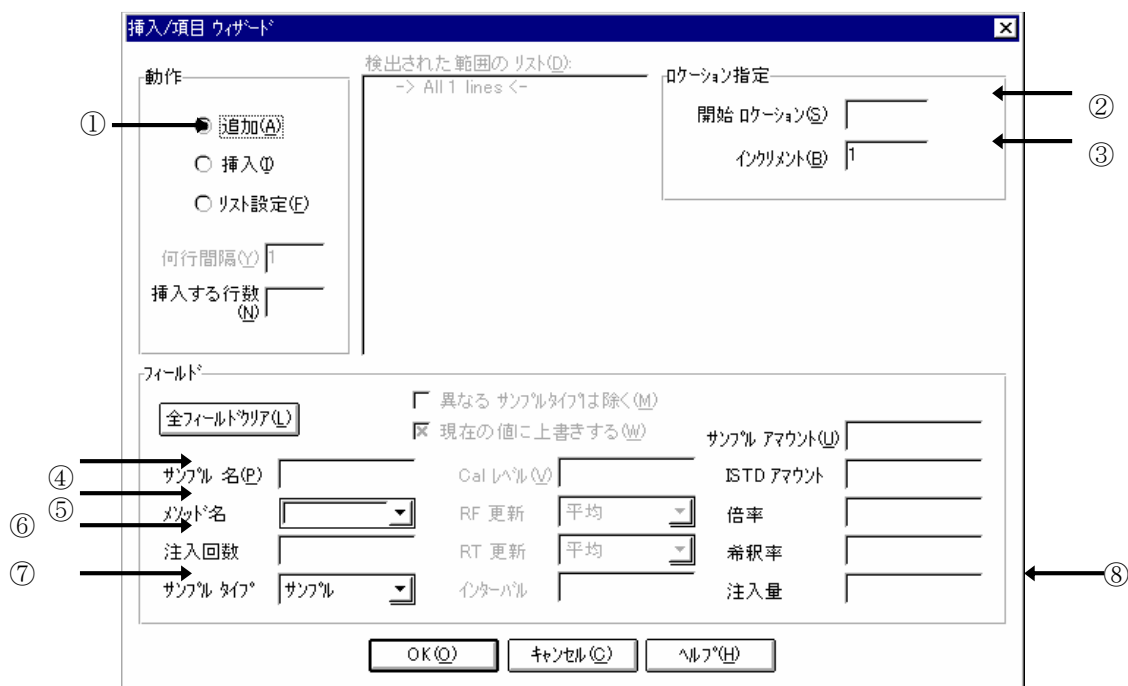
同じ条件、同じサンプルタイプ等を設定するサンプルレットの開始位置と終了位置を入力します。開始位置と終了位置は同じプレート/トレイである必要があります。

Rectangular を選択するドラッグで選択した範囲 (長方形) を設定することができます。

③ 終了バイアルを入力します。

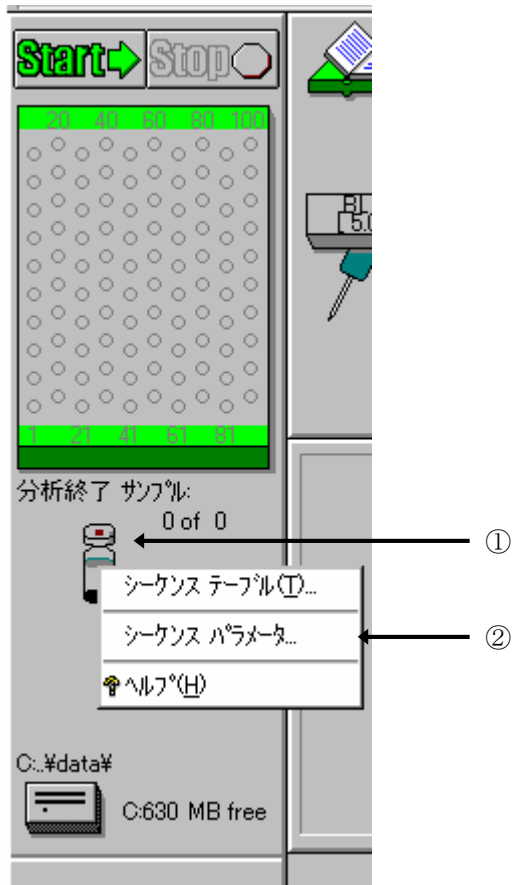
-
- ④ サンプル名を入力します。
 - ⑤ メソッド名を選択します。
 - ⑥ 1バイアル毎の注入回数を入力します。
 - ⑦ サンプルタイプ (サンプル、キャリブレーション、コントロール サンプル) を設定します。
 - ⑧ メソッドで設定した注入量と同じ場合には、入力する必要はありません。
注入量を変更する場合のみ入力します。
 - ⑨ をクリックすると、テーブルに行が挿入されます。

<標準オートサンプラまたは100サンプルトレイ使用時>



- ① 動作 (Action) を選択します。新規作成の場合は、追加を選択します。
- ② ロケーション指定 (Location Assignments) を設定します。
同じ条件、同じサンプルタイプ等を設定するサンプルセットの開始位置を入力します。
- ③ いくつつサンプル番号を増加させるか設定します。
- ④ サンプル名を入力します。
- ⑤ メソッド名を選択します。
- ⑥ 1パイアル毎の注入回数を入力します。
- ⑦ サンプルタイプ (サンプル、キャリブレーション、コントロール サンプル) を設定します。
- ⑧ メソッドで設定した注入量と同じ場合には、入力する必要はありません。
注入量を変更する場合のみ入力します。
- ⑨ **OK** をクリックすると、テーブルに行が挿入されます。

4-2-2. シーケンスパラメータ (Sequence Parameter) の設定



① バイアルをクリックします。

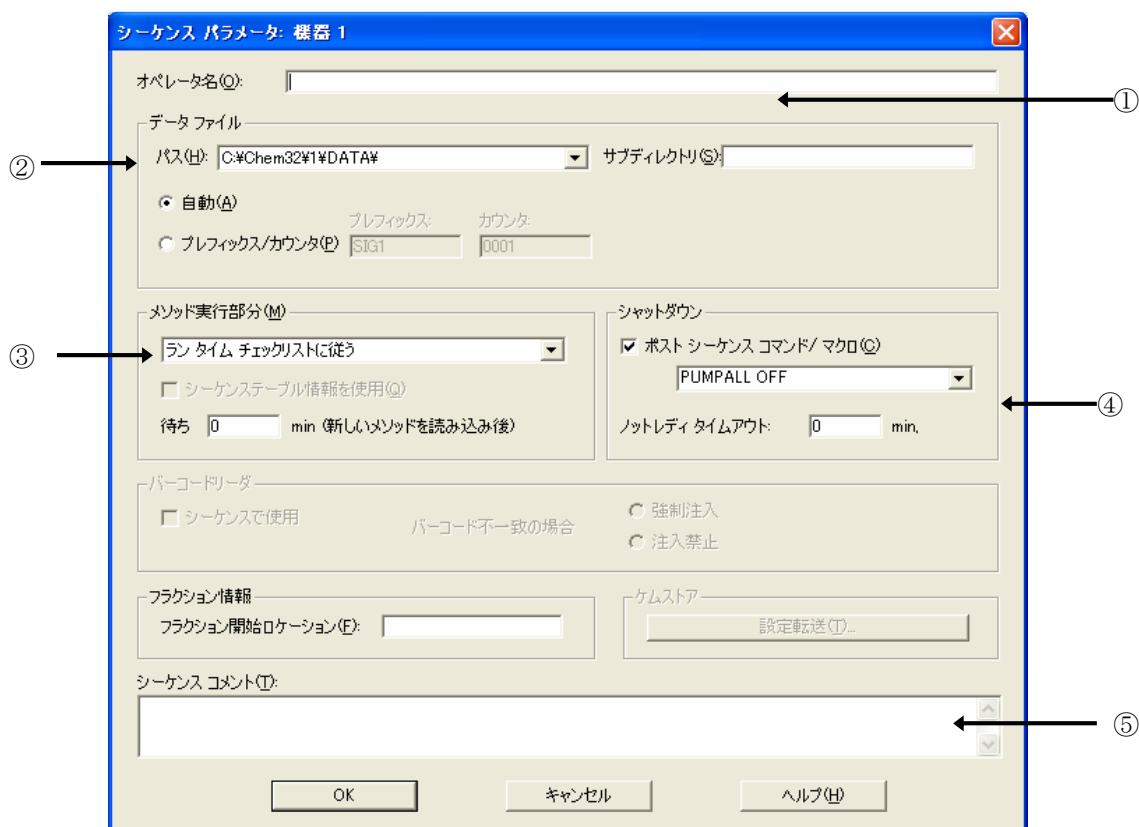
② メニューが表示されますので、シーケンスパラメータ (Sequence Parameters) を選択します。

あるいは、メニューバーから

シーケンス (Sequence)

→ シーケンス パラメータ (Sequence Parameters)

を選択します。シーケンスパラメータの設定画面が表示されます。



① オペレータ名 (Operator Name) : オペレータの名前を入力します。

② データファイル名 (Data File) : データファイル名と保存先を設定します。

- ・自動 (Auto) : バイアル番号、シーケンスライン、注入回数から自動的に設定されます。

例 : 0 0 1—0 2 0 3

[バイアル番号]—[シーケンスライン][注入回数]

- ・プレフィックスカウンター (Prefix / Counter)

: プレフィックス+カウンタ(数字) で構成されます。最大合計で 15 文字で名前が付けられます。

例 : プレフィックス部分+カウンター部分 (最大 6 桁) TEST 000001

サブディレクトリ名 (Subdirectory) を設定します。

*注意 新しいサブディレクトリ名を設定後、“サブディレクトリ***は存在しません。

作りますか?” という画面が表示されます。 をクリックし、必ずディレクトリを作成してください。

③ メソッド実行部分 (Part of Method to Run) : メソッドのどの部分を実行するか設定します。

- ・ランタイムチェックリストに従う (According to Runtime Checklist) : メソッドの中で指定したランタイムチェックリストどおりに実行します。
- ・データ取り込みのみ (Data Acquisition) : データ取り込みのみを実行します。
- ・データ解析のみ (Reprocessing Only) : データ再解析のみを実行します。

④ シャットダウン (Shut Down) : マクロプログラムによって、シーケンス終了後に装置を OFF にする設定等を行います。

ポストシーケンスコマンド / マクロ (Post-sequence command / macro) にチェックし、

矢印を押してマクロプログラムを選択します。

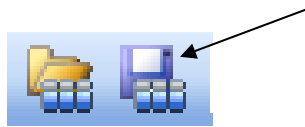
⑤ シーケンスコメント (Sequence Comment) : コメントがあれば入力します。

⑥ をクリックします。

4-2-3. シーケンスファイルの保存 (Save Sequence)

シーケンスファイルを保存します。

上書きする場合はアイコンをクリック
します。



新しく名前を付けて保存する場合には、

シーケンス (Sequence)

→ 名前を付けてシーケンス保存 (Save Sequence As..)

を選択します。



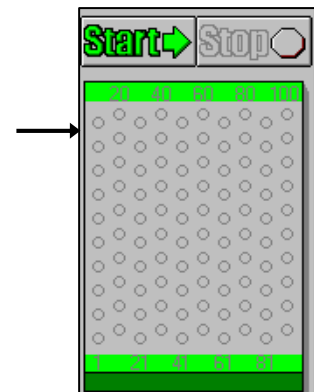
4-2-4. シーケンスの実行 (Run Sequence)

3本のバイアルのアイコンをクリックします。



サンプリングダイアグラム (Sampling Diagram) の絵がシーケンスモードになります。

をクリックすると、シーケンスが実行されます。



あるいは、メニューバーから

ラン コントロール (Run Control) → シーケンス開始 (Run Sequence)

を実行します。

第5章 システムの終了

システムを OFF にします。（3-3 節 システムの起動方法 を参照してください。）

※注意 ケミステーションや Windows 2000/XP を終了してから、コンピュータの電源を OFF にしてください

【流路の洗浄】

移動相としてバッファや刺激性の溶媒を使用した場合、純水で流路を置換してください。
この際、カラムに悪影響がある場合は、カラムを外して実施してください。

【分析システムの OFF】

以下の順番で OFF にすることをおすすめします。

ポンプの送液の停止
↓
ランプの OFF
↓
カラムコンパートメント OFF

* カラムを保護するため、徐々に流量設定を下げてから送液を停止することもあります。

【システム全体の OFF】

システムに含まれる全てのモジュールを同時に OFF にすることができます。

装置 (Instrument) → システムオフ (System Off)

または、システムダイアグラム右下の をクリックします。

* ケミステーション終了時にもシステム全体をOFFにすることができます。

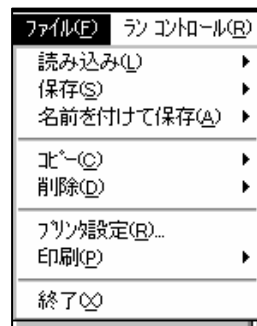
次ページのケミステーションの終了をご参照ください。

【ケミステーションの終了】

ケミステーションを終了します。

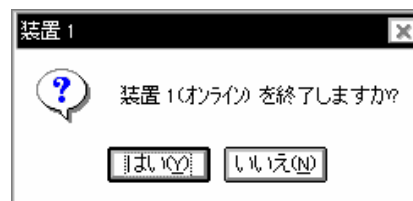
メニューバーより

ファイル (File) → 終了 (Exit)

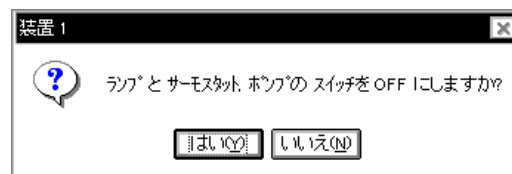


を選択します。

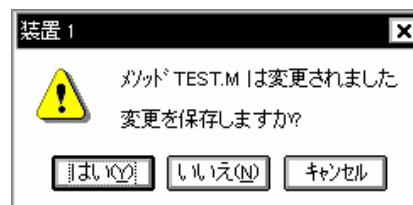
をクリックします。



をクリックします。



メソッドパラメータの一部を変更してから、メソッドファイルを保存していない場合に表示されます。 をクリックするとメソッドファイルは上書きされます。



【Windows 2000/XP の終了】

Windows 2000/XP を終了します。

スタート (Start)

→ シャットダウン (Shutdown)



【機器の電源 OFF】

各機器のメイン電源スイッチを以下の順番で OFF にします。

コンピュータ

↓

プリンタおよび CRT

↓

Agilent 1200 各モジュール

第6章 データ解析

—ケミステーション Ver. B. 01. 03 以前及びユニークなデータ保存をオフにした場合—

本章でデータ解析について、

A : ケミステーション Ver. B. 01. 03 以前

B : ケミステーション Ver. B. 02. 01 以降

に分けて、下記のフローに従った操作方法を説明します。データ解析の詳細については、別冊の“新しいChemstation ワークフロー入門”を参照ください。

	A	B
データ読み込み	(6-1 節)	(7-1 節)
↓		
積分	(6-2 節)	(7-2 節)
↓		
検量線作成	(6-3 節)	(7-3 節)
↓		
定量レポート出力	(6-3 節)	(7-4 節)

データ解析はデータ解析画面 (Data Analysis) で行います。Ver. B. 02. 01 以降では、データ解析は必ず、オフライン解析画面で実施してください。

矢印をクリックすると、画面の選択ができるようになります。

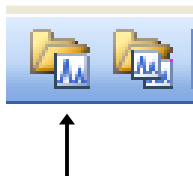


データ解析 (Data Analysis) を選択します。

6-1. データ読み込み

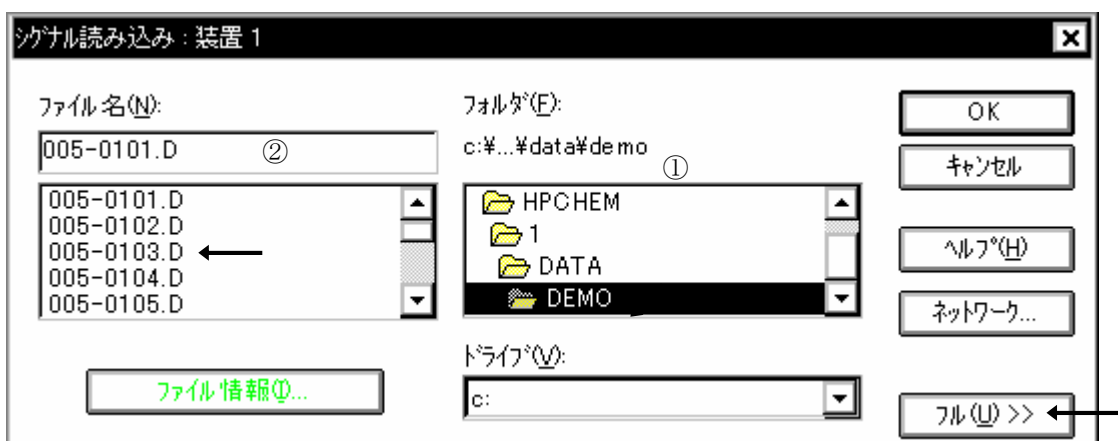
解析したいデータファイルを読み込みます。

アイコンをクリックします。



データ読み込み (Load Signal) 画面が表示されます。

- ① フォルダ (Folder) 名をダブルクリックすると、中に含まれるファイル名が表示されます。



異なるフォルダの中を見るには一度 DATA をダブルクリックして、全てのフォルダ名を表示させてから目的のものを選択します。

- ② データファイル名 (File Name) を選択します。

- ③ 多波長でデータを採取した場合は **フル (Full) >>** をクリックします。

下に画面が追加されます。

シグナル詳細を使って読み込み シグナル詳細... モニターカーブ(C)...

シグナル情報

スペクトル: DAD1: 31 スペクトル

シグナル:

DAD1 A, Sig=254,4 Ref=550,100
DAD1 B, Sig=230,4 Ref=550,100 ← ④
DAD1 C, Sig=280,4 Ref=550,100

読み込み後、積分します ← ⑤
 読み込み後、積分しレポートを出力します

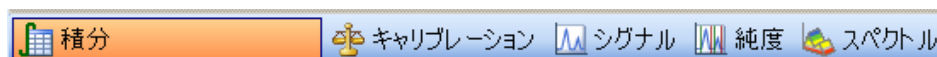
④ 解析する波長を選択します。

⑤ データ読み込みをすると自動的に、現在読み込まれているメソッドの積分条件を使用して積分を行います。

⑥ をクリックします。

6-2. 積分 (Integration)

積分を行うためのツールバーに切り替えます。



積分には以下の3つの方法があります。

1. 積分条件 (Integration Events) を変更して積分
2. 自動積分 (Auto Integrate)
3. マニュアル積分

6-2-1. 積分条件 (Integration Events) を変更して積分

積分イベントの編集 (Integration Events..) のアイコンをクリックします。



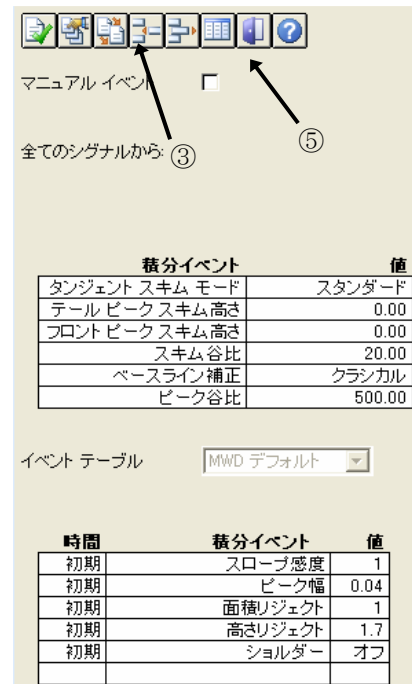
メソッド作成画面で入力した、積分条件変更の画面が表示されます。

- ① タンジェントスキムモードに関するパラメータ条件を設定します。各項目を適切な値に変更します。

- ② その他の積分条件を設定します。
各項目を適切な値に変更します。

- ③ 積分イベント（Integration Events）を付け加えるには、行を追加するアイコンをクリックします。

積分イベント（Integration Events）の行の下矢印をクリックして、新しい積分イベント（Events）を選択し、値（Value）を入力します。



マニュアル イベント ⑤

全てのシグナルから ③

積分イベント		値
タンジェント スキム モード		スタンダード
テール ピーク スキム 高さ		0.00
フロント ピーク スキム 高さ		0.00
スキム 谷比		20.00
ベースライン 補正		クラシカル
ピーク 谷比		500.00

イベント テーブル

時間	積分イベント	値
初期	スロープ 感度	1
初期	ピーク 幅	0.04
初期	面積 リジェクト	1
初期	高さ リジェクト	1.7
初期	シヨルダ ー	オフ

- ④ トップツールバーにある積分（Integrate）のアイコンをクリックします。



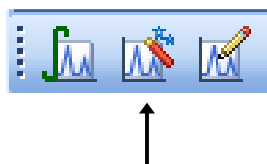
変更した積分イベント（Events）が積分結果に反映されます。

- ⑤ 積分結果を確認し、良ければ積分条件を保存して閉じるアイコンをクリックします。
結果が適切でない場合は②から④を繰り返します。

6-2-2. 自動積分 (Auto Integrate)

クロマトグラムに適した条件をケミステーションが自動的に設定し、積分します。
適当な積分条件が決まらない時など、各パラメータの設定の目安になります。

自動積分 (Auto Integrate) のアイコンをクリックします

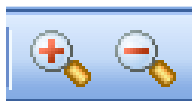


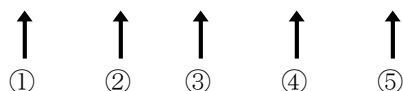
6-2-3. マニュアル積分 (Manual Integrate)

積分条件の変更だけでは適当な積分を行うことのできないクロマトグラムなどに利用します。

また一度設定したマニュアル積分の条件はメソッドに保存することが可能なため、同じ条件を使って別のクロマトグラムを積分することも可能です。

マニュアル積分を行う前に拡大のアイコンを使って、積分したいピークを拡大しておく
と便利です。





各アイコンをクリックすると、カーソルが変化します。

① ベースラインを引く (Draw Baseline)

カーソルを積分開始点に移動し、積分終了点までドラッグします。ピークは自動的に積分され、引かれたベースラインとエリア値が表示されます。

② ネガティブピークのマニュアル積分

負のピークを積分します。カーソルを積分開始点に移動し、積分終了点までドラッグします。ピークは自動的に積分され、引かれたベースラインとエリア値が表示されます。

③ タンジェントスキムによるマニュアル積分

カーソルを積分開始点に移動し、積分終了点までドラッグします。ピークは自動的にタンジェントスキムモードに基づいて積分され、引かれたベースラインとエリア値が表示されます。

④ ピークの垂直分割 (Split)

うまく分離していない2つのピークの、1つめのピークの積分開始点から2つめのピークの積分終了点までベースライン (Draw Baseline) を引きます。

ピークの垂直分割 (Split) のアイコンをクリックして、カーソルの形を変えます。

2つのピークの分割点でクリックします。

⑤ ピーク削除 (Delete Peak)

積分されているピークのベースラインをクリックします。

6-3. 定量

メソッドファイルおよび検量線作成のために標準溶液などを分析したデータファイルを読み込みます。(6-1 節 参照)

また、積分結果を確認しておきます。(6-2 節 参照)

検量線作成 (Calibration) を行うためのツールバーに切り替えます。



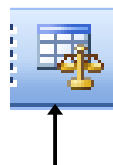
6-3-1. 絶対検量線法 (ESTD) による定量

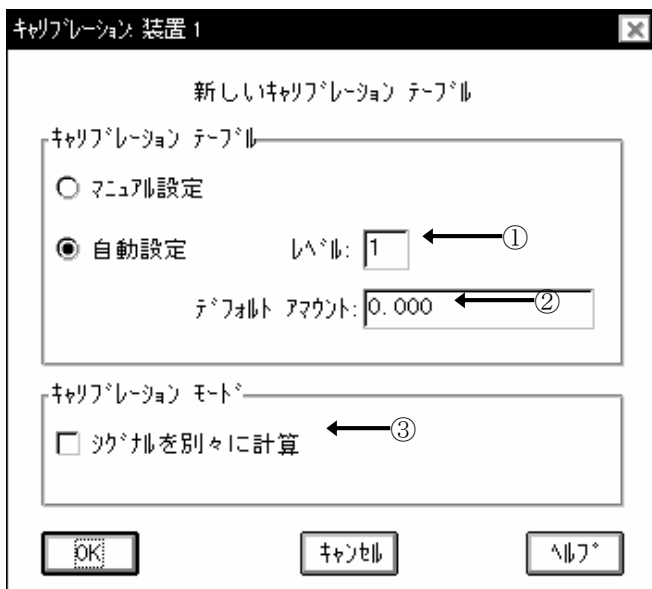
【検量線テーブルの作成】

新しい検量線テーブルを作成します。

新しいキャリブレーションテーブル

(New Calibration Table) アイコンをクリックします。





- ① レベル (Level) が 1 (検量線の 1 点目) であることを確認します。
- ② 目的とする化合物の濃度が全て同じ場合は、デフォルトアマウント (Default Amount) に数値を入れます。個々に濃度が異なる場合は入力しません。
- ③ チェックすると、多波長で測定した場合に、波長別テーブルが作成されます。

④ **OK** をクリックします。

キャリブレーションテーブルが表示されます。

#	RT	シグナル	化合物名	レベル	アマウント [ng/ul]
1	0.747	DAD1 A		1	0.000
2	1.022	DAD1 A		1	0.000
3	2.570	DAD1 A		1	0.000
4	5.852	DAD1 A		1	0.000

- ① 化合物名 (Compound Name) を入力します。
- ② 濃度 (Amount) を入力します。

PEAK 番号 (#)、リテンションタイム (RT)、シグナルの種類 (Signal)、面積値 (Area) は自動的に入力されています。

【多点検量線の作成】

1点検量線作成同様に作成します。

2点目のデータファイルを読み込み、積分されていることを確認しておきます。



レベル追加 (Add Level) アイコンをクリックします。



① レベル (Level) に **2** と入力します。

② 化合物の濃度が全て同じ場合はデフォルトアマウント (Default Amount) に数値を入力します。個々に濃度が異なる場合は入力しません。

③ **OK** をクリックします。

2点目のデータが追加された検量線テーブルが表示されます。

1点目と同様に、濃度 (Amount) を入力します。

化合物名 (Compound) は必要ありません。

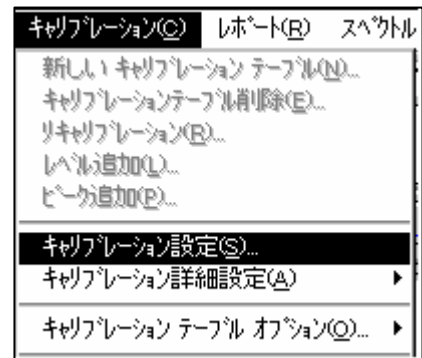
【検量線の条件設定】

メニューバーより

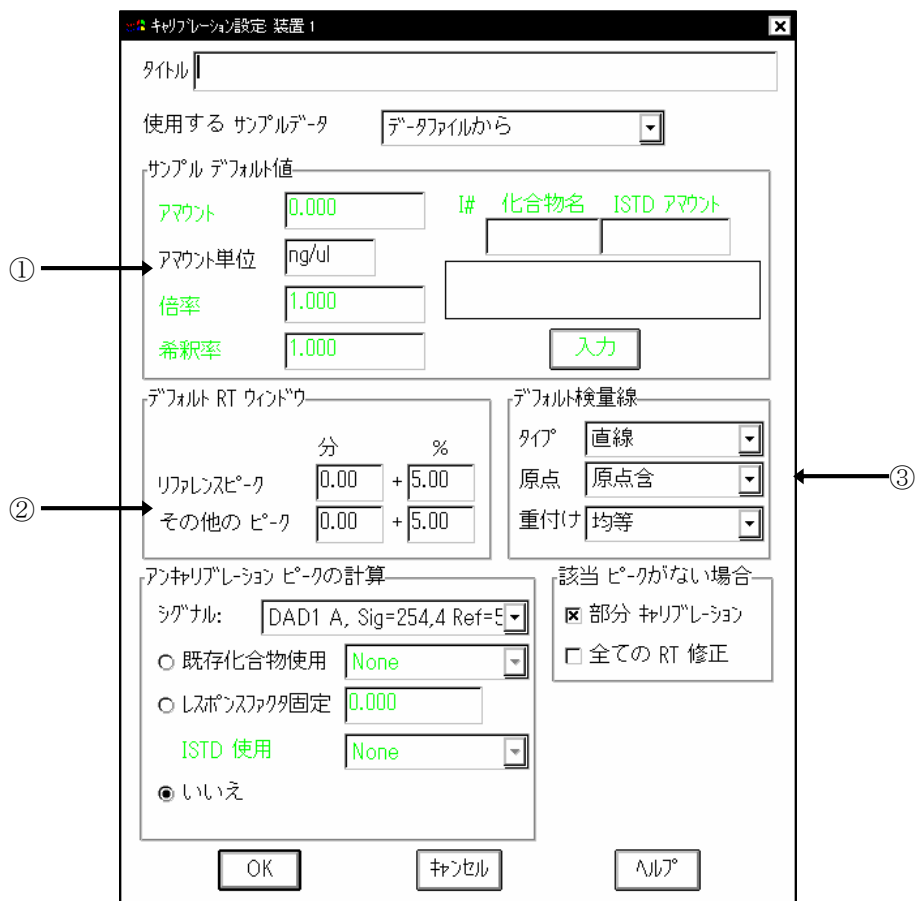
キャリブレーション (Calibration)

→ キャリブレーション設定 (Calibration Settings..)

を選択します。



検量線の条件設定画面が表示されます。



- ① アマウント単位 (Amount Unit) : サンプル濃度の単位を入力します。
- ② デフォルト RT ウィンドウ (Default RT Windows) : ピークを同定する RT の範囲を設定します。分析毎の RT の僅かなずれを補正することができます。
 例 : 0.00min + 5% (0.00±2.5%)
 RT が 5 分の場合、ピークとして認識される範囲は 4.875 分 ~ 5.125 分となります。
- ③ デフォルト検量線 (Default Calibration Curve) : 検量線の種類 (TYPE) と原点 (Origin) の処理法、検量線上のデータポイントの重み付け (Weight) を指定します。

【定量レポートの出力】

作成した絶対検量線を用いて、定量結果を出力します。

レポート条件 (Specify Report) アイコンをクリックします。



メソッド作成時に設定した、レポート条件設定の画面が表示されます。

レポート条件 装置 1

出力先
 プリンタ(P) スクリーン(S)
 ファイル(F) フォルダ(F)
プレフィックス
Report

ファイルタイプ
 .TXT(T) WMF(W)
 .DIF(D) .CSV(C)
 .XLS(X) .HTM(H)

定量方法
計算: ESTD
カウント法: 面積
ソート条件: シグナル
シグナルオプション(O)...

スタイル
レポートスタイル: 簡易

各ページにサンプル情報を記載(Q)
 クロマトグラム出力の追加(A) ピーク和テーブルの追加

アンキャリブレーションピークのレポートレイアウト
 分割 キャリブレーションピークと一緒に レポートしない

クロマトグラム出力
 縦(R)
 横(L)
 マルチページ(横)(M)
1 ページ

サイズ
% of Page
時間: 100
レスポンス: 40

OK キャンセル ヘルプ

定量方法
(Quantitative Results)内の計算方法 (Calculate) を ESTD に変更します。

定量したいサンプルのデータファイルを読み込みます。(6-1 節 参照)



レポート出力 (Print Report) アイコンをクリックしてレポートを出力します。



6-3-2. 内部標準法 (ISTD) による定量

【内部標準検量線の作成】

絶対検量線と同様にキャリブレーションテーブルを設定します。(6-3-1 節 参照)

#	面積	レスポンス ファクタ	リファレンス	ISTD	#
1	294.820	0.000	いいえ	いいえ	
2	261.670	0.000	いいえ	いいえ	
3	175.610	0.000	いいえ	いいえ	
4	228.900	0.000	いいえ	いいえ	

① 内部標準ピークの、ISTD 欄で YES を選択します。

ISTD 設定画面が表示されます。

ISTD #: 1

サンプル デフォルト

ISTD アmount: 0.000

OK キャンセル ヘルプ

② 内部標準の濃度 (Amount) を入力します。

通常 1 を入力します。

内部標準物質を2つ以上使用する場合、ISTD#に番号を入れてから濃度を入力します。

③ **OK** をクリックして、左の画面を閉じます。

じます。

④ キャリブレーションテーブル右端の # に、使用する ISTD の番号を入力します。

【内部標準検量線の条件設定】

絶対検量線作成時と同様に設定します。（6-3-1 節 参照）

#	化合物名	ISTD アmount
1	Dimethylpht	100.00000

通常、入力した内標準濃度（ISTD Amount）が表示されています。

【内部標準法による定量レポート出力】

レポート条件（Specify Report）画面で計算方法を選択します。（6-3-1 節 参照）

計算: ISTD
カウント法: 面積
ソート条件: シグナル

定量方法（Quantitative Results）内の
計算方法（Calculate）を ISTD に変更しま
す。

第7章 データ解析

ーケミステーション Ver. B. 02. 01 以降でユニークなデータ保存をオンにした場合ー

操作方法の詳細については、別冊の“新しいケミステーション ワークフロー入門” (Publication Number : G2170-96041) を参照ください。

下記には、一般的なデータ読み込み、定量方法について、説明します。

Ver. B. 02. 01 以降のケミステーションでは、データ解析は必ずオフライン (Off Line) 画面で実施してください。

表示 (View) → プレファレンス (Preference)

データレビューオプション

自動ステップ間隔 sec

シーケンスデータをレビューするメソッド

- 現在のメソッド
- シーケンスメソッド
- データファイル毎のメソッド (D.A.M)

シングルランデータをレビューするメソッド

- 現在のメソッド
- データファイル毎のメソッド (D.A.M)

シーケンスデータレビューするメソッド (Method used for Review of Sequence Data) とシングルランデータをレビューするメソッド (Method used for Review of Single Run Data) で、現在のメソッド (Current Method) を選択してください。

7-1. データ読み込み

解析したいデータファイルと、データ採取に使用したメソッドを読み込みます。

データファイル、メソッドファイルともに、6-1 節と同様の操作で読み込むことも可能ですが、下記の方法のように、ナビゲーションパネル/ナビゲーションテーブルを用いて読み込むことができます。

メソッドを読み込むには2つの方法があります。

- A ナビゲーションパネルのメソッドタブ内のメソッドをダブルクリックする
- B B.01.XX以前同様に、ツールバーからメソッドを読み込む

The screenshot displays the 'Data Analysis' software interface. The 'Methods' tab is active in the navigation panel, showing a tree view of folders including 'MASTER1'. A red box labeled 'A' highlights the 'MASTER1 2006-11-28 3' method. The toolbar at the top contains a 'Load' button, which is circled in red and labeled 'B'. The main window shows a table of samples and a chromatogram plot with a peak at 1.535 minutes. Below the plot is a 'Calibration Table' with the following data:

#	RT	Signal	Compound	Lvl	Amt[ng/ul]	Area	Rsp.Factor	Ref	ISTD	#
1	1.535	DAD1 A	Caffeine	1	1.000	76.651	1.3046e-2	No	No	
				2	10.000	804.960	1.2423e-2			
				3	100.000	7906.700	1.2647e-2			
2	2.344	DAD1 A	Theophylline	1	1.000	60.473	1.6536e-2	No	No	
				2	10.000	644.960	1.5805e-2			
				3	100.000	6593.200	1.5167e-2			

解析したいデータを読み込みます。

- ①画面に左のナビゲーションパネルのデータ (Data) タブ内からシーケンスコンテンツをダブルクリックし、シングル (Single) データまたは、シーケンス (Sequence) データを読み込みます。

The screenshot shows the 'Data Analysis' software interface. The left navigation pane contains a tree view of data folders. The folder 'MASTER1 2006-11-28 3' is selected and highlighted with a red box and an arrow labeled ①. The main window displays a table of sequence data with columns: Line, Vial, Sample Name, Method Name, Sample Type, and Cal Level. A red oval highlights this table, with an arrow labeled ② pointing to it. Below the table is a chromatogram showing a peak at approximately 1.5 minutes, and a 'Calibration Table' at the bottom.

Line	Vial	Sample Name	Method Name	Sample Type	Cal Level
1	1 P1-A-01	STD 1ppm	MASTER1.M	Sample	
2	1 P1-A-02	STD 10ppm	MASTER1.M	Sample	
3	1 P1-A-03	STD 100ppm	MASTER1.M	Sample	

#	RT	Signal	Compound	Lvl	Amt[ng/ul]	Area	Rsp.Factor	Ref	ISTD	#
1	1.535	DAD1 A	Caffeine	1	1.000	76.651	1.3046e-2	No	No	
				2	10.000	804.960	1.2423e-2			
				3	100.000	7906.700	1.2647e-2			
2	2.344	DAD1 A	Theophylline	1	1.000	60.473	1.6536e-2	No	No	
				2	10.000	644.960	1.5505e-2			
				3	100.000	6593.200	1.5167e-2			

- ②シーケンスデータの場合はクロマトグラム表示の上のナビゲーションテーブルに、シーケンスコンテンツ内の全データがテーブルとして表示されます。

読み込むデータのラインをダブルクリックするとクロマトグラムが画面下に表示されます。

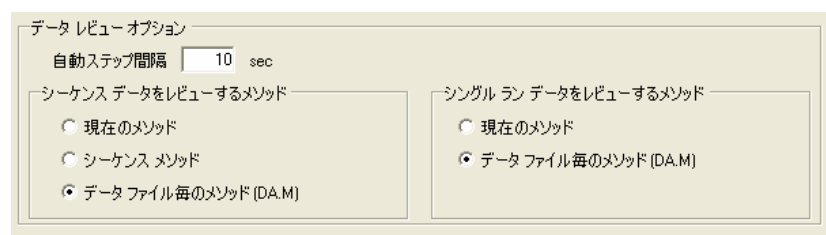
7-2. 積分 (Integration)

積分の操作は、B. 01. 03 以前のケミステーションと同様です。6-2 節を参照ください。

7-2-1. マニュアル積分 (Manual Integrate)

B. 02. 01 以降のケミステーションでは、個々のデータ採取時に保存される DA. M にマニュアル積分条件を個別に保存することが可能です。

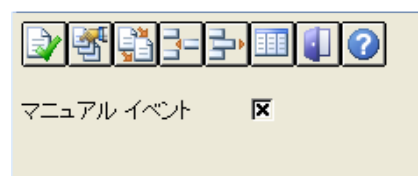
その場合は、フリファレンス (Preferece) の設定で、シーケンスデータレビューするメソッド (Method used for Review of Sequence Data) またはシングルランデータをレビューするメソッド (Method used for Review of Single Run Data) をデータ毎のメソッド (DA. M) (Individual Method from Data File (DA. M)) を選択してください。



マニュアル積分の操作の詳細は 6-2 節を参照ください。

マニュアル積分を DA. M に保存する方法を下記に示します。

積分 (Integration) → 積分イベント (Integration Event)



マニュアルイベントの欄をチェックします。

その後、ピークをマニュアル積分し、メソッド保存を行います。マニュアル積分を行ったクロマトグラムデータの DA. M に条件が保存されることを念のためご確認ください。

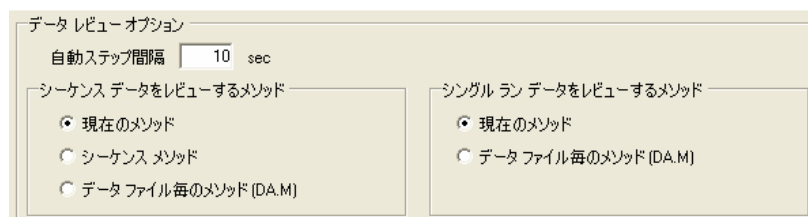
7-3. 定量

ケミステーション B.02.01 以降は、各データの定量結果を下記の 2 種類の方法で出力可能です。

- ・ 検量線が保存されているマスターメソッドを用いて、各データ毎に再解析を行い、定量結果を出力する。
- ・ 検量線を保存したシーケンスメソッド/またはマスターメソッドを用いて、シーケンスコンテナ内のデータを連続的に再解析し、コンテナ内全データの定量結果を自動的に出力する。

7-3-1. マスターメソッドを用いた各データの定量

プレファレンス (Preference) 画面で現在のメソッド (Current Method) を選択してください。



6-3 節を参照し、検量線テーブルを作成し、レポート出力方法を設定します。

作成した検量線/レポート出力設定を、マスターメソッドに保存します。

ファイル (File) → 名前を付けて保存 (Save As) → メソッド (Method)

C:\¥Chem32¥1¥Method の下にメソッドを保存します。検量線用データ採取に使用した既存メソッドを選択して上書きしても、別のファイル名を指定して保存しても構いません。

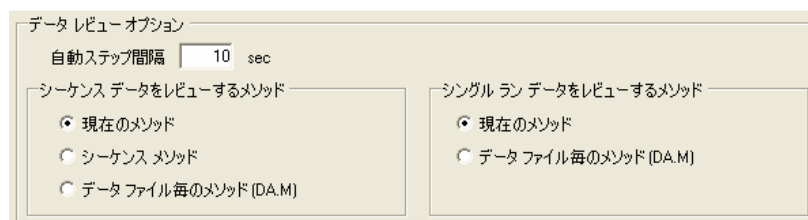
定量したいサンプルのデータファイルを読み込みます。(6-4 節 参照)

レポート出力 (Print Report) アイコンをクリックしてレポートを出力します。



7-3-2. シーケンスコンテナ内の連続再解析

プレファレンス (Preference) 画面で現在のメソッド (Current Method) または、シーケンスメソッド (Sequence Method) を選択してください。



6-3 節を参照し、検量線テーブルを作成し、レポート出力方法を設定します。

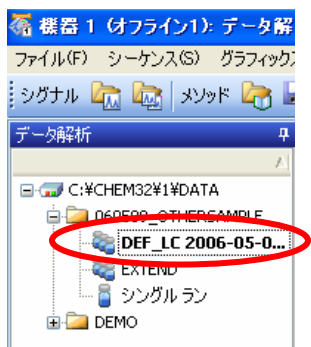
作成した検量線/レポート出力設定を、マスターメソッドまたはシーケンスメソッドに保存します。

ファイル (File) → 名前を付けて保存 (Save As) → メソッド (Method)

マスターメソッドを用いて再解する場合は、C:\¥Chem32¥1¥Method の下にメソッドを保存します。

シーケンスメソッドを用いて再解析する場合は、シーケンスコンテナ内のメソッドファイルに上書きし保存します。

ナビゲーションパネルからシーケンスコンテナを選択します。



シーケンス (Sequence) → シーケンステーブル (Sequence Table)

ライン	ロケーション	サンプル名	メソッド名	注入回数	サンプルタイプ
1	P1-A-01	Acetamidophenol	SL_PHARMA	1	サンプル
2	P1-A-02	Ibuprofen	SL_PHARMA	1	サンプル
3	P1-A-03	Quinidine	TEST12	1	サンプル
4	P1-A-04	Naproxen	参照...	1	サンプル
5	P1-A-05	Diclofenac Sodium	SL_PHARMA	1	サンプル

マスターメソッドに検量線を保存した場合は、メソッド名で↓キーを押し、検量線を保存したマスターメソッドを選択します。

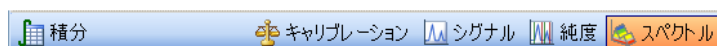
シーケンスメソッドに検量線を保存した場合は、メソッド名と、検量線を保存したシーケンスメソッドが同じであるかどうかを確認してください。

シーケンステーブルの設定を変更/確認したら、画面右下のシーケンス再解析 (Run Sequence) キーを押ししてください。シーケンス再解析が開始され、自動的に連続定量計算を実施します。

第8章 スペクトル解析

スペクトル解析は有効的な定性手段として利用することができます。

スペクトル解析を行うためのツールバーに切り替えます。



8-1. スペクトルオプション (Spectra Option)

スペクトル表示条件を設定します。スペクトル設定のアイコンを選択します。



または、メニューバーより

スペクトル (Spectra) → スペクトルオプション (Spectra Options...)

を選択します。

スペクトルオプションでは1つの設定画面でスペクトル及び純度チェックに関するパラメータを同時に設定することができます。

次ページのようなパラメータの設定および個々の設定に関する説明が表示されます。

<スペクトルの設定 (Spectra) >



① 波長範囲 (Wavelength Range) : にチェックし、表示するスペクトルの波長範囲を入力します。

② ピークあたり スペクトル数 (Spectra per Peak)

ピークあたりスペクトル数 (Spectra per Peak) : 3, 5, 7, 9, All から表示数を設定できます。

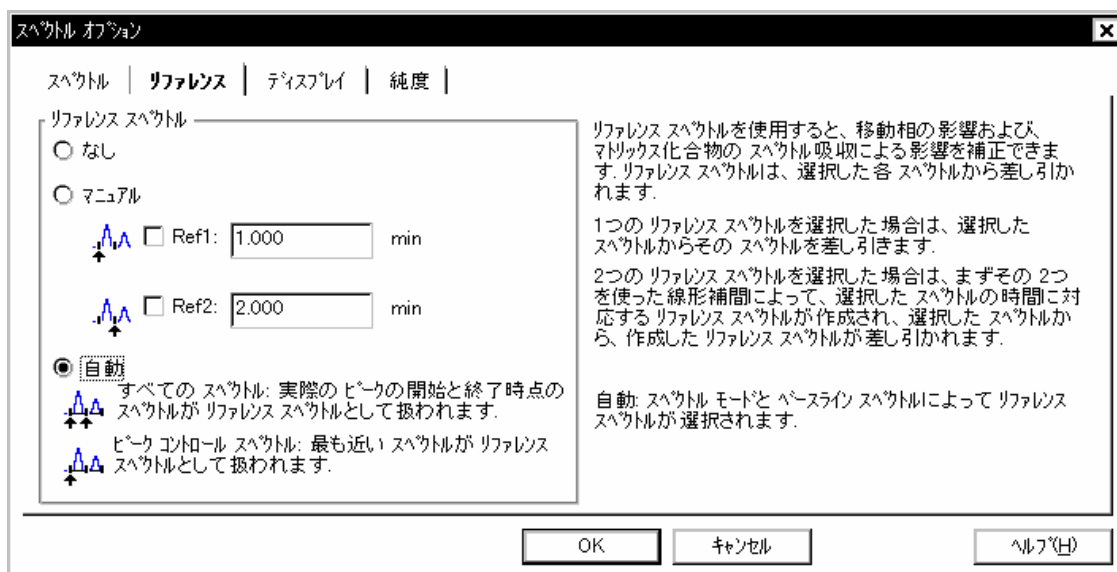
スレッショールド (Threshold) : 設定した吸光度以上のスペクトルを表示します。

③ スペクトル処理 (Spectra Processing)

- ・スムーズファクタ (Smooth Factor) : スペクトルを滑らかに表示します。ノイズの大きいスペクトルに有効です。数字を入力します。
- ・スプラインファクタ (Spline Factor) : データ採取ポイントを通して、スペクトルを滑らかに表示します。数字を入力します。
- ・ロガリズム (Logarithm) : 自然対数
- ・微分次数 (Derivative Order) : スペクトルの変化が細かく把握できます。数字を入力します。

<リファレンスの設定 (Reference) >

移動相やマトリックス物質のスペクトル吸収の影響を補正するのに使用します。



- ・ なし (None) : リファレンススペクトルを設定しません。
- ・ マニュアル (Manual) : リファレンススペクトルとして設定した時間でのスペクトルを
リファレンスに設定します。(7-2-1 節 参照)
- ・ 自動 (Automatic) : スペクトルモードとベースラインスペクトルによってリファレンススペクトルが自動的に設定されます。

<画面表示の設定 (Display) >



① マルチスペクトル (Multi-Spectra)

・レイアウト (Layout)

重ね書き (Overlaid) : スペクトルを重ね書きします。

分割 (Separated) : スペクトルを分割表示します。

・スケール (Scale)

すべて同じスケール (All the same Scale) : 全スペクトルを同じスケールで表示します。

それぞれをフルスケール (Each in full Scale) : それぞれをフルスケールで表示します。

①

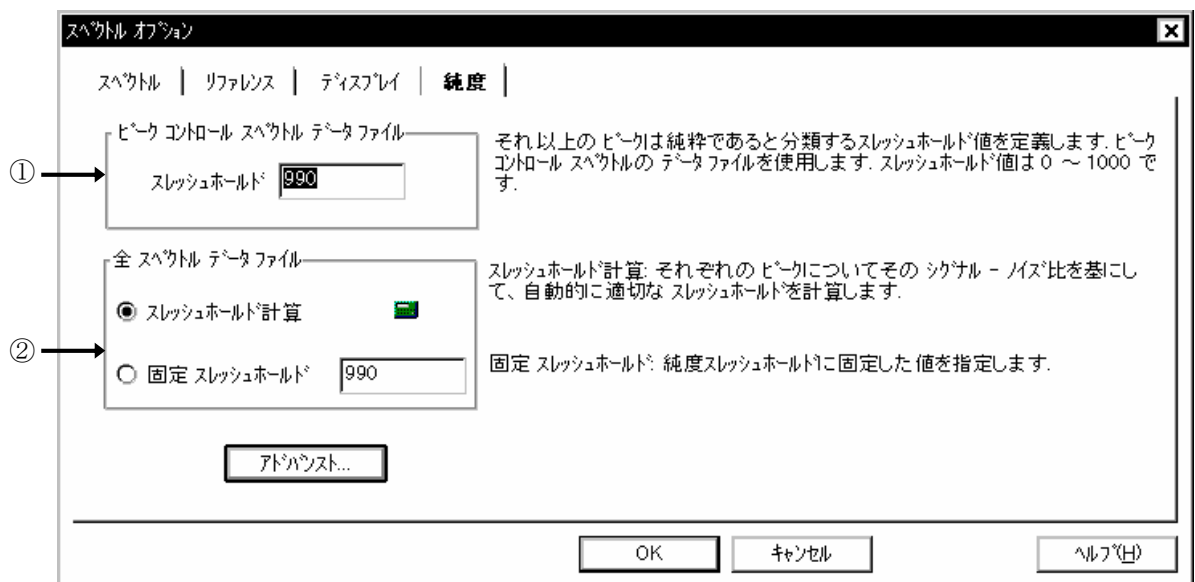
② Display の設定

・オリジナルスペクトル (Original Spectrum) : 採取したスペクトルの表示します。

・リファレンススペクトル (Reference Spectra) : リファレンススペクトルの表示します。

-
- スペクトルタイトル (Spectra Titles) : スペクトルのタイトル(採取時間等)を表示します。
 - nm-軸 (nm-Axes) : スペクトルの波長軸を表示します。
 - mAU-軸 (mAU-Axes) : スペクトルの吸光度軸を表示します。
 - ウィンドウタイトル (Window Title) : ウィンドウのタイトルを表示します。

<純度チェックの設定 (Purity) >



① ピークコントロールスペクトルデータファイル (Peak Controlled spectra data file)
: “頂点+ベースライン (Apex+Baselines) ”, “頂点+スロープ+ベースライン (Apex+Slopes

+Baselines) ”, “ピーク内全て (All in Peak) ”で採取したデータファイルに対しての純度判断の基準値

② 全スペクトルデータファイル (All Spectra data file)

: “全て (All) ”, “2 スペクトル毎 (Every 2nd Spectrum) ”で採取したデータファイルに対しての純度判断の基準値

• スレッショールド計算 (Calculate Threshold) : S/N 比を基にして、各ピークに適切な

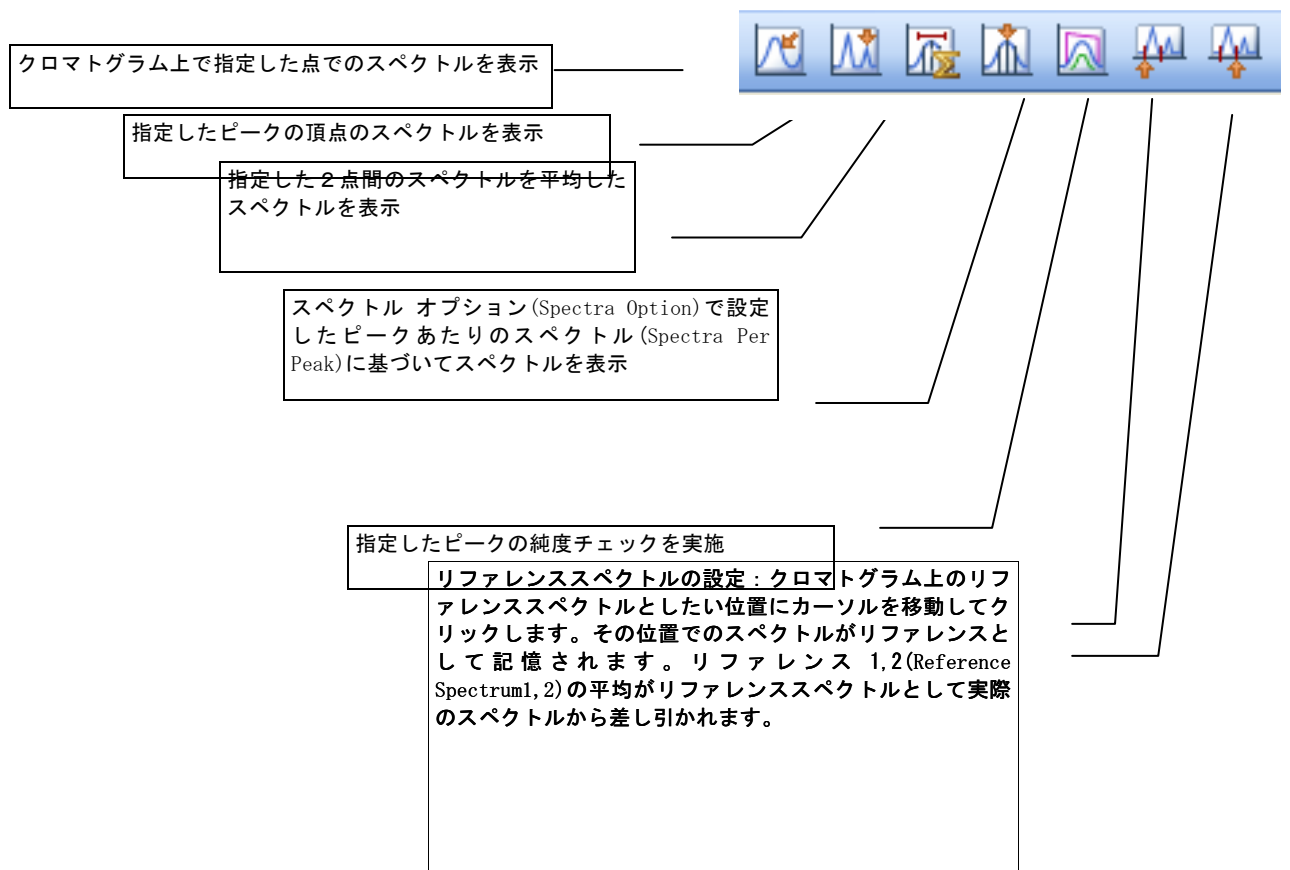
スレッショールドを自動的に計算

• 固定スレッショールド (Fixed Threshold) : スレッショールド値を固定

8-2. スペクトルの表示・印刷

8-2-1. スペクトルの表示

- ① データファイルを読み込みます。
- ② スペクトルの表示方法を選択します。



- ③ 目的のピークにカーソルを移動しクリックします。

8-2-2. スペクトルデータの印刷 (Print Spectra)

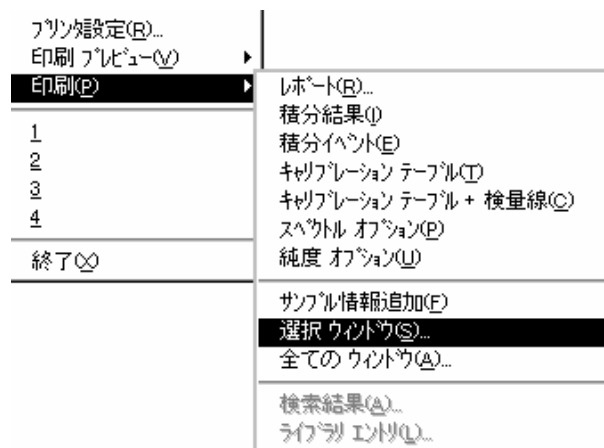
画面に表示されているスペクトルやウインドウ内のデータを表示、出力することができます。

① 印刷したいスペクトルが表示されているウインドウをクリックしアクティブにします。

② メニューバーから

ファイル (File) → 印刷 (Print)

を選択します。



リストから印刷する項目を選択します。

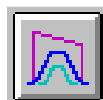
・選択ウィンドウ (Selected Window) : アクティブ・ウインドウの中のデータを印刷します。

印刷する大きさの設定画面が表示されるので入力してください。

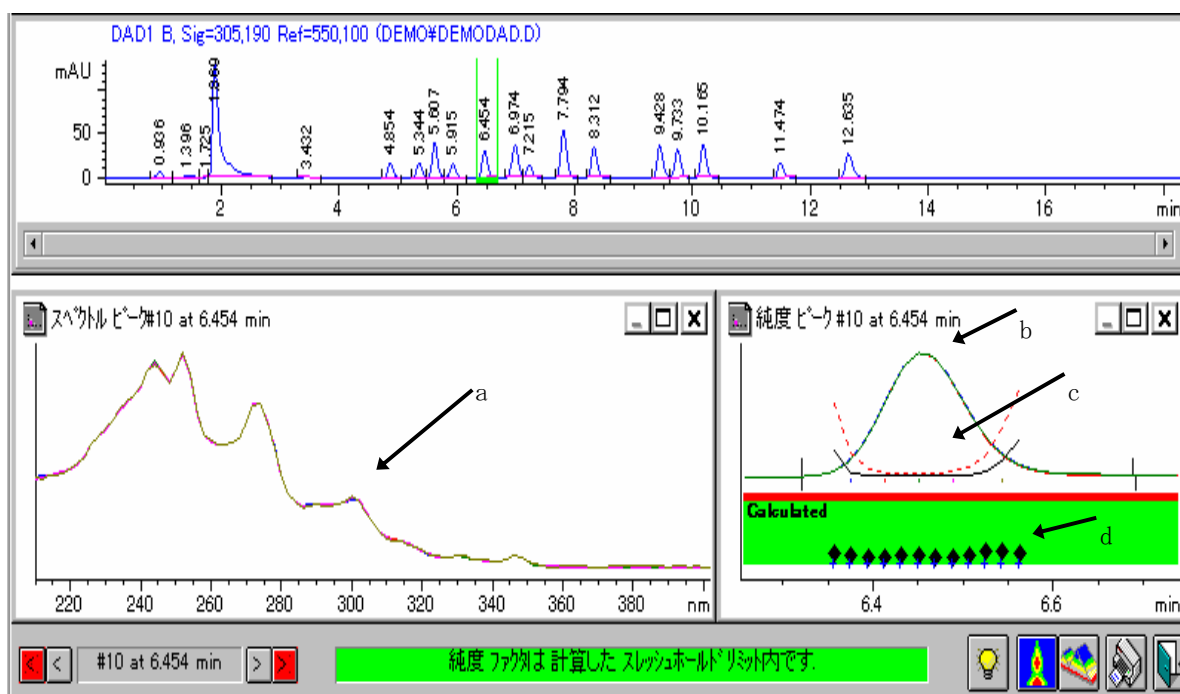
・全てのウィンドウ (All Windows) : 画面上にある全てのウインドウ内のデータを印刷します。

8-3. 純度チェックの実行 (Purity)

① アイコンをクリックします。



② 目的のピークをクリックすると、次の画面が表示されます。



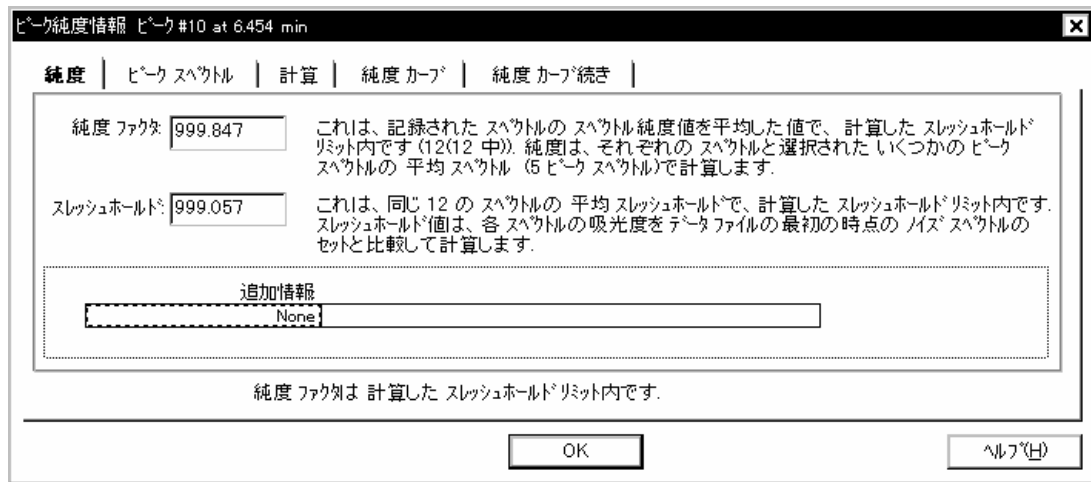
- a) スペクトルの重ね書き
- b) シグナルの重ね書き (複数波長で測定した場合)
- c) シミラリティ/スレッショルドカーブ
- d) 純度計算に使用されたポイント

このアイコンをクリックすると、純度チェックの詳細結果の表示および詳細なパラメータ設定を行うことができます。

<純度 (Purity) >

純度チェックの結果を表示します。

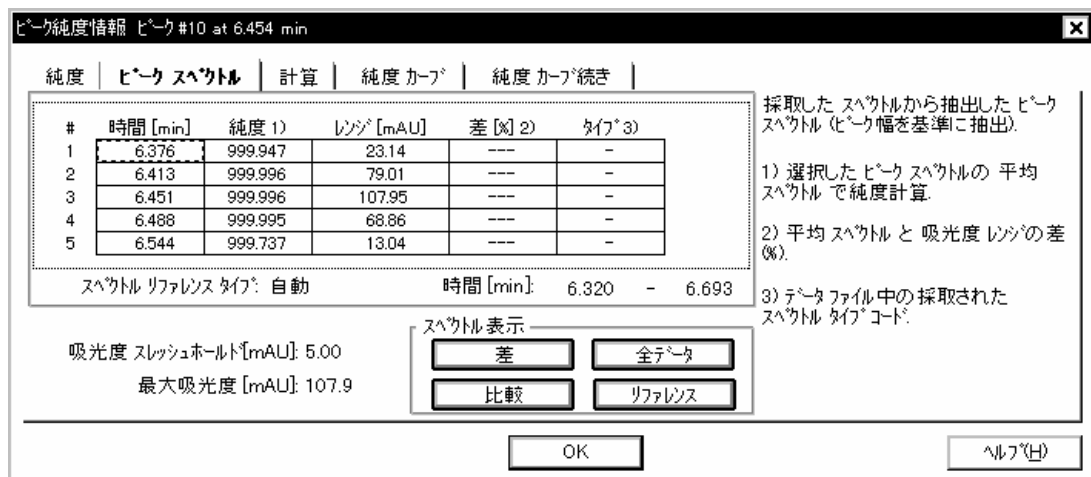
純度ファクタとスレッシュホールドの値が表示されます。



<ピークスペクトル (Peak Spectra) >

ピークスペクトル個々の純度結果を表示します。

RT、純度、吸光度範囲、純度計算の基準となるスペクトルとの差を表示します。



<計算 (Calculation) >

純度計算に使用されたスペクトル数が表示されます。

ピーク純度情報 ピーク#10 at 6.454 min

純度 | ピーク スペクトル | 計算 | 純度カーブ | 純度カーブ続き |

純度計算

採取 スペクトル: 12
スレッショールド内: 12 計算に使用した全スペクトル
スレッショールド外: 0

純度 ファクタ: 999.847 スレッショールド: 999.057

ノイズ計算

時間範囲: 0.039 - 0.244 min
スペクトル: 12 (+ 2 リファレンス スペクトル)
標準偏差: 0.0667 +/- 0.0276

ノイズレベル = $0.0667 + 3 \times 0.0276$

ノイズレベル: 0.1494

表示 アトマンス オプション...

OK ヘルプ(?)

8-4. 等高線表示 (Iso Plot)

スペクトルを”全て (All) ”,”2 スペクトル毎 (Every 2nd Spectrum) ”で採取したデータは、
等高線表示することができます。

- ① データファイルを読み込みます。
- ② メニューバーから

スペクトル (Spectra) → 等高線/3Dプロットオプション (Iso Plot Option...)

を選択します。

カラー配色 (Color Scheme) :

表示する色を選択します。標準的な設定は **Traditional** です。

時間 (Time) :

表示する時間範囲を設定します。

波長 (Wavelength) :

波長範囲を設定します。

吸光度 (Absorbance) :

吸光度範囲を設定します。

吸光度スケール (Absorbance Scale) :

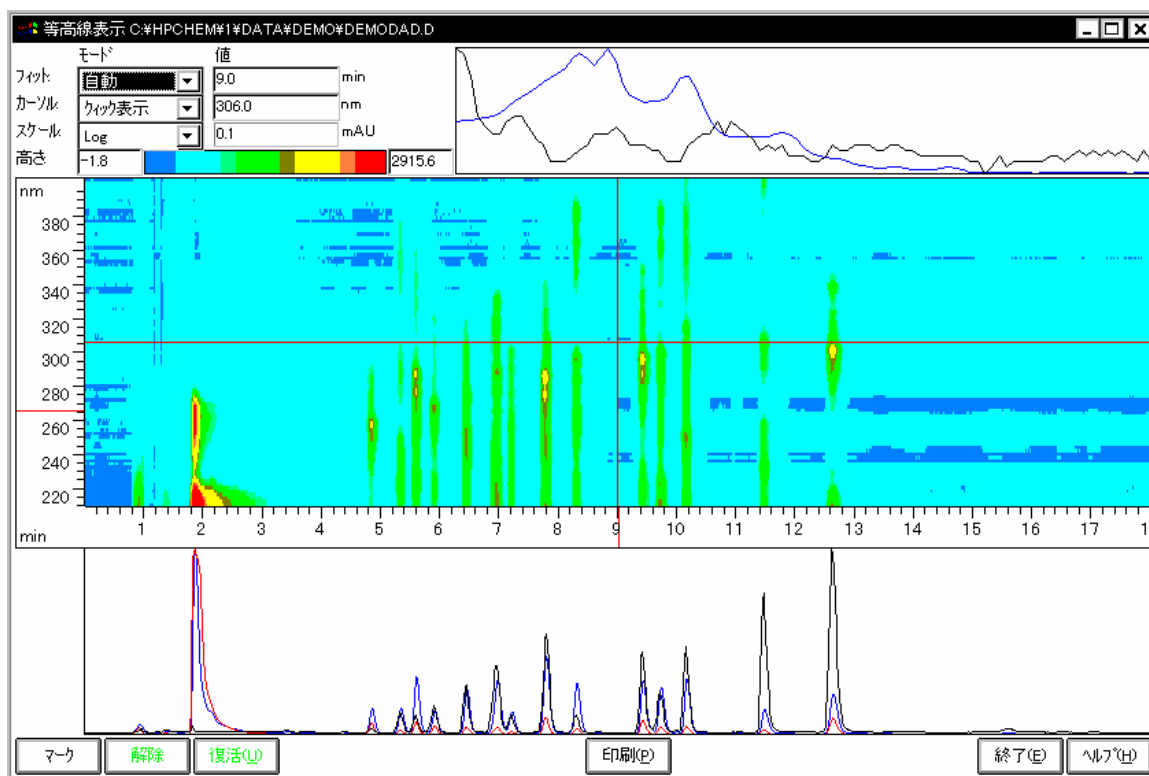
Lin : 等高線表示

Ratio : 比等高線表示

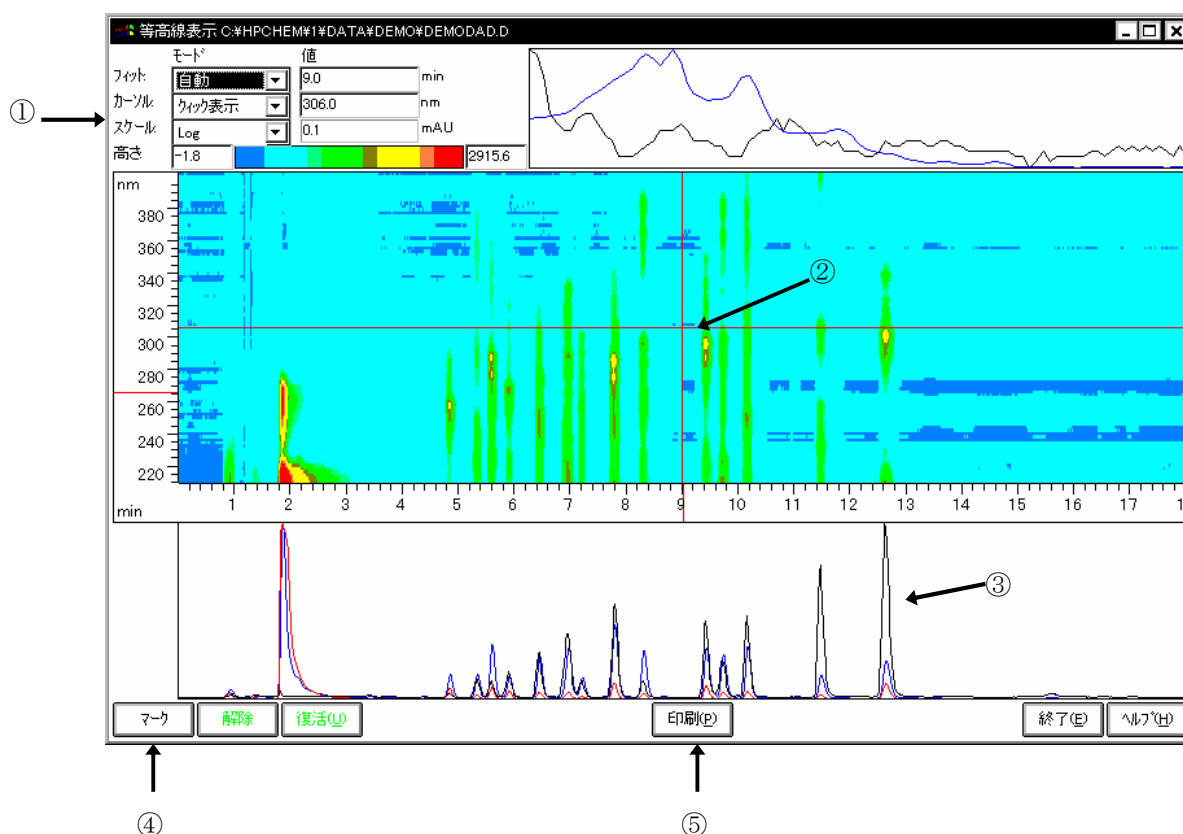


Log : 対数等高線表示

- ③ 前ページの画面上の **等高線表示 (Make Isoplot)** をクリックすると、次の画面が表示されます。



8-4-1. クロマトグラムの表示



- ① カーソル (Cursor) をクイック表示 (Quick View) にします。
- ② 横軸、縦軸の交差したところにカーソルを移動し、表示したいクロマトグラムの位置までカーソルをドラッグします。
- ③ その位置でのクロマトグラム (下図) が黒い線で表示されます。
- ④ **マーク (Mark)** をクリックすると、クロマトグラムを選択した波長に印をつけておくことができます。

⑤ 印刷 (Print) で等高線表示画面を印刷できます。

8-4-2. クロマトグラムの抽出

- ① カーソル (Cursor) の表示をシグナル (Signal) にします。



カーソル表示をシグナルにした画面。カーソルの位置の波長(WL)が自動的に入力されます。
必要に応じてバンド幅(BW)、リファレンス設定を設定します。

- ② **マーク (Mark)** で印をつけておいた波長まで、画面上の線をドラッグして移動します。
- ③ 画面左下の **コピー (Copy)** をクリックします。
画面にクロマトグラムが抽出、表示されます。
クロマトグラムは解析画面にもコピーされます。
- ④ 抽出した図を消去したい場合には、目的のクロマトグラム、スペクトルをクリックし、**削除 (Delete)** を押します。
- ⑤ **終了 (Exit)** で画面をぬけると、抽出されたクロマトグラムが表示されます。

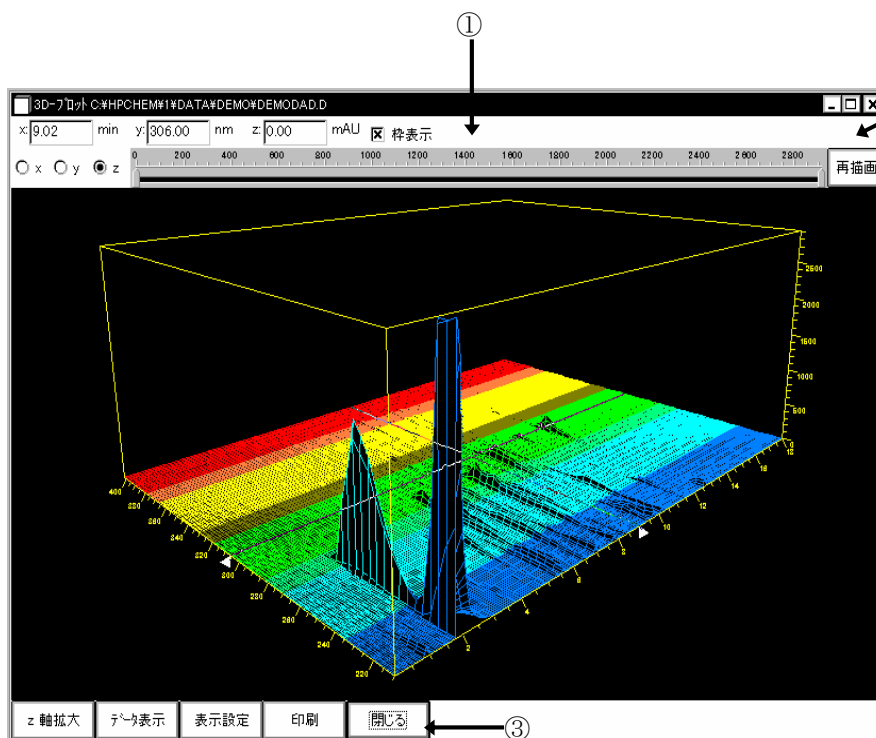
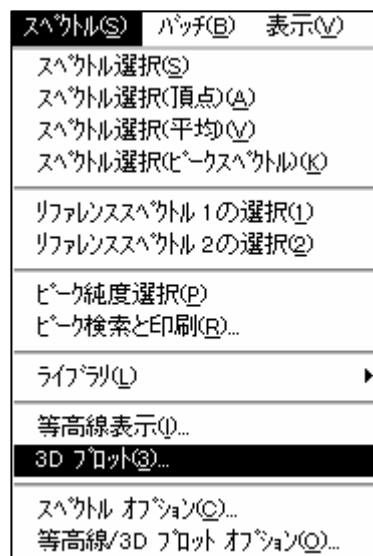
抽出したクロマトグラムは積分など通常のデータ同様の処理を行うことが可能です。

8-5. 3次元表示

メニューバーから

スペクトル (Spectra)
→ 3D プロット (3D Plot.)

を選択します。



① X, Y, Z のスケールを自由に
変更することができます。

変更したい軸
を選択して、
右のスケール
内のカーソル
を移動します。

② **再描画**
(Redraw)
をクリックし
ます。

③ **閉じる (Close)** で 3 次元表示画面から抜けます。

8-6. スペクトルライブラリサーチ (Library Search)

ケミステーションではスペクトルライブラリサーチ機能によりピークを自動的に定性することができます。

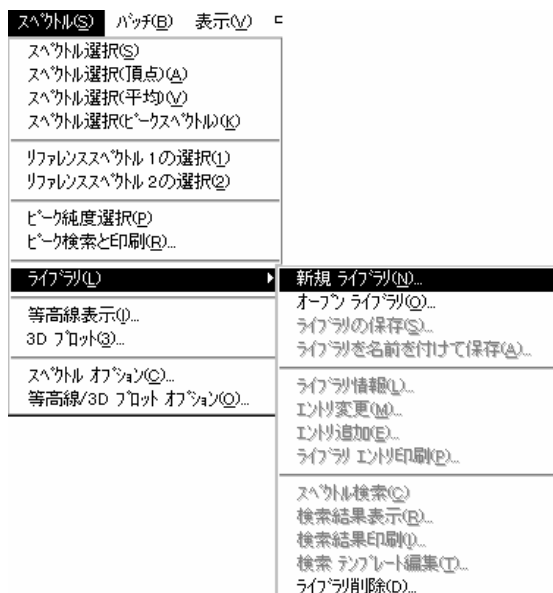
8-6-1. 新規ライブラリの作成 (New Library)

① 新しくライブラリファイルを作成します。

メニューバーから

スペクトル (Spectra)
→ ライブラリ (Library)
→ 新規ライブラリ (New Library)

を選択します。



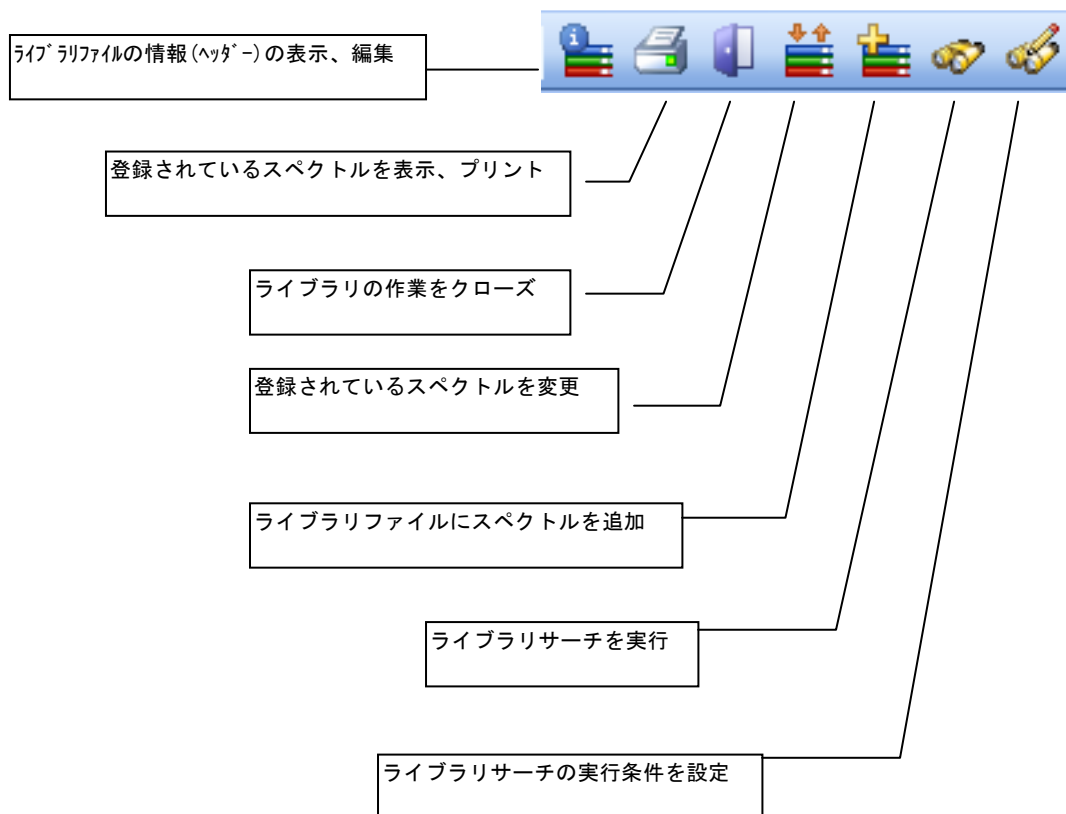
ファイル名を入力します。



※ライブラリの
ファイルは
C:\#hpchem\#speclibs
に保存されます。

データやメソッド
ファイルのように
装置番号の下
(**C:\#hpchem\#1**)
ではないことに注意
してください。

-
- ② ライブラリファイルをロードあるいは作成すると、画面左にライブラリに関するアイコンが画面上のに表示されます。



③ ライブラリファイル情報 (Edit Library Header) に入力します。

ライブラリヘッダ変更 [X]

ファイル C:\¥..¥NEWLIB.UVL エントリ 0
作成 17-FEB-1998 最終変更 17-FEB-1998

バージョン LC-UV Library G130x Rev. A.01.00
装置

情報(I) []

[]

Library Name	:	
Created by	:	
Changed by	:	
FileUpDated	:	
FileChanged	:	

OK(O) キャンセル(C) ヘルプ(H)

情報、ライブラリ名、作成者名等を入力してください。

ライブラリファイルが作成されます。

④ ライブラリに登録する成分を分析したデータファイルを読み込みます。

⑤ 登録したいスペクトルを画面に表示させます。 (5-2 節 参照)

- ⑥ スペクトルを登録します。
アイコンをクリックします。



Name の項目に成分名を入力します。

その他、ID 番号や、スペクトルを採取した際の移動相組成などを入力できます。

追加 (Add) をクリックすると、ライブラリファイルにスペクトルが登録されます。

上記③～⑥の操作を繰り返してスペクトルをファイルに登録してください。

⑦ 作成したライブラリファイルを保存 (Save) します。

新しく名前をつけて保存する場合にはメニューバーから

スペクトル (Spectra)

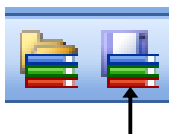
→ ライブラリ (Library)

→ ライブラリの保存 (Save Library as...)

を選択します。

指定したファイル名で保存されます。

上書きの場合はこのアイコンをクリックします。

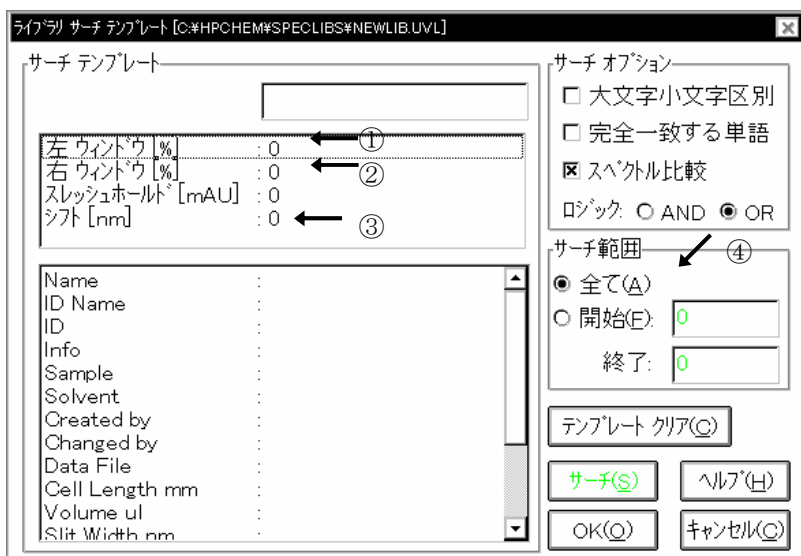


8-6-2. サーチ条件の設定 (Search Template)

ライブラリサーチを実行する際のサーチ条件を設定します。

ライブラリファイルに登録された成分のリテンションタイムや成分名等をサーチパラメータに加えることができます。

アイコンをクリックします。



① 左／右ウィンドウ

(Left / Right Window) [%] :

登録された成分のリテンションタイム幅を設定します。

② スレッシュホールド

(Threshold) [mAU] :

設定した吸光度以上のピークのみサーチします。目的のピークをサーチできない

場合、設定が不適

切な場合があります。

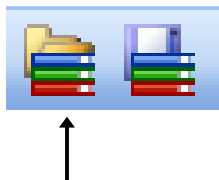
③ シフト (Shift) [nm] : 登録された成分のスペクトルを設定した波長分シフトします。

④ サーチを行う時間幅等を設定し、サーチする成分を限定するとサーチを早く行うことができます。

その他、成分名、ID ナンバーからサーチすることもできます。各項目はブランクなら、サーチのパラメータにはなりません。数字・文字を入力した段階でパラメータとなります。

8-6-3. ライブラリサーチの実行 (Search)

- ① サーチするデータのファイルを読み込みます。
- ② サーチする目的のピークのスペクトルを表示させます。 (5-2 節参照)
- ③ スペクトルライブラリファイルを読み込みます。



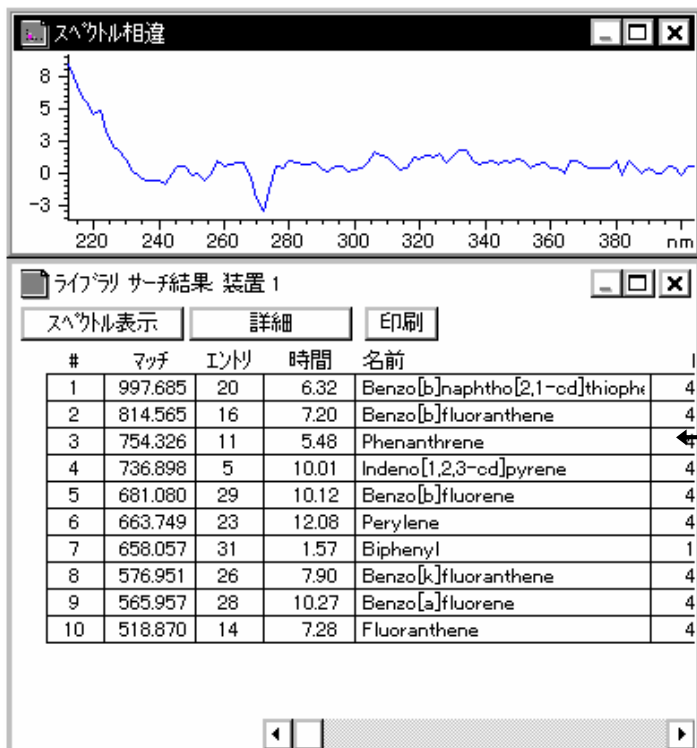
登録したライブラリファイルを選択します。

- ④ ライブラリサーチを実行します。



アイコンをクリックすると、次ページの画面が表示されます。

サンプルとサーチされたスペクトルの重ね書きが表示されます。



ライブラリの結果には、最高 10 個の候補成分のリストが表示されます。

スペクトル表示 (Show Spectrum) : サンプルのスペクトルと比較したい成分の # の左側にカーソルを移動してクリックします。行の表示が反転した後、このキーを押すと指定した成分のスペクトルの重ね書きおよびスペクトルの差(相違)が表示されます。

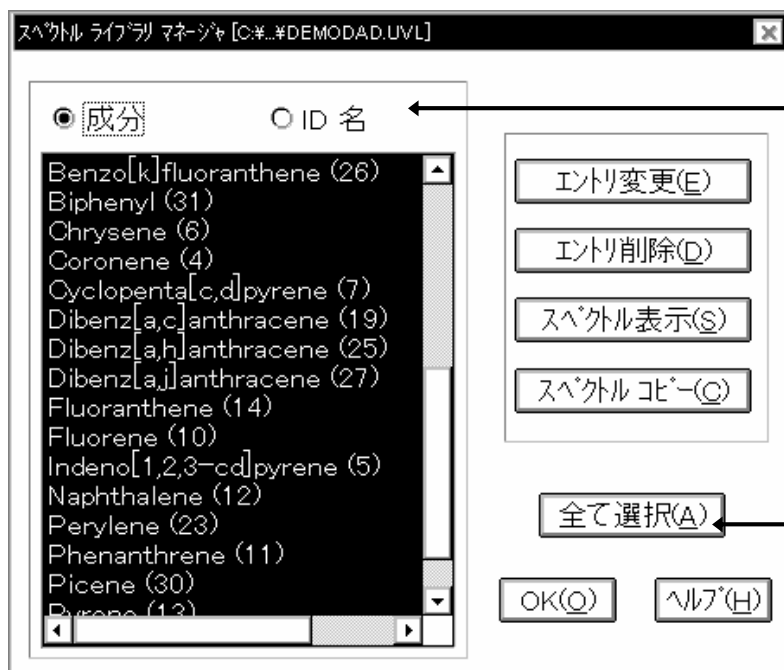
詳細 (More Info) : 成分のエントリ情報を表示します。

印刷 (Print) : グラフィックデータとリストを含むレポートを印刷します。
成分名または ID 名の出力設定及びサイズを設定してください。

8-6-4. ライブラリ情報の編集 (Spectra Library Manager)

登録したスペクトルの情報の修正などを行います。

アイコンをクリックします。



成分名・ID 番号. から表示を選択します。

リストの中から目的の成分をクリックして指定します。

全て選択 (Select All) をクリックすると全ての成分が指定できます。

エントリ変更 (Edit Entry)

: スペクトルの情報を修正します。

エントリ削除 (Delete Entry)

: スペクトルをファイルから削除します。

スペクトル表示 (Show Spectra) : スペクトルを画面上に表示します。

スペクトルコピー (Copy Spectra) : スペクトルをプリントします。

8-6-5. 自動ライブラリサーチ (Automated Library Search)

クロマトグラム上の全ピークのライブラリサーチをまとめて行います。

- 一度に4個のライブラリファイルによるサーチが可能です。
- ライブラリファイル別に異なる条件でのサーチが可能です。

① 自動ライブラリサーチの条件を設定します。

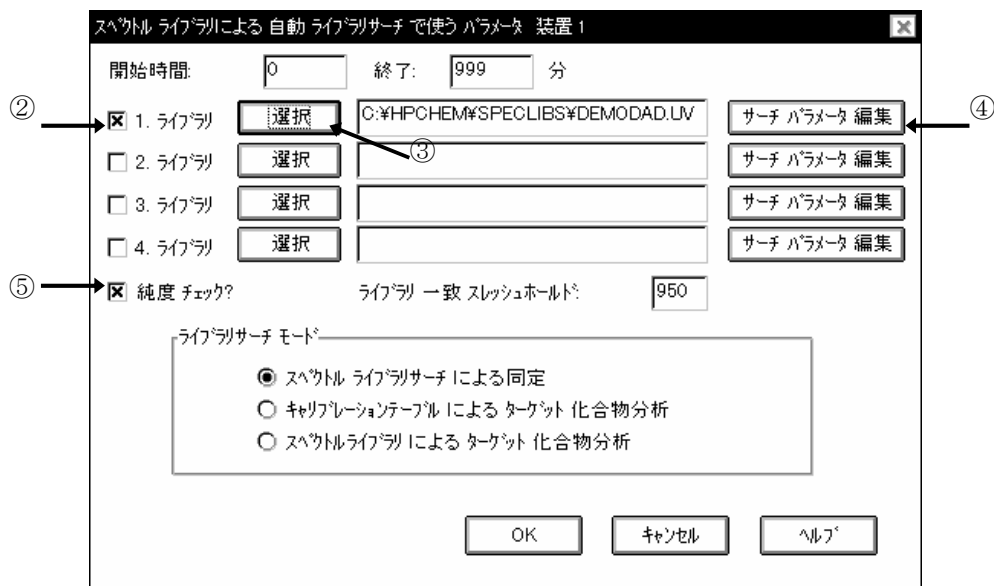
メニューバーより

レポート (Report)

→ 自動ライブラリサーチ (Automated Library Search)

を選択します。





② 使用するライブラリにチェックします。

③ **選択 (Selection)** をクリックし、ライブラリファイルを選択します。

④ ライブラリファイル毎にサーチ条件を設定します。

⑤ 自動ライブラリサーチと同時に純度チェックを行うかどうか選択します。

純度チェック (Purity check?) をチェックし、ライブラリー一致スレッシホールド (Library match threshold) を入力してください。設定値よりマッチ度の低いピークは不純と判断され、ピークの立ち上がりと質下がりの2点でサーチします。

⑥ レポートの出力条件を設定します。

メニューバーより

レポート Report

→ レポート条件 (Specify Report)



を選択します。

レポートスタイル (Report Style) の中から ライブラリサーチ (Library Search) を選択します。出力先 (Destination) を選択します。(2-1-4 節 参照)

⑥ データファイルを読み込みます。

画面にロードされているクロマトグラムのライブラリサーチを実行します。

メニューバーより

レポート (Report) → レポート印刷 (Print Report)

を選択します。

自動ライブラリサーチ結果が出力されます。
