

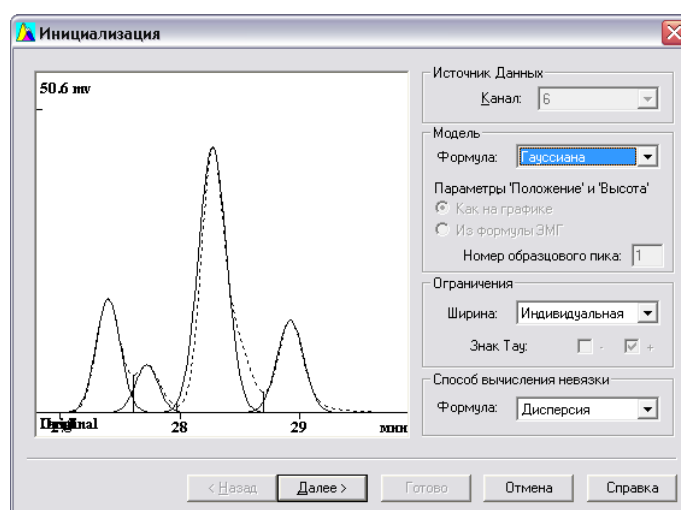
Разделение смежных хроматографических пиков

Для разделения группы смежных пиков в ПО *МультиХром, версия 1.7x* предусмотрена процедура, позволяющая разложить группу на отдельные пики, аппроксимировав их функцией Гаусса, экспоненциально-модифицированной функцией Гаусса или произвольной функцией, задаваемой формой выбранного эталонного пика. Для краткости эта процедура именуется *гаусс-разложением*.

Для выполнения разложения по форме выполните следующее.

- Откройте хроматограмму и выделите с помощью мыши группу смежных пиков, которые требуется разделить. В результате в окне будет представлена только выбранная область. Рекомендуется выделять участок хроматограммы таким образом, чтобы на нем полностью помещались выбранные пики и не попадали границы других пиков.
- Выберите команду **Обработка/Дополнительно/Разложение по форме**.
 - ♦ Если группа пиков полностью помещается в окне, сразу откроется окно **Инициализация**.
 - ♦ Если начальная и/или конечная точки выбранной группы пиков выходят за пределы окна, появится сообщение: «Пик №... выходит за пределы окна. Увеличить окно? Да/Нет». Нажмите кнопку **Да** – в противном случае пик, не поместившийся в окне, будет исключен из анализа. После этого откроется окно **Инициализация**.

Инициализация



Если обрабатывается многоканальная хроматограмма, выберите канал, для которого будет проводиться гаусс-аппроксимация, в списочном поле **Источник данных/Канал**.

- В списочном поле **Модель/Формула** выберите модель, по которой будет производиться аппроксимация: Гауссиана, Эксп.Мод.Гаусс, По образцу (см. ниже соответствующие разделы) и задайте соответствующие выбранной модели параметры процедуры.
- В списочном поле **Способ вычисления невязки/Формула** выберите способ вычисления невязки: Дисперсия или Высота*Дисперсия. В первом случае при подборе аппроксимирующей функции программа будет минимизировать величину

$$\sqrt{\sum (y_i - y_{ai})^2}$$

где y_i и y_{ai} – y -координаты точки хроматографического пика и аппроксимирующей кривой соответственно. Во втором – величину

$$\sqrt{\sum y_i (y_i - y_{ai})^2}$$

то есть, во втором случае каждая точка берется с весом, пропорциональным ее y -координате.

- Перейдите к следующему шагу, нажав кнопку **Далее (Next)**, при этом произойдет переход в окно **Итерации** (см. раздел **Итерации**).

Аппроксимация функцией Гаусса

- В списочном поле **Модель/Формула** выберите значение Гауссиана.

Этот вариант используется для аппроксимации симметричных пиков функцией Гаусса:

$$G(t) = h \cdot e^{-\frac{(T-t)^2}{2\sigma^2}}$$

где h – высота пика, T – позиция (положение максимума), σ – половина ширины по уровню 0.607.

Единственным выбираемым параметром является способ варьирования ширины пиков: она может подбираться индивидуально для каждого пика, иметь одно и то же оптимизированное значение для всех пиков или же оптимизироваться при условии одинаковой эффективности для всех пиков.

- В списочном поле **Ограничения/Ширина** выберите значение Индивидуальная, Одинаковая или По эффективности.

Аппроксимация экспоненциально-модифицированной функцией Гаусса

- В списочном поле **Модель/Формула** выберите значение Эксп.Мод.Гаусс.

Этот вариант используется для аппроксимации асимметричных пиков экспоненциально-модифицированной функцией Гаусса (ЭМГ). В ПО *МультиХром* используются 2 варианта формулы для ЭМГ:

$$F(t) = \frac{h \cdot \sigma}{\tau} \sqrt{\frac{\pi}{2}} \cdot e^{\left(\frac{\sigma^2}{2\tau^2} \frac{t-\mu}{\tau}\right)} \cdot \left(1 - \operatorname{erf}\left(\frac{1}{\sqrt{2}} \left(\frac{\mu-t}{\sigma} + \frac{\sigma}{\tau}\right)\right)\right) \quad \text{«классическая» формула}$$

или в виде произведения «гауссовой» и «экспоненциальной» функций $F(t) = G(t) \cdot E(t)$

где $G(t)$ – функция Гаусса, $E(t)$ – функция, осуществляющая экспоненциальную модификацию:

$$E(t) = \frac{\sigma}{\tau} \sqrt{\frac{\pi}{2}} \cdot \operatorname{erfcx}\left(\frac{1}{\sqrt{2}} \left(\frac{T-t}{\sigma} + \frac{\sigma}{\tau}\right)\right)$$

τ – параметр, характеризующий степень асимметрии пика. Остальные параметры как для функции Гаусса, но не имеют того же наглядного смысла. В связи с этим пользователю предоставляется возможность выбрать, какие величины будут представлены в отчете – формальные параметры h и T , используемые в формуле, или фактические значения высоты и положения вершины пика.


- Для того чтобы выбрать фактические значения высоты и положения вершины пика, установите флажок **Модель/Как на графике**.

Значения ширины для всех пиков подбираются только индивидуально.

Пользователь имеет возможность ограничить знак параметра Тау только положительными (по умолчанию) или только отрицательными значениями, а также разрешить использовать оба знака. В последнем случае число вариантов, которые программа анализирует при выборе оптимума, резко возрастает, поэтому его рекомендуется использовать только тогда, когда известно, что отдельные пики могут иметь явно выраженную асимметрию другого знака.

- Для выбора знака установите требуемым образом флажки **Ограничения/Тау (-/+)**

Аппроксимация функцией, подобной образцовому пику

 В качестве образцового следует выбирать отдельно стоящий пик с низким уровнем шума (большим отношением сигнал/шум). Как правило, такие пики не попадают в окно вместе с разделяемыми пиками, поэтому пик-образец следует выбрать заранее и зафиксировать его номер.

- В списочном поле **Модель/Формула** выберите значение По образцу.

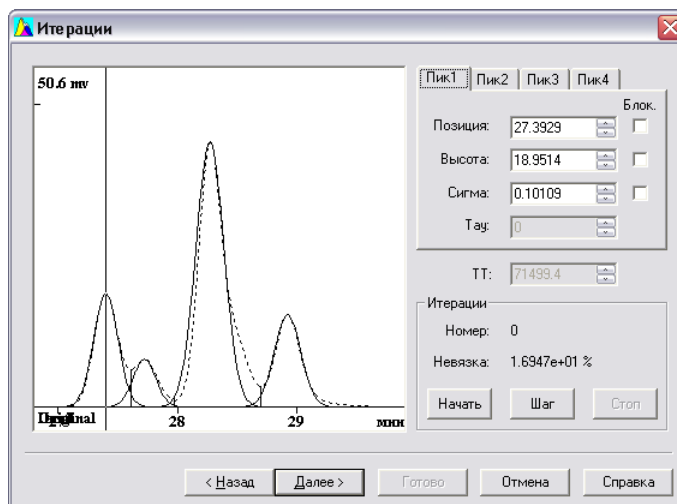
Этот вариант используется в тех случаях, когда различные пики имеют похожую форму, но недостаточно хорошо аппроксимируются функцией Гаусса или ЭМГ.

- Введите в поле **Модель/Номер пик-образец** номер пика-образца, под которым он представлен на хроматограмме.

Так же, как и в случае функции Гаусса, возможен выбор способа варьирования ширины пиков.

- В списочном поле **Ограничения/Ширина** выберите значение Индивидуальная, Одинаковая или По эффективности.

Итерации



- Для запуска автоматического процесса подбора аппроксимирующей функции методом последовательных итераций нажмите кнопку **Итерации/Начать**.

После выполнения очередной итерации значение в поле **Итерации/Номер** увеличивается на единицу, а в поле **Итерации/Невязка** выводится достигнутое на этом шаге значение невязки, вычисляемое как

$$\frac{\sqrt{\sum (y_i - y_{ai})^2}}{\sum y_i} * 100\% \quad \text{или} \quad \frac{\sqrt{\sum y_i (y_i - y_{ai})^2}}{(\sum y_i)^{3/2}} * 100\%,$$

в зависимости от выбора в окне **Инициализация**.

Одновременно на листах **Пик1**, **Пик2** и т. д. обновляются значения *параметров* (см. раздел **Параметры, изменяемые при итерациях**) для соответствующих пиков. Процедура останавливается, когда при очередном шаге величина невязки остается неизменной.

Пользователю также предоставляется возможность управления процедурой аппроксимации вручную.

- Для остановки процедуры нажмите кнопку **Итерации/Стоп**.
- Для пошагового управления процедурой нажимайте кнопку **Итерации/Шаг**.
- Если требуется производить аппроксимацию без изменения каких-либо параметров, установите для них флажок **Блок** (отдельно для каждого пика).
- Для изменения какого-либо параметра вручную (например, для оценки его влияния на изменение величины невязки или выбора фиксированного значения) введите требуемую величину в соответствующее поле с клавиатуры или изменяйте ее дискретно, щелкая мышью по стрелкам в конце поля.
- По завершении процедуры аппроксимации перейдите к следующему шагу, нажав кнопку **Далее (Next)**, при этом произойдет переход в окно (см. следующий раздел).

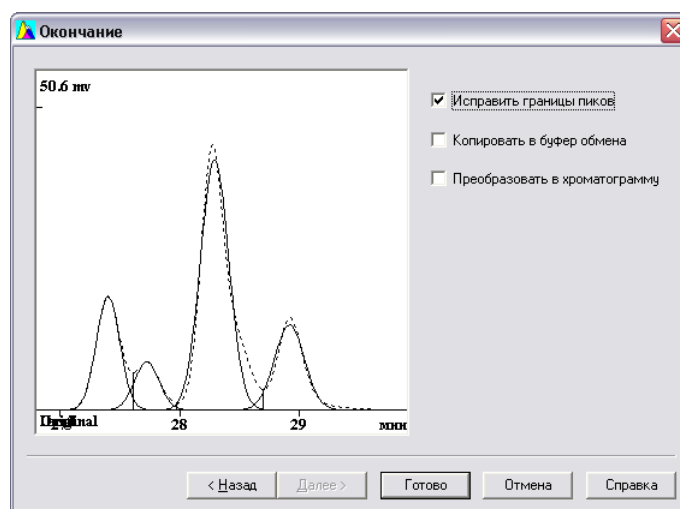
Параметры, изменяемые при итерациях

Набор параметров, варьируемых программой при итерациях, так и доступных для изменения пользователем вручную, зависит от выбранной модели и заданных ограничений.

Позиция	Положение максимума пика на графике Для ЭМГ без установки флажка Как на графике соответствует параметру T в формуле G(t) и E(t)	Изменяется для всех пиков независимо
Высота	Высота пика на графике Для ЭМГ без установки флажка Как на графике соответствует параметру h в формуле G(t) и E(t)	Изменяется для всех пиков независимо
Сигма	Параметр σ в формулах G(t) и E(t) , равный для модели <i>Гауссиана</i> половине ширины пика по уровню 0.607 Для модели <i>По образцу</i> – расчетная величина, характеризующая ширину пика (для пиков	Зависит от установки параметра Ограничения/Ширина : <i>Одинаковая</i> – изменяется для всех пиков одинаково. <i>Индивидуальная</i> – изменяется

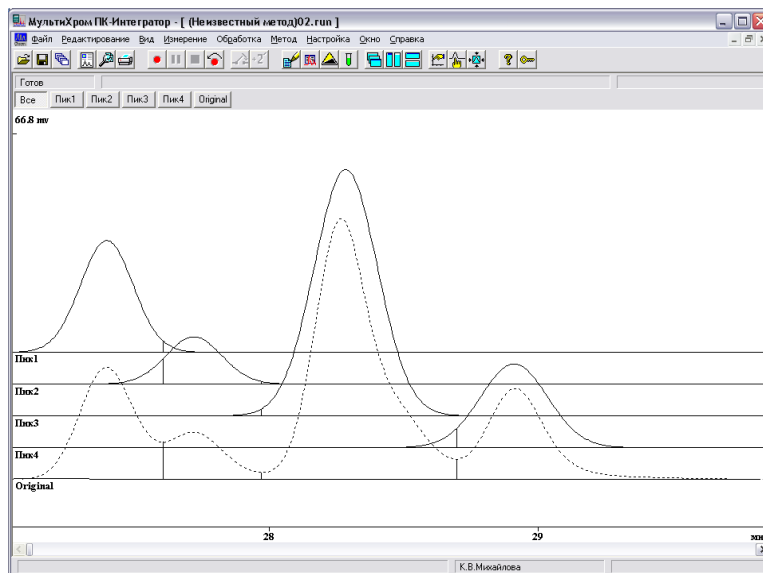
	Гауссовой формы совпадает с σ).	для всех пиков независимо. <i>По эффективности</i> – является вычисляемым параметром.
τ	Параметр τ в формуле $E(t)$, используемый только для модели <i>Эксп. Мод.Гаусс</i>	Изменяется для всех пиков независимо
T	Эффективность	Зависит от установки параметра Ограничения/Ширина: <i>По эффективности</i> – изменяется для всех пиков одинаково. Все остальные – являются вычисляемыми параметрами.

Окончание



На листе **Окончание** пользователю предоставляется возможность выбрать, каким образом использовать результаты разложения по форме. По умолчанию предлагается в исходной хроматограмме изменить границы пиков таким образом, чтобы отношение их площадей на хроматограмме с исправленными границами пиков (*ХИГП*) было таким же, как отношение площадей аппроксимирующих пиков.

- Для того чтобы отказаться от внесения изменений в исходную хроматограмму, снимите флажок **Исправить границы пиков**.
- Для того чтобы скопировать график из окна **Окончание** в буфер, установите флажок **Скопировать в буфер обмена**.
- Для того чтобы преобразовать полученный результат разложения участка хроматограммы на отдельные пики в многоканальную хроматограмму, установите флажок **Преобразовать в хроматограмму**. Полученная многоканальная хроматограмма разложения по форме (*МХРФ*) откроется в новом окне.

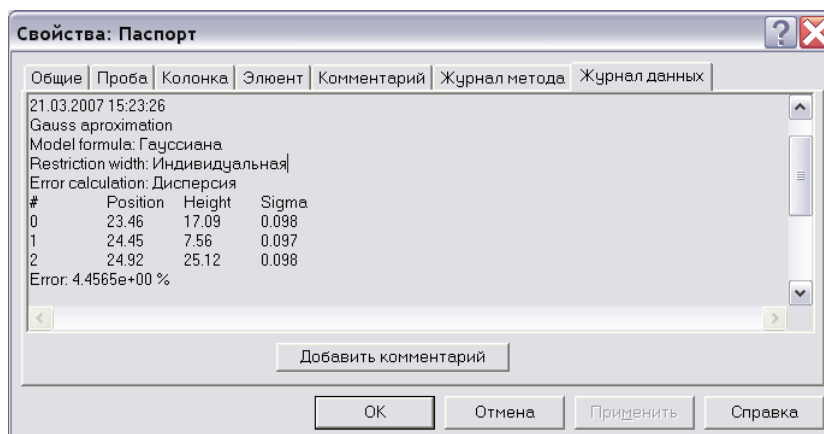


- Завершите процедуру гаусс-разложения, нажав кнопку **Готово (Finish)**.

Результаты разложения по форме

Результаты разложения по форме записываются в виде таблицы пиков в **Журнале данных** ХИГП и МХРФ.

- Для того чтобы просмотреть результаты разложения по форме, откройте окно **Паспорт/Журнал данных** ХИГП или МХРФ.



- Для ХИГП можно записать результаты разложения в отчет, установив в окне **Опции отчета** флажок **Другие разделы отчета/Журналы GLP**. Отчет будет содержать данные для исходной хроматограммы (с исправленными площадями пиков, но неизменными положениями вершин и величинами полуширины) и таблицу пиков разложения по форме.

Читать теорию:

[Аппроксимация асимметричных пиков: экспоненциально-модифицированная функция Гаусса](#)