МультиХром

Версия 1.7x

Система для сбора и обработки
хроматографических данных

Руководство пользователя

АМПЕРСЕНД
2014

http://www.ampersand.ruВеб-сайт:
E-mail: support@ampersand.ru ("горячая линия")
Телефон/факс: (499) 196-52-90; (499) 196-18-57
Почтовый адрес: 123182 Москва, а/я 27, ЗАО "АМПЕРСЕНД"

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ И ТОРГОВЫЕ МАРКИ
АВТОРСКИЕ ПРАВА

МультиХром, АМПЕРСЕНД, AMPERSAND - ЗАО "АМПЕРСЕНД"

IBM, IBM PC - International Business Machines, Corp.

MS-DOS, MS WINDOWS - Microsoft, Corp.

© ЗАО "АМПЕРСЕНД"

Исключительное право тиражирования программы *МультиХром* и ее документации принадлежит ЗАО "АМПЕРСЕНД" и охраняется законодательством Российской Федерации, Всемирной Конвенцией по авторским правам, а также прямыми обязательствами официальных пользователей, оговоренными в лицензионном соглашении.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ **I**

1. ВВЕДЕНИЕ **1-1**

Введение **1-3**

Лицензионное соглашение "АМПЕРСЕНД" **1-6**

Общие характеристики системы **1-8**

Сбор данных 1-8

Аналого-цифровое преобразование 1-8

АЦП в составе хроматографического комплекса 1-8

Единицы измерения 1-9

Общее знакомство с программой 1-10

Общий вид и главное меню 1-10

Окно хроматограммы 1-13

Диалоговые окна 1-13

Некоторые обозначения, принятые в настоящем Руководстве 1-14

Описание выполнения процедур 1-14

Ссылки на другие разделы 1-15

Хроматограммы и методы 1-15

Обработка данных 1-16

2. УСТАНОВКА И НАСТРОЙКА **2-1**

Оборудование **2-3**

Требования к компьютеру 2-3

Комплект поставки 2-3

Установка АЦП **2-3**

Подключение АЦП А-24 2-3

Подключение АЦП Е-24 или Е-18 2-4

Установка программы **2-5**

Запуск и настройка **2-5**

Запуск программы 2-5

Настройка конфигурации системы 2-6

Выбор интерфейса 2-6

Подключение АЦП А-24 2-6

Подключение АЦП Е-24 и Е-18 2-6

Проверка правильности подключения 2-7

Дополнительные настройки 2-7

Внесение изменений в файлы методов 2-7

Возможные неисправности и их устранение **2-8**

3. РУКОВОДСТВО ДЛЯ НАЧИНАЮЩИХ **3-1**

Введение **3-3**

Этап 1. Запуск программы **3-3**

Этап 2. Запуск хроматограммы **3-3**

Запуск метода 3-3

Задание параметров на листе Общие 3-4

Настройка параметров обработки 3-5

Настройка режима измерения 3-5

Запуск анализа 3-6

Сохранение метода 3-6

Этап 3. Процедуры, выполняемые во время приема хроматограммы **3-7**

Заполнение Паспорта хроматограммы 3-7

Операции с изображением хроматограммы 3-7

Использование мыши 3-8

Уровень нуля и масштабирование 3-8

Автомасштабирование 3-9

Этап 4. Окончание хроматограммы **3-9**

Этап 5. Настройка алгоритма интегрирования **3-9**

Этап 6. Редактор пиков **3-11**

Этап 7. Настройка частоты сбора данных 3-12
Этап 8. Обработка данных, не требующая градуировки 3-13
Этап 9. Перезапуск метода 3-13
Введение в процедуру градуировки 3-14
Этап 10. Получение первой градуировочной хроматограммы 3-14
Этап 11. Создание Таблицы компонентов 3-15
Этап 12. Создание Таблицы концентраций 3-17
Этап 13. Получение градуировочной зависимости 3-19
Получение всех градуировочных хроматограмм 3-19
Проверка и корректировка идентификации пиков 3-20
Компонент не идентифицирован 3-20
Компонент идентифицирован неправильно 3-21
Проверка и корректировка данных для градуировки 3-22
Этап 14. Просмотр и редактирование градуировочных зависимостей 3-24
Этап 15. Анализ неизвестного образца 3-25
Этап 16. Вывод отчета 3-26
Изменение метода расчета 3-27
Заказной метод расчета 3-28
Очереди и пакеты 3-28
Этап 17. Создание очереди 3-28
Этап 18. Запуск очереди 3-30
Этап 19. Создание пакета 3-31
Этап 20. Пересчет пакета 3-33
Редактирование Таблицы пакета 3-33
Внесение изменений, необходимых для переградуировки 3-34
Переразметка и переградуировка 3-35
Схемы переградуировки 3-35
Пересчет концентраций 3-35
Изменение паспорта 3-36
Изменения вида хроматограммы 3-36
Отчет 3-37
Сохранение изменений в файле метода и выполнение пересчета 3-37
4. СПРАВОЧНИК ПО ОСНОВНЫМ ОПЕРАЦИЯМ 4-1
Система безопасности 4-3
Список пользователей 4-3
Настройка паролей 4-4
Замкнуть программу 4-5
Файлы хроматограмм 4-5
Открытие хроматограммы 4-6
Вид хроматограммы 4-7
Масштабирование изображения 4-7
Использование клавиатуры 4-8
Уровень нуля 4-8
Восстановление полного изображения хроматограммы 4-9
Автомасштабирование 4-9
Компенсация дрейфа 4-9
Диалоговое окно Вид 4-9
Оси хроматограммы 4-10
Установки для оси X 4-10
Установки для оси Y 4-10
Метки 4-11
Метки пиков 4-11
Флажки опций рисования графиков 4-11
Маркеры канала 4-11
Цвета 4-12
Паспорт хроматограммы 4-13
Общие 4-13
Проба 4-14
Колонка. Капилляр 4-15
Элюент. Газ. Электрофорез 4-15
Комментарий 4-16
Журнал метода 4-16
Журнал данных 4-17

Настройка метода **4-18**
Измерение 4-18
Каналы 4-19
Фильтры 4-19
Обработка 4-21
Формулы 4-22
Настройка сбора данных **4-24**
Настройка интерфейса в зависимости от типа хроматографического процесса **4-26**
Интегрирование **4-26**
Детектор пиков 4-27
XXX пиков 4-28
Канал 4-28
Задержка 4-28
Ширина (H/2) 4-28
Уширение 4-29
Порог 4-29
Асимметрия 4-30
Минимальная площадь и минимальная высота 4-30
Наездник 4-30
Отрицательные пики 4-31
Интрепол. начало/конец базовой линии 4-31
События интегрирования 4-31
Запретить/разрешить детектирование 4-32
Разрешить/запретить отрицательные пики 4-32
Запретить/разрешить отбраковку пиков 4-33
Включить/отключить базу долина-к-долине 4-33
Включить/отключить режим одного пика 4-35
Другие события интегрирования 4-35
Установить горизонтальную/нормальную базу 4-35
Установить начало/конец пика 4-35
Расщепить пик 4-36
Установить полуширину 4-36
Установить порог 4-36
Установить минимальную высоту 4-36
Установить отношение наездника 4-36
Установить горизонтальную базу назад 4-36
Установить точку базовой линии 4-36
Форсировать/отменить горизонтальную базу 4-36
Форсировать/отменить горизонтальную базу назад 4-36
Вкл./Откл. сквозную базовую линию 4-36
Редактор пиков 4-36
Разложение по форме 4-38
Инициализация 4-39
Аппроксимация функцией Гаусса 4-39
Аппроксимация экспоненциально-модифицированной функцией Гаусса 4-40
Аппроксимация функцией, подобной образцовому пику 4-40
Итерации 4-41
Параметры, изменяемые при итерациях 4-42
Окончание 4-42
Результаты разложения по форме 4-43
Количественный и качественный анализ **4-44**
Методы градуировки 4-44
Абсолютная градуировка (метод внешнего стандарта) 4-45
Метод внутреннего стандарта 4-45
Табличный метод градуировки 4-46
Процедура градуировки: первый этап 4-47
Таблица компонентов 4-47
Идентификация компонентов 4-49
Таблица концентраций 4-49
Особенности создания Таблицы компонентов и Таблицы концентраций в случае, когда используются градуировочные смеси разного состава 4-52
Процедура градуировки: второй этап 4-53
Автоматическое внесение или обновление данных для одной градуировочной точки 4-53
Автоматическая градуировка в процессе получения градуировочных хроматограмм 4-54
Автоматическая градуировка с использованием ранее полученных хроматограмм 4-55

Создание пакета 4-55
Хроматограмма-пример 4-57
Редактирование таблицы пакета 4-57
Переразметка 4-58
Переградуировка и пересчет концентраций 4-58
Дополнительные процедуры, выполняемые при пакетном пересчете 4-58
Ручная градуировка 4-59
Добавление градуировочной хроматограммы через Таблицу концентраций 4-59
Упрощенный способ добавления градуировочной хроматограммы 4-59
Построение градуировочных зависимостей 4-60
Окно Компонент 4-60
Выбор метода градуировки 4-62
Внешний стандарт 4-62
Внутренний стандарт 4-62
Табличный метод. Измерение относительных величин ФО 4-62
Градуировочные кривые 4-63
Выбор типа градуировочной кривой 4-63
Изменение типа координат при построении градуировочной зависимости 4-64
Отбраковка "выпавших" точек 4-65
Особенности градуировки для многоканальных хроматограмм 4-65
Глобальные и локальные параметры 4-65
Стандартная добавка 4-65
Опорный канал 4-65
Хранение и обновление градуировки 4-66
Анализ пробы неизвестного состава 4-66
Идентификация компонентов 4-66
Окно идентификации 4-66
Реперные пики 4-67
Общая настройка алгоритма идентификации компонентов 4-67
Количественное измерение концентрации компонентов 4-69
Где можно увидеть результаты измерения концентрации 4-69
Определение относительного содержания компонентов (без проведения градуировки) 4-69
Определение абсолютной концентрации компонентов 4-69
Определение относительной концентрации компонентов (расчет методом внутреннего стандарта) 4-70
Индексы удерживания 4-70
Групповая обработка хроматограмм 4-71
Запуск программы для работы с очередью 4-71
Правила работы с Таблицей 4-72
Поля Таблицы очереди 4-72
Режим редактирования Таблицы очереди 4-73
Порядок заполнения Таблицы очереди 4-74
Режим исполнения 4-74
Запуск программы для работы с пакетом 4-75
Поля Таблицы пакета 4-76
Меню и панель инструментов окна Редактор пакетов 4-76
Дополнительная обработка хроматограмм 4-77
Вычесть 4-77
Сжать 4-77
Перевернуть! 4-78
Урезать хроматограмму 4-78
Отчет 4-80
Настройка опций отчета 4-80
Выбор разделов отчета 4-81
Разделы отчета 4-81
Другие разделы отчета 4-81
Таблица пиков 4-82
Столбцы Таблицы пиков 4-82
Номер 4-82
Время удерживания 4-82
Полуширина 4-82
Высота 4-83
Высота % 4-83
Площадь 4-83
Площадь % 4-83
Фактор удерживания 4-83

Разрешение 4-83
Эффективность, ТТ 4-84
Эффективность, ТТ/м 4-85
ПВЭТТ 4-85
Сигнал/Шум 4-85
Асимметрия 4-85
Фактор отклика 4-86
Концентрация 4-86
Концентрация % 4-86
Относительная концентрация 4-87
Относительная концентрация % 4-87
Количество вещества 4-87
Индекс 4-87
Тип 4-88
Группа 4-88
Спектральные отношения 4-88
Имя 4-88
Имя файла 4-88
Имя хр-мы 4-88
Выбор метода расчета и задание параметров 4-89
Нормировка отклика 4-89
Внутренняя нормализация 4-89
Абсолютная концентрация 4-89
Относительная концентрация 4-89
Индекс 4-89
Тест колонки 4-89
Заказной 4-90
Формат представления таблиц 4-90
Шаблоны отчета 4-91
Шаблоны russian.rtt и english.rtt 4-91
Шаблон RetTim.rtt 4-91
Шаблон gauss.rtt 4-92
Выбор устройств для вывода отчета 4-92
Вывод на экран 4-92
Копирование отчета через буфер 4-92
Сохранение отчета в виде rtf-файла 4-92
Вывод на принтер 4-93
Предварительный просмотр 4-93
Параметры страницы 4-93
Настройки принтера 4-94
Вывод в файл 4-94
Получение отчета 4-96
Статистическая обработка результатов анализов 4-96
Общая процедура 4-96
Настройка параметров статистической обработки 4-97
Печать статистического отчета 4-100
Выделение групп в Таблице компонентов при обработке пакета 4-100
Сообщения об ошибках 4-101
Капиллярный электрофорез 4-101
Вычисляемый канал Сигнал/Время 4-101
Паспорт 4-102
Капилляр 4-102
Электрофорез 4-103
Комментарий 4-103
Отчет 4-103
Идентификация по электрофоретической подвижности 4-104
Многоканальные хроматограммы 4-108
Вид многоканальной хроматограммы 4-108
Сбор данных 4-110
Настройка интерфейса 4-110
Настройка метода 4-111
Обработка многоканальных хроматограмм 4-112
Вычисляемый канал 4-112
Таблица каналов 4-112
Редактирование таблицы каналов 4-113

Синхронизация каналов. 4-113
Разметка на пики 4-114
Факторный анализ 4-114
Спектры многоканальных хроматограмм 4-114
Процедура факторного анализа 4-115
Расчет концентраций 4-118
Объединение пакета в многоканальную хроматограмму 4-119
Группы 4-119
Импорт - экспорт данных 4-120
Импорт хроматограмм 4-120
Экспорт данных 4-121
Экспорт данных через буфер обмена 4-121
Передача рисунка хроматограммы через буфер обмена 4-121
Передача всего отчета через буфер обмена 4-121
Экспорт данных через файлы отчета 4-121
Экспорт данных через файлы формата AIA 4-122
Экспорт данных через текстовые файлы 4-122
Формат текстовых файлов для экспорта и импорта 4-122
5. ПРИЛОЖЕНИЯ 5-1
Приложение 1. Интерфейсы 5-3
Общие сведения 5-3
Настройка АЦП 5-3
Параметры каналов 5-4
Настройка частоты 5-5
Настройка параметров COM-порта 5-6
Приложение 2. Аналого-цифровые преобразователи 5-6
Выносной модуль А-24 5-6
Общая информация 5-6
Спецификация 5-7
Подключение АЦП к хроматографу и компьютеру 5-8
Подключение аналоговых каналов к хроматографу 5-8
Подключение к компьютеру 5-9
Управление с использованием цифровых линий 5-10
Отдельные линии 5-10
Все линии 5-11
Задание режима запуска программы 5-11
Создание таймерной программы 5-12
Выносной модуль Е-24 5-15
Общая информация 5-15
Описание внешних разъемов 5-16
АЦП с возможностью цифрового управления оборудованием 5-16
Однократная подача команд 5-17
Управление оборудованием во время приема хроматограммы 5-17
Выносной модуль Е-18 5-19
Приложение 3. Общие настройки 5-20
Перезапись при изменении данных 5-20
Перезаписывать файл данных 5-20
Если метод изменен 5-20
Если метод на диске более свежий 5-20
Другие настройки 5-21
Открытие хроматограммы 5-21
Сохранение хроматограммы 5-21
Единицы хроматограммы 5-21
Печать 5-21
Приложение 4. Особенности работы ПО *МультиХром* с оборудованием фирмы “Люмэкс” 5-21
Приложение 5. Использование клавиатуры и мыши 5-22
Основные клавиатурные комбинации управления изображением 5-22
Основные функции редактора пиков 5-22
Другие полезные комбинации клавиш 5-23
Приложение 6. Обозначения 5-24
Пики и особые точки хроматограммы 5-24
Параметры пиков 5-24
Величины, используемые для расчетов 5-24

Приложение 7. Файл шаблона отчета **5-26**
Общие сведения 5-26
Создание нового файла шаблона 5-27
Приложение 8. Статус процесса **5-28**
Приложение 9. Настройка шрифтов **5-28**
Приложение 10. AIA-файлы **5-29**
Приложение 11. Алгоритм расчета шумов **5-29**
Основная процедура 5-29
Дополнительные возможности измерения шумов 5-30
Приложение 12. Оценка величины шума и ее использование при обработке хроматографического сигнала **5-32**
Приложение 13. Метод внутреннего стандарта – идея и воплощение **5-36**
Приложение 14. Дополнительные сведения по используемым формулам и выполняемым процедурам **5-40**
Экспоненциально-модифицированная функция Гаусса 5-40
Построение градуировочной зависимости методом наименьших квадратов 5-41
Список цитируемой литературы **5-42**
Предметный указатель **5-43**

1. Введение

Введение

Программное обеспечение (далее ПО) *МультиХром* предназначено для работы как в составе программно-аппаратного комплекса (далее ПАК) *МультиХром*, представляющего собой универсальную интегрирующую систему для работы с хроматографами любого типа, так и в качестве управляющей программы, адаптированной для конкретных хроматографических комплексов. ПО *МультиХром* используется для решения широкого круга хроматографических задач как в лабораторных, так и заводских условиях. Оно отличаются высоким научным уровнем решения проблем сбора, обработки и хранения хроматографических данных в сочетании с простым и интуитивно понятным интерфейсом пользователя и доступными ценами.

Основные функции, выполняемые системой МультиХром версия1.7x:

1. Прием и преобразование аналогового сигнала детекторов в цифровой сигнал для дальнейшей обработки хроматограмм с помощью персонального компьютера.
   - Подключение к одному компьютеру в стандартном варианте 2 или 4 детекторов любого типа (возможно до 32).
   - 24-битные аналого-цифровые преобразователи в виде выносных модулей, подключаемых к USB- или COM-порту компьютера.
   - Широкий динамический диапазон измеряемого сигнала (от -4.5 В до 4.5 В).
   - Гарантированная точность преобразования не менее 23 бит на частоте 10 Гц.
   - Возможность использования АЦП с цифровым управления оборудованием.
2. Сбор хроматографической информации
   - Визуальный контроль базовой линии до начала сбора хроматографических данных.
   - Автоматический запуск хроматограммы при запуске хроматографического процесса и ее завершение по истечении заданного времени.
   - Регистрация многоканальных хроматограмм (многодетекторные хроматографы, многоволновые детекторы).
   - Одновременная регистрация нескольких независимых хроматограмм.
   - Автоматический перезапуск при выполнении серии анализов, а также групповая обработка серии хроматограмм при использовании автосамплера (использование очередей).
   - Фильтрация и сжатие сигнала.
3. Первичная обработка хроматограмм - определение положения, высоты и площади пиков.
   - Выявление до 2000 хроматографических пиков.
   - Автоматическая разметка с настройкой алгоритма отбора пиков.
   - Программный модуль, реализующий процедуру предельного шумоподовления.
   - Специальная процедура интегрирования для случая низких отношений сигнал/шум, а также большого дрейфа базовой линии.
   - Возможность задания индивидуального алгоритма для отдельных участков хроматограммы.
   - Ручная коррекция разметки.
   - Разделение смежных пиков путем их аппроксимации функцией Гаусса, экспоненциально-модифицированной функцией Гаусса или произвольной функцией, задаваемой формой выбранного эталонного пика.
   - Возможность использования факторного анализа для многоканальных хроматограмм.
4. Градуировка хроматографического оборудования.
   - Различные методы градуировки: абсолютная градуировка, метод внутреннего стандарта, табличный метод.
   - Упрощение процедуры градуировки при использовании стандартных добавок.
   - Многоточечная градуировка с аппроксимацией градуировочной зависимости полиномами 1-3 степени.
   - Построение градуировочной зависимости в логарифмических и инверсных координатах.
   - Расчет параметров хроматографических пиков с выбором расчетных формул.
   - Удобное обновление градуировок и пересчет хроматограмм с учетом обновленных градуировок.

5. Идентификация и определение концентрации компонентов разделяемых смесей.

- Идентификация до 500 компонентов анализируемой смеси.
- Автоматическая компенсация нестабильности и дрейфа параметров удерживания по результатам измерений для реперных компонентов.
- Расчет линейных и логарифмических индексов удерживания.
- Автоматическая компенсация погрешностей пробоподготовки и ввода пробы методом внутреннего стандарта.
- Расчет абсолютных и относительных концентраций.
- Дополнительный расчет ряда величин в соответствии с требованиями фармакопейных статей США и Европы.

6. Хранение, повторная обработка и обмен хроматографической информацией.

- Автоматическое присвоение уникальных имен файлам регистрируемых, а также обновляемых хроматограмм.
- Сохранение всех параметров регистрации и обработки для каждой хроматограммы в одном файле с первичными данными.
- Сохранение параметров регистрации и обработки в виде отдельных файлов методов.
- Возможность пересчета хроматограммы с измененными параметрами обработки, включая пакетную обработку группы хроматограмм.
- Статистическая обработка данных нескольких хроматограмм с помощью встроенного статистического модуля.
- Импорт хроматограмм, полученных с помощью других программ.
- Экспорт/импорт хроматограмм в виде текстовых файлов или файлов AIA (формат обмена для хроматографических данных, предложенный Ассоциацией аналитического приборостроения, США).
- Передача хроматографических данных в базы данных для хранения и обработки их специально разработанными методами

7. Формирование отчетов.

- Широкие возможности настройки формы отчетов, содержащих текстовые и графические материалы.
- Вывод отчета на экран, на принтер и запись его в виде файла.
- Экспорт отчетов в электронные таблицы и базы данных, а также для обработки текстовыми и графическими редакторами.

8. Дополнительные сервисные функции.

- Параллельная работа с другими программами во время регистрации хроматограмм.
- Автоматический запуск дополнительных программ перед началом и после завершения хроматограммы, а также программ для обработки файла отчета.

9. Обеспечение надежности получаемой информации

- Защита от несанкционированного доступа и неквалифицированного вмешательства в работу системы с помощью паролей и дифференциации уровней доступа.
- Метрологическое обеспечение в виде утвержденной ВНИИМС методики периодической проверки системы N2448-98.
- Соответствие международным стандартам GLP (Good Laboratory Practice) и GALP (Good Automated Laboratory Practice)

Описание предназначено как для начинающих, так и для пользователей, имеющих опыт работы с более ранними версиями программы. Кроме того, оно будет полезно как справочное пособие по основным командам и операциям системы сбора и обработки хроматографических данных *МультиХром*.

Желаем вам успехов в работе. Ждем также ваших отзывов и пожеланий по работе нашего программного обеспечения.

Лицензионное соглашение "АМПЕРСЕНД"

Настоящее лицензионное соглашение (далее: "Соглашение") является юридическим документом, оно заключается между ПОЛЬЗОВАТЕЛЕМ (физическим или юридическим лицом) и ЗАО "АМПЕРСЕНД" относительно программного продукта *МультиХром* (далее: "Программа" или "Программное обеспечение"), включающего в себя программное обеспечение, записанное на соответствующих носителях, любые печатные материалы и любую "встроенную" или электронную документацию. Устанавливая, копируя или иным образом используя Программу, ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ тем самым принимает на себя условия настоящего Соглашения. Если ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ не принимает условий данного Соглашения, он незамедлительно обязан вернуть неиспользованную Программу туда, где он ее приобрел, и ему будут возмещены уплаченные суммы в соответствии с пунктом 6 настоящего Соглашения.

ЛИЦЕНЗИЯ НА ПРОГРАММУ

Программа защищена законами и международными соглашениями об авторском праве, а также другими законами и договорами, относящимися к интеллектуальной собственности.

Программа лицензируется, а не продается.

1. ОБЪЕМ ЛИЦЕНЗИИ. Настоящее Соглашение дает ПОЛЬЗОВАТЕЛЮ следующие права.

- Системное программное обеспечение. Он может установить и использовать одну копию Программы на отдельном компьютере.
- Хранение и использование в сети. Лицензия на Программу не допускает совместного использования или одновременного использования на разных компьютерах.

2. ОПИСАНИЕ ПРОЧИХ ПРАВ И ОГРАНИЧЕНИЙ.

- Ограничение на обратное конструирование, декомпиляцию и дизассемблирование. ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ не имеет права предпринимать обратное конструирование, декомпиляцию или дизассемблирование Программы.
- Модификация файла исполняемого модуля. ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ не имеет права производить модификацию исполняемого модуля программы.
- Изготовление копий защитных устройств-ключей. ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ не имеет права создавать и использовать аналоги защитных устройств-ключей, поставляемых ЗАО "АМПЕРСЕНД" вместе с программой, или заменять их иными устройствами.
- Разделение Программы. Программа лицензируется как единый продукт. Составляющие ее части нельзя разделять для использования на нескольких компьютерах.
- Передача Программного обеспечения. ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ может переуступить все свои права по настоящему Соглашению только вместе с продажей или передачей оборудования (в частности, аналого-цифрового преобразователя), с которым поставлялась Программа, при условии, что он не сохраняет никаких копий, передает всю Программу (включая все составные части, носители и печатные материалы, любые усовершенствования, настоящее Соглашение и сертификаты подлинности, если таковые имеются), а получатель соглашается на условия данного Соглашения. Если Программа является обновлением (upgrade), то любая передача должна включать в себя все предыдущие версии Программы.
- Прекращение действия Соглашения. Без ущерба для любых других прав, ЗАО "АМПЕРСЕНД" может прекратить действие настоящего Соглашения, если ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ не соблюдает условий и положений данного Соглашения. В таком случае ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ должен уничтожить все копии Программы и все составляющие ее части.

3. ОБНОВЛЕНИЕ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ.

Если Программа является обновлением другого программного обеспечения, как произведенного ЗАО "АМПЕРСЕНД", так иным поставщиком, то ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ имеет право использовать или передавать ее только вместе с обновляемым программным обеспечением, за исключением того случая, когда последнее уже было уничтожено ранее. Если Программа является обновлением программного обеспечения ЗАО "АМПЕРСЕНД", то разрешается использовать такое обновленное программное обеспечение только в соответствии с настоящим Соглашением. Если Программа является обновлением части пакета программ, на который ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ получил лицензию как на единый продукт, то разрешается использовать и передавать Программу только как неотъемлемую часть этого единого пакета и не разрешается отделять ее для использования на нескольких компьютерах.

4. АВТОРСКОЕ ПРАВО.

Программа является интеллектуальной собственностью ЗАО "АМПЕРСЕНД" и защищена законодательством об авторских правах Российской Федерации и положениями международных договоров. Копирование печатных материалов, поставляемых вместе с Программой, запрещается.

5. РАЗЛИЧНЫЕ НОСИТЕЛИ ПРОГРАММ.

Программа может поставляться на нескольких видах носителей. Независимо от их вида и размера разрешается использовать только носители одного вида, который соответствует отдельному компьютеру или серверу сети. Не разрешается использовать или устанавливать прочие носители на других компьютерах, а также сдавать носители в прокат или во временное пользование или уступать их для использования в иных целях, за исключением случая передачи Программного обеспечения, указанного выше.

6. ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ.

- Программное обеспечение поставляется "как есть" с отрицанием гарантий любого рода, кроме упомянутых в данном документе, на сколько это позволяется законодательством страны применения.
- Гарантия отсутствия дефектов носителя информации. При наличии дефектов фирма-поставщик обязана произвести бесплатную (за исключением почтовых расходов) замену носителя.
- Ошибки, неадекватное поведение или непригодность программного обеспечения для решения каких-либо стоящих перед ПОЛЬЗОВАТЕЛЕМ задач не могут являться основанием для предъявления финансовых претензий к ЗАО "АМПЕРСЕНД", за исключением 100% компенсации в случае возврата полного комплекта приобретенного программно-аппаратного комплекса в месячный срок после даты получения (отгрузки). Компенсация расходов по установке, наладке, командировочных и иных расходов сверх договорной стоимости программно-аппаратного комплекса, а также индексация суммы по курсу доллара при возвращении денег не производится.
- Отсутствие ответственности за убытки пользователя. ЗАО "АМПЕРСЕНД" не несет финансовой ответственности за убытки пользователя, которые он понес вследствие применения (невозможности применения, неправильного применения) программы или вследствие ее ошибок, включая упущенную выгоду, потерю информации и любые другие потери.
- Максимальный размер финансовых претензий к ЗАО "АМПЕРСЕНД" не может превышать стоимости Программы.

Общие характеристики системы

Система сбора и обработки хроматографических данных *МультиХром* включает в себя:

- аппаратную часть - аналого-цифровой преобразователь (далее АЦП), обеспечивающий передачу сигнала детектора хроматографа для его дальнейшей обработки персональным компьютером;
- программное обеспечение для IBM-совместимого компьютера (далее ПО), выполняющее обработку сигнала, извлечение хроматографический информации и представление ее в виде отчетов.

Сбор данных

Аналого-цифровое преобразование

Как правило, детектор хроматографа выдает аналоговый сигнал (т.е. напряжение, пропорциональное измеряемой детектором величине). Этот сигнал не может быть напрямую воспринят компьютером. Для его преобразования в цифровую форму и передачи его в компьютер используется специальный прибор, называемый *аналого-цифровым преобразователем* (*АЦП*).

АЦП отличаются по динамическому диапазону, скорости сбора данных и количеству каналов.

Динамический диапазон представляет собой отношение максимального напряжения, измеряемого АЦП, к минимальному изменению сигнала, которое может быть им зарегистрировано. Это отношение может измеряться как обычным десятичным числом, так и двоичным, в битах (10 бит примерно соответствуют 3 десятичным разрядам: 2^{10} =1024).

Динамический диапазон выходного сигнала большинства детекторов, используемых в хроматографии, не превышает 16 бит, в отдельных случаях он может достигать 20 бит. Однако для использования одного и того же АЦП для преобразования сигналов, которые поступают от детекторов различных типов, отличающихся уровнем выходного сигнала, необходимо иметь возможность переключения диапазона входного сигнала АЦП. Только 24-битные АЦП полностью перекрывают весь диапазон сигналов для любых типов детекторов.

Преимущества, обеспечиваемые АЦП высокой разрядности, не даются даром. Стоимость таких АЦП (без программы) на западном рынке сравнима со стоимостью персональной ЭВМ. Разумным компромиссом между ценой и параметрами АЦП на сегодняшний день является их изготовление на основе специализированных. Такие АЦП номинально являются 24-битными. Однако их младшие разряды являются шумовыми, и реальный динамический диапазон составляет ннее более 23 бит при частоте сбора данных порядка 10 Гц и уменьшается с повышением частоты. Поскольку используемые микросхемы содержат переключаемый входной усилитель, такие АЦП могут использоваться с детекторами любых типов.

Необходимая скорость измерений зависит от того, какая задача решается. Скорость измерений должна быть достаточной для того, чтобы обеспечить не менее 15 измерений на полуширину самого узкого измеряемого пика. Типичная скорость измерений составляет 5-10 Гц для газовой хроматографии с капиллярными колонками и 1-2 Гц для жидкостной хроматографии. В некоторых случаях, например, для капиллярного электрофореза, необходима более высокая скорость сбора данных.

С системой *МультиХром* рекомендуется использовать прецизионный двухканальный АЦП А-24, двух- или четырехканальный АЦП Е-24 (англоязычное название 24-bit AD Converter), а также двухканальный АЦП Е-18. Эти АЦП, выполненные в виде выносных модулей, пригодны для решения как рутинных, так и сложных исследовательских задач. Основные достоинства такого исполнения АЦП:

- возможность размещения АЦП на значительном расстоянии от компьютера (десятки метров);
- меньшая зависимость от процессов, происходящих в системном блоке компьютера (влияние наводок, температурных градиентов и т.д.).

> Для приборов, имеющих встроенный АЦП с последовательным интерфейсом, таких как детектор для ВЭЖХ “Флюорат” или прибор для капиллярного электрофореза “Капель”, достаточно соединить хроматограф с компьютером через COM-порт.

АЦП в составе хроматографического комплекса

АЦП устанавливается в непосредственной близости от хроматографа, так чтобы длина кабелей, соединяющих детекторы с входами АЦП, не превышала 6 м, так как при большей длине кабелей могут значительно возрастать шумы.

Основным типом АЦП, используемым в системы *МультиХром*, является выносной модуль А-24. Он имеет 2 канала для приема аналоговых сигналов, что обычно достаточно для большинства

практических применений. При необходимости к одному компьютеру можно подключить несколько модулей АЦП. Длина соединительного кабеля между АЦП и компьютером может быть значительно больше[1] длины кабеля между хроматографом и АЦП, так как цифровые сигналы существенно менее чувствительны к помехам.

Единицы измерения

Измерение сигнала при использовании АЦП производится путем передачи на вход компьютера числа, равного отношению напряжения на входе АЦП к минимальному изменению напряжения (*дискрету* АЦП) , который соответствует изменению значения на выходе на одну единицу. Таким образом, исходной величиной измеряемого сигнала является число дискретов АЦП. Умножив число дискретов на величину одного дискрета, можно получить величину сигнала в единицах напряжения. В системе *МультиХром* используются АЦП, для которого изменение выходного сигнала от - 8388600 до 8388600 дискретов (весь диапазон 2^{24} дискретов) соответствует изменению входного напряжения от –4,5 до +4,5 В (АЦП А-24) или от –2,5 до +2,5 В (АЦП Е-24 и Е-18). То есть, величина одного дискрета равна примерно 0,5 или 0,3 мкВ соответственно. По желанию пользователя хроматографический сигнал может измеряться как в числе дискретов, так и в единицах напряжения, а также в любых других единицах, например, в процентах от полной шкалы. В программе предусмотрен простой способ задания единиц: пользователь должен только ввести название единицы и максимальное значение сигнала в этих единицах, соответствующее максимальному сигналу АЦП.

Обновление выходного значения АЦП производится с некоторой заданной частотой (*частотой сбора данных*), каждое полученное значение получает номер очередного измерения. Таким образом, в исходном виде выходной сигнал является функций текущего *числа измерений*. Разделив число измерений на частоту, можно получить зависимость сигнала от времени. Кроме того, если задана скорость потока элюента, возможен пересчет в зависимость сигнала от объема элюента. Программой предусматривается возможность выбора между числом измерений, временем (*мин* или *сек*) или объемом (*мкл* или *мл*), могут быть заданы также произвольные единицы.

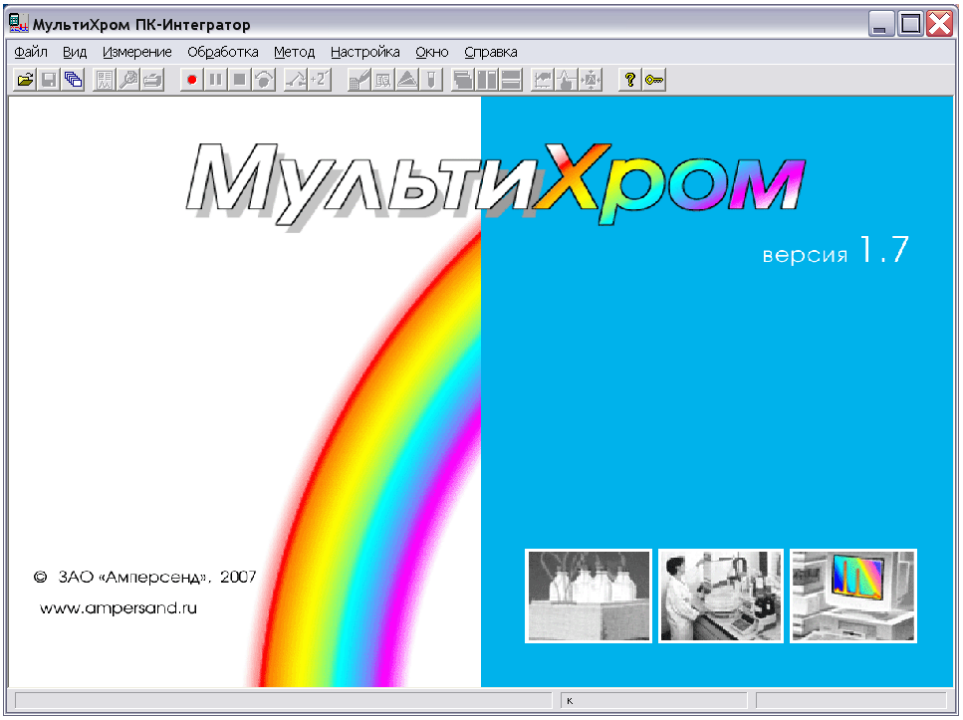
---

[1] При стандартной для системы *“МультиХром”* скорости передачи данных 19,2 кбод при подключении с COM- порту для обычных кабелей допустима длина до 15 м, при специальном экранировании и заземлении – до 30 м, при использовании кабелей с низкой емкостью – до 100 м. При подключении к USB-порту, если требуемая длина кабеля превышает 5 м, возможно использование удлиннителей с активным усилителем (репитером). Допустимая длина уменьшается при увеличении скорости передачи.

Общее знакомство с программой

Общий вид и главное меню

После запуска программы на экране появляется *главное окно* программы *МультиХром*.



Верхняя линейка окна - это *заголовок*, содержащий эмблему программы *МультиХром* и ее название, а также стандартные системные кнопки MS *Windows* **Свернуть**, **Развернуть** и **Закрыть**.

Вторая линейка содержит *главное меню* программы *МультиХром*. *Главное меню* дает доступ ко всем функциям системы. Для вызова меню щелкните мышкой по нужному пункту. Описание пунктов *главного меню* можно найти, воспользовавшись *подсказкой* (для вызова контекстно-чувствительной *подсказки* по выбранному пункту меню или по диалоговому окну, в котором Вы находитесь, нажмите клавишу [**F1**]).

Ниже находится линейка *пиктографического меню*, содержащее пиктограммы наиболее часто используемых команд и операций. Для активации щелкните мышкой по нужной пиктограмме. Чтобы получить краткую подсказку о назначении какой-либо пиктограммы, установите на нее указатель мышки. При этом в нижем поле главного окна также появится краткое описание. В данном описании использованию команд пиктографического меню уделяется особое внимание, поскольку, на наш взгляд, это наиболее удобный вид интерфейса с пользователем в системе *Windows*.

Нижняя линейка *главного окна* включает три поля. Левое поле содержит краткое описание выбранного пункта меню, пояснение или совет пользователю. Среднее - имя текущего пользователя.

Все остальное пространство *главного окна* - это рабочая область. Она может содержать одну или несколько *хроматограмм*. Число открытых хроматограмм не должно превышать 100[2].

Каждая хроматограмма располагается в своем *окне*. Одно из них является активным (текущим). Все манипуляции по обработке данных возможны только с хроматограммой в активном окне. Чтобы сделать одно из нескольких окон активным, установите курсор мыши внутри окна и щелкните левой кнопкой мыши[3]. Можно также “листать” окна, нажимая клавиатурную комбинацию **[Ctrl]+[F6]**.

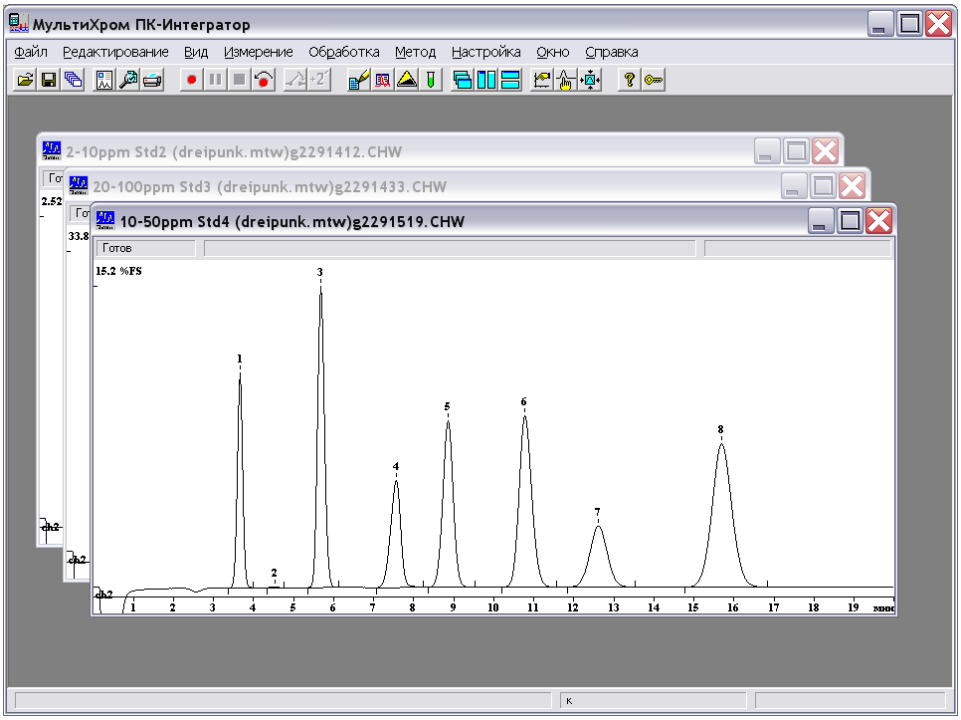
Можно произвольным образом располагать окна хроматограмм на экране, менять их размеры. Существует несколько стандартных способов расположения окон на экране, выбираемых через соответствующие пиктограммы или команды меню **Окно**.

---

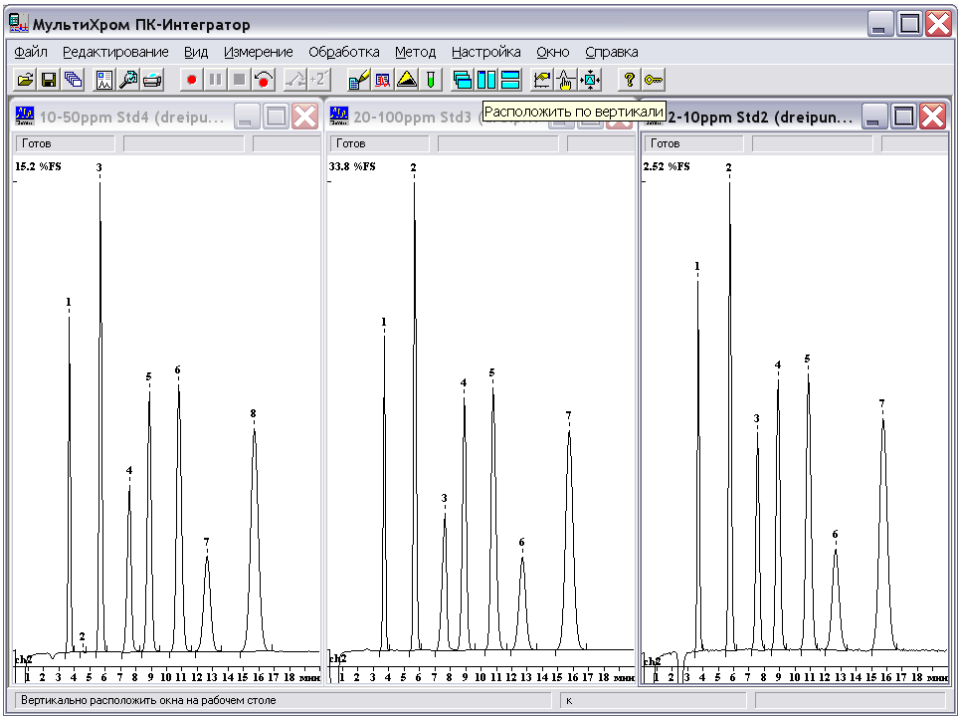
[2] MS Windows использует т.н. “виртуальную” память, размещая часть программ и данных из оперативной памяти на жестком диске. С помощью этого приема существенно увеличивается объем хранимых в памяти данных. Максимальное число открытых файлов определяется установками Windows.

[3] Далее для краткости эта операция будет именоваться просто “щелкнуть мышью”.

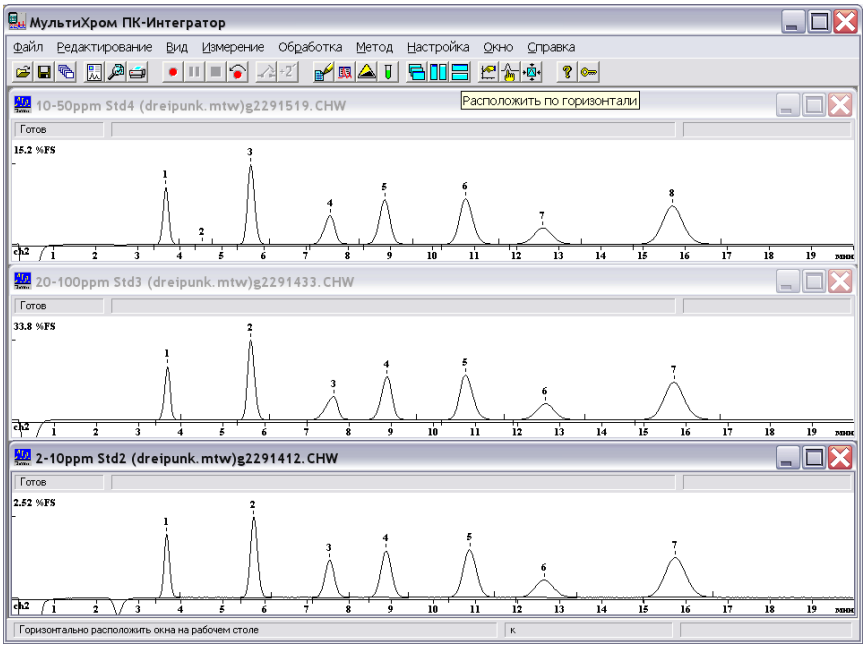
- каскадный способ расположения окон. Действует по умолчанию.



- вертикальная мозаика.



- горизонтальная мозаика.

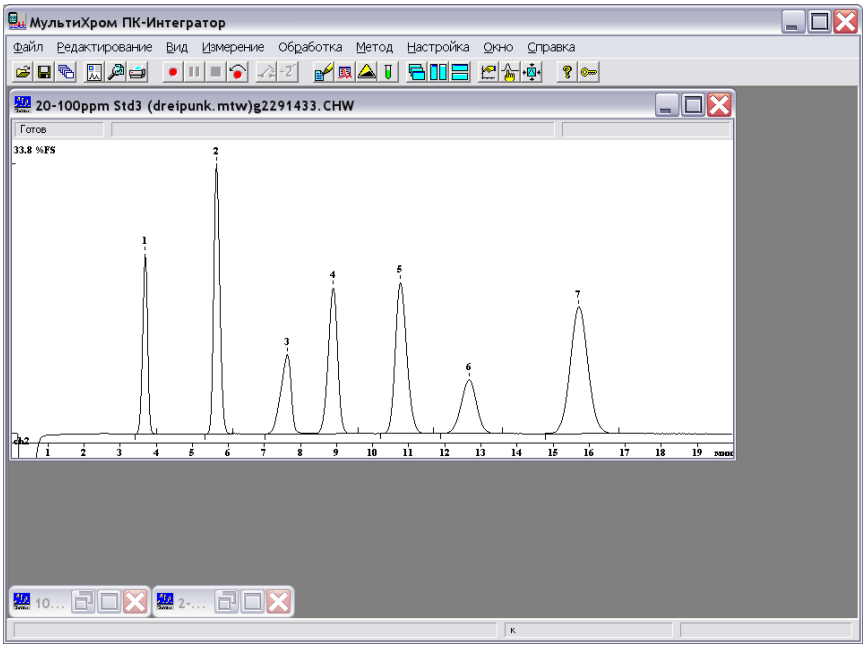


Расположение окон типа "мозаика" особенно удобно при визуальном сравнении однотипных хроматограмм.

Положение и размеры каждого окна хроматограммы могут быть изменены произвольным образом. Чтобы передвинуть окно, установите курсор мыши на заголовок окна, нажмите левую кнопку мыши и передвиньте окно на новое место. Чтобы изменить размеры окна, установите курсор мыши на его границу или угол, нажмите левую кнопку и двигайте мышь в нужную сторону.

При перезапуске программы МультиХром восстанавливаются стандартные положение и размеры окон хроматограмм.

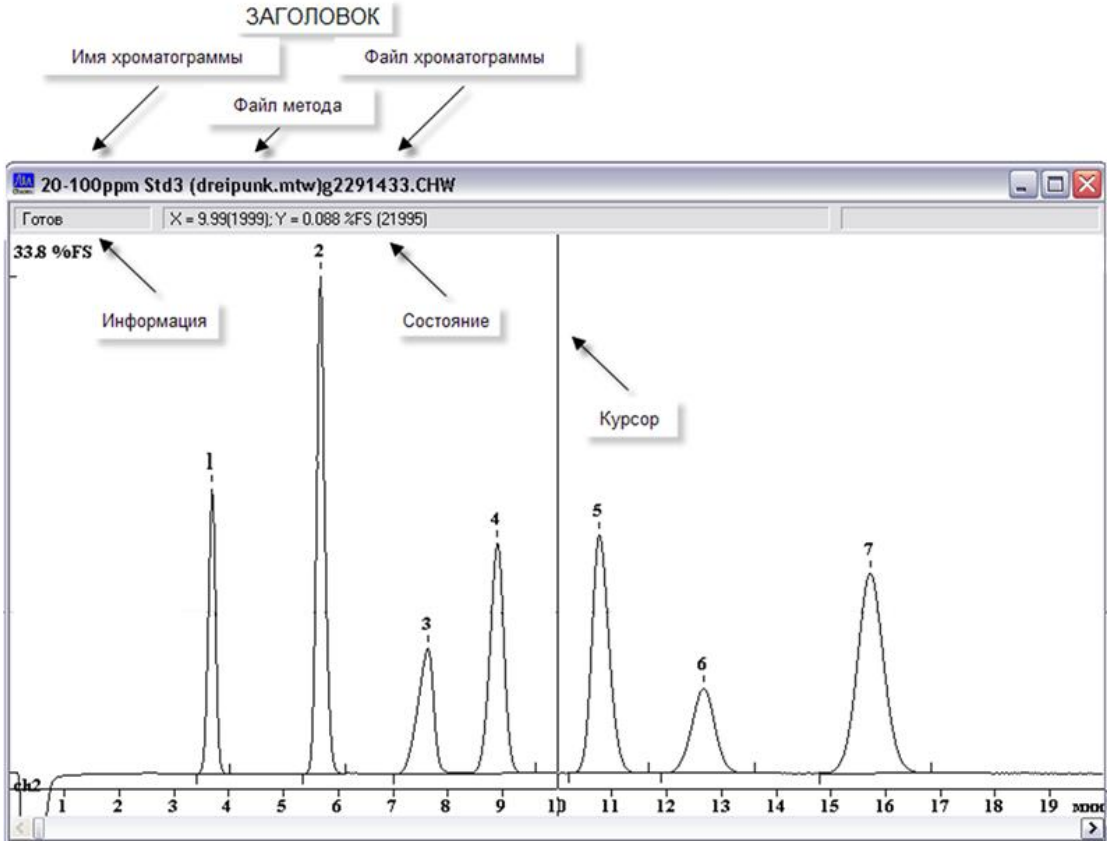
Ненужные в данный момент окна хроматограмм (в том числе и те, в которых идет прием данных) можно свернуть, щелкнув мышью по кнопке каждого окна. Свернутые окна будут расположены в нижней части *главного окна* в виде значков - пиктограмм с заголовками.



Можно развернуть любое из них, дважды щелкнув мышью по заголовку или щелкнув по кнопкам или соответствующей пиктограммы.

Пиктограммы, так же как развернутые окна, можно произвольным образом перемещать в пределах главного окна. Для того чтобы упорядочить расположение пиктограмм, меню **Окно** имеет специальную команду **Упорядочить пиктограммы**.

Окно хроматограммы



Окно хроматограммы содержит следующие элементы.

Заголовок — первая строка, в которой указывается *имя хроматограммы* (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Паспорт хроматограммы***), *имя файла метода* (в скобках), *имя файла хроматограммы* (для хроматограмм, записанных на диск) или **[номер].run*** (для незаписанных хроматограмм)[4].

Состояние (*статус процесса*) — поле второй строки, в котором указывается текущее *состояние* хроматограммы и некоторые ошибки, обнаруженные системой (см. ***Приложение 8***).

Информация — поле второй строки, в котором указываются :

При приеме хроматограммы – текущее и полное (в скобках) время измерения ([*мин*]:[*сек*]), текущая величина сигнала детектора (абсолютная величина в дискретах АЦП), а также частота сбора данных

При активном курсоре – абсолютные значения координат курсора в единицах, установленных для осей *X* и *Y* (в скобках указывается число измерений для оси *X* и число дискретов АЦП для оси *Y*).

В некоторых режимах работы в окне хроматограммы появляется нить *курсора.* Курсор можно передвигать клавишами [→] и [←], а также с помощью мыши при нажатой *правой* кнопке.

Окно также имеет стандартные кнопки *MS Windows:* в правом конце заголовка – **Системное меню**, в левом конце – **Закрыть, Развернуть** и **Свернуть**.

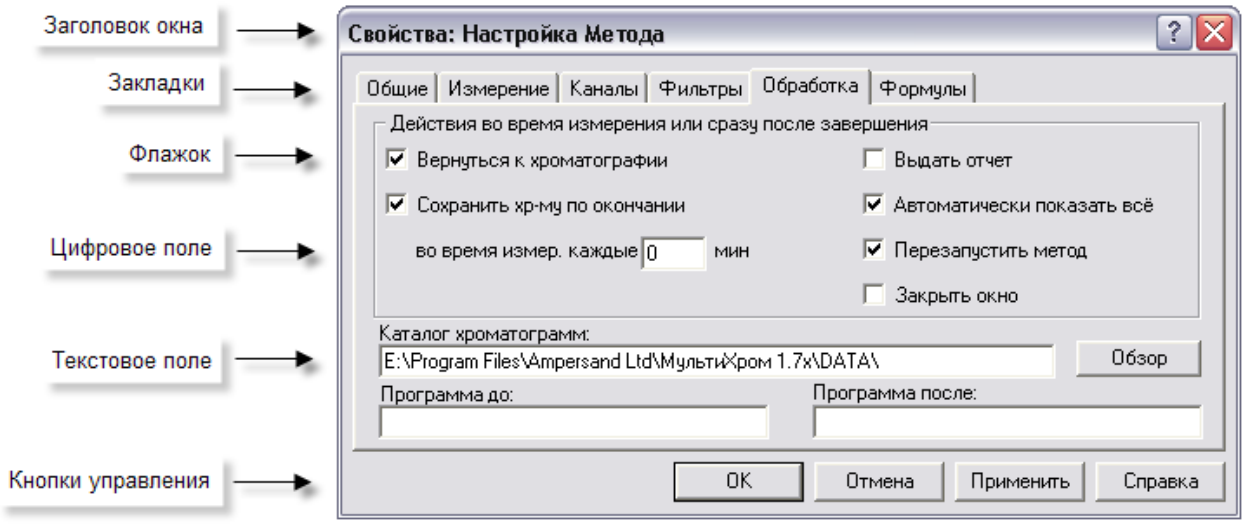
Диалоговые окна

Диалоговые окна используются для ввода и редактирования данных и параметров, они могут служить также для получения от пользователя ответов типа да/нет.

В верхней строке содержится *заголовок* (название) диалогового окна. Часто диалоговые окна имеют сложную структуру в виде набора *диалоговых листов* с закладками, как показано ниже. Можно быстро переходить с одного листа на другой, щелкая мышкой по закладкам с названиями листов.

---

[4] Номер – порядковый номер окна, открывающегося при запуске хроматограммы, а также выполнении некоторых процедур в течение текущего сеанса работы с программой.



Поля, доступные для редактирования, выделены белым цветом. Для редактирования щелкните в нужном месте мышкой или используйте [*Tab*] или [*Shift*]+[*Tab*] для перехода к следующему (предыдущему) полю. Основными элементами диалогового окна могут быть текстовые, числовые и списочные поля, флажки и переключатели.

Текстовые поля допускают ввод произвольного текста и являются описательными.

Числовые поля допускают ввод только чисел. Для принятия введенных значений не требуется нажатия клавиши [*Enter*], можно просто переходить к следующему полю.

Списочные поля, имеющие справа кнопку ▼, могут принимать только допустимые значения. Щелкните по кнопке ▼ и выберите требуемое значение из списка.

Флажки могут принимать только два значения: *включено/выключено*. Флажки отмечаются серыми или белыми квадратами ☐. Каждый такой флажок устанавливается независимо от состояния других флажков. Щелкните мышкой по значку, чтобы изменить значение на противоположное. Если флажок установлен, в квадрате появляется галочка ☑.

Переключатели ○. Переключатели позволяют выбрать только один из приведенных вариантов. Выбранный вариант отмечается значком ◉.

Диалоговое окно может содержать также несколько командных кнопок, расположенных в нижней или правой части окна. При нажатии на такую кнопку будет выполнена соответствующая операция. В диалоговом окне могут быть и кнопки, открывающие другие диалоговые окна. Наиболее часто встречаются следующие стандартные кнопки, имеющие русские или английские имена в зависимости от того, какая версия *MS Windows* установлена на компьютере:

OK — принимает все сделанные изменения и закрывает окно. То же самое происходит при нажатии клавиши [*Enter*]

Отмена (Cancel) — отменяет все сделанные изменения и закрывает окно. Можно выполнить ту же процедуру, щелкнув мышью по кнопке ☒ в правом верхнем углу окна или нажав клавишу [*Esc*].

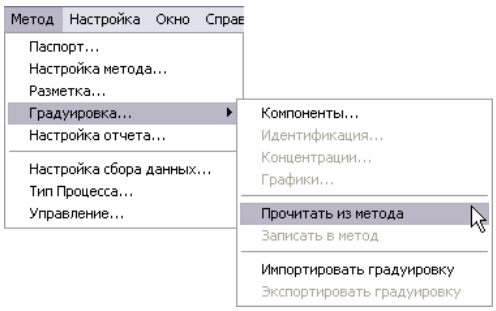
Применить (Apply) — принимает все изменения без выхода из диалогового окна.

Справка (Help) — вызов контекстно-чувствительной подсказки. Можно также нажать [*F1*].

Некоторые обозначения, принятые в настоящем Руководстве

Описание выполнения процедур

Для описания процедур, вызываемых последовательным выбором пунктов меню, например,

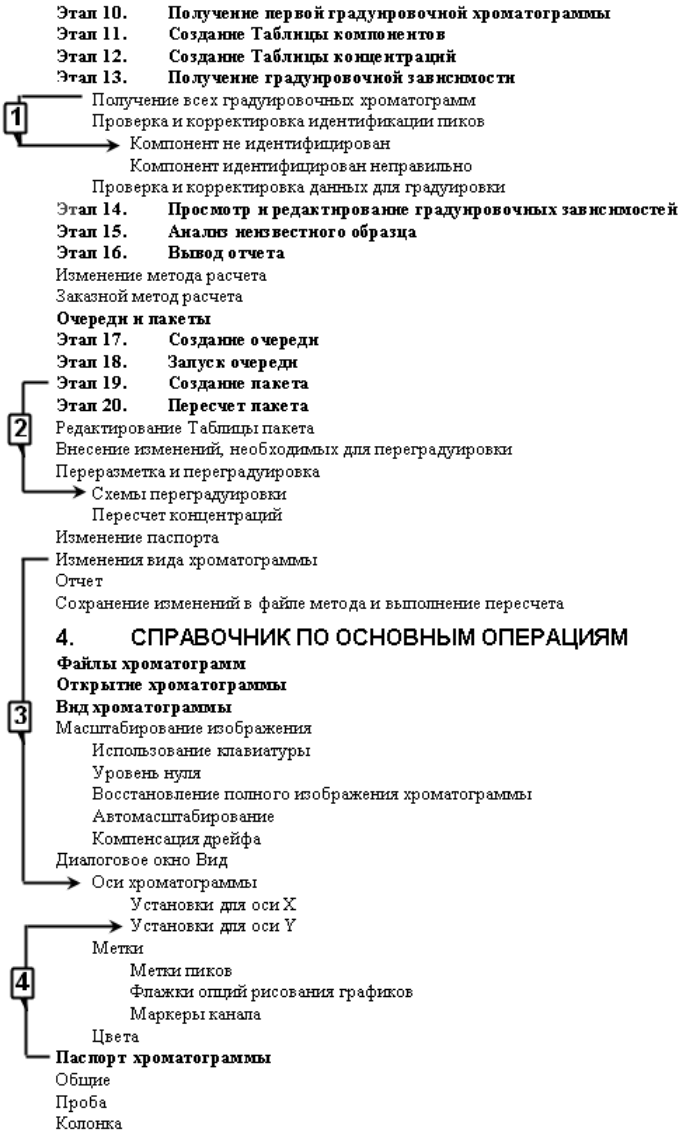


в настоящем ***Руководстве*** используется следующая формулировка:

- Для выполнения процедуры выберите команду **Метод/Градуировка/Прочитать из метода**.

Ссылки на другие разделы

Настоящее ***Руководстве*** имеет многоуровневую структуру организации текста: оно состоит из 5 частей, включающих разделы 4 уровней. Ниже даны примеры различных вариантов перекрестных ссылок. На рисунке приведен фрагмент ***Оглавления***, отражающего иерархическую структуру ***Руководства***, на котором стрелками указано, откуда и куда идет ссылка под соответствующим номером.



1. Ссылка в пределах одного раздела (***Этап 13***):

“см. раздел ***Проверка и корректировка идентификации пиков/Компонент не идентифицирован***.”

2. Ссылка между разделами в пределах одной части (разделы ***Этап 19*** и ***Этап 20***):

“см. раздел ***Этап 20/ Переразметка и переградуировка/ Схемы переградуировки*** (для разделов, именуемых ***Этап*** и ***Приложение***, указывается их номер без заголовка).”

3. Ссылка на раздел в другой части:

“см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Вид хроматограммы/Диалоговое окно вид/Оси хроматограммы***.”

4. Ссылка, включающая более 3 уровней:

“см. раздел ***Вид хроматограммы /.../ Установка для оси Y***.”

-

Хроматограммы и методы

Все данные, полученные во время одного хроматографического измерения, вместе с сопутствующей информацией по их получению и обработке (т.е. методом сбора и обработки данных, или просто *методом*), хранятся в едином файле *хроматограммы*. Имя файла создается автоматически на основе даты и времени начала сбора хроматографических данных и имеет расширение **.CHW*. Для обеспечения возможности работы с файлами данных программа имеет опцию системного меню **Хроматограмма**. Используя эту опцию, можно отыскать нужную хроматограмму по описанию, открыть ее для последующей обработки. Все это может быть проделано и во время получения других хроматограмм.

Во время сбора данных параллельно можно производить обработку старых хроматограмм, для чего следует запустить вторую копию программы *МультиХром* (при этом запуск сбора данных из программы-копии невозможен).

Методы включают в себя всю необходимую для сбора и обработки данных информацию. Метод может рассматриваться как шаблон хроматограммы: то есть как хроматограмма без данных. Методы записываются в специальные файлы с расширением **.MTW*.

Загрузив хроматограмму из дискового файла, можно получить тот же самый метод, что использовался при ее приеме и обработке. Эта особенность находится в полном соответствии с требованиями стандарта GLP, давая возможность повторной обработки данных после проведения анализа с получением идентичных результатов. При этом любая хроматограмма может использоваться в качестве метода, предоставляя возможность воспроизведения всех условий предыдущего измерения.

Метод состоит из нескольких разделов:

- Раздел **Паспорт** (Записная книжка оператора). Эта часть метода используется для редактирования текстового описания хроматографического измерения. Включает в себя общую информацию, описание пробы, колонки, элюента и комментарии.
- Раздел **Настройка метода**. Позволяет настроить процесс сбора данных, выбрать метод фильтрации шумов, задать последовательность операций, выполняющихся автоматически по завершении хроматограммы, выбрать тип формул для расчета некоторых параметров и т.д.
- Раздел **Разметка**. Этот раздел описывает параметры алгоритма разметки хроматограммы на пики (интегрирования), а также позволяет задать события интегрирования.
- Раздел **Градуировка**. В этом разделе редактируются **Таблица компонентов**, **Таблица концентраций**, а также параметры, влияющие на идентификацию и расчет концентраций компонентов.
- Раздел **Настройка отчета**. Здесь формируется вид и структура отчета.
- Раздел **Сбор данных**. Позволяет выбрать число каналов, тип АЦП, отредактировать локальную (только для данной хроматограммы) **Таблицу каналов**.

Обработка данных

Обработка данных включает в себя такие общие процедуры, как *фильтрация шумов*, автоматическое *детектирование* пиков (*интегрирование*), *идентификация пиков*, *расчет концентраций* компонентов, *выдача отчета*, а также специальные процедуры, некоторые из которых описаны дальше. Большинство операций по обработке данных проводится автоматически по окончании хроматограммы. Кроме того, обработка данных может быть проведена по просьбе пользователя, в любой момент, в том числе и без остановки сбора данных.

Как правило, принятые данные хранятся в памяти компьютера в исходном виде, без какой-либо обработки. В случае необходимости, для увеличения кажущегося отношения сигнал/шум, может быть проведена фильтрация первичных данных. В программе *МультиХром* используются три алгоритма цифровой фильтрации данных: фильтрация выбросов, фильтрация по Гауссу и фильтрация по медиане.

Процедура поиска пиков (*интегрирование*) использует величину первой производной. Она может быть настроена как с помощью *параметров интегрирования*, так и *событий интегрирования*. Если результаты разметки на пики Вас не удовлетворяют и Вам не хочется настраивать параметры, то можно воспользоваться *редактором пиков*. Эта процедура дает возможность вручную создавать или удалять пики, расщеплять или объединять их, быстро перемещать начало, конец или вершину пика, и т.д.

Идентификация пиков и градуировка основаны на **Таблице компонентов**, включающей в себя название компонентов, *времена удерживания*, *градуировочные коэффициенты*, *индексы удерживания* и так далее. **Таблица компонентов** создается на базе градуировочных измерений. Возможно выполнение как одноточечных, так и многоточечных градуировок методами *Внешнего стандарта*, *Внутреннего стандарта* или *Табличным*. **Таблица компонентов** является частью *метода* и вместе с остальными разделами метода хранится в файле хроматограммы. Таким образом, повторная обработка старых данных дает в точности тот же результат, что и в момент регистрации хроматограммы.

Процедура формирования *отчета* обеспечивает возможность модификации отчета таким образом, чтобы его форма соответствовала пожеланиям пользователя. *Отчет*, записанный в файл, может быть включен в любой текстовый процессор или импортирован в популярные электронные таблицы или базы данных. Существует возможность объединения пиков по группам для создания более информативных отчетов. Имеется функция предварительного просмотра отчета.

2. Установка и настройка

Оборудование

Требования к компьютеру

Для работы ПАК *МультиХром* необходим полностью совместимый с IBM PC системный блок, укомплектованный мышью (или другим манипулятором) и клавиатурой, и удовлетворяющий следующим требованиям:

- установленная лицензионная копия операционной системы (ОС) *Microsoft Windows 2000, XP, Server 2003, Vista* или *7*;
- процессор и оперативная память, соответствующие требованиям установленной ОС;
- монитор не ниже SVGA с соответствующей графической картой;
- привод CD-ROM/DVD-ROM[1];
- свободный COM-порт или USB-порт с USB/COM-конвертером (поставка с АЦП Е-24 или Е-18);
- свободные USB-порты (от 1 до 3 в зависимости от комплекта поставки: для АЦП А-24, для защитного ключа, для USB флеш-накопителя с ПО);
- не менее 30 Мбайт свободного места на жестком диске;
- принтер (если требуется распечатка отчетов).

> Пользователи системы *МультиХром* должны обладать элементарными навыками работы на компьютере с использованием ОС *MS Windows*.

Комплект поставки

ПО *МультиХром*

CD/DVD-ROM или USB флеш-накопитель с ПО и текстовой документацией.....1
Руководство по установке и эксплуатации (по заказу).....1
Защитное устройство-ключ (вариант поставки).....1

Аналого-цифровой преобразователь

24-битный выносной модуль (АЦП А-24, Е-24 или Е-18).....1
Сигнальные кабели.....по числу каналов
Цифровой кабель.....1
USB/COM конвертор (по заказу).....1

Установка АЦП

> Прежде чем приступать к установке АЦП и ПО, прочитайте разделы ***Установка АЦП*** и ***Установка программы*** – последовательность действий зависит от типа используемого АЦП, несоблюдения рекомендованного порядка затрудняет выполнение процедуры. Более подробную информацию об АЦП содержит ***Приложение 2.***

- Отключите компьютер и хроматографы от сети.
- Убедитесь, что все хроматографы и компьютер имеют общую шину заземления. В большинстве случаев достаточно, чтобы они имели трехполюсные вилки с заземляющим контактом и были подключены к одному щитку. Однако при повышенных требованиях к снижению уровня шумов желательно иметь отдельное заземление всех корпусов непосредственным подсоединением к одной и той же заземляющей шине (желательно в одной точке).

> Помните, что неправильное заземление оборудования может привести к выходу из строя любого из соединяемых приборов, а также ведет к увеличению уровня шумов АЦП!

- Включите компьютер.

Подключение АЦП А-24

Для установки АЦП А-24 необходим драйвер, который автоматически копируется в компьютер с поставочного диска в процессе установки АЦП.

---

[1] По желанию заказчика ПО может поставляться на USB флеш-накопителе, в этом случае привод CD-ROM/DVD-ROM не требуется. Далее в Руководстве для всех вариантов поставки будет использоваться общее наименование «поставочный диск».

- Установите на компьютере поставочный диск, но не запускайте установку ПО.
- Подключите АЦП А-24 к компьютеру, соединив USB-порт АЦП с USB-портом компьютера с помощью кабеля из комплекта поставки. При этом появится сообщение об обнаружении нового оборудования и откроется окно программы-установщика для установки драйвера АЦП А-24.
- Установите драйвер, следуя указаниям в окне программы-установщика.

Это окно, в зависимости от установленного на компьютере ПО, может иметь различный вид, поэтому в настоящем руководстве даются только следующие общие рекомендации:

- не надо обращаться к Windows Update;
- следует выбирать автоматическую установку ПО;
- если ПО по какой-то причине не установилось автоматически, указать в качестве места поиска каталог *А-24* на поставочном диске;
- если открывается окно с выбором: продолжить или прекратить установку ПО - выбирать продолжение установки.

В случае затруднений следует обратиться к специалисту по компьютерной технике.

- Подключите аналоговый вход АЦП А-24 *Вход1* к хроматографу с помощью кабеля из комплекта поставки: красный провод (жила и экран) – соответственно к клеммам «+» и «-» аналогового выхода детектора (выход *Интегратор* или *Самописец*), длинный черный – к заземлению, белый (жила и экран) – к инжектору (*Запуск интегратора* и т.п.) для синхронизации запуска хроматограммы с инжекцией. Таким же образом, если требуется, подключите *Вход 2*.

Подключение АЦП Е-24 или Е-18

Выносной модуль АЦП Е-24 подключается к COM-порту компьютера, через который производится передача данных, а также питание модуля. АЦП Е-18 также подключается к COM-порту, но для его питания используется сетевой адаптер, входящий в комплект поставки, в остальном его установка производится аналогично Е-24 (подробнее см. ***Приложение 2,*** раздел ***Выносной модуль Е-18***). Подключение АЦП к COM-порту може производиться как до так и после установки ПО.

> У компьютера может быть 2 (у более старых моделей), 1 (у современных моделей) или ни одного (у ноутбуков) COM-порта. При отсутствии доступного COM-порта подключение АЦП может производиться к USB-порт через USB/COM-конвертор.

Для подключения выносного модуля АЦП Е-24 выполните следующее.

- Поместите модуль АЦП около хроматографов и с помощью цифрового кабеля из комплекта поставки[2] подключите его к порту COM1 компьютера (рекомендуется) или к другому свободному COM-порту (в этом случае потребуется изменение конфигурации системы – см. раздел **Настройка конфигурации системы**). При отсутствии доступного COM-порта подключите АЦП к USB-порту с помощью USB/COM конвертора (см. Ошибка! Источник ссылки не найден.).

> Проверьте надежность подключения кабеля к АЦП и к COM-порту, обязательно зафиксируйте разъемы винтами. Нарушение контакта между АЦП и COM-портом – наиболее частая причина отсутствия сигнала!

- Подключите АЦП к хроматографу. Для этого возьмите из комплекта поставки аналоговый кабель требуемой длины и подсоедините его к первому аналоговому входу АЦП. Второй конец кабеля подключите к выходу Интегратор на хроматографе, подсоединив желтый провод кабеля к выходной клемме '+', а сиреневый провод - к выходной клемме '-'. Если у хроматографа выход Интегратор отсутствует, используйте выход, предназначенный для подключения самописца.
- Подсоедините провода синхронизации запуска (сдвоенный длинный провод) к клеммам хроматографа с пометкой *Запуск интегратора*, контактной паре инжектора или просто к кнопке, замыкающей эти два контакта[3].

---

[2] При необходимости может быть также использован кабель большей длины типа полный нуль-модем (см. *Примечание 1* в Разделе ***АЦП в составе хроматографического комплекса***).

[3] Провода синхронизации обычно могут подключаться к клеммам произвольно. Однако если один из контактов синхронизации на хроматографе заземлен, требуется определенная полярность синхроимпульса. В этом случае при отсутствии запуска провода синхронизации следует поменять местами.

При отсутствии контактов для подключения синхронизации можно припаять к указанным проводам микропереключатель либо производить запуск хроматограммы вручную в окне программы нажатием кнопки , производимым одновременно с вводом пробы.

- Подсоедините заземляющий (белый) провод кабеля к клемме *Земля* хроматографа.
- Если используются другие каналы АЦП, повторите описанную процедуру подсоединения сигнального кабеля для остальных каналов, не подключая заземляющие провода.

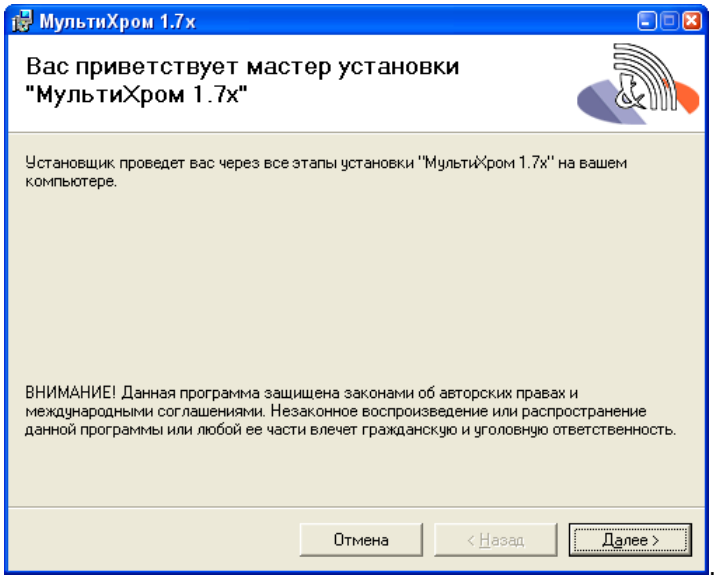
Установка программы

- Установите, если требуется, защитное устройство-ключ в USB-порт.

Для установки ПО *МультиХром* пользователю необходимо иметь права *Администратора*!

Для установки программы выполните следующее.

- Если используется АЦП Е-24 или Е-18, включите компьютер и установите поставочный диск.
- Запустите с поставочного диска файл setup.exe. При этом запустится программа-устновщик и откроется окно **МультиХром1.7x.**

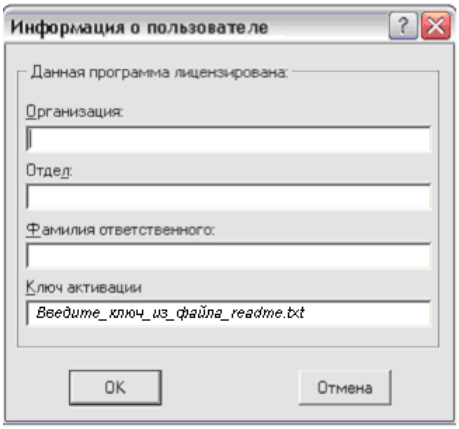


- Следуйте указаниям установщика. При выборе папки для установки программы *МультиХром* рекомендуется принять предлагаемый вариант *C:\MLCW17*.
- По окончании установки на рабочем столе будет создан ярлык .

Запуск и настройка

Запуск программы

- Щелкните мышью по созданному ярлыку на рабочем столе. Откроется главное окно программы с окном **Информация о пользователе**. В поле **Ключ активации** содержится указание: «Введите_ключ_из_файла_readme.txt»



- Выполните это указание, введя в поле **Ключ активации** значение, соответствующее номеру поставленного АЦП, из файла *readme.txt*.

- На поставочном диске откройте файл *readme.txt*.
- Скопируйте в буфер ключ активации и введите его в поле.

Этот ключ указан также в паспорте АЦП, его можно ввести в поле **Ключ активации** вручную.

- Введите информацию в остальные поля и щелкните по кнопке **OK**. Пока поле **Организация** остается незаполненным, окно **Информация о пользователе** будет появляться при каждом запуске программы. При необходимости это окно можно открыть, нажав кнопку **Регистрация** в окне **О программе...** (команда **Справка/О программе**) или комбинацией клавиш [Ctrl]+[F9].
- Если с системой работают несколько пользователей или существует опасность несанкционированного вмешательства в ее работу, ознакомьтесь с предусмотренными мерами безопасности и, при необходимости, установите систему защиты (см. **Справочник по основным операциям**, раздел **Система безопасности**).

Настройка конфигурации системы

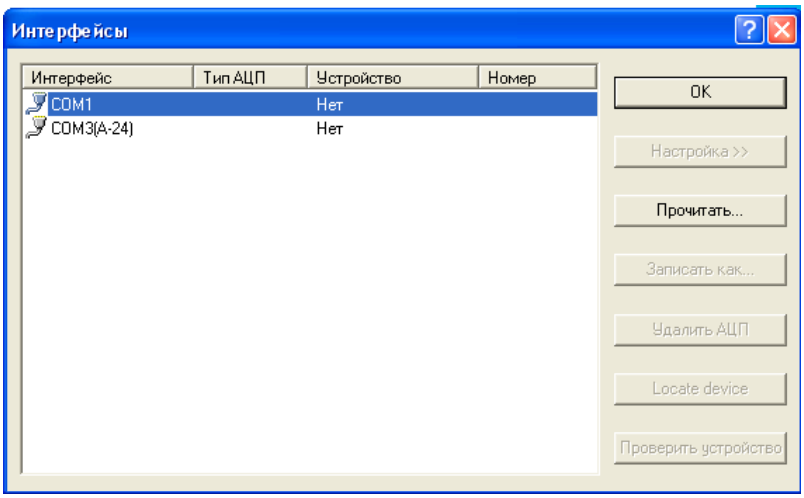
Для правильной работы системе нужно задать алгоритм функционирования АЦП и его взаимодействия с компьютером и программой. Вся необходимая для этого информация для каждого типа АЦП хранится в специальных файлах драйверов **.dew.* Для настройки конфигурации системы требуется загрузить драйвер АЦП для того COM-порта, к которому он подключен.

Выбор интерфейса

Для выбора интерфейса выполните следующее.

- Выберите пункт меню **Настройка/Интерфейсы**. Откроется окно **Интерфейсы**, в котором будет представлен список всех COM-портов, найденных программой, в том числе, созданных при подключении к USB-порту USB/COM конверторов или АЦП А-24.

> При создании виртуального COM-порта программа присваивает ему номер, который зависит от числа существует реальных COM-портов и ранее созданных виртуальных портов, в том числе, уже не существующих.



Интерфейс	COM- порт, к которому может быть подключен АЦП
Тип АЦП	тип АЦП (определяется автоматически при загрузке драйвера устройства)
Устройство	название АЦП, введенное пользователем на листе **Настройка АЦП** окна **Интерфейсы** (см. ***Приложение 1***, ***Настройка АЦП***)
Номер	номер АЦП, подключенного к порту (определяется автоматически при загрузке программы или при нажатии кнопки **Проверка**)

Подключение АЦП А-24

- Для подключения АЦП А-24 выделите строку того COM-порта, к имени которого добавлено *(А-24)*, и далее, нажав кнопку **Прочитать…** , выберите файл *A24.dew.*

Подключение АЦП Е-24 и Е-18

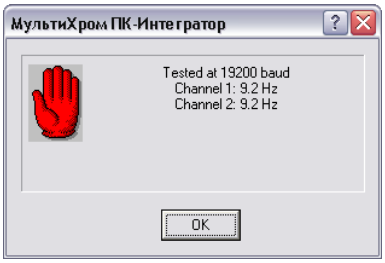
- Для подключения АЦП Е-24 или Е-18 к порту COM1 или COM2 компьютера выделите соответствующую строку в списке интерфейсов, нажмите кнопку **Прочитать…** и далее в окне **Открыть** (**Open**) выберите соответственно файл *E24.dew* или *E18.dew*, при этом в столбцах **Тип АЦП** и **Драйвер** появится информация из файла.

- Для подключения АЦП Е-24 или Е-18 с помощью USB/COM конвертора выполните следующее.
  - Установите на компьютер прилагаемый к USB/COM конвертору драйвер.
  - При открытом окне **Интерфейсы** подключите USB/COM конвертор к USB-порту, при этом в списке появится новый COM-порт.
  - Подключите АЦП к созданному порту тем же способом, как это описано для подключения к COM-портам компьютера.

> Не рекомендуется подключать USB/COM конвертор к USB-порту, когда окно **Интерфейсы** закрыто, так как в этом случае созданный порт с неизвестным заранее номером потребуется искать среди ранее существовавших COM-портов, которых может оказаться много.

Проверка правильности подключения

- Для проверки установленного АЦП выделите строку и нажмите кнопку **Проверка**. Эта процедура занимает некоторое время, в течение которого кнопка **Проверка** пребывает в неактивном состоянии, а после ее выполнения открывается окно с информацией о работе каналов



.

- Нажмите кнопку **ОК**. Откроется окно, в котором также нажмите кнопку нажмите кнопку **ОК**. В окне **Интерфейсы** в выделенной строке появится номер АЦП.
- Если вместо окна с номерами каналов появилась другая информация, выполните следующее.
  - Проверьте надежность присоединения разъемов и повторно нажмите кнопку **Проверка**.
  - Если результат не изменился, проверьте исправность COM-порта.

Дополнительные настройки

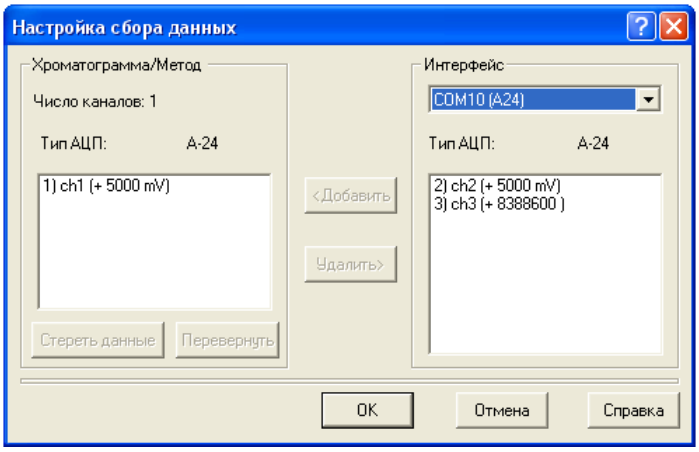
По умолчанию предполагается, что на все каналы АЦП поступают сигналы *положительной* полярности, измеряемые в *мВ*, с максимальным значением *5000 мВ* (для А-24) или 2500 *мВ* (для Е-24 и Е-18). Если какое-либо из этих условий не выполняется, а также для изменения имени канала (оно служит меткой канала на хроматограмме), следует произвести настройку параметров каналов (см. ***Приложение 1***, раздел ***Настройка АЦП/Параметры каналов***).

Внесение изменений в файлы методов

В файлах методов содержится информация об используемом интерфейсе, необходимая для обработки поступающих сигналов. При подключении АЦП к иному COM-порту, чем тот, что указан в методе, производится автоматический поиск АЦП. Если используется только один АЦП, а в окне **Интерфейсы** загружен только один драйвер и именно для того COM-порта, к которому подключен этот АЦП, никаких настроек файлов методов не требуется. При запуске приема данных будет найден единственный используемый COM-порт, а при записи хроматограммы или метода после приема данных исправление номера порта в файле будет произведено автоматически.

Если в окне **Интерфейсы** загружены драйверы для нескольких COM-портов, программа выдает сообщение об ошибке. В этом случае нужно либо удалить лишние драйверы, либо отредактировать файл метода, указав, с какого именно COM-порта должен приниматься сигнал. Для выбора COM-порта выполните следующее.

- Откройте файл изменяемого метода, выбрав команду **Файл/Открыть/Метод**.
- Выберите команду **Метод/Настройка** сбора данных. Откроется окно **Настройка сбора данных**.



- В списочном поле **Интерфейс** выберите COM-порт, к которому подключен АЦП.
- Если требуется использовать несколько каналов, переместите их в левый список кнопкой **Добавить**, затем закройте окно, нажав кнопку **OK**.
- Закройте окно метода, подтвердив сделанные изменения, и запишите файл под прежним (для единственного АЦП) или новым (для дополнительных АЦП) именем.

Возможные неисправности и их устранение

Неисправность	Возможная причина	Способы устранения
При запуске хроматограммы появляется окно **О программе МультиХром** , в котором указано, что программа работает в демонстрационном режиме	а) Защитное устройство не найдено (версия с защитой устройством-ключом). б) Номер ключа не введен или не соответствует номеру модуля АЦП (версия с защитой ключом активации). в) Не подключен выносной модуль АЦП или неисправен порт компьютера	а) Проверьте установку ключа (наличие надежного контакта) в USB порт. б) Откройте окно **Информация о пользователе** (см. раздел ***Запуск и настройка/ Запуск программы***) и введите или измените значение в поле **Ключ**. в) Подключите АЦП (проверьте надежность контакта) или устраните неисправность порта.
Хроматограмма при нажатии кнопки *Внешнего старта* не запускается.	Сигнальный провод синхронизации запуска соединяется с корпусом хроматографа. Сигналом запуска является переход провода синхронизации из разомкнутого состояния к замкнутому на землю.	Поменяйте местами провода синхронизации запуска. Если используется инжектор с позиционным датчиком, поверните его в положение *Load* (*Петля*).
Сигнал на хроматограмме в отрицательной полярности.	Перепутаны сигнальные провода.	а) Проверьте правильность присоединения: красный провод к (+), черный к (-) детектора. Поменяйте провода местами, если необходимо либо б) Выберите опцию **Обработка/Дополнительно/Перевернуть!**. и запишите метод на диск.

3. Руководство для начинающих

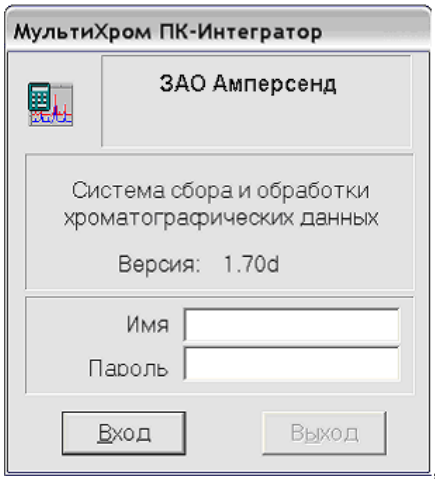
Введение

Эта глава предназначена для тех, кто впервые осваивает программное обеспечение *МультиХром*. Она включает только наиболее существенные вопросы, необходимые для работы с программой: как создать *метод* и запустить *хроматограмму*, как оптимизировать процедуру *интегрирования* (разметки) хроматограммы, провести *градуировку* системы, вывести *отчет*, создать и запустить *очередь*. При этом рассматривается минимальный набор параметров, установка которых абсолютно необходима на каждом этапе. Полное описание возможностей программного обеспечения вы найдете в следующих главах настоящего руководства.

Дополнительная информация находится также в файле подсказки. Контекстно-чувствительная справка открывается нажатием клавиши *[F1]*. Это поможет лучше понять работу системы. Можно также щелкнуть по пиктограмме ? или открыть меню **Справка** и выбрать опцию **Индекс** или нажать комбинацию клавиш *[Shift]+[F1]*. Это приведет к появлению *Содержания* подсказки.

Этап 1. Запуск программы

- Для запуска программы МультиХром дважды щелкните мышью по ярлыку “МультиХром 1.7” на рабочем столе.
- Если список пользователей не создан, откроется главное окно программы МультиХром.
- Если список пользователей создан, в главном окне откроется окно для ввода имени пользователя и пароля (см. **Справочник по основным операциям**, раздел **Система безопасности**).



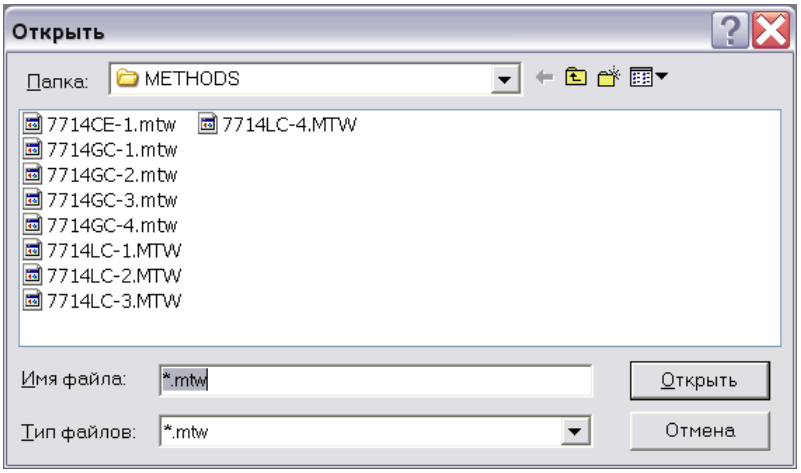
- Введите свое имя и пароль (с учетом регистра).
- Нажмите кнопку **Вход** или клавишу [*Enter*].

Этап 2. Запуск хроматограммы

Для того чтобы запустить хроматограмму, нужно открыть файл *метода*, внести в него необходимые для выполняемого анализа изменения и запустить. При этом до запуска необходимо модифицировать только те параметры, которые отвечают за сбор данных. Все остальную информацию можно ввести и позднее, во время процесса приема хроматограммы, не теряя времени при ее запуске. В дальнейшем, при повторном выполнении однотипных анализов, запускают файл метода, заранее настроенного для этого анализа, и изменяют только информацию, касающуюся анализируемого образца.

Запуск метода

- Щелкните по пиктограмме ● или выберите команду **Измерение/Открыть метод и запустить**. Откроется стандартное окно **Открыть** (**Open**), содержащее список файлов в директории Methods.



При стандартной поставке в список входят следующие файлы для одноканального приема данных:

файлы методов для жидкостной хроматографии (ЖХ) - по числу каналов АЦП с именами *7714LC-n.mtw*, где *n* – номер канала;

файлы методов для газовой хроматографии (ГХ)) - по числу каналов АЦП с именами *7714GC-n.mtw;*

файл метода для капиллярного электрофореза (КЭ) *7714CE-1.mtw* для 1 канала.

При поставке ПО *МультиХром* в составе хроматографического оборудования к ним добавляются файлы специализированных методов.

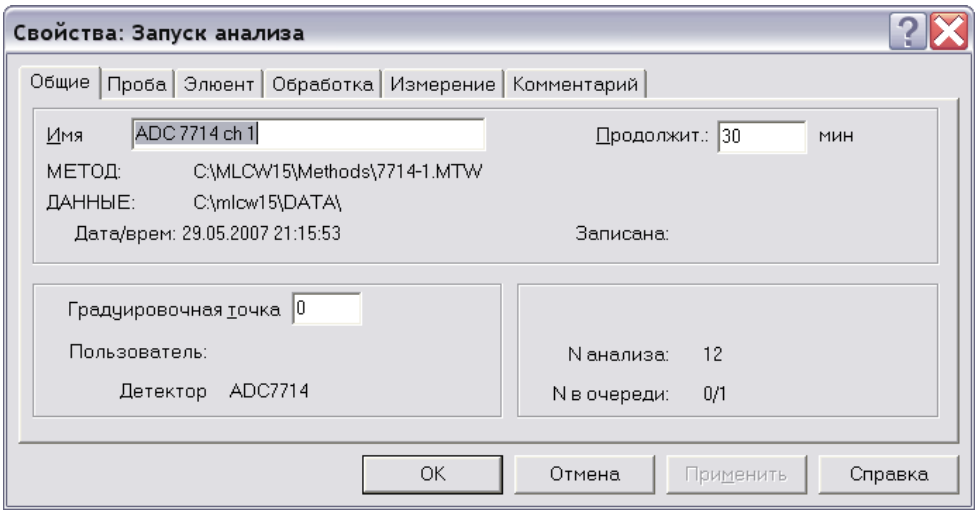
- Выберите файл метода, соответствующий типу хроматографического процесса и каналу, к которому подключен хроматограф, или специализированный метод согласно документации производителя оборудования и щелкните по кнопке **Открыть** (**Open**). При этом откроется пустое окно хроматограммы и диалоговое окно **Запуск анализа**.

Это окно содержит сокращенный набор диалоговых листов, входящих в окна **Паспорт** и **Настройка метода** (см. ***Справочник по основным операциям***), которые содержат параметры, наиболее часто изменяемые при запуске анализа.

- Заполните все необходимые поля окна **Запуск анализа**, как описано ниже.

Как правило, большинство параметров этого окна вводятся один раз, при создании метода, и не требуют редактирования при каждом его перезапуске, кроме листа **Проба**. .

Задание параметров на листе Общие



- Введите *имя* хроматограммы в одноименное поле. Это имя будет появляться в заголовке окна хроматограммы и в списке хроматограмм в окне **Открытие хроматограммы**, что облегчает поиск нужной хроматограммы.

В поле Град.точка по умолчанию введено значение 0, что соответствует аналитической (рабочей) хроматограмме. Для градуировочных хроматограмм в это поле вводится номер градуировочной точки (см. раздел Этап 12).

•Введите требуемую *продолжительность* хроматограммы в поле **Продолжит**. По истечении указанного времени сбор данных будет автоматически остановлен, после чего будет произведена их автоматическая обработка в соответствии с установками метода.

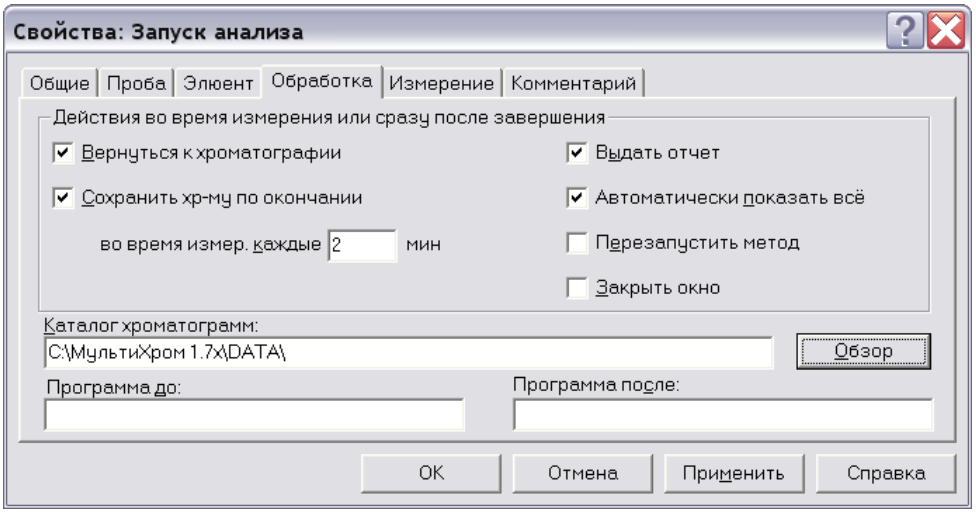
> В процессе сбора данных продолжительность хроматограммы, заданную на листе Общие, всегда можно изменить как в сторону увеличения, так и уменьшения. Кроме того, можно оперативно добавлять по 2 минуты с помощью команды Измерение/Продлить(+2 мин) или кнопки +2. В любой момент хроматограмму можно также завершить.

Диалоговый лист **Общие** входит также в диалоговые окна **Паспорт** и **Настройка метода**, (см. ***Справочник по основным операциям***, ***Паспорт хроматограммы***), последующие изменения на листе **Общие** можно производить, открыв любое из этих окон.

•Для перехода к другим листам диалогового окна щелкните мышкой по закладке с названием требуемого листа. Также для перехода к следующему/предыдущему полю текущего листа можно использовать клавиши [Tab]/[Shift]+[Tab].

Настройка параметров обработки

Диалоговый лист **Обработка** позволяет определить набор операций, выполняемых программой автоматически по окончании каждой хроматограммы.



•Установите флажок **Вернуться к хроматографии** – при значительной продолжительности хроматограммы это позволит работать с другими приложениями, не отслеживая ее окончания, так как возвращение к программе МультиХром произойдет в нужный момент автоматически.

•Установите флажок **Сохранить хр-му по окончании**. В этом случае хроматограмма будет записана на диск автоматически, сразу после окончания анализа. Если при этом в поле **во время измер. каждые xxx мин** ввести отличное от нуля значение, будет проводиться сохранение идущей хроматограммы с указанным интервалом времени. Это поможет избежать потери данных на первых порах, при освоении системы МультиХром.

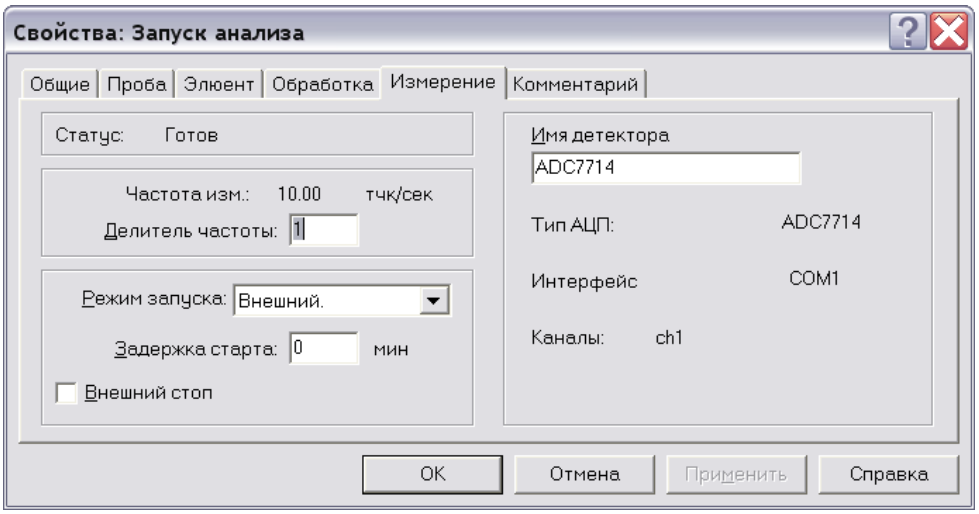
•Установите флажок **Автоматически показать все** для показа сразу всей хроматограммы после ее окончания.

•По умолчанию хроматограммы записываются в специальный каталог для хранения данных DATA. При желании сохранять хроматограммы, полученные данным методом, в другом каталоге, нажмите кнопку **Обзор** и выберите или создайте новы каталог (см. **Справочник по основным операциям**, раздел **Настройка метода/Обработка**).

•Флажки **Выдать отчет**, **Перезапустить метод**, **Закрыть окно** рекомендуется устанавливать после настройки всех параметров метода, когда уже не требуется контролировать результаты по мере их получения.

Настройка режима измерения

•Для настройки режима измерения щелкните по закладке листа **Измерение**.



- Для параметра **Делитель частоты** оставьте неизменным установленное по умолчанию значение 1. При этом обеспечивается максимальная скорость сбора данных. По окончании хроматограммы, если окажется, что на самый узкий пик приходится более 15-20 точек, можно будет увеличить этот параметр до оптимального значения с помощью специальной процедуры (см. **Этап 7**).
- В поле **Режим запуска** по умолчанию установлен режим Внешний. В этом случае запуск хроматограммы происходит при замыкании на хроматографе кнопки запуска, соединенной с данным каналом АЦП. При этой установке запуск можно также произвести, выбрав команду **Измерение/Внешний старт** или нажав кнопку . Если требуется запуск сбора данных сразу после закрытия окна **Запуск анализа** нажатием кнопки **OK** или клавиши [Enter], установите режим Ручной.
- Введите в поле **Имя детектора** информацию об используемом детекторе.
- О назначении поля Задержка старта и флажка Внешний стоп см. Справочник по основным операциям, раздел Настройка метода/Измерение.

Запуск анализа

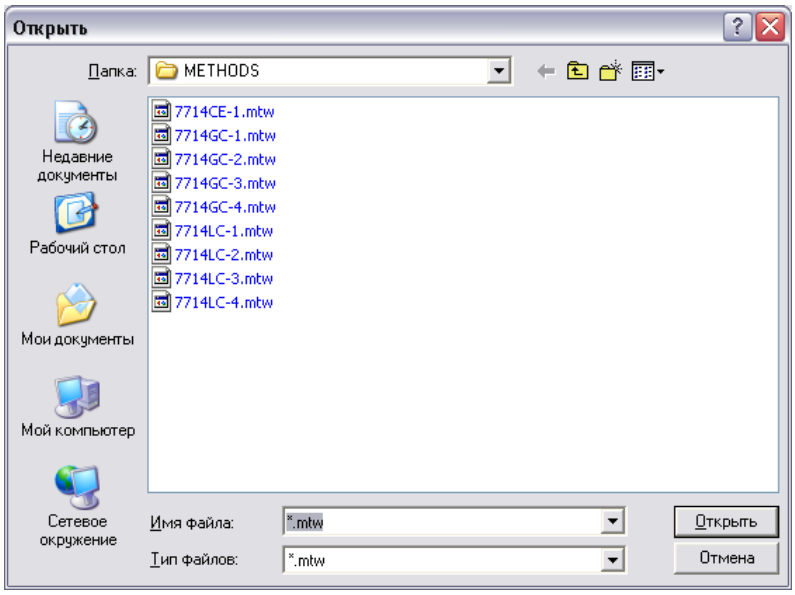
Окно **Запуск анализа** содержит также лист **Проба** и **Элюент**, на которые вводится информация, относящаяся к текущему анализу и используемая при обработке хроматограммы. При рутинных измерениях эти данные удобно вводить перед началом анализа, однако при первом знакомстве с работой программы рекомендуется не отвлекаться на эту процедуру, а выполнить позже, после запуска приема данных.

- Закройте окно **Запуск анализа** щелчком по кнопке **OK** или нажатием клавиши [Enter]. При этом будут приняты сделанные изменения, а в окне хроматограммы при неизменном фоне начинает прописываться базовая линия. Этот режим позволяет контролировать ее стабильность до запуска анализа.
- Введите пробу и начните хроматограмму, нажав кнопку внешнего запуска для задействованного канала АЦП, при этом цвет окна изменится. В файле хроматограммы, который в последствии будет записан на диск, будут сохранены только данные, полученные не ранее этого момента.

> Во время измерений существует возможность прочитать другую хроматограмму с диска и повторно ее обработать или запустить новую хроматограмму, принимаемую с другого детектора по другому каналу АЦП.

Сохранение метода

- Выберите команду **Файл/Сохранить/Метод**. Откроется стандартное окно для сохранения файла **Сохранить** (**Save as**).
- Запишите файл метода под именем LEARN. Расширение *.MTW присваивается файлам методов автоматически.



По умолчанию методы хранятся в директории *\mlcw17\methods*, но при необходимости для этого могут быть созданы другие каталоги. В дальнейшем созданный метод будет использоваться для обучения работе с системой *МультиХром*.

Этап 3. Процедуры, выполняемые во время приема хроматограммы

Заполнение Паспорта хроматограммы

Окно **Паспорт** (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Паспорт хроматограммы***) содержит лист **Проба** для ввода сведений об исследуемом образце и 2 листа для информации о хроматографическом процессе. В зависимости от типа процесса это листы называются **Колонка** и **Элюент** (для жидкостной хроматографии), **Колонка** и **Газ** (для газовой хроматографии) или **Капилляр** и **Электрофорез** (для капиллярного электрофореза).

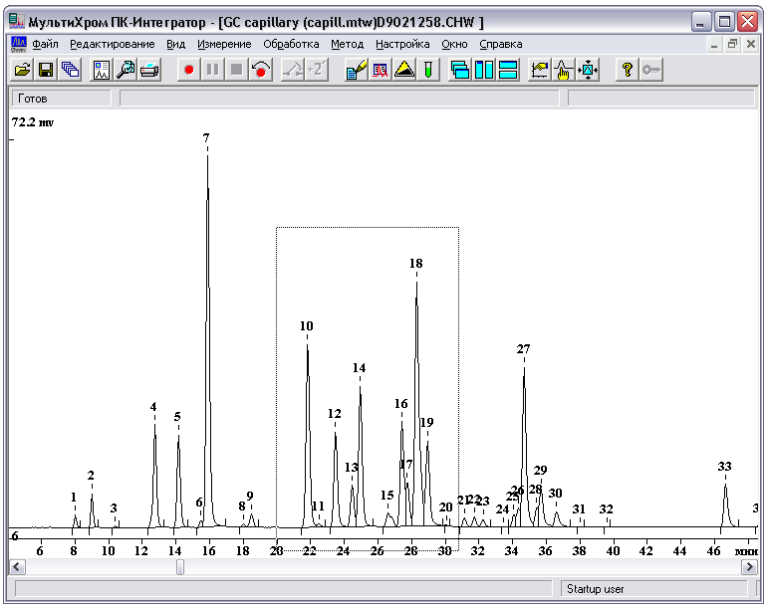
- Откройте **Паспорт** хроматограммы, выбрав команду **Метод/Паспорт** или нажав кнопку и введите требуемую информацию, ознакомившись с соответствующими разделами, входящими в **Справочник по основным операциям**.

Операции с изображением хроматограммы

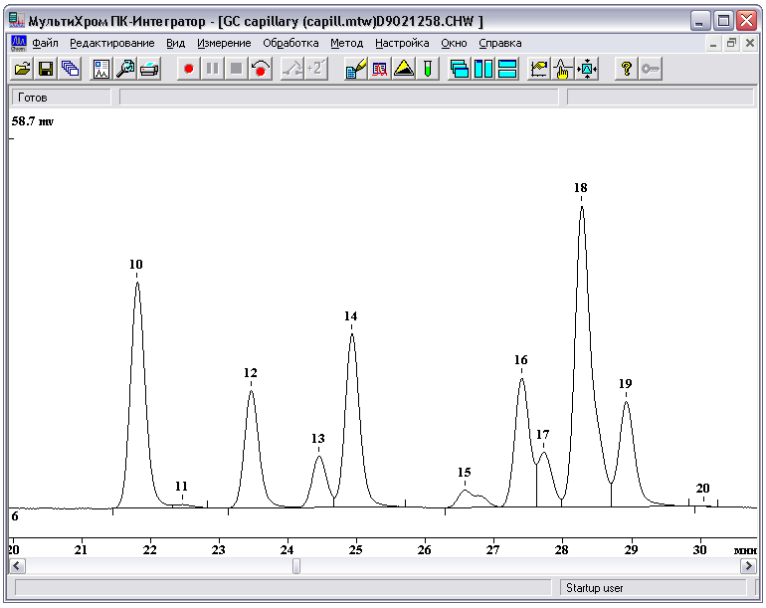
Программное обеспечение *МультиХром* представляет широкие возможности по масштабированию изображения хроматограммы. Вы можете легко менять масштаб по любой оси хроматограммы, увеличивать и сдвигать любую ее часть и т.д. с помощью мыши или клавиатуры. Те же процедуры, а также другие изменения вида хроматограммы выполняются с помощью команд специального меню **Вид**. В настоящем разделе дано описание основных операций с изображением хроматограммы, подробно представленных в главе ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Вид хроматограммы***.

> Операции по масштабированию изображения хроматограммы действуют также во время приема данных.

Использование мыши



•Для выделения интересующей прямоугольной области установите курсор мыши в один из ее углов, нажмите левую кнопку мыши и, удерживая ее, переместите мышь в противоположный угол. Выбранная прямоугольная область при этом будет выделена пунктирной рамкой. Отпустите левую кнопку. В окне появится увеличенное изображение выбранной части хроматограммы.



•Для того чтобы переместить изображение влево/вправо, используйте линейку прокрутки в нижней части окна хроматограммы или клавиши [Ctrl]+[→] и [Ctrl]+[←].

Уровень нуля и масштабирование

При представлении хроматограммы на экране одна из точек всегда принимается за нулевую. Эта точка будет расположена в окне хроматограммы на уровне, принятом за нуль базовой линии (примерно на высоте 10% окна хроматограммы), и при изменении масштаба рисунка по вертикали положение этого уровня не будет изменяться.

•Для перемещения хроматограммы вверх/вниз используйте клавиши **PgUp/PgDn**. Для возвращения прежнего уровня нуля нажмите клавиши [Z] или [0] (об особенностях использования этих клавиш см. главу **Справочник по основным операциям**, раздел **Вид хроматограммы/.../Уровень нуля**) .

•Для сжатия/растяжения графика вдоль оси Y используйте клавиши [↓] и [↑]. Для восстановления полно размера графика вдоль оси Y нажмите клавиши [Ctrl]+[End].

•Для сжатия/растяжения графика вдоль оси X используйте клавиши [→] и [←]. Для восстановления полно размера графика вдоль оси X нажмите клавиши [Ctrl]+[Home].

•Для того чтобы восстановить полный размер хроматограммы одновременно по обеим осям, используйте одну из следующих процедур.

- Щелкните по пиктограмме .
- Нажмите клавиши [Alt]+[V].
- Установите курсор в окне хроматограммы и дважды щелкните *левой* кнопкой мыши.

Все процедуры, восстанавливающие размеры хроматограммы, дублируются также командами меню **Вид** главного окна и контекстного меню **Вид**, которое открывается щелчком *правой* кнопки мыши, если курсор установлен в окне хроматограммы.

Автомасштабирование

Идущая хроматограмма может отображаться в режиме *автомасштабирования*. Данная функция включается выбором опции **Вид**/**Автомасштабирование** и при приеме хроматограммы действует следующим образом:

если последняя точка хроматограммы выходит за пределы окна
вправо, то окно сдвигается на пол-экрана вправо;
вниз, то проводится процедура установки нуля;
вверх, то масштаб по вертикали уменьшается вдвое.

Таким образом, в режиме *автомасштабирования* последняя точка идущей хроматограммы будет всегда находиться в пределах окна. Выключив эту опцию, можно изменять масштаб любой части идущей хроматограммы.

> Чтобы увеличить чувствительность во время сбора данных, нажмите клавишу [Z] или [0] для установки уровня нуля, а затем требуемое количество раз клавишу [↑].

Этап 4. Окончание хроматограммы

Программа автоматически закончит прием данных, когда истечет отведенное для хроматограммы время. Кроме того, можно закончить хроматограмму в любой момент, выбрав пункт **Измерение/Завершить хроматограмму** или щелкнув по пиктограмме .

По окончании сбора данных программа *МультиХром* автоматически производит ряд действий. Некоторые операции, такие как вычисление шума и разметка на пики, идентификация и расчет концентраций компонентов, выполняются по завершении хроматограммы всегда. Другие операции, такие как сглаживание, запись хроматограмм в дисковый файл, выдача отчета, запуск программы пользователя, выполняются факультативно, по выбору оператора (меню **Метод /Настройка метода**). Эти же операции можно выполнить вручную, с помощью соответствующих разделов меню **Обработка**.

•Запишите хроматограмму на диск, выбрав пункт меню **Файл/Сохранить/Хроматограмма** или щелкнув по пиктограмме .

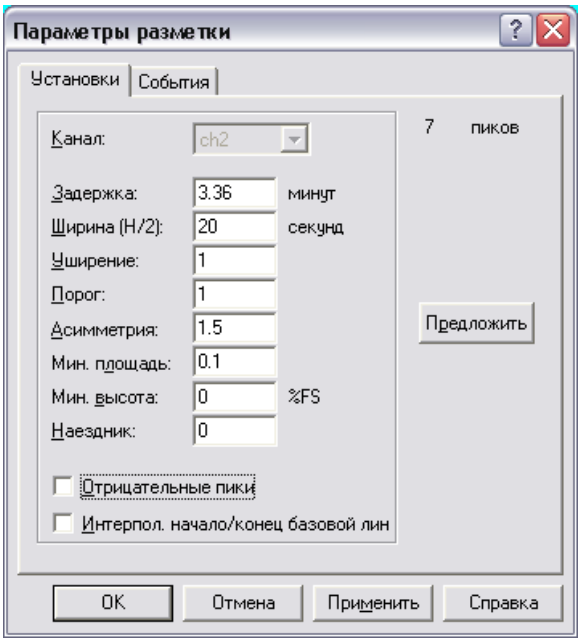
Вам не нужно ломать голову, придумывая новое имя для файла каждой хроматограммы: оно будет составлено автоматически на базе даты и времени начала анализа. Файл хроматограммы будет записан в каталоге, предназначенном в текущем *методе* для записи хроматограмм (**Метод /Настройка метода/Обработка**).

> При изучении программы МультиХром мы советуем после каждого шага записывать хроматограмму и метод на диск. После приобретения некоторого опыта можно будет опустить промежуточные сохранения и записывать на диск только окончательный вариант обработки.

Этап 5. Настройка алгоритма интегрирования

В программе *МультиХром* используется алгоритм детектирования пиков по изменению первой производной (наклона) хроматографической кривой. Считается, что величина наклона свидетельствует о начале хроматографического пика, когда она превышает величину **Порог**, заданную в окне **Параметры разметки**, и о конце пика, когда становится меньше порога. Величины порога для определения начала и конца пика могут отличаться, их отношение устанавливается параметром **Асимметрия**. Для оптимизации разметки пользователь также может задать ряд других параметров, для некоторых из которых предусмотрена специальная процедура подбора.

•Если полученная по окончании хроматограммы разметка требует корректировки, выберите команду **Метод**/**Разметка** или щелкните мышью по пиктограмме . Откроется окно **Параметры разметки**.



- Введите величину задержки, которая исключит начальный участок хроматограммы, на котором нет пиков определяемых компонентов, и нажмите кнопку **Применить (Apply)**.
- Нажните кнопку **Предложить**. Программа введет в поля **Ширина(H/2)** (ширина на половине высоты пика в начале хроматограммы) и **Уширение** (отношение ширин пиков в конце и начале хроматограммы) величины, которые в первом приближении соответствуют линейной аппроксимации наблюдаемого изменения ширины пиков на всем протяжении хроматограммы[1]. Нажмите кнопку **Применить**.
- Повторите комбинацию **Предложить/Применить** 2-3 раза для оптимизации параметров. В этом случае часто удается получить приемлемые результаты разметки, даже если исходные параметры были далеки от оптимальных.
- Если удовлетворительного результата получить не удалось, попробуйте изменять параметр **Порог** до тех пор, пока картина не улучшится. Разумная величина параметра **Порог** находится в пределах от 0.5 до 5. Меньшее значение данного параметра обеспечивает большее количество найденных пиков. Лучшим значением может оказаться 2 или 3 (значение по умолчанию).

> Для того чтобы увидеть результаты переразметки, не выходя из диалогового окна, щелкните по кнопке **Применить (Apply)**.

- Если программа размечает мелкие нежелательные пики, установите параметр **Мин. высота** чуть больше, чем высота этих пиков. Для этой цели можно также использовать и параметр **Мин. площадь**, однако в этом случае труднее оценить требуемое значение параметра.

> Если настройка набора параметров интегрирования не приводит к приемлемой разметке хроматограммы, могут применяться два подхода для достижения желаемого результата: *редактор пиков* (изменение разметки вручную) и *события интегрирования*. Настройка алгоритма разметки с использованием событий интегрирования имеет смысл, если ожидается ряд хроматограмм со сходными, повторяющимися особенностями базовой линии. В противном случае используется ручная коррекция.
>
> Следует иметь в виду, что никакой алгоритм не может в ряде случаев (сложная форма базовой линии, плохое разделение хроматографических пиков, малые пики-наездники, высокий уровень шумов, и т.д.) гарантировать корректную разметку на пики, поскольку само понятие "пик" во многом субъективно и зависит от конкретно решаемой задачи. В таких случаях правильность получаемых результатов во многом зависит от опыта оператора, и даже при визуально хорошей разметке могут появляться дополнительные погрешности.

- Для сохранения оптимизированных параметров разметки для будущих анализов перезапишите метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**.

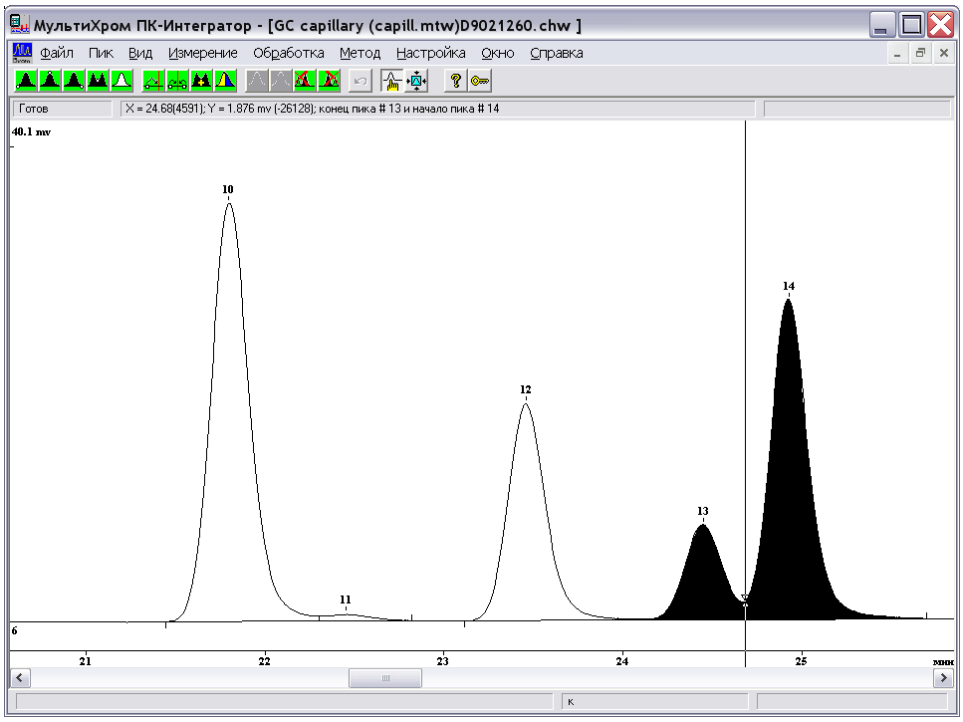
---

[1] Если величина задержки не задана, программа устанавливает среднее по всем пикам значение полуширины и уширение, равное 1.

•Для сохранения полученной разметки перепишите хроматограмму, выбрав команду **Файл/ Сохранить/Хроматограмма** или щелкнув по пиктограмме .

Этап 6. Редактор пиков

Наряду с автоматическим детектором пиков в программу *МультиХром* входит также ручной *редактор пиков*, позволяющий создать или уничтожить пик, переместить начало, конец или вершину пика, а также выполнять другие действия по редактированию разметки хроматограммы в соответствии с пожеланиями пользователя.



•Включите режим редактора пиков, щелкнув мышкой по пиктограмме (Ручная разметка). При этом пиктографическое меню будет замещено пиктограммами редактора пиков, а на экране появится *курсор*. Курсор можно двигать клавишами управления курсором (стрелками), но более удобно перетаскивать курсор при нажатой правой кнопке мышки.

•Для перемещения начала, вершины или конца существующего пика, а также границы между двумя пиками выполните следующее.

- Поместите курсор в пределах пика, который Вы будете редактировать. В зависимости от того, какую *особую точку* пика необходимо выбрать, щелкните по одной из пиктограмм: - выбрать начало пика, - выбрать вершину пика, - выбрать конец пика, - выбрать долину между пиками. При этом пик (или два соседних пика), которым эта точка принадлежит, будут выделены черным цветом, а в верхней части окна хроматограммы будет напечатано сообщение о типе выбранной точки.
- Поместите курсор на место, в которое будет перенесена выбранная особая точка. Щелкните по пиктограмме (перенести выбранную точку).

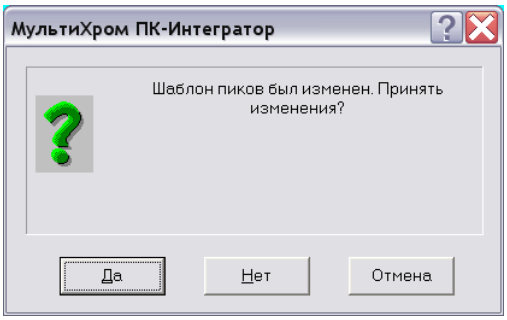
•Если необходимо уничтожить выделенный (закрашенный черным) пик, щелкните по пиктограмме (удалить пик) или нажмите клавишу [Del].

•Для создания нового пика установите курсор в позиции, где должна располагаться вершина пика и щелкните по пиктограмме (вставить пик) или нажмите клавишу [Ins].

•Для того чтобы убрать выделение, щелкните по пиктограмме (снять выделение пика).

Все вышеописанные процедуры дублируются командами меню **Пик**.

•При выходе из редактора пиков можно сохранить либо отменить все сделанные изменения, или остаться в редакторе, выбрав, соответственно, кнопки **Да**, **Нет** или **Отмена**.



Основные функции редактора пиков:

Мышь	Клавиатура	Выполняемое действие
	[Ctrl]+[Enter]	выбрать ближайшую точку пика;
	[←]+[Ctrl]+[Enter]	выбрать левую точку пика (слившиеся пики);
	[→]+[Ctrl]+[Enter]	выбрать правую точку пика (слившиеся пики);
		выбрать начало пика, ближайшее к положению курсора
		выбрать вершину пика, ближайшую к положению курсора
		выбрать конец пика, ближайший к положению курсора
		выбрать долину между соседними пиками
		убрать выделение
	[-]	установить новое положение выбранной точки пика
	[*]	слить пики
	[+]	стереть границу соседних пиков (объединение пиков)
	[/]	расщепить (разделить) пик на два
	[Ins]	создать новый пик с вершиной на месте курсора
	[Del]	стереть выбранный пик
		стереть все пики слева от выбранной точки
		стереть все пики справа от выбранной точки
		отменяет последнюю операцию

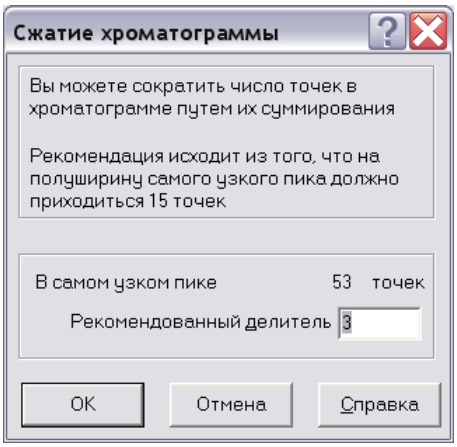
Более подробно с работой *редактора пиков* можно ознакомиться в главе ***Справочник по основным операциям***.

Этап 7. Настройка частоты сбора данных

Как правило, АЦП обеспечивает сбор данных с частотой не менее10 Гц (10 точек в секунду)[2]. Для многих приложений эта частота избыточна, поэтому можно уменьшить число точек в хроматограмме. Если произвести эту процедуру так, чтобы полуширина (ширина на половине высоты) самого узкого пика была не менее 15 точек, это не повлияет на точность определения параметров пиков. Более того, выполняемое при этом суммирование значений нескольких соседних точек увеличит отношение сигнал/шум, являющееся важной метрологической характеристикой хроматографического процесса (см. ***Приложение 11***).

•Для сжатия хроматограммы выберите опцию меню **Обработка /Дополнительно.../Сжатие**.

[2] При необходимости ее можно увеличить до 50 Гц.



- Если величина в поле **Рекомендуемый делитель** превышает 1, нажмите кнопку **ОК** и затем сохраните метод. Обратите внимание на то, что в окне **Настройка метода/Измерение** параметр **Делитель частоты** изменился: старая величина умножилась на коэффициент сжатия.
- Перепишите метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**, а также хроматограмму, выбрав команду **Файл/Сохранить/Хроматограмма** или пиктограмма).

Этап 8. Обработка данных, не требующая градуировки

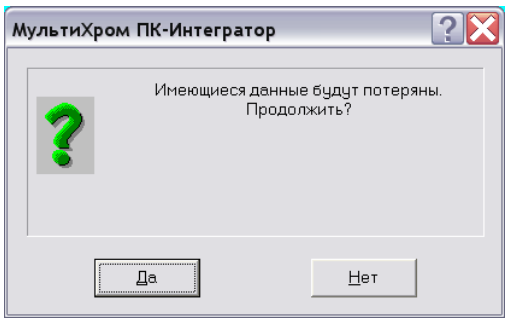
Для некоторых задач не требуется измерения абсолютных концентраций, и в случае одинаковой для всех компонентов чувствительности детекторов их относительное содержание может быть определено простым измерением площадей или высот хроматографических пиков без проведения процедуры градуировки. Для такого случая в ПО *МультиХром* предусмотрен специальный метод расчета, называемый *Нормировка отклика*. Он позволяет определить абсолютные значения высот и площадей пиков, а также их относительные величины в % от суммы высот или площадей всех пиков. Для того чтобы произвести такой расчет, выполните следующее.

- Если требуется определить относительные величины пиков, удалите все посторонние пики.
  - Для удаления мелких пиков подберите значения параметров **Мин.высота** и **Мин.площадь** в окне **Параметры разметки** (см. раздел ***Этап 5***).
  - Для пиков, которые невозможно удалить подбором параметров разметки, воспользуйтесь *Редактором пиков* (см. раздел ***Этап 6***).
- Выберите команду **Обработка/Выдать отчет** или нажмите кнопку . Откроется окно **Опции отчета**.
- В поле **Метод расчета** выберите значение Нормировка отклика и далее получите отчет, руководствуясь указаниями раздела **Этап 16**.

Этап 9. Перезапуск метода

Любой метод или хроматограмму, открытые в текущем окне, можно запустить повторно. Для открытия метода используйте команду Файл/Открыть/Метод), для открытия хроматограммы – команду или Файл/Открыть/Хроматограмма или пиктограмму .

- Для перезапуска метода выберите пункт **Измерение/Перезапустить** или щелкните по пиктограмме . При перезапуске из окна хроматограммы программа сотрет данные, имеющиеся в текущем окне. Если в окне имеются несохраненные данные, будет выдан запрос:



- Щелкните по кнопке **Да**, если данные не нужны. При нажатии кнопки **Нет** перезапуск будет отменен, и можно будет записать хроматограмму на диск.
- Внесите требуемые изменения[3], как описано в разделе ***Этап 2***, введите пробу и запустите хроматограмму.

Введение в процедуру градуировки

Градуировка[4] - это процедура, необходимая для проведения качественного и количественного анализа смеси неизвестного состава. Процедура градуировки имеет две цели.

- Определить *времена удерживания* (объемы удерживания, индексы удерживания) анализируемых компонентов. Эта информация требуется для последующей идентификации компонентов в смеси неизвестного состава (качественный анализ смеси).
- Определить *градуировочные коэффициенты*, связывающие отклик детектора (высоту или площадь пика) и концентрацию каждого компонента в пробе. Эта информация нужна для расчета концентраций компонентов в анализируемой пробе (количественный анализ).

Как правило, обе цели достигаются одновременно, путем получения градуировочных хроматограмм для смесей с известным качественным и количественным составом.

В программе *МультиХром* результаты градуировки хранятся как в *методе*, так и в каждой *хроматограмме*.

Все операции, связанные с количественным и качественным определением компонентов анализируемой смеси, сгруппированы в подменю **Градуировка** из меню **Метод**. Каждый пункт подменю активизирует свое диалоговое окно:

Компоненты	создание или редактирование **Таблицы компонентов**.
Идентификация	установка общих параметров идентификации компонентов
Концентрации	создание или редактирование **Таблицы концентраций** (включает градуировочные данные по всем компонентам)
Графики	просмотр и редактирование градуировочных зависимостей для каждого компонента.
Записать в метод	запись результатов градуировки из текущей хроматограммы в текущий метод
Прочитать из метода	читает результаты градуировки из текущего метода в текущую хроматограмму
Импорт	считывает **Таблицу компонентов** и параметры градуировки из файла, указанного пользователем.
Экспорт	записывает **Таблицу компонентов** и параметры градуировки в файл.

В ряде случаев, например, при определении процентного состава смеси, можно пользоваться справочными или расчетными значениями относительных коэффициентов отклика детектора. При этом нет необходимости в полной градуировке системы: проводится только градуировка по временам и/или индексам удерживания компонентов и используется упрощенный табличный способ задания градуировочных коэффициентов (см. Справочник по основным операциям, раздел Количественный и качественный анализ/Табличный метод градуировки).

Этап 10. Получение первой градуировочной хроматограммы

Описанная ниже последовательность получения градуировочных хроматограмм не является единственно возможной, однако она рекомендуется на начальном этапе освоения программы как наиболее простая и удобная.

---

[3] Если изменения касаются не только продолжительности анализа, объема пробы и паспорта хроматограммы, но и параметров интегрирования, градуировочных данных, метода расчета и формы отчета, *метод* должен быть модифицирован *до перезапуска*. В этом случае он обычно записывается на диск под новым именем.

[4] Иногда вместо термина “градуировка” в литературе, больше зарубежной или переводной, используется эквивалентный термин “калибровка”.

Первая полученная градуировочная хроматограмма используется для создания **Таблицы компонентов** и заполнения **Таблицы концентраций**

- Запустите метод LEARN.MTW, созданный и записанный на диск ранее, щелкнув по пиктограмме или выбрав пункт меню **Измерение/Открыть метод и запустить**.
- Заполните диалоговое окно **Запуск анализа**, как описано в разделе ***Этап 2***. Обратите внимание на правильное заполнение полей **Объем** и **Разведение**, так как эти величины используются в расчетах.
- Щелкните по кнопке **ОК**. Начнется измерение базовой линии.
- Приготовьте градуировочный образец. Желательно, чтобы он содержал все компоненты, которые предстоит определять.
- Введите пробу заданного объема и нажмите кнопку внешнего запуска.
- По окончании хроматограммы проверьте результаты разметки на пики. Если необходимо, внесите нужные исправления, как описано в разделах ***Этап 5*** и ***Этап 6***.
- Сохраните хроматограмму (команда **Файл/Сохранить/Хроматограмма** или пиктограмма).

Этап 11. Создание Таблицы компонентов

Таблица компонентов содержит данные по анализируемым компонентам: имена, ожидаемые времена удерживания, индексы удерживания, градуировочные коэффициенты, а также другую информацию, необходимую для идентификации компонентов и количественных расчетов.

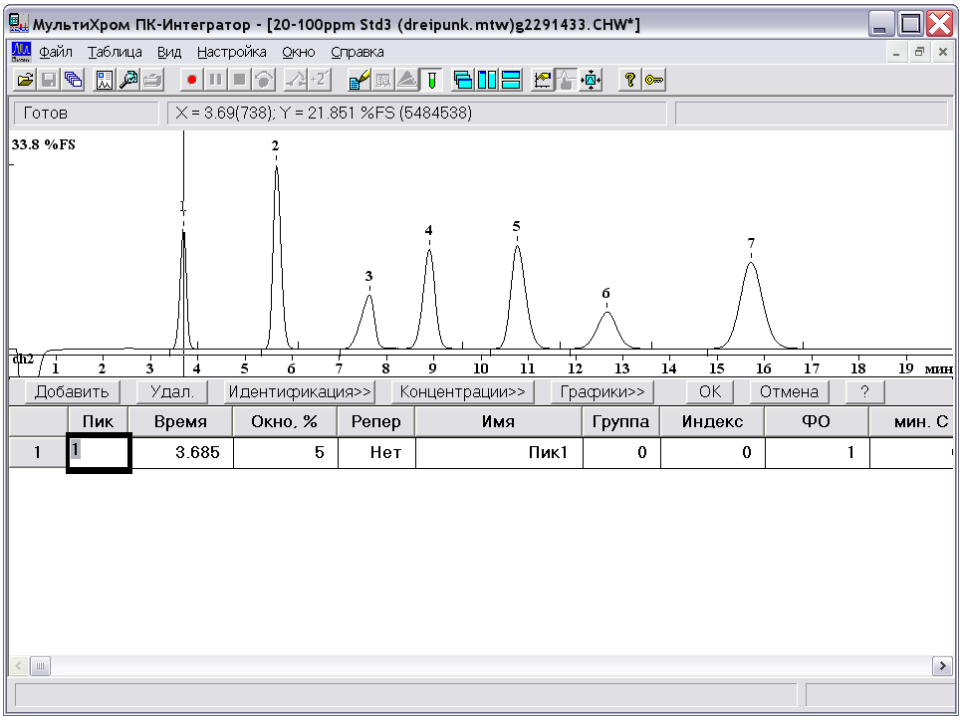
Создание **Таблицы компонентов** является необходимым шагом как для проведения идентификации компонентов, так и для последующего получения градуировки и расчета концентраций компонентов в пробе.

Таблица компонентов создается на базе *градуировочной хроматограммы* (хроматограммы смеси известного состава, с известной, как правило, концентрацией компонентов[5]).

- В окне полученной ранее хроматограммы щелкните по пиктограмме или выберите пункт **Метод/Градуировка/Компоненты**. В нижней половине окна появится пустая **Таблица компонентов**. Описание столбцов таблицы дано в главе **Справочник по основным операциям**, раздел ***Количественный и качественный анализ*/Процедура градуировки: первый этап/Таблица компонентов**.
- Щелкните по кнопке **Добавить**. Курсор автоматически установится на первом пике, при этом в таблице появится первая строка, содержащая в столбце Время значение времени удерживания этого пика, а в столбце Имя - Пик 1.
- Повторите процедуру для всех идентифицированных пиков.

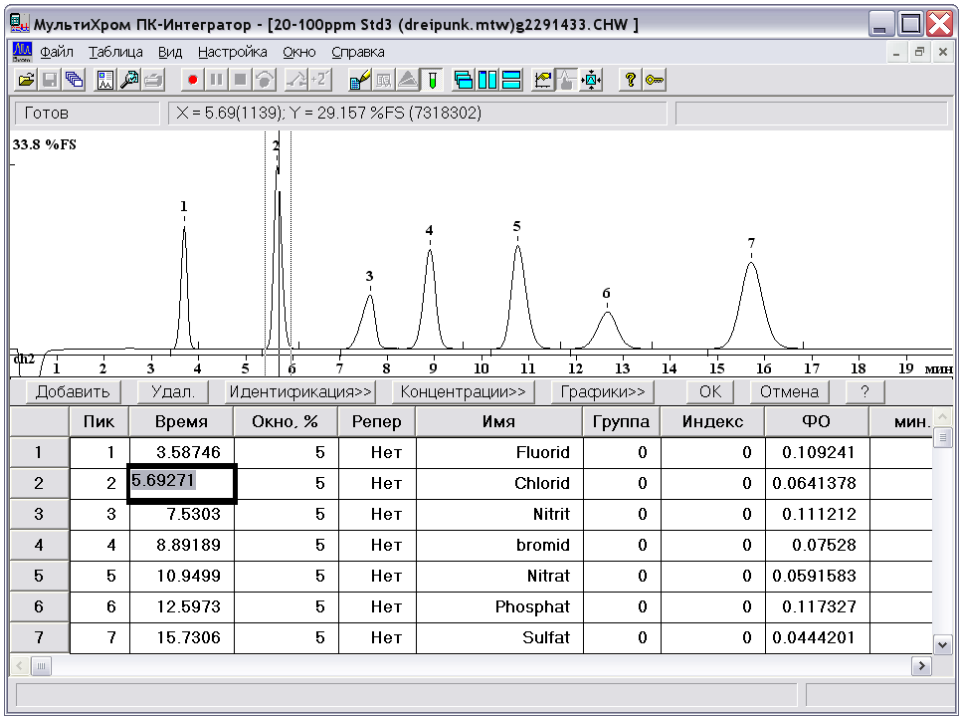
> Если в первой градуировочной смеси содержатся не все компоненты, не рекомендуется заранее вводить для них вручную дополнительные строки – их следует добавлять позже при получении хроматограмм смесей, содержащих эти компоненты.

[5] Таблицу концентраций можно создать, зная только качественный состав смеси, что достаточно для проведения качественного анализа.



•В столбце *Имя* введите имена компонентов.

•Если на хроматограмме есть пики, не относящиеся ни к одному из компонентов, удалите соответствующие строки, используя кнопку **Удал.** или оставьте в них пустой ячейку Имя - в этом случае эти строки будут автоматически удалены при закрытии **Таблицы компонентов**.



•Если вы хотите, чтобы все неидентифицированные пики учитывались при вычислении процентного содержания идентифицированных компонентов, введите т.н. *универсальный компонент* с временем удерживания, равным 0. Его концентрация будет рассчитываться по сумме площадей всех неидентифицированных пиков. Для добавления универсального компонента выполните следующее.

- Нажмите кнопку **Добавить** после того, как созданы строки для всех пиков хроматограммы. В таблице добавится первая строка с временем удерживания *0* и с пустой ячейкой *Имя*.
- Введите какое-либо имя для универсального компонента, иначе эта строка будет автоматически удалена при закрытии **Таблицы компонентов**.

> Для некоторых задач не требуется измерять абсолютную концентрацию компонентов, а достаточно определить только их относительное содержание в смеси. Эту процедуру можно выполнить без проведения градуировки, если есть литературные или ранее измеренные значения ФО для всех компонентов. В этом случае их необходимо ввести в столбец ФО Таблицы компонентов и далее можно использовать метод расчета, называемый Внутренняя нормализация (см. раздел Этап 16).

- Закройте **Таблицу компонентов**, щелкнув по кнопке **ОК**. Можно отказаться от внесенных изменений, щелкнув по кнопке **Отмена**.
- Запишите метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**, а также хроматограмму, выбрав команду **Файл /Сохранить/Хроматограмма** или щелкнув по пиктограмме .

Полученный таким способом *метод* позволяет проводить *идентификацию* компонентов и *расчет концентраций*, используя простейший метод - *Нормировку отклика*, в котором мерой количества компонента служит площадь или высота хроматографического пика.

Кнопки **Идентификация**, **Концентрации** и **Графики** позволяют быстро переходить к следующим этапам градуировки, не выходя из **Таблицы компонентов**.

Этап 12. Создание Таблицы концентраций

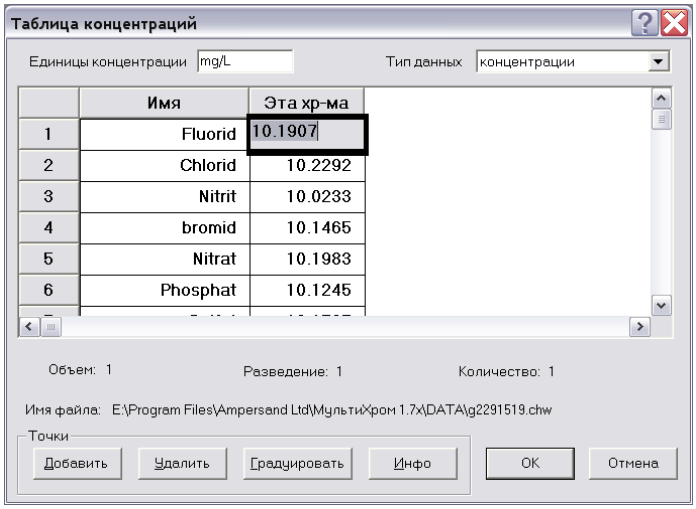
Таблица концентраций предназначена для ввода информации о количестве градуировочных смесей и концентрациях содержащихся в них компонентов. Создание **Таблицы концентраций** является первым шагом при проведении градуировки.

> Таблица концентраций может создаваться только на основе ранее созданной Таблицы компонентов!

Таблица концентраций состоит из трех листов. Первый лист содержит вводимые пользователем данные о номинальных значениях концентраций всех компонентов во всех градуировочных смесях, а также расчетные значения концентраций для текущей хроматограммы. Второй и третий листы автоматически заполняются значениями площадей и высот пиков для всех компонентов: первоначально только для текущей хроматограммы, далее для градуировочных смесей – по мере получения соответствующих хроматограмм.

Для создания **Таблицы концентраций** выполните следующее.

- После создания **Таблицы компонентов** нажмите кнопку **Концентрации>>**. Если окно **Таблицы компонентов** было закрыто, можно также, не открывая это окно, выбрать команду **Метод/ Градуировка/Концентрации**. Откроется окно **Таблица концентраций.**



Первоначально **Таблица концентраций** содержит только два столбца:

Имя — Имя компонента. В **Таблицу концентраций** автоматически включаются все компоненты, заданные в **Таблице компонентов**. Не редактируется.

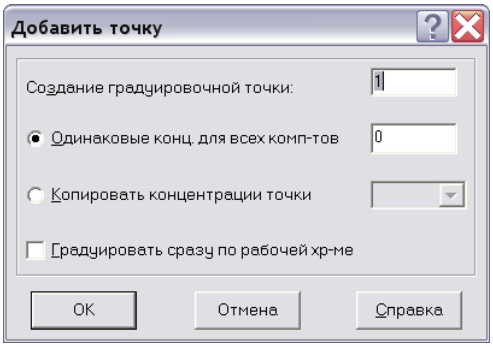
Эта хр-ма — До проведения градуировки - площадь пика компонента на текущей хроматограмме, после градуировки – его концентрация[6]. Не редактируется.

[6] В зависимости от выбранного *метода расчета* может быть другая величина (подробнее см. раздел ***Справочник по основным операциям/Количественный и качественный анализ/Таблица концентраций***).

Рекомендуется в первой же градуировочной хроматограмме ввести данные для всех градуировочных смесей. Это необходимо для наиболее простого способа построения градуировочной зависимости с автоматическим включением новых данных по мере получения градуировочных хроматограмм.

Для каждой градуировочной смеси в **Таблицу концентраций** добавляется столбец, соответствующий *градуировочной точке.*

•Щелкните мышью по кнопке **Добавить**. Откроется окно **Добавить точку**.

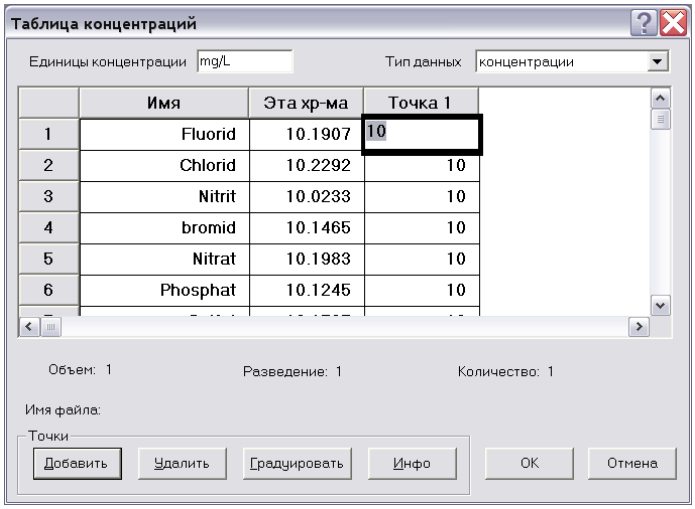


•Если концентрации всех компонентов одинаковы, введите значение в поле **Одинаковые конц. для всех комп-тов**.

В Таблице концентраций все концентрации указываются для исходной смеси, без учета разведения!

•Если полученная хроматограмма соответствует первой градуировочной точке, установите флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме**.

•Нажмите кнопку **ОК**. Окно закроется, а в **Таблице концентраций** справа добавится столбец Точка 1. Если был установлен флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме** внизу окна в строке **Объем**, **Разведение**, **Количество** появятся значения, введенные в соответствующие поля в паспорте хроматограммы на листе **Проба**, а в строке **Имя файла** появится имя текущей хроматограммы.



•Если концентрации компонентов различны, введите их в столбец Точка 1.

•Перейдите к созданию следующей градуировочной точки, щелкнув по кнопке **Добавить**. Вновь откроется окно **Добавить точку**.

•Выполните, если требуется, одно из следующих действий.

- Если все градуировочные смеси готовятся разведением одной исходной, установите флажок **Копировать концентрации точки**. При этом станет активным соответствующее поле с установленным по умолчанию значением *1*, которое в данном случае не требует редактирования.
- Если концентрации всех компонентов одинаковы, введите значение в поле **Одинаковые конц. для всех комп-тов**.

•Для градуировочной точки, соответствующей данной хроматограмме, установите флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме**. Эту процедуру можно также выполнить после заполнения всей **Таблицы концентраций**, нажав кнопку **Градуировать** и выбрав номер точки в специальном окне.

- Нажмите кнопку **ОК**. Окно закроется, а в **Таблице концентраций** добавится еще один столбец.. При этом в строке **Объем**, **Разведение**, **Количество** для все точек, кроме той, для которой установлен флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме**, появляются значения 1, После получения соответствующей градуировочной хроматограммы они заменятся на данные из одноименных полей ее паспорта, а ниже появится имя хроматограммы. Сводную информацию об этих параметрах для всех хроматограмм можно получить, нажав кнопку **Инфо**.
- Отредактируйте, если требуется, значения концентраций для всех компонентов.
- Добавьте описанным способом требуемое количество столбцов в соответствии с планируемым количеством градуировочных точек.
- Если требуется удалить какой-либо столбец, нажмите кнопку **Удалить**.
- Отредактируйте, если требуется, значение в поле **Единицы** в соответствии с используемыми единицами концентрации (по умолчанию устанавливается mg/L). Это поле является справочным, и при изменении единиц никакие пересчеты не производятся.
- Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Таблица концентраций** закроется.
- Если **Таблица концентраций** открывалась из окна **Таблицы компонентов**, закройте это окно, нажав кнопку **ОК**.

> Отдельные градуировочные процедуры выполняются по командам меню Метод/Градуировка или нажатием кнопок в окне Таблицы компонентов. В последнем случае для сохранения сделанных изменений следует обязательно нажать кнопку ОК не только в окне выполняемой процедуры, но и в окне Таблицы компонентов!

- Запишите хроматограмму и метод, последовательно выбрав команды **Файл/Сохранить/ Хроматограмма** и **Файл/Сохранить/Метод**.

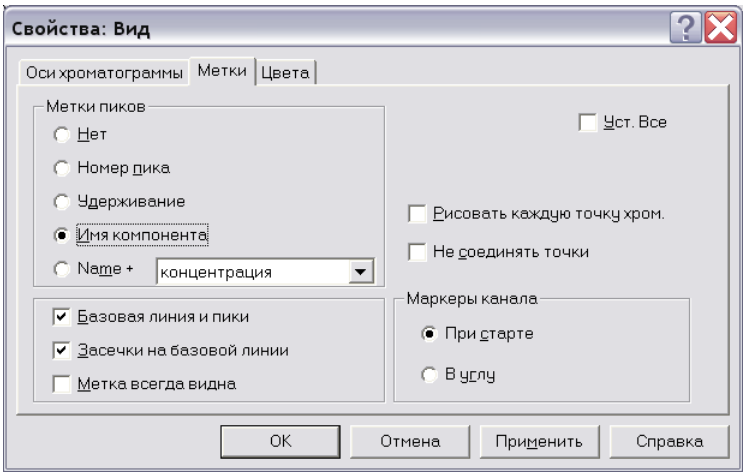
Этап 13. Получение градуировочной зависимости

С методической точки зрения процесс градуировки представляет собой получение градуировочных хроматограмм, занесение данных (высот и площадей пиков) в **Таблицу концентраций** и построение зависимости концентрации от отклика детектора (высоты или площади пика). Все эти процедуры по мере получения градуировочных хроматограмм выполняются автоматически, при этом при выполнении расчетов используются данные и параметры, которые вводятся в разных окнах и в разное время, поэтому процесс градуировки требует от оператора повышенного внимания, в первую очередь, на подготовительных стадиях.

> Необходимо строго следить за соответствием концентраций, указанных в Таблице концентраций для какой-либо точки, фактическим концентрациям в пробе, используемой для получения градуировочной хроматограммы.
>
> Во избежание ошибочного отнесения полученных данных к другой точке рекомендуется получать градуировочные хроматограммы в том же порядке, в каком в Таблице концентраций расположены соответствующие им точки.
>
> Если градуировочные смеси готовятся разведением одной исходной смеси, необходимо обращать особое внимание на правильность значения, установленного в Паспорте в поле Разведение!

Получение всех градуировочных хроматограмм

- Перед тем, как приступить к получению остальных градуировочных хроматограмм, для удобства визуального контроля укажите на первой хроматограмме для пика каждого компонента его название, выполнив следующее.
  - Выберите команду **Вид**/**Вид** или нажмите кнопку . Откроется окно **Вид**.
  - Щелкните мышкой по заголовку закладки **Метки**.



- Щелкните мышкой по переключателю **Имя компонента**.
- Нажмите кнопку **OK**. Окно **Вид** закроется. На хроматограмме над пиками компонентов вместо номеров появятся их названия из **Таблицы компонентов**.

Далее при получении каждой градуировочной хроматограммы выполните следующее.

- Не закрывая предыдущую градуировочную хроматограмму, перезапустите метод, нажав кнопку . При таком способе запуска следующей хроматограммы в методе будет сохраняться вся ранее имевшаяся информация, и, таким образом, новая градуировочная точка будет автоматически добавляться ко всем предыдущим.
- В открывшемся окне **Запуск анализа** на первом листе **Общие** в поле **Градуировочная точка** введите номер очередной точки. Рекомендуется также в поле **Имя** внести изменения, отражающие факт отнесения хроматограммы к определенной градуировочной точке - это облегчит в дальнейшем поиск нужной хроматограммы в окне **Открытие хроматограммы**.
- Нажмите кнопку **OK** и получите хроматограмму градуировочной смеси. Во время приема данных внесите необходимые изменения в информацию о введенной пробе в окне **Паспорт/Проба** (поля **Инфо 1**, **Инфо 2**, **Объем**, **Разведение**, **Количество**).

> Получение всей совокупности градуировочных хроматограмм последовательным перезапуском предыдущей хроматограммы при наличии заранее заполненной Таблицы концентраций и вводе в Паспорт хроматограммы номера градуировочной точки гарантирует автоматическое использование всех вновь получаемых данных для построения обновляемой градуировочной зависимости.

Проверка и корректировка идентификации пиков

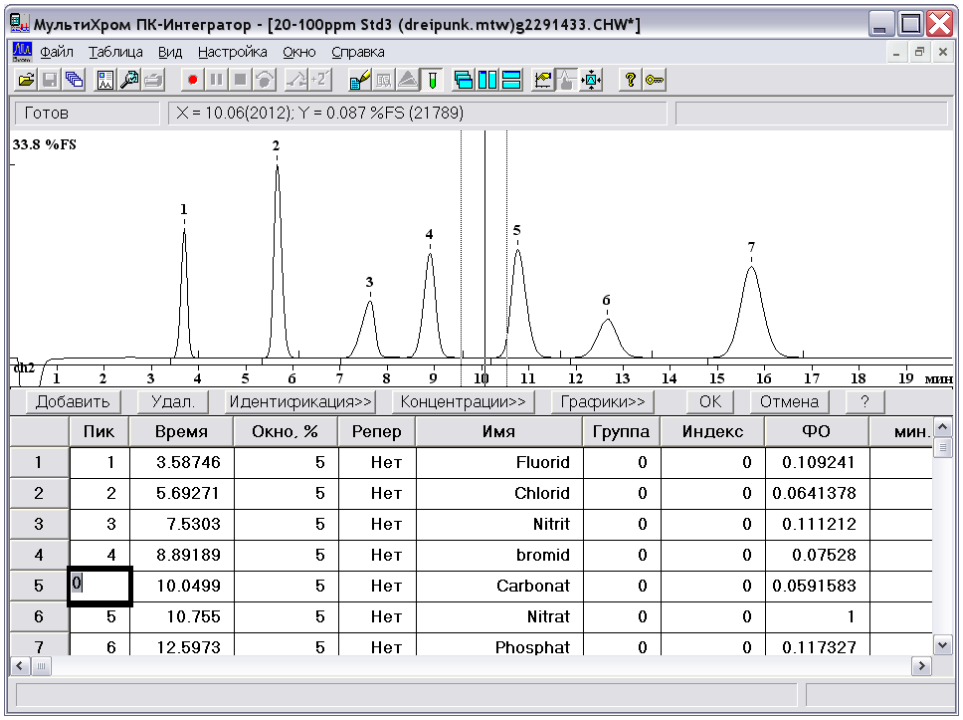
По окончании приема данных убедитесь, что все ожидаемые пики на хроматограмме присутствуют и идентифицированы правильно. Неправильная идентификация может выражаться в следующем:

- компонент не идентифицирован, то есть, соответствующий пик на хроматограмме есть, но он обозначен только номером, без имени компонента;
- компонент идентифицирован неправильно, то есть, его имя указано для “чужого” пика.

Компонент не идентифицирован

В случае, если компонент не идентифицирован, выполните следующее.

- Откройте **Таблицу компонентов**. Для всех идентифицированных компонентов в столбце Пик указаны номера пиков на хроматограмме, а для неидентифицированных – 0.



	Пик	Время	Окно, %	Репер	Имя	Группа	Индекс	ФО	мин.
1	1	3.58746	5	Нет	Fluorid	0	0	0.109241	
2	2	5.69271	5	Нет	Chlorid	0	0	0.0641378	
3	3	7.5303	5	Нет	Nitrit	0	0	0.111212	
4	4	8.89189	5	Нет	bromid	0	0	0.07528	
5	0	10.0499	5	Нет	Carbonat	0	0	0.0591583	
6	5	10.755	5	Нет	Nitrat	0	0	1	
7	6	12.5973	5	Нет	Phosphat	0	0	0.117327	

- Выделите строку с неидентифицированным компонентом. Курсор на хроматограмме установится на место, соответствующее времени удерживания из **Таблицы компонентов**, а две пунктирные линии укажут размер окна, в пределах которого ищется пик компонента, причем вершина ближайшего пика окажется вне этого окна.

> В Таблице компонентов всегда сохраняются времена удерживания, введенные при ее создании и являющиеся эталонными для идентифицируемых компонентов, независимо от значений в текущей хроматограмме. Времена в Таблице компонентов не рекомендуется изменять вручную. При необходимости их корректировки используется специальная процедура (см. Справочник по основным операциям, раздел Количественный и качественный анализ/.../ Общая настройка алгоритма идентификации компонентов).

- Перемещаясь по **Таблице компонентов**, просмотрите положение курсора для всех пиков.
- Если окажется, что для всех компонентов времена удерживания в текущей хроматограмме изменились одинаковым образом, то есть, либо все увеличились, либо все уменьшились, выполните следующее.
  - Выберите 1-3 компонента, относительно которых известно, что они будут присутствовать во всех исследуемых смесях и достаточно надежно идентифицируются (нет близко расположенных пиков других компонентов). Назначьте их *реперами*, то есть, в столбце *Репер* вместо установленного по умолчанию значения *Нет* установите *Да* и подтвердите изменение, щелкнув по любому другому полю. При этом произойдет автоматическое обновление идентификации с учетом поправки, вычисленной по изменению времен удерживания реперных пиков (при этом значения в столбце *Время* останутся неизменными).
  - Если после выполнения процедуры остался какой-либо неидентифицированный компонент, увеличьте для него значение в столбце *Окно %* таким образом, чтобы вершина пика оказалась в пределах окна, после чего закройте **Таблицу компонентов**, нажав кнопку **OK**.

Рекомендуется также увеличить размер окна для реперных пиков, установив в столбце *Окно %* значения, соответствующие вероятному изменению времен удерживания (в %), которое требуется скорректировать (обычно 10-15%). При этом эти величины не должны превышать расстояния до ближайших пиков, которые могут быть ошибочно приняты за реперные.

- Если нет определенной тенденции изменения времени удерживания для всех компонентов, выбор реперов не даст необходимого эффекта. В этом случае для неидентифицированных компонентов следует просто увеличить окно для идентификации, как это описано выше.

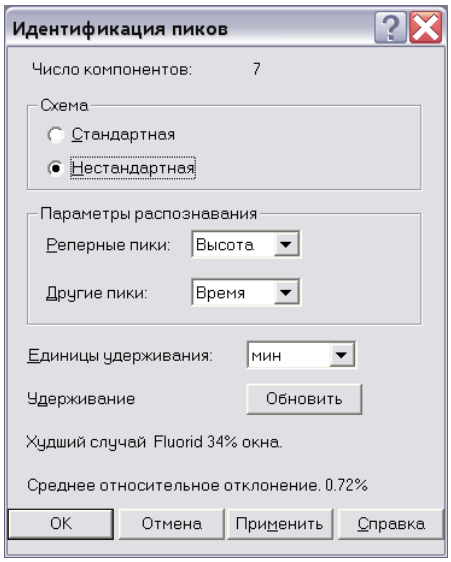
Компонент идентифицирован неправильно

Неправильная идентификация компонента может произойти в том случае, если какой-либо посторонний пик имеет время удерживания, более близкое к величине, заданной в **Таблице компонентов**, чем пик самого компонента.

- Если возможно, введите поправку времени удерживания с помощью реперных пиков, как это описано в предыдущем разделе.

Далее рассматривается случай, когда ложный пик мал по сравнению с пиком компонента.

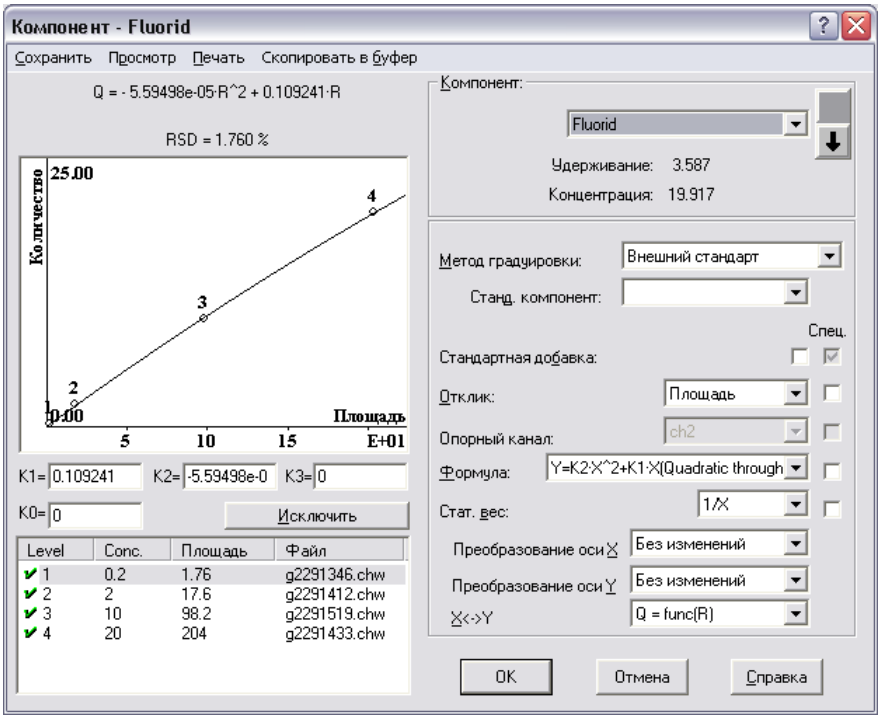
- Если ложный пик меньше всех пиков компонентов, откройте окно **Параметры разметки** и увеличьте необходимым образом параметр **Мин. Высота**.
- Если ложный пик невозможно убрать изменением разметки, выполните следующее.
  - Откройте окно **Идентификация пиков**, нажав в **Таблице компонентов** кнопку **Идентификация** или выбрав команду **Метод/Градуировка /Идентификация**.



  - В области **Схема** установите флажок **Нестандартная**, а в области **Параметры распознавания** в списочном поле **Другие пики** выберите значение **Высота**.
  - Закройте окно, нажав кнопку **ОК**. Произведенные изменения приведут к тому, что в пределах окна идентификации будет выбираться не ближайший, а наибольший пик.

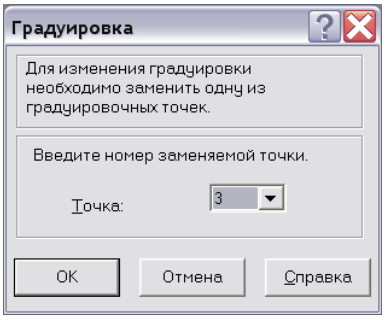
Проверка и корректировка данных для градуировки

- Откройте окно **Компонент** выбрав пункт меню **Метод/Градуировка…/Графики,** щелкнув по пиктограмме или нажав кнопку **Графики** в **Таблице компонентов**. В окне представлена градуировочная зависимость для текущего компонента, название которого указано в заголовке окна, а также в списочном поле **Компонент**. Подробное описание процедур, выполняемых в этом окне, дано в главе ***Справочник по основным операциям***, раздел **Количественный и качественный анализ/Построение градуировочных зависимостей/Окно Компонент**.
- Убедитесь, что в поле **Метод градуировки установлено значение** Внешний стандарт.
- Если в качестве меры величины пика используется не площадь, а высота, выберите в списочном поле **Отклик** значение Высота.



- Убедитесь, что в списке градуировочных точек, расположенном в левом нижнем углу окна, присутствует текущая хроматограмма. Для каждой точки в этом списке представлен: номер градуировочной точки, номинальная концентрация компонента, измеренная площадь (высота) и имя хроматограммы. В начале строки ставится отметка использования точки при расчете градуировочной характеристики: ✔ – используется, ✘ – не используется.
- При получении третьей и последующих градуировочных хроматограмм убедитесь в отсутствии грубых ошибок при вводе данных. Если какая-либо точка резко выпадает из общей зависимости, это может свидетельствовать об одной из следующих ошибок, большинство из которых может быть исправлено:

  ввод ошибочного номера градуировочной точки в окне **Паспорт/Общее**;
  ввод ошибочных данных в полях **Объем**, **Разведение**, **Количество** окна **Паспорт/Проба**;
  ввод ошибочных данных в **Таблице концентраций**.
- Могут быть и другие причины использования неверных значений при расчете градуировочной зависимости, например, превышение допустимого уровня сигнала (пики со срезанной вершиной) – такие точки следует исключать из градуировки, как это описано в следующем разделе.
- Если была выявлена ошибка, относящаяся к текущей хроматограмме[7], и она может быть исправлена корректировкой введенных данных, выполните следующее.
  - Закройте окно **Компонент** и перейдите в окно, в котором необходимо внести исправления.
  - Введите в соответствующих полях исправленные данные и закройте окно.
  - Выберите команду **Обработка/Градуировать**. Откроется окно **Градуировка**.



  - В списочном поле **Точка** выберите номер градуировочной точки, которая соответствует текущей хроматограмме.

[7] Ошибки, относящиеся к ранее полученным хроматограммам, целесообразно исправлять с использованием *пакетного пересчета* (см. ниже ***Этап 19***, ***Этап 20***).

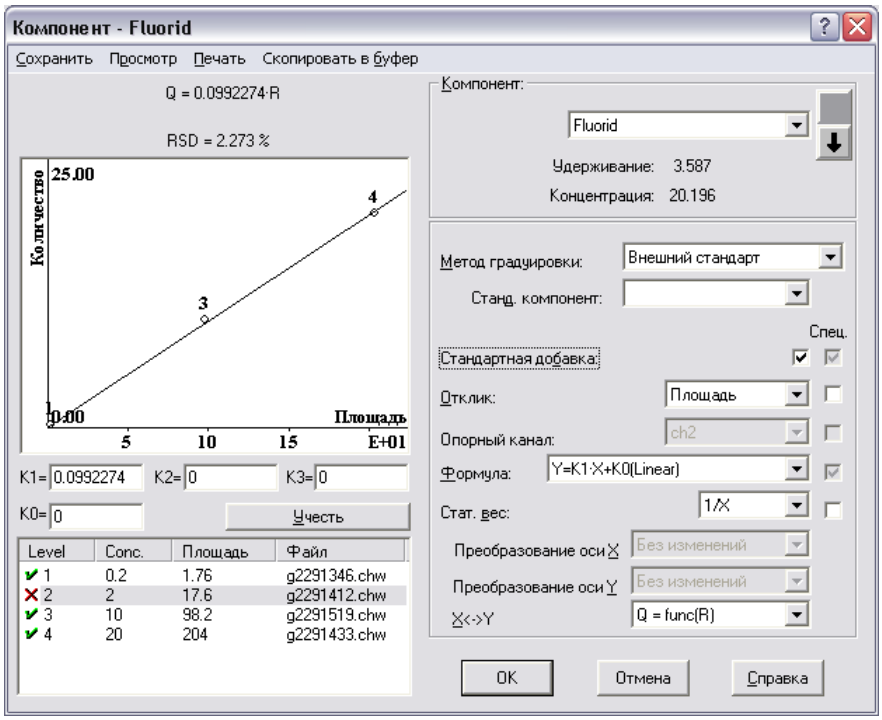
- Закройте окно **Градуировка**, нажав кнопку **ОК**. При этом данные текущей хроматограммы будут занесены в **Таблицу концентраций** в качестве параметров указанной точки и использованы для расчета градуировочной зависимости.

- Аналогичным образом просмотрите листы всех компонентов, используя для их перебора кнопки и рядом со списочным полем **Компонент** в правом верхнем углу окна. Можно также перейти к любому компоненту выбором в этом поле.
- Закройте окно **Компонент**, нажав кнопку **ОК**.

Этап 14. Просмотр и редактирование градуировочных зависимостей

Целью процедуры градуировки является построение *градуировочной зависимости*. После получения всех градуировочных хроматограмм следует посмотреть графики полученных градуировок для каждого компонента, удалить "выпадающие" точки, изменить формулы, аппроксимирующие градуировочные зависимости, и т.д.

- Откройте окно **Компонент** выбрав пункт меню **Метод/Градуировка…/Графики,** щелкнув по пиктограмме или нажав кнопку **Графики** в **Таблице компонентов**.



Если какая-либо точка градуировочной зависимости для текущего компонента выпадает из общей зависимости, и ошибку невозможно исправить (см. предыдущий раздел), такую точку можно исключить из расчетов, сохранив данные для остальных компонентов.

- Для исключения точки выделите в списке нужную строку и нажмите кнопку **Исключить**. При этом индикатор ✔ заменится индикатором ✕, а кнопка **Исключить** преобразуется в кнопку **Учесть**. Нажатие этой кнопки вновь включит точку в расчет градуировочной зависимости.

В простейшем случае градуировочную зависимость можно представить прямо-пропорциональной, т.е., линейной, проходящей через 0. По умолчанию соответствующая формула устанавливается в списочном поле **Формула**. Однако далеко не всегда такое приближение является удовлетворительным. Пользователь имеет возможность выбрать вид функции, которая будет использоваться для аппроксимации, в поле **Формула**. Программа производит подбор оптимальных коэффициентов в выбранной формуле, минимизируя величину средне-квадратичного отклонения (СКО) градуировочных точек от теоретической кривой. Полученная в результате формула, а также величина СКО представлены в окне **Компонент** над графиком градуировочной зависимости. Под графиком в отдельных полях представлены все коэффициенты. Основным из них является K1 – коэффициент при линейном члене, равный *фактору отклика* (ФО) , который после выполнения градуировки автоматически заносится в **Таблицу компонентов**. Формула используется для расчета количества вещества в пробе **Q** исходя из измеренного значения отклика **A** (площади или высоты пика). Далее производится расчет концентрации, учитывающий объем пробы и разведение.

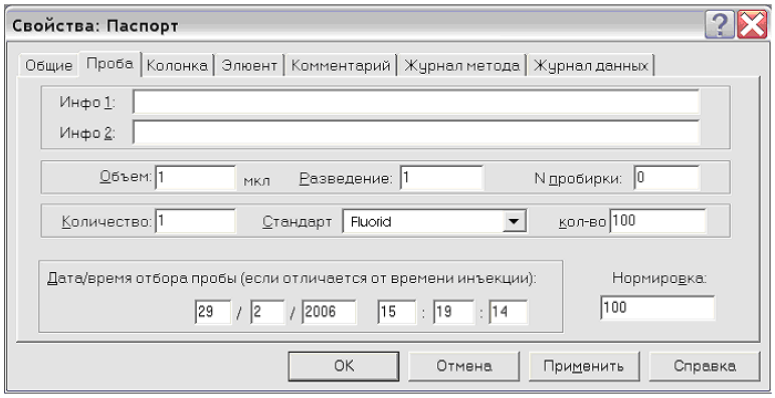
Если полученная величина СКО при аппроксимации прямо-пропорциональной зависимостью представляется недопустимо большой, и используется не менее 3 градуировочных точек, можно попробовать подобрать другую формулу. При этом число коэффициентов в формуле должно быть хотя бы на 1 меньше числа градуировочных точек. Если две формулы дают примерно одинаковую величину СКО, следует предпочесть ту, в которой число подбираемых коэффициентов меньше. Подбор формулы не рекомендуется производить, не ознакомившись с подробным описанием этой процедуры (см. ***Справочник по основным операциям,*** раздел ***Количественный и качественный анализ/.../Выбор типа градуировочной кривой***).

- Просмотрите результаты градуировки для всех компонентов, используя кнопки ↑ и ↓ или выбирая нужное значение в списочном поле **Компонент**.
- Закройте окно **Компонент**, щелкнув по кнопке **ОК**.
- Если какая-то градуировочная хроматограмма оказалась неудовлетворительной для всех или большинства компонентов, и ее следует повторить, выполните следующее.
  - Перезапустите *последнюю* из полученных хроматограмм и введите пробу, соответствующую исправляемой точке.
  - В открывшемся окне **Запуск анализа** на первом листе **Общие** в поле **Градуировочная точка** введите номер точки, которую следует исправить. По окончании приема хроматограммы старые данные для указанной точки будут заменены новыми.
  - Проверьте результаты проведенной замены.
- После завершения процедуры градуировки обновите метод, который в дальнейшем будет использоваться для хроматографического анализа, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**.

Этап 15. Анализ неизвестного образца

Приготовьте смесь для анализа, содержащую компоненты, для которых была проведена градуировка.

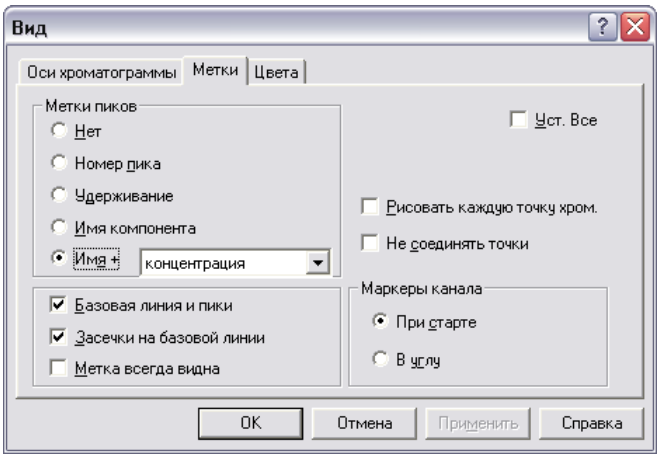
- Запустите метод LEARN.MTW, созданный и записанный на диск ранее, щелкнув по пиктограмме или выбрав пункт меню **Измерение/Открыть метод и запустить**.
- Введите информацию в поля диалогового листа **Проба** окна **Запуск анализа**
  - Обратите особое внимание на ввод правильных значений параметров **Объем**, **Разведение** и **Количество**, так как эти величины используются при расчете.
  - Если предполагается проводить определение концентрации методом *внутреннего стандарта,* то есть, один из включенных в **Таблицу компонентов** компонент добавлен в пробу в известной концентрации, на листе **Проба** выберите его в списочном поле **Стандарт**, а его концентрацию введите в соседнее поле **кол-во**.
  - Если исследуемый образец, кроме определяемых компонентов, содержит вещества, к которым используемая хроматографическая методика нечувствительна (например, воду при работе с ПИД), и их процентное содержание *P* определено каким-либо независимым методом, введите в поле **Нормировка** величину (*100-P*).



- Введите пробу в хроматограф и запустите сбор данных, нажав кнопку дистанционного запуска.
- По окончании заявленного времени программа завершит хроматограмму и проведет ее обработку в соответствии с использованным методом.
- Проверьте результаты интегрирования и интерпретации и, если необходимо, скорректируйте их, как описано в разделе ***Этап 5***.

•Для удобства визуального контроля выведите на экран для пика каждого компонента дополнительно к его имени полученную концентрацию, выполнив следующее.

- Выберите команду **Вид**/**Вид** или нажмите кнопку . Откроется окно **Вид**.
- Щелкните мышкой по заголовку закладки **Метки**.

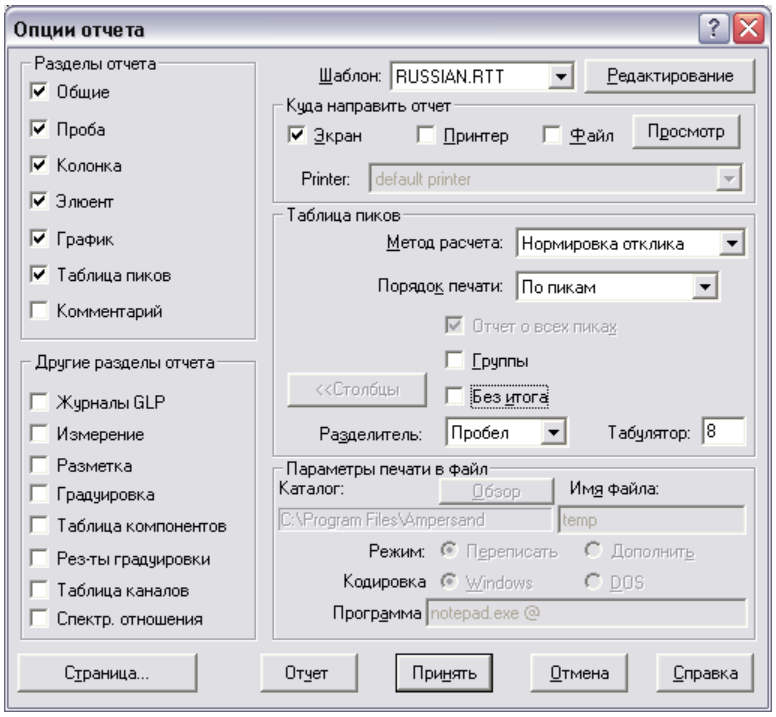


- Щелкните мышкой по переключателю **Имя +концентрация**. Установленное по умолчанию в списочном поле значение *Концентрация* соответствует определению абсолютной концентрации компонентов, что и требуется для выполняемого анализа. В других случаях в этом поле можно выбрать любую величину из списка столбцов **Таблицы пиков** (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Отчет/Таблица пиков/Столбцы Таблицы пиков***).
- Закройте окно **Вид**, нажав кнопку **OK**. На хроматограмме над пиками компонентов к имени добавится рассчитанная концентрация, соответствующая величинам в столбце **Эта х-ма Таблицы концентраций**.

•Запишите хроматограмму на диск, щелкнув по пиктограмме или выбрав пункт меню **Файл/Сохранить/Хроматограмма**.

Этап 16. Вывод отчета

•Откройте диалоговое окно Опции отчета, выбрав команду Обработка/Выдать отчет, Метод/ Настройка отчета или щелкнув по пиктограмме (подробнее см. Справочник по основным операциям, раздел Отчет).



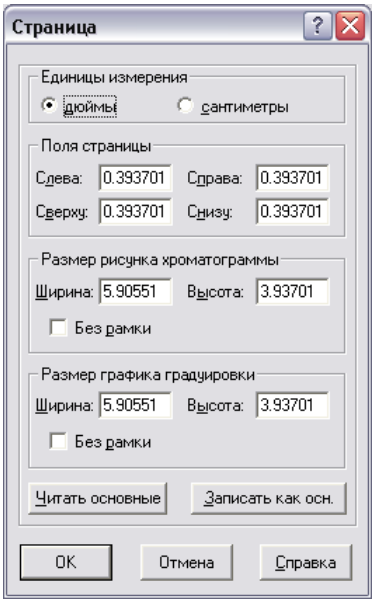
•Отметьте в левой части экрана все разделы, которые необходимо включить в отчет.

Для получения отчета на русском языке в поле Шаблон должен быть указан файл Russian.rtt!

- Выберите метод расчета Абсолютная концентрация.
- В поле **Порядок печати** выберите значение **По компонентам**. В этом случае в Таблицу пиков будут включены данные для всех компонентов, в том числе, и для тех, которые не обнаружены (концентрация равна 0), но не будет неидентифицированных пиков примесей.
- Отметьте устройства, на которые будет выведен отчет (например, **Экран** и **Принтер**) отметив соответствующие флажки в верхней части окна.

Можно одновременно вывести отчет на экран, на принтер и в файл.

- Просмотрите общий вид отчета, нажав кнопку **Просмотр**.
- Если отчет неудовлетворительно размещается на листе, например, не помещаются по ширине листа все колонки Таблицы пиков или на вторую страницу переносится единственная строка, выполните следующее.
  - Щелкните по кнопке **Страница** в левом нижнем углу окна. Откроется одноименное окно



  - Отредактируйте поля страницы и размер графика хроматограммы (подробнее см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Отчет/.../Параметры страницы***). Примите изменения, щелкнув по кнопке **OK**.
  - Если требуется сменить ориентацию страницы с портретной на альбомную, закройте окна **Страница** и **Опции отчета**, выберите команду **Файл/Настройка принтера** и в открывшемся окне выполните необходимое переключение.
- Напечатайте отчет, щелкнув по кнопке **Отчет**.
- Сохраните метод и хроматограмму на диске.

Изменение метода расчета

Можно выбрать любой из стандартных методов расчета, предусмотренных в программе *МультиХром*. Одна и та же хроматограмма может быть рассчитана с использованием нескольких методов расчета. Правда, в этом случае может потребоваться ввод дополнительных параметров.

Метод расчета *Внутренняя нормализация*

- Выберите метод расчета Внутренняя нормализация.
- Введите в поле **Нормировка** значение нормы (суммы концентраций всех компонентов, по умолчанию равной 100%).
- Выведите отчет на экран или принтер, как описано ранее.

Метод расчета *Относительная концентрация*

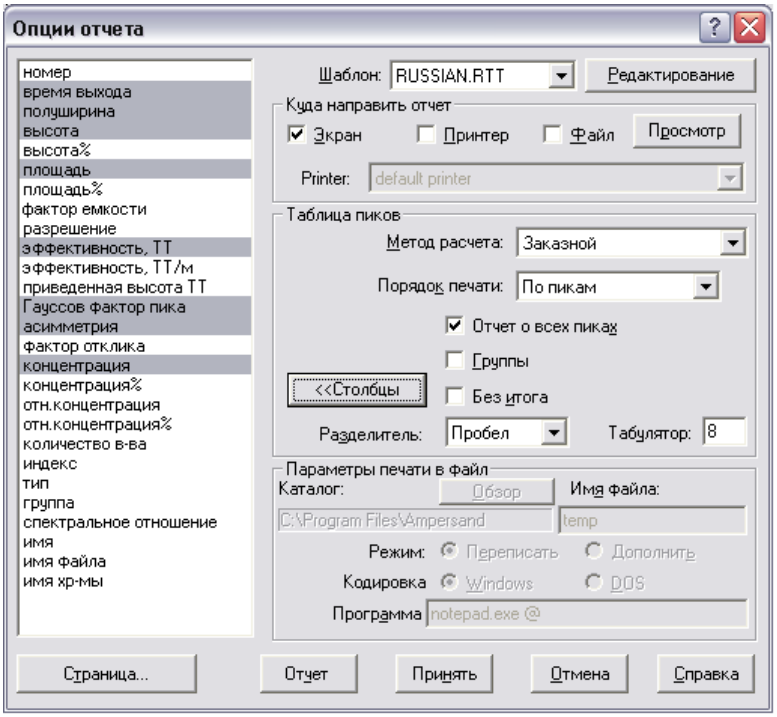
Для использования этого метода в пробу необходимо добавить известное количество вещества, которое будет использоваться в качестве стандартного компонента.

- Выберите метод расчета Относительная концентрация.
- Выведите отчет на экран или принтер, как описано ранее.

Заказной метод расчета

Помимо стандартных, общепринятых методов расчета, программа *МультиХром* дает возможность создать свой, заказной метод расчета, объединяющий любые доступные методы.

- В поле **Метод расчета** выберите позицию Заказной. При этом активизируется кнопка **Столбцы**.
- Щелкните по кнопке **Столбцы**. Откроется полный список параметров пиков, которые могут быть включены в Таблицу пиков.



- В левой части окна выберите нужные столбцы, которые будут включены в **Таблицу пиков**.
- Просмотрите и напечатайте отчет, как описано ранее.
- Запишите метод и/или хроматограмму на диск.

Очереди и пакеты

В предыдущих главах было рассказано, как создать метод, провести градуировку и получить хроматограмму. Программа *МультиХром* предоставляет возможность получить серию хроматограмм в автоматическом режиме, создав предварительно *очередь*, или обработать серию ранее полученных хроматограмм, сгруппировав их в *пакет*.

Очередь представляет собой список последовательно запускаемых методов, с указанием некоторых дополнительных параметров и инструкций. Очереди позволяют проводить автоматический сбор данных и градуировку, эффективность их использования особенно высока при работе с автосамплером. Очереди записываются на диск в виде файлов с расширением **.que* в каталоге *Methods* и могут запускаться повторно.

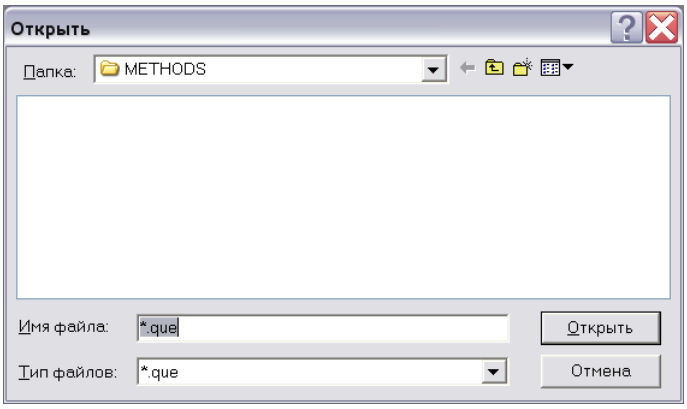
Пакет представляет собой список ранее полученных хроматограмм, записанных на диск. Пакеты предназначены для повторной обработки группы хроматограмм одним и тем же способом. Они записываются на диск в виде файлов с расширением **.bar* в каталоге *Data* и могут запускаться повторно.

Этап 17. Создание очереди

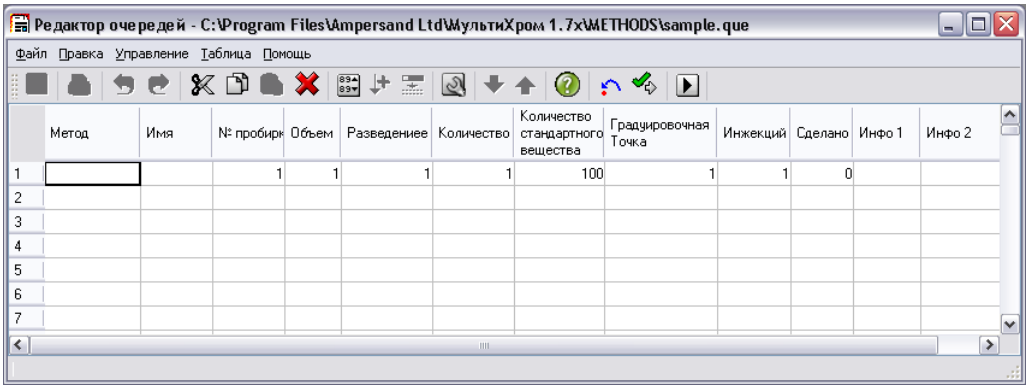
В качестве примера рассмотрим применение очереди для градуировки по 3 точкам и анализа неизвестного образца с использованием ранее созданного метода LEARN.MTW.

Для создания очереди выполните следующее.

- Выберите пункт меню **Файл/Открыть/Очередь**. Откроется стандартное окно **Открыть** (**Open**).



•Введите в поле **Имя** имя создаваемого файла очереди, например, SAMPLE.QUE и нажмите кнопку **Открыть** (**Open**). Откроется окно **Редактор очередей**, содержащее **Таблицу очереди**. Столбцы таблицы соответствуют полям **Паспорта** хроматограммы, в первой строке значениями по умолчанию заполнены все ячейки, в которые должны вводиться числовые (не текстовые) данные.



•Обратите внимание на значительное сходство вида этого окна с листом, используемым программой Microsoft Excel. Оно не случайно, так как работа с **Таблицей очереди** производится по тем же правилам.

•Введите имя файла метода, который будет использоваться при приеме хроматограмм.

- Выберите команду **Таблица/Сменить метод**. При этом откроется стандартное окно для выбора файла метода.
- Выберите файл LEARN.MTW и нажмите кнопку **Открыть** (**Open**). При этом имя метода появится в ячейке *Метод.*

Рекомендации:

используйте только те методы, в которых запуск производится в режиме Внешний;

для того чтобы по мере получения хроматограмм не экране не накапливались их окна, установите флажок **Закрыть окно** в окне **Настройка метода/Обработка**.

•Внесите данные в основные ячейки первой строки.

Имя	имя хроматограммы, которое будет указано в соответствующем поле ее паспорта.
Объем	объем вводимой пробы. По умолчанию равен *1 мл*.
Разведение	предварительное разведение пробы перед анализом. По умолчанию устанавливается значение *1*. Если все градуировочные растворы готовились путем разведения одного раствора, в окне **Таблица концентраций** для всех уровней указывается одни и те же значения исходных концентраций, а изменение концентраций учитывается с помощью параметра *Разведение.* Такой способ дает наиболее точные результаты градуировки.
Градуировочная точка	номер градуировочной точки. По умолчанию устанавливается значение *0*, соответствующее анализируемой пробе. Для градуировочных хроматограмм следует ввести номера точек, созданных в окне **Таблица концентраций** – в этом случае производится автоматический расчет градуировочных коэффициентов.

Градуировочные коэффициенты можно получить сразу после завершения очереди только в том случае, если в методе была заранее создана соответствующая **Таблица концентраций**.

С назначением остальных столбцов таблицы, а также с некоторыми процедурами, облегчающими ее заполнение, можно подробнее ознакомиться в главе ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Групповая обработка хроматограмм/Запуск программы для работы с очередью***.

- Скопируйте строку, выбрав команду **Таблица/Дублировать** или нажав кнопку столько раз, сколько еще хроматограмм требуется включить в очередь (в рассматриваемом примере – 3 раза).
- Отредактируйте во вновь созданных строках те значения, которые должны отличаться от введенных в первой строке: Имя, Разведение, Градуировочная точка и, если требуется, Объем.

Редактор очередей - C:\Program Files\Ampersand Ltd\МультиХром 1.7x\METHODS\sample.que

Файл Правка Управление Таблица Помощь

	Метод	Имя	№ пробирк	Объем	Разведениее	Количество	Количество стандартного вещества	Градуировочна Точка	Инжекций	Сделано	Инфо 1	Инфо 2
1	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1	1	0		
2	learn.mtw	grad2	1	1	1	1	100	2	1	0		
3	learn.mtw	grad3	1	1	1	1	100	3	1	0		
4	learn.mtw	sample	1	1	1	1	100	0	1	0		

Для того чтобы полученная градуировка использовалась для расчета концентраций в исследуемых проб, все градуировочные хроматограммы (с параметром Градуировочная точка отличным от 0) должны предшествовать хроматограммам, для которых этот параметр равен 0.

- Запишите сформированную очередь, выбрав команду **Файл/Сохранить и выйти** или нажав кнопку . Окно **Редактор очередей** закроется.

Этап 18. Запуск очереди

Теперь все готово для запуска очереди с именем SAMPLE.QUE. Приготовьте три градуировочных раствора и один раствор с “неизвестным” содержанием компонентов.

При использовании очередей требуется строго соблюдать порядок ввода проб, записанный в Таблице очереди. Необходимо также следить за соответствием величин, заданных в столбцах Объем и Разведение, фактическим значениям объема и разведения.

Для запуска очереди выполните следующее.

- Выберите команду **Файл/Открыть/Очередь**. Откроется окно **Открыть файл**, содержащее в списке файлов очередей записанный ранее файл SAMPLE QUE.QUE.
- Выберите этот файл и нажмите кнопку **Открыть**. Откроется окно **Редактор очередей**, содержащее созданную на предыдущем этапе **Таблицу очереди** SAMPLE QUE.

Если очередь запускается непосредственно после ее создания, без закрытия окна Редактор очередей, ее необходимо сначала сохранить, выбрав команду Файл/Сохранить или нажав кнопку .

- Выберите команду **Управление/Пуск** или нажмите кнопку . За окном **Редактор очередей** откроется окно первой хроматограммы, в котором будет прописываться базовая линия. Кроме того, изменится вид панели инструментов окна **Редактор очередей**, так как программа перейдет из режима редактирования в режим исполнения.

Описанные далее процедуры выполняются при ручном вводе проб. Работа с очередью при использовании автосамплера описаны в главе ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Групповая обработка хроматограмм/Запуск программы для работы с очередью/Режим исполнения***.

- Введите первую пробу и запустите процесс, как это предусмотрено для используемого хроматографа. Обратите внимание, что именно в этот момент изменится цвет окна хроматограммы, при этом начнется сбор данных и отсчет времени до окончания хроматограммы. При записи хроматограммы на диск в имени файла также будет зафиксировано время внешнего запуска, происходящего в момент инжекции.

Одновременно с очередью, запущенной из программы *Редактор очередей*, можно работать с программой *МультиХром*. В частности, возможен визуальный контроль за прохождением текущей хроматограммы. Возможен также запуск других хроматограмм при условии, что они используют другие каналы АЦП.

По истечении установленного времени сбор данных завершится, при этом соответствующая строка таблицы изменит свой цвет на красный, а в столбце *Сделано* значение *0* заменится на *1.* Первая хроматограмма будет записана на диск и обработана, после чего откроется окно второй хроматограммы.

> Любая хроматограмма, входящая в очередь, при нормальном завершении будет автоматически записана на диск, независимо от того, установлена ли в методе опция Сохранять по окончании.
>
> После записи каждой хроматограммы файл метода переписывается заново.

- Произведите ввод и запуск процесса для всех остальных проб описанным выше способом.

При работе с очередью возможны различные режимы ее временной остановки, отмены выполненных анализов и повторного запуска. Все эти процедуры описаны в указанном выше разделе ***Режим исполнения***.

По завершении очереди программа автоматически вернется в режим редактирования, при этом все строки будут выделены красным. Далее возможен ее повторный запуск для выполнения еще одной такой же серии анализов, а также дальнейшее редактирование (см. указанный выше раздел ***Режим исполнения***).

- Выберите команду **Таблица/Сбросить** или нажмите кнопку . Цвет всех строк таблицы заменится на черный, а в столбце Сделано во всех строках установится значение 0.
- Для окончания работы с очередью выберите команду **Файл/Выход** или нажмите клавиши ALT+F4. Программа Редактор очередей завершит свою работу. Эта операция может выполняться как до завершения работы программы МультиХром, так и после него.

Файл очереди в дальнейшем может использоваться для повторного запуска очереди, при этом, если требуется, его можно дополнительно редактировать.

Этап 19. Создание пакета

Пакеты создаются для автоматической обработки серии хроматограмм с использованием одних и тех же процедур при одинаковых параметрах обработки. С помощью пакетов обычно выполняются следующие процедуры:

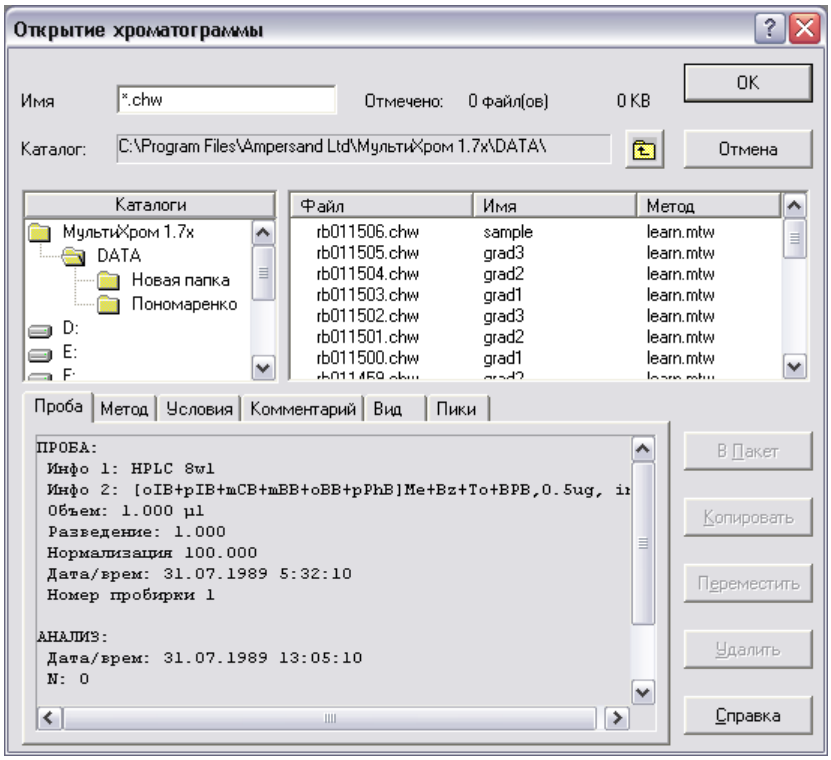
переразметка;
изменение метода или обновление градуировки;
внесение одинаковых изменений в паспорт;
изменение вида хроматограмм;
печать отчетов для нескольких хроматограмм;
статистическая обработка данных нескольких хроматограмм;
объединение нескольких хроматограмм в одну многоканальную.

> При пакетном пересчете все файлы хроматограмм переписываются!

В качестве примера произведем пересчет всех хроматограмм, полученных при выполнении ***Этапов 9-12*** и ***17-18***, с созданием единой градуировки, использующей все 6 градуировочных точек.

Для объединения группы хроматограмм в пакет выполните следующее.

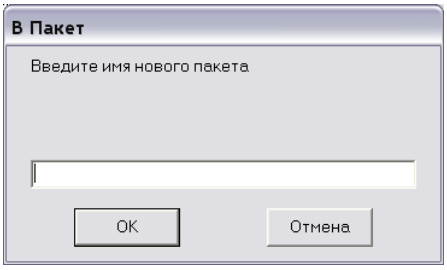
- Выберите команду **Файл/Открыть/Хроматограмма** или нажмите кнопку . Откроется окно **Открытие хроматограммы**.



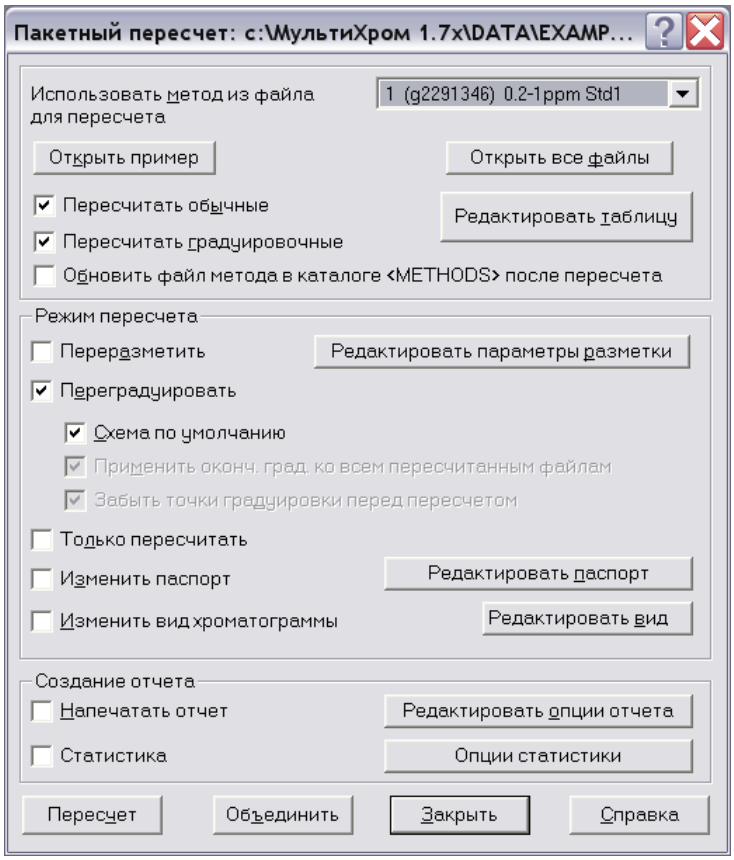
•Выделите требуемые хроматограммы, выполнив одно из следующих действий:

- Если хроматограммы расположены в списке подряд, щелкните мышкой по первой и по последней из выбираемых строк при нажатой клавише SHIFT.
- Если хроматограммы расположены вразбивку, нажмите клавишу CTRL и щелкните мышью по каждой выбираемой строке.

•Нажмите кнопку **В пакет**. Откроется окно **В пакет**.



•Введите имя создаваемого пакета, например, EXAMPLE и нажмите кнопку **ОК**. Файл example.bar будет записан в каталог Data. Откроются окна всех выбранных хроматограмм, а затем - окно **Пакетный пересчет** .



В дальнейшем для того чтобы открыть это окно для ранее созданного пакета, требуется выполнить одно из следующих действий.

- Для выбора произвольного пакета используйте команду **Файл/Открыть/Пакетный пересчет**. Откроется окно **Открыть файл**. Выберите требуемый файл и нажмите кнопку **Открыть**. Откроется окно **Пакетный пересчет**.
- Для повторного пересчета последнего открывавшегося пакета выберите команду **Файл/ Открыть/Последний пакет** или нажмите кнопку . Откроется то же окно.

Этап 20. Пересчет пакета

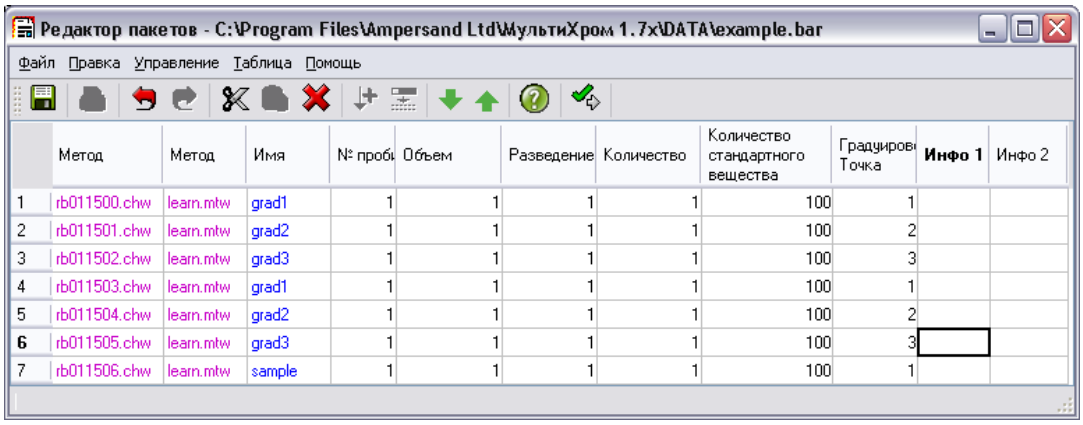
При пересчете пакета для рассматриваемого примера будут выполнены следующие процедуры:

редактирование **Таблицы пакета**;
внесение изменений в метод;
подбор оптимальных параметров разметки;
переградуировка;
внесение изменений в паспорт (запись комментария);
изменения вида хроматограммы (изменение типа меток);
вывод отчетов на экран.

Редактирование Таблицы пакета

Для того чтобы внести изменения в **Таблицу пакета**, в рассматриваемом примере – ввести общую нумерацию градуировочных точек для всех градуировочных хроматограмм, выполните следующее.

- Нажмите кнопку **Редактировать таблицу**. Откроется окно **Редактор пакетов**, содержащее **Таблицу пакета**.



	Метод	Метод	Имя	№ проб	Объем	Разведение	Количество	Количество стандартного вещества	Градуировочная Точка	Инфо 1	Инфо 2
1	rb011500.chw	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1		
2	rb011501.chw	learn.mtw	grad2	1	1	1	1	100	2		
3	rb011502.chw	learn.mtw	grad3	1	1	1	1	100	3		
4	rb011503.chw	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1		
5	rb011504.chw	learn.mtw	grad2	1	1	1	1	100	2		
6	rb011505.chw	learn.mtw	grad3	1	1	1	1	100	3		
7	rb011506.chw	learn.mtw	sample	1	1	1	1	100	1		

- С помощью полосы горизонтальной прокрутки выведите на экран столбец Градуировочная точка**.** В этом столбце для хроматограмм пробных смесей (обычных) будут стоять значения 0, а для градуировочных хроматограмм – дважды повторяющиеся значения 1,2,3.
- Измените нумерацию градуировочных точек. Эту процедуру рекомендуется выполнить следующим образом (см. подробнее Справочник по основным операциям, раздел Групповая обработка хроматограмм/Запуск программы для работы с пакетом/***Меню и панель инструментов*** окна Редактор пакетов).
  - Расположите хроматограммы таким образом, чтобы вначале шли только градуировочные хроматограммы одной серии измерений (в порядке возрастания номеров градуировочных точек *1-3*), затем – то же для другой серии измерений, в конце – все обычные хроматограммы. Для этого используйте кнопки и , которая осуществляет перемещение выделенной строки вверх или вниз.
  - Выделите в столбце *Градуировочная точка* ячейки, соответствующие только градуировочным хроматограммам, и нажмите кнопку . В ячейки будут в возрастающем порядке введены номера *1-6*.
- Закройте окно **Редактор пакетов** с сохранением изменений внесенных в **Таблицу пакета**, нажав кнопку .

> При открытом Редакторе пакетов редактирование в окне Пакетный пересчет невозможно.

Внесение изменений, необходимых для переградуировки

Одной из важнейших процедур, выполняемых методом пакетного пересчета, является *переградуировка*. Она включает в себя получение новых градуировочных характеристик на основе данных из включенных в пакет градуировочных хроматограмм и пересчет концентраций всех компонентов для всех обычных хроматограмм.

При переградуировке программа использует данные **Таблицы компонентов** и **Таблицы концентраций**, а также параметры, устанавливаемые в окне **Компонент** (кроме файлов градуировочных хроматограмм), из метода *хроматограммы-примера* (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Количественный и качественный анализ/.../Хроматограмма-пример***). Ее номер в пакете, имя файла и имя хроматограммы указаны в списочном поле **Использовать метод из файла для пересчета**. По умолчанию в это поле вводится первая хроматограмма пакета, но можно выбрать любую (для выполняемого пересчета этого делать не требуется).

Для внесения в метод изменений, необходимых для переградуировки, выполните следующее.

- Нажмите кнопку **Открыть пример**. Откроется окно хроматограммы-примера.
- Закройте окно Пакетный пересчет.
- Внесите необходимые изменения в метод хроматограммы-примера. Для выполняемого пересчета добавьте 3 градуировочные точки в **Таблицу концентраций**, используя процедуры, описанные в разделе ***Этап 12***.
  - Откройте окно **Таблица концентраций** и добавьте градуировочные точки с номерами *4-6*.
  - Введите значения концентраций, соответствующие градуировочным хроматограммам, которым в **Таблице пакета** были присвоены эти номера.
- Запишите хроматограмму, выбрав команду **Файл/Сохранить/Хроматограмма**, и откажитесь от следующего за этим предложения сохранить изменения в методе, так как при пакетном пересчете используется метод, записанный в файле хроматограммы.

•Вновь откройте окно **Пакетный пересчет**, нажав кнопку .

Переразметка и переградуировка

В рассматриваемом примере используем процедуру переразметки для того, чтобы подобрать оптимальные параметры разметки одновременно для всех хроматограмм, то есть, такие, при которых на *всех* хроматограммах отмечаются пики *всех* компонентов смеси, а количество отмеченных *посторонних* пиков минимально. Для выполнения переразметки выполните следующее.

- Установите флажки **Пересчитать градуировочные** и **Пересчитать обычные**. При этом переразметка будет выполнена для всех хроматограмм пакета.
- Установите флажок **Переразметить**. При этом автоматически установится флажок **Переградуировать**, так как переразметка градуировочных хроматограмм изменяет величины откликов, следовательно, нарушает ранее сделанную градуировку. Также автоматически установится флажок **Схема по умолчанию** (см. ниже).
- Убедитесь, что флажок **Напечатать отчет** не установлен, так как для оптимизации переразметки может потребоваться несколько пробных пересчетов, для которых не требуются отчеты. Флажки всех остальных процедур, которые предполагается выполнить, при пробной переразметке также можно не устанавливать.
- Если окна хроматограмм не были отрыты, откройте их, нажав кнопку **Открыть все файлы**.
- Нажмите кнопку **Пересчет**. При этом будет выполнена переразметка и переградуировка всех хроматограмм в соответствие с параметрами, установленными для хроматограммы-примера, и окно **Пакетный пересчет** закроется.
- Расположите окна всех хроматограмм удобным для просмотра образом.
- Определите, требуется ли удалить или добавить какие-либо пики.
- Вновь откройте окно **Пакетный пересчет**, нажав кнопку .
- Если требуется продолжить подбор параметров разметки, выполните следующее.
  - Откройте окно **Параметры разметки** (см. раздел ***Этап 5***), нажав кнопку **Редактировать параметры разметки**.
  - Внесите требуемые коррективы, например, изменив параметр **Мин.высота**.
  - Закройте окно, нажав кнопку **ОК**.
  - Вновь повторите пересчет и оцените полученный результат.
- Повторите переразметку до получения удовлетворительного результата, затем установите флажки для всех остальных процедур, выберите для них параметры и произведите окончательный пересчет.
-

Схемы переградуировки

Таблица концентраций хроматограммы-примера может содержать как обновляемые градуировочные точки, так и необновляемые, то есть такие, для которых в пакете нет градуировочных хроматограмм. Эти точки могут использоваться совместно с новыми для получения градуировочных характеристик, но могут быть и отброшены.

В процессе выполнения переградуировки каждая хроматограмма получает так называемую “историческую” градуировку, которая включает только точки, полученные ранее данной хроматограммы. По окончании градуировки ко всем градуировочным хроматограммам можно приложить полную градуировку.

Применение ко всем хроматограммам полной градуировки, включающей только обновленные точки, представляет собой наиболее удобную схему переградуировки. Именно она используется, если установлен флажок **Схема по умолчанию**, что равнозначно одновременной установке флажков **Забыть точки градуировки перед пересчетом** и **Применить оконч. град. ко всем пересчитанным файлам**.

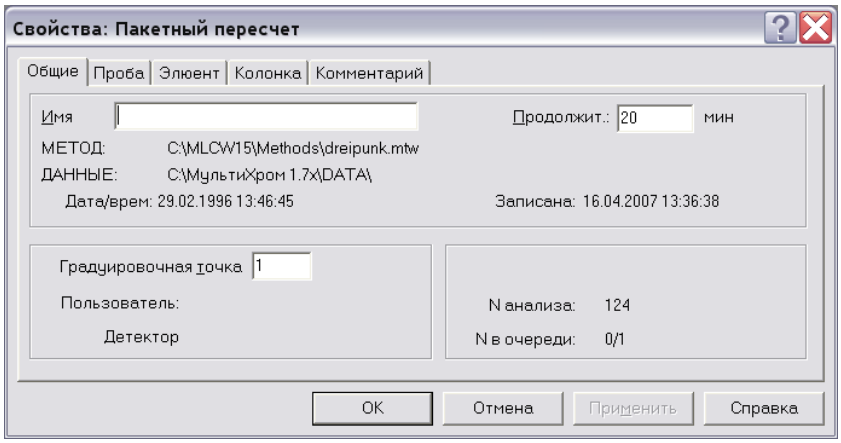
Пересчет концентраций

В некоторых случаях требуется только пересчитать концентрации компонентов в обычных хроматограммах с использование ранее полученной градуировки без ее обновления. В этом случае в качестве примера выбирается хроматограмма, содержащая требуемую градуировку, и устанавливается флажок **Только пересчитать**. При этом автоматически сбрасываются флажки **Переразметить** и **Переградуировать**. И наоборот, при установке этих флажков сбрасывается флажок **Только пересчитать**.

Изменение паспорта

Для того чтобы внести одинаковые изменения в паспорта всех хроматограмм, выполните следующее.

- Установите флажок **Изменить паспорт**.
- Нажмите кнопку **Редактировать паспорт**. Откроется окно **Пакетный пересчет**, содержащее листы паспорта, доступные для редактирования.
- Выберите требуемый лист и внесите необходимые данные. Например, щелкните мышью по закладке **Комментарий** и запишите сведения об изменениях, производимых при пересчете.
- Закройте окно, нажав кнопку **ОК**.



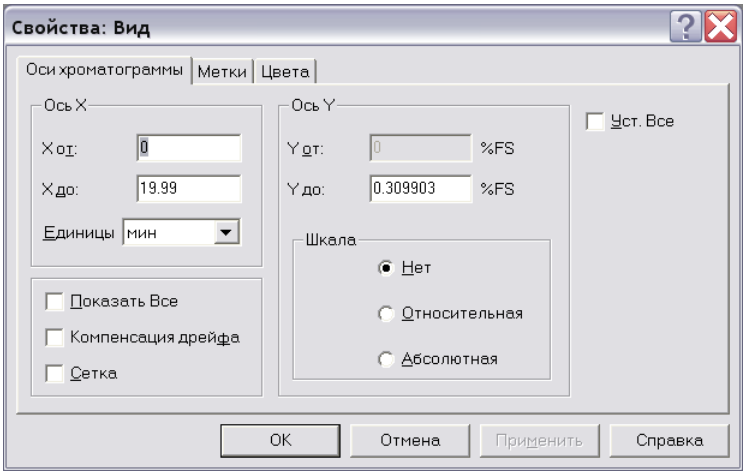
Изменения вида хроматограммы

Для того чтобы одинаковым образом изменить *вид* всех хроматограмм (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Вид хроматограммы***), выполните следующее.

- Откройте все хроматограммы, нажав кнопку **Открыть все файлы**.

> Изменение вида производится только для тех хроматограмм, для которых были открыты окна. Можно изменить вид только части хроматограмм пакета, выборочно открыв окна перед пересчетом.

- Установите флажок Изменить вид хроматограммы.
- Нажмите кнопку **Редактировать вид**. Откроется окно **Вид**.



- Выберите требуемый лист и внесите необходимые изменения, например, измените тип меток, для чего выполните следующее.
  - Щелкните мышью по закладке **Метки**.
  - Щелкните мышью по переключателю требуемого типа меток.
  - Установите флажок **Уст.все**.
  - Закройте окно, нажав кнопку **ОК**. При этом во всех окнах хроматограмм, отрытых за окном **Пакетный пересчет**, произойдут заданные изменения меток.

> Флажок Уст.все необходимо устанавливать на каждом листе, где были внесены изменения.

Изменения вида, произошедшие на экране, записываются в файл хроматограммы только после выполнения пакетного пересчета.

Отчет

Для того чтобы для всех хроматограмм создавались отчеты одинаковой формы, выполните следующее.

- Установите флажок **Напечатать отчет**.
- Нажмите кнопку Редактировать опции отчета. Откроется окно Опции отчета (см. раздел ***Этап 16***).
- Выберите, куда следует направить отчет, установив соответствующие флажки. Для рассматриваемого примера нет необходимости печатать все отчеты, поэтому достаточно установить только флажок **Экран**.

При выполнении пересчета на экран будут выведены отчеты только для тех хроматограмм, для которых были открыты окна.

- Выберите желаемые опции, например, в числе разделов отчета отметьте изменяемый при пересчете раздел **Комментарий**.
- Закройте окно, нажав кнопку **Отчет** или **Принять**.

Сохранение изменений в файле метода и выполнение пересчета

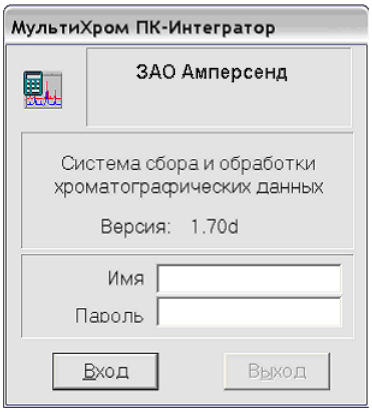
После оптимизации режима переразметки и задания параметров пересчета можно выполнить окончательный пересчет с сохранением результатов на диске и/или в виде твердой копии.

- Для того чтобы в дальнейшем использовать результаты пересчета, например, новую градуировку, установите флажок **Обновить файл метода в каталоге <METHODS> после пересчета**.
- Для того чтобы выполнить пересчет в соответствии с установками флажков и при выбранных параметрах, нажмите кнопку **Пересчет**. По окончании пересчета окно **Пакетный пересчет** закроется.

4. Справочник по основным операциям

Система безопасности

Защита программы обеспечивается созданием списка пользователей с разным уровнем доступа. Непосредственно после установки системы, пока нет списка пользователей, ее запуск осуществляется свободно. В таком режиме систему можно использовать, если нет реальной угрозы некомпетентного вмешательства в ее работу. Если с системой одновременно работают пользователи разного уровня квалификации, рекомендуется создавать список пользователей, которые могут входить в систему только под своим именем и паролем. В этом случае при запуске программы открывается окно для входа в систему с полями для ввода данных пользователя.



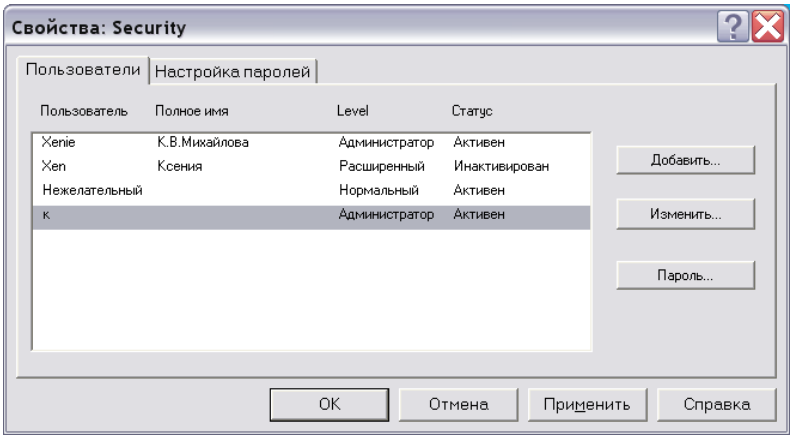
Ввод имени пользователя и пароля производится с учетом регистра!

При наличии списка пользователя в записи, вносимые программой при любых изменениях в **Журнал метода** и **Журнал данных** (см.разделы ***Паспорт хроматограммы/Журнал метода*** и ***/Журнал данных***), перестают быть анонимными. Дополнительным удобством этого режима является автоматическая запись имени автора в каждой хроматограмме и отчете.

Список пользователей

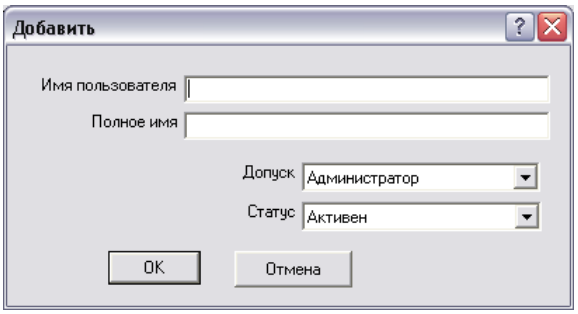
Для первоначального создания списка пользователей выполните следующее.

•Выберите команду **Настройка/Защита** – при этом откроется окно **Защита**.



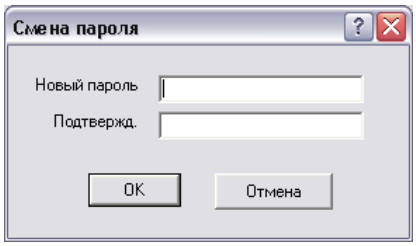
•Создайте запись для пользователя с правами администратора, выполнив следующее.

- Нажмите кнопку **Добавить** – откроется одноименное окно.



- В поле **Имя пользователя** введите имя, под которым пользователь будет входить в систему.

- Если требуется, в поле **Полное имя** введите имя, под которым пользователь будет представлен в паспорте хроматограммы и в отчете, например, должность, фамилия и инициалы.
- Нажмите кнопку **ОК** – окно **Добавить** закроется, а в окне **Защита** в первой строке появятся введенные данные.
- Выделите строку и нажмите кнопку **Пароль** – откроется окно **Смена пароля**.



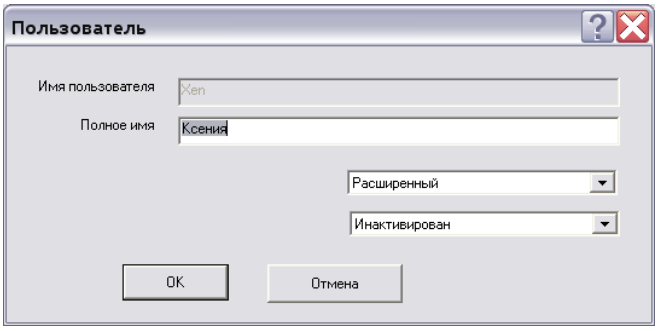
- Введите один и тот же пароль в оба поля – **Новый пароль** и **Подтвердить**.

> Пользователь с правами администратора обязательно должен быть в списке, так как только администратор имеет доступ к окну Защита!

- Добавьте в список остальных пользователей, применяя описанную процедуру. При этом для каждого пользователя выберите уровень доступа в списочном поле **Доступ**:

•Администратор	•доступны все функции
•Расширенный	•нет доступа к системе защиты и настройкам интерфейсов (см. **Приложение 1**)
•Нормальный	•то же, а также нет доступа к общим настройкам (см. Приложение 3) и настройке сбора данных (см. раздел Настройка сбора данных).

- Для того чтобы изменить информацию о пользователе, выполните следующее.
  - Выделите требуемую строку и нажмите кнопку **Изменить** – откроется одноименное окно, отличающееся от окна **Добавить** тем, что поле **Имя пользователя** недоступно для редактирования[1].

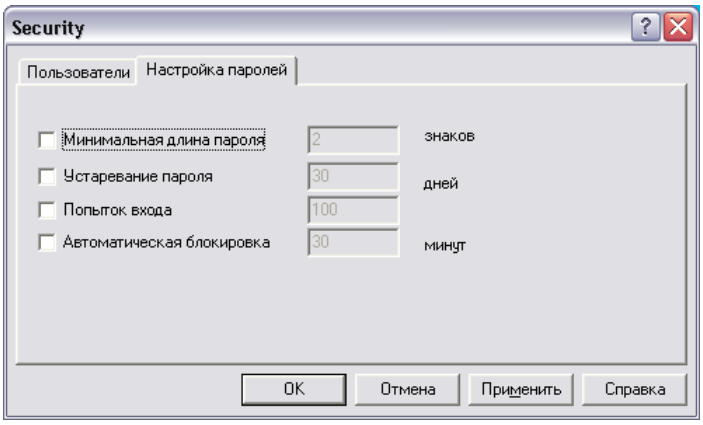


- Отредактируйте, если требуется, значение в поле **Полное имя**.
- Измените, если требуется, уровень доступа, выбрав новое значение из списка в поле **Доступ**.
- Для того чтобы восстановить статус пользователя, переведенного в *неактивное состояние* (см. следующий раздел), выберите в списочном поле **Статус** значение *Активен*.
- Для того чтобы удалить пользователя, выберите в списочном поле **Статус** значение *Удален*. При этом пользователь останется в списке, для того чтобы его имя нельзя было использовать повторно, но вход с этим именем будет невозможен.

Настройка паролей

- Для более надежной работы системы защиты рекомендуется провести дополнительную настройку, выполнив следующее.
  - Перейдите на лист **Настройка паролей**

[1] Если в списке только один пользователь с правами *администратора*, для него также невозможно изменить уровень доступа и статус.



- Введите требование, чтобы пароль не был слишком коротким и, тем самым, легким для подбора: установив флажок **Минимальная длина пароля** и введите в поле требуемое число знаков. При попытке дать пользователю более короткий пароль появится сообщение: *Пароль должен быть не менее ... символов. Введите новый пароль*.
- Введите требование регулярного обновления пароля: установите флажок **Устаревание пароля** и введите в поле число дней, по прошествии которых появится предложение обновить пароль.
- Введите ограничение на число попыток подобрать пароль: установите флажок **Попыток входа** и введите в поле число попыток ввода неправильного пароля. После исчерпания указанного числа пользователь, для которого подбирают пароль, будет переведен в состояние *Инактивирован*.
- Введите ограничение на время, в течение которого запущенная система может оставаться без присмотра: установите флажок **Автоматическая блокировка** и введите в поле время. Если за указанное время пользователь не проявляет никакой активности (движение мыши, нажатие клавиш), система будет автоматически блокирована[2] – для возобновления доступа потребуется ввод пароля.

Замкнуть программу

- Если оператору нужно покинуть рабочее место на некоторое время и обезопасить себя от случайного вмешательства постороннего человека, а **Автоматическая блокировка** (см. предыдущий раздел) не установлена, выберите пункт **Настройка/Замкнуть программу**. При этом открывается окно для входа в систему, как при запуске программы. Вход в программу теперь возможен только после ввода имени и пароля. При этом возможен ввод данных любого пользователя из списка, поэтому эта процедура используется также для смены текущего пользователя.

Файлы хроматограмм

Хроматографические данные в системе *МультиХром* хранятся в виде файлов отдельных хроматограмм с расширением **.chw*. Имя файла, состоящее из 8 символов, формируется автоматически при записи хроматограммы и содержит сведения о дате и времени создания файла:

первый символ – последняя цифра года: 1980-1989 – от *0* до *9*, далее *A,B,C*…– до 2015 года (начиная с 2016 г. хроматограммам присваиваются длинные имена, содержащие полную запись даты);
второй – номер месяца: январь-сентябрь – от *1* до *9*, октябрь-декабрь – *A-C*;
третий и четвертый, пятый и шестой, седьмой и восьмой – число, часы, минуты соответственно.

Файлы записываются в каталог, который указан в поле **Каталог хроматограмм** на листе **Обработка** окна **Запуск анализа** (см. раздел ***Этап 2/Настройка параметров обработки***) или окна **Настройка метода** (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Настройка метода/ Обработка***).

Любая ранее полученная хроматограмма может быть вновь открыта для просмотра и редактирования. При закрытии хроматограммы возможно как сохранить, так и отказаться от внесенных изменений.

[2] Блокируется только доступ пользователя, система при этом продолжает функционировать, например, продолжается прием хроматограммы.

Если изменения касаются только формы представления хроматограммы на экране (см. ***Справочник по основным операциям***, раздел ***Вид хроматограммы***), то при закрытии хроматограммы они не сохраняются. Для сохранения таких изменений требуется специально выбрать команду **Файл/Сохранить/Хроматограмму** или нажать кнопку .

Если внесены изменения в *метод обработки* хроматограммы (разметка, состав компонентов, градуировка и пр.), программа запрашивает подтверждение сохранения изменений. При подтверждении реакция программы может быть различной: создается новый файл, обновляется старый или предлагается выбрать один из этих вариантов – в зависимости от общих установок (см. ***Приложение 3***). Далее, также в зависимости от общих установок, может запрашиваться подтверждение сохранения изменений в файле метода.

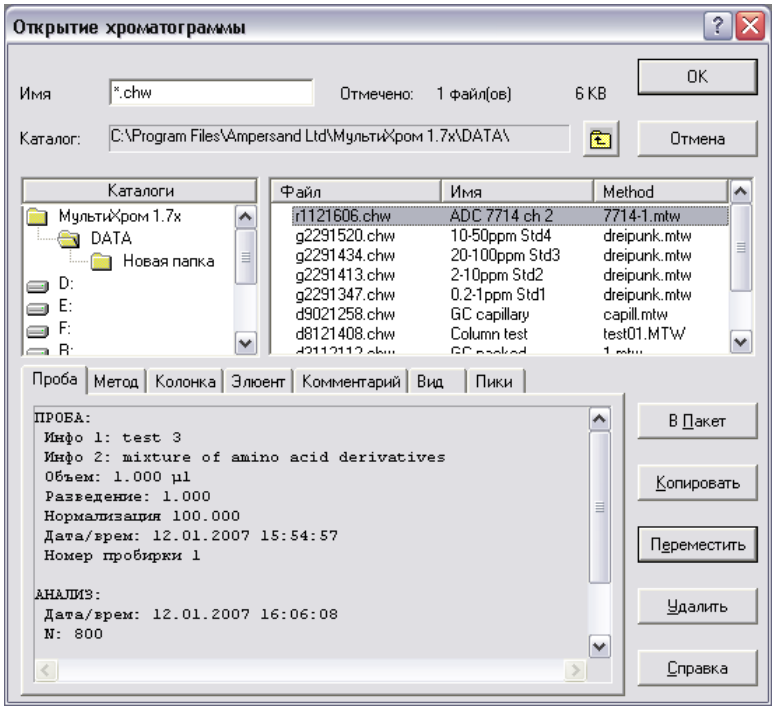
Если внесены изменения в *данные* хроматограммы (фильтрация, большинство команд из меню **Обработка/Дополнительно**), то есть, происходит потеря части первоначальной информации, при подтверждении сделанных изменений всегда создается новый файл.

При создании нового файла, содержащего измененные данные, ему автоматически присваивается имя, получаемое путем прибавления одной минуты к времени создания исходного файла – этом случае последние два знака могут получить значение 60 и более. Если файл с таким именем уже существует, добавляется еще одна минута.

Открытие хроматограммы

Для того чтобы открыть хроматограмму, выполните следующее.

- Выберите команду **Файл/Открыть/Хроматограмму** или нажмите кнопку . Откроется окно **Открытие хроматограммы**, содержащее список файлов текущего каталога. Текущий каталог выбирается в зависимости от установке в окне **Общие настройки** (см. **Приложение 3,** раздел **Открытие хроматограммы**): обычно текущим остается каталог, который открывался последним, но если установлен флажок **Игнорировать последний каталог данных** и открыта хотя бы одна хроматограмма, текущим становится каталог, соответствующий активному окну.

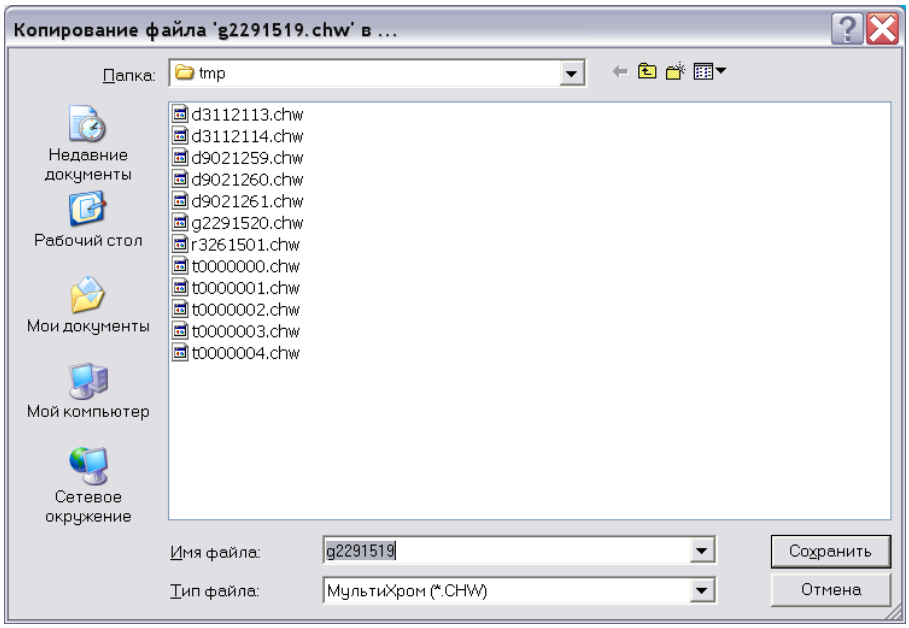


- В левой нижней области окна распложен набор листов с информацией о хроматограмме. Для ее просмотра выполните следующее.
  - Щелкните мышью по требуемой строке в списке файлов. На листе **Проба** появится информация из раздела **Проба** паспорта выбранной хроматограммы (см. раздел ***Паспорт хроматограммы***).
  - Для просмотра других разделов паспорта щелкните мышью по требуемой закладке.
  - Для того чтобы просмотреть общий вид графика хроматограммы, перейдите на лист **Вид**, щелкнув по одноименной закладке.
  - Для просмотра **Таблицы пиков** (см. раздел ***Отчет/Таблица пиков***) перейдите на лист **Пики**.

- Для того чтобы открыть один файл из текущего каталога, дважды щелкните мышью по его названию в списке файлов. При этом окно **Открыть хроматограмму** закрывается, и открывается окно выбранного файла.
- Для того чтобы открыть несколько файлов, выделите одним из указанных ниже способов, а затем нажмите кнопку **OK**.
  - Для того чтобы выделить группу файлов, расположенных подряд, щелкните мышью по первой и последней строке в списке при нажатой клавише *Shift*.
  - Для того чтобы выделить группу файлов, расположенных вразбивку, щелкните мышью по каждой строке при нажатой клавише *Ctrl.*

При этом окно **Открыть хроматограмму** закрывается, и открываются окна всех выбранных файлов, расположенные каскадным способом.

- Для того чтобы сменить текущий каталог, выберите требуемый каталог в списке **Каталоги**, использую стандартные процедуры *MS Windows*.
- Для того чтобы скопировать файлы в другой каталог, выполните следующее.
  - Выделите требуемые файлы описанным выше способом.
  - Нажмите кнопку **Копировать**. Откроется окно **Копирование файла ‘xxxxxxxx.chw’ в…**.



  - Откройте каталог, в который копируются файлы, и нажмите кнопку **Сохранить** (**Save**).
- Для того чтобы переместить файлы в другой каталог, выполните описанную в предыдущем пункте процедуру, нажав кнопку **Переместить**. При этом открывается окно **Перемещение файла ‘xxxxxxxx.chw’ в…**, аналогичное окну для копирования.
- Для того чтобы удалить файлы, выделите их и нажмите кнопку **Удалить**, а затем подтвердите удаление, нажав кнопку **OK** в открывшемся окне **МультиХром** .

Вид хроматограммы

Программное обеспечение *МультиХром* представляет широкие возможности изменения вида хроматограммы на экране монитора, в первую очередь, масштаба изображения, а также представляемой текстовой информации и цветов. Эти процедуры выполняются с помощью мыши, клавиатуры, а также команд специального меню **Вид**[3]. При закрытии хроматограммы изменения, касающиеся ее вида, не сохраняются, поэтому, при необходимости, следует специально использовать процедуру сохранения хроматограммы.

Масштабирование изображения

Наиболее удобно изменять масштаб изображения хроматограммы с помощью клавиатуры или мыши. Оба метода во многом дополняют друг друга: с помощью мыши можно вырезать и увеличить любую часть изображения (см. ***Руководство для начинающих***, раздел ***Этап***

[3] Кроме изменения шрифтов, которое выполняется с помощью подменю **Настройки/Шрифты** (см. ***Приложение 9***).

3/Использование мыши), использование различных клавиш позволяет производить перемещения на фиксированную величину или изменение масштаба в определенное число раз.

Кроме произвольного выбора масштаба, во время приема данных возможно также использование режима *автомасштабирования*, обеспечивающего автоматическое изменение масштаба таким образом, чтобы все изображение хроматограммы помещалось на экране.

Для завершенных хроматограмм в программе также предусмотрена *компенсация дрейфа*, выравнивающая уровень начала и конца хроматограммы.

Использование клавиатуры

Самые широкие возможности по управлению изображением хроматограммы: изменению масштаба и перемещению графика, а также восстановлению размеров и положения - предоставляет клавиатура. Некоторые комбинации клавиш действуют всегда одинаковым образом, действие других различается при неактивном и активном состоянии курсора (в режимах просмотра и редактирования **Таблицы компонентов** и **Редактора пиков**).

Действуют всегда

[↑]	растяжение изображения по оси Y в 2 раза
[↓]	сжатие изображения по оси Y в 2 раза
[Ctrl]+[Home]	автомасштабирование по оси X (см. ниже команду **Вид/Все по горизонтали**)
[Ctrl]+[End]	автомасштабирование по оси Y (см. ниже команду **Вид/Все по вертикали**)
[PageUp]/[PageDown]	сдвиг хроматограммы на 1/10 часть окна вверх/вниз
[Ctrl]+[→]/[Ctrl]+[←]	перемещение вправо/влево на 1/2 окна (для фрагмента, с сохранением масштаба)

При неактивном курсоре

[→]	растяжение изображения по оси X
[←]	сжатие изображения по оси X
[Home]/[End]	перемещение в начало/конец хроматограммы (для фрагмента, с сохранением масштаба)

При активном курсоре

[→]/[←]	перемещение курсора вправо/влево
[Shift]+[→]/[Shift]+[←][4]	быстрое перемещение курсора вправо/влево
[Home]/[End]	перемещение курсора в начало/конец окна;
[Shift]+[Home]/[Shift]+[End]	установка начала/конца окна в местоположении курсора

Уровень нуля

Уровень нуля устанавливается в окне по некоторой точке хроматограммы на расстоянии 1/10 окна от оси ***X***, независимо от масштаба изображения. Обычно программа автоматически выбирает в качестве такой точки минимум на графике хроматограммы, который представлен в окне. При этом, если часть окна занимает участок, на который приходится задержка (см. раздел ***Интегрирование /Детектор пиков/Задержка***), этот участок не учитывается при выборе уровня нуля.

Пользователь может изменить положение нуля произвольным образом, используя клавиши **[PageUp]/[PageDown]** или задавая начальное и/или конечное значение вдоль оси ***Y*** в соответствующих полях окна **Вид**. Восстановить исходное положение нуля можно, нажав клавишу *[Z]* или *[0]*. При этом, если одновременно со смещение менялся масштаба изображения, изменение масштаба сохранится. Однако использование клавиш *[Z]* и *[0]* имеет следующую особенность: определение уровня нуля по минимальной точке графика производится по всему окну, независимо от наличия области задержки.

Необходимо также учитывать, что при некоторых условиях программа определяет уровень нуля не по минимуму графика, а по другой точке хроматограммы, поэтому при нажатии клавиши *[Z]* или *[0]* положение нуля будет изменено соответствующим образом.

- При приеме хроматограммы в режиме автомасштабирования (см. ниже) уровень нуля устанавливается по последней на момент нажатия клавиши точке хроматограммы.
- При активном курсоре уровень нуля устанавливается по точке пересечения графика хроматограммы и курсора.

[4] Быстрое перемещение курсора удобно выполнять мышкой, при нажатой правой кнопке.

Восстановление полного изображения хроматограммы

В программе предусмотрена возможность восстановления полного изображения хроматограммы по любой из осей или по обеим осям сразу. Для этого служат команды меню **Вид**, дублируемые комбинациями клавиш:

Все по горизонтали (Ctrl+Home) - полное изображение вдоль оси ***X***, максимально использующее горизонтальный размер окна.

Все по вертикали (Ctrl+End) - полное изображение вдоль оси ***Y*** участка хроматограммы, представленного в окне, максимально использующее вертикальный размер окна. При этом график располагается так, что его нижняя точка находится от оси ***X*** на расстоянии примерно 1/10 полной шкалы.

Все (Alt+V) - полное изображение хроматограммы, максимально использующее размеры окна.

Команда **Все**, восстанавливающая вид всей хроматограммы, дублируется также кнопкой , двойным щелчком *левой* кнопкой мыши, выбором пункта **Все** из контекстного меню, открываемого *правой* кнопкой мыши, а также установкой флажка **Показать все** на листе **Оси хроматограммы** окна **Вид** (см. ниже).

> При масштабировании по оси Y не учитывается участок хроматограммы до момента, указанного в поле Задержка окна Параметры разметки.

Автомасштабирование

Во время приема данных хроматограмма может отображаться в режиме *автомасштабирования*, который обеспечивает автоматическое изменение масштаба таким образом, чтобы вся хроматограмма всегда помещалась в окне. Эта опция включается выбором команды **Вид**/ **Автомасштабирование**.

Во время приема хроматограммы опция **Автомасштабирование** действует следующим образом. Если последняя точка хроматограммы выходит за пределы окна

вправо, то окно сдвигается на пол-экрана вправо;
вниз, то проводится процедура установки нуля;
вверх, то масштаб по вертикали уменьшается вдвое.

Таким образом, в режиме *автомасштабирования* последняя точка идущей хроматограммы будет всегда находиться в пределах окна. Выключив эту опцию, можно изменять масштаб любой части идущей хроматограммы.

Компенсация дрейфа

Если при приеме данных имел место значительный дрейф сигнала, он может быть компенсирован для изображения завершенной хроматограммы с помощью команды **Вид/Компенсация дрейфа** или установки одноименного флажка на листе **Оси хроматограммы** окна **Вид** (см. ниже). При этом на экране представляется график функции

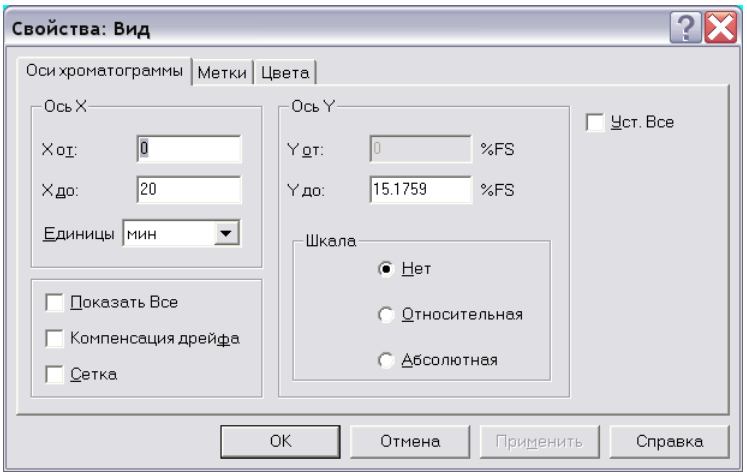
$$Y'(t) = Y(t) - [Y(T) - Y(0)]*t/T,$$

где $Y(t), Y(T), Y(0)$ - текущее, конечное и начальное[5] значение исходной функции соответственно, t - текущее значение времени, T - полная продолжительность хроматограммы. Таким образом, при компенсации дрейфа происходит выравнивание конечного значения с начальным. Если одновременно с опцией **Компенсация дрейфа** установлена опция **Все**, размеры окна устанавливаются такими, чтобы в окне помещался график *без компенсации дрейфа*.

Диалоговое окно Вид

Окно **Вид** предназначено для установки разнообразных опций изображения: пределов по осям координат и единиц по оси *X*, вида меток, способа построения графика хроматограммы, цветов различных элементов окна и проч. Окно открывается с помощью команды **Вид/Вид** или кнопки .

[5] В момент времени, указанный в поле **Задержка** в окне **Параметры разметки**.



Окно **Вид** всегда содержит три листа: **Оси хроматограммы**, **Метки** и **Цвета**, а в случае многоканальной хроматограммы - дополнительный лист **Выбор канала** (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы***/***Обработка многоканальных хроматограмм***/***Вид многоканальной хроматограммы***).

На каждом листе справа расположен флажок **Уст.все**, при установке которого все параметры, заданные на листе, применяются ко всем открытым хроматограммам, независимо от того, развернуто или свернуто окно хроматограммы.

> Все изменения, произведенные в окне Вид, при закрытии хроматограммы по умолчанию отменяются, но могут быть сохранены как в файле хроматограммы, так и в файле метода при записи на диск с помощью команд Файл/Сохранить/Хроматограмму или /Метод.

Оси хроматограммы

На листе **Оси хроматограммы** могут быть установлены следующие флажки:

Показать все - см. раздел ***Масштабирование изображения***/***Восстановление полного изображения хроматограммы***.

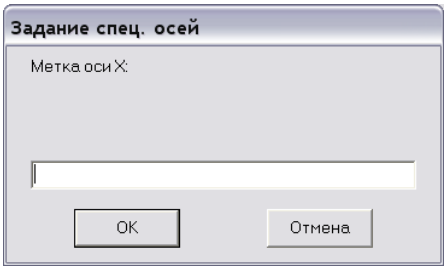
Компенсация дрейфа - см. раздел ***Масштабирование изображения***/***Компенсация дрейфа***.

Сетка - в окне хроматограммы рисуется координатная сетка.

Установки для оси X

Для оси ***X*** можно задать начальное и конечное значение (поля **X от** и **X до** соответственно), при этом в окне хроматограммы будет представлен указанный участок.

Пользователь имеет возможность также выбрать единицы измерения в списочном поле **Единицы**. Помимо стандартных единиц (*сек, мин, мкл, мл,* числа точек измерения *Nизм*) можно задать произвольные единицы, выбрав значение *Спец*. При этом открывается окно **Задание спец. осей** для ввода названия единицы с клавиатуры.



После ввода названия единиц следует ввести значения в новых единицах в поля **X от** и **X до**. При этом, в отличие от случая использования стандартных единиц, выбранный участок хроматограммы останется тем же, но изменится масштаб единиц по оси ***X.***

> Единицы для оси X, заданные в окне **Вид/Оси хроматограммы**, используются при выводе данных на экран и для графика в отчете, но не для таблиц в отчете!

Установки для оси Y

Для оси ***Y*** можно задать начальное и конечное значение (поля **Y от** и **Y до** соответственно), однако поле **Y от** доступно только в том случае, если для меток установлен переключатель **Абсолютные** (см. ниже). Выбор единиц для оси ***Y*** производится в **Таблице каналов** на листе **Каналы** окна **Настройка метода** (см. раздел ***Настройка метода***/***Каналы***).

Для оси ***Y*** можно задать различные системы меток с помощью переключателей **Метки**.

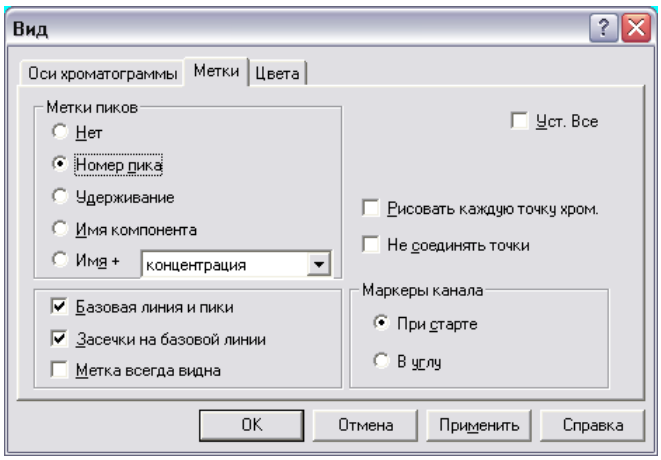
Абсолютные - задается нижний и верхний предел вдоль оси ***Y***, рисуется график для абсолютного значения сигнала. При использовании клавиш **[PageUp]/[PageDown]** график и метки перемещаются вместе.

Относительные - нижний предел автоматически устанавливается равным нулю, верхний предел задается относительно нижнего, график также рисуется для относительного значения сигнала. При использовании клавиш **[PageUp]/[PageDown]** график перемещается относительно неподвижных меток.

Нет - метки отсутствуют, в остальном аналогично установке **Относительные**.

Метки

Лист **Метки** предназначен для выбора типа меток, отмечающих пики на хроматограмме, а также некоторых опций графиков.



Метки пиков

Группа переключателей, с помощью которых задается один из возможных типов меток пиков.

Нет	метки отсутствуют
Номер пика	порядковый номер пика, установленный при разметке
Удерживание	параметр удерживания, определенный при разметке
Имя компонента	имя компонента из **Таблицы компонентов** (см. раздел ***Количественный и качественный анализ***/***Процедура градуировки: первый этап***/***Таблица компонентов***)
Имя + [*поле*]	имя компонента + данные из выбранного столбца **Таблицы пиков** (см. раздел ***Отчет***/***Таблица пиков***)

Флажки опций рисования графиков

Базовая линия и пики	устанавливает рисование базовой линии и линий разделения пиков
Засечки на базовой линии	устанавливает рисование засечек в точках начала и конца пиков. Автоматически отменяется, если отменена предыдущая опция
Метка всегда видна	устанавливает рисование меток в пределах окна. При отмене метки рисуются над пиками и могут уходить за верхнюю границу
Рисовать каждую точку хром.	устанавливает рисование каждой точки хроматограммы. Если число точек хроматограммы превышает число пикселей, несколько точек имеют на экране одну координату по оси X. При отмене опции рисуется одна точка, соответствующая среднему значению
Не соединять точки	отменяет соединение точек графика, соответствующих отдельным точкам хроматограммы

Маркеры канала

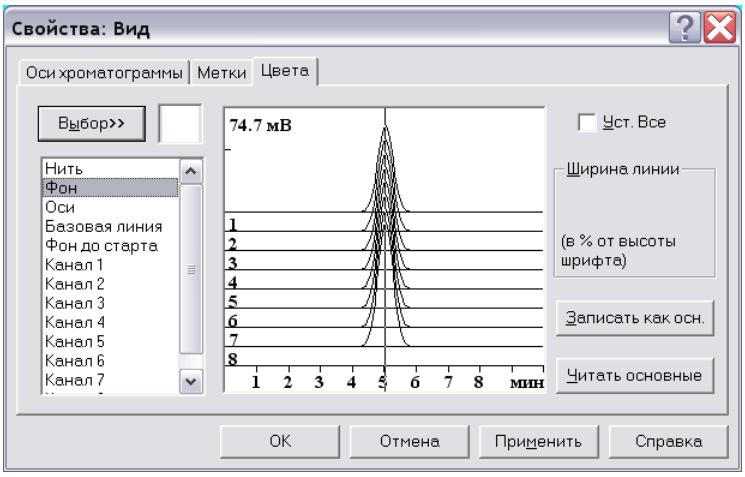
Группа переключателей, с помощью которых задается место, где пишутся имена каналов.

При старте	имена каналов пишутся в начале под линиями соответствующих графиков

В углу имена каналов пишутся в правом верхнем углу окна в порядке следования в **Таблице каналов** (раздел ***Настройка метода***/ ***Каналы***)

Цвета

Лист **Цвета** предназначен для выбора цветов отдельных элементов окна.



Элемент, для которого производится установка цвета, выбирается из списка.

Нить нить курсора

Фон окно идущей или завершенной хроматограммы

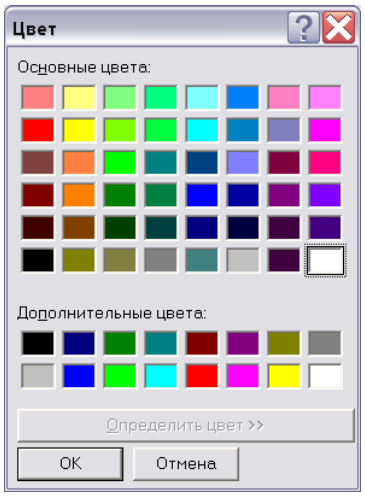
Оси оси, метки шкалы и единицы измерения

Базовая линия базовая линия и засечки на ней; линии разделения пиков.

Фон до старта окно до запуска хроматограммы (при внешнем старте)

Канал 1 …. **Канал 8** для каждого из 8 каналов: график, имя канала, а также метки пиков для *текущего* канала (раздел ***Многоканальные хроматограммы/Обработка многоканальных хроматограмм/Вид многоканальной хроматограммы***).

Кнопка **Выбор** открывает стандартную палитру *MS Windows* для выбора цвета, образец которого показывается рядом с кнопкой.



•Для выбора цвета щелкните мышью на требуемом образце и нажмите кнопку **OK**.

Для наглядного представления вносимых изменений в центре листа располагается поле с фрагментом хроматограммы, содержащее все элементы окна.

Для осей и каналов, кроме цветов, возможно также задать толщину линии, задав ее в поле **Ширина линии** (в % от высоты шрифта[6]).

- Любые установки, сделанные на листе **Цвета**, можно назначить основными, нажав кнопку **Записать как основные**. Это означает, что именно они будут использоваться в дальнейшем для всех вновь регистрируемых хроматограмм. Индивидуальные установки любой хроматограммы можно заменить на основные, нажав кнопку **Читать основные**.

> При выборе цветов необходимо помнить, что фон хроматограммы при печати всегда будет белым, независимо от установок в окне Вид. Поэтому, если предполагается печатать график хроматограммы, не рекомендуется выбирать для линий светлые цвета (желтый, голубой и пр.), так как они будут плохо видны на белом фоне.

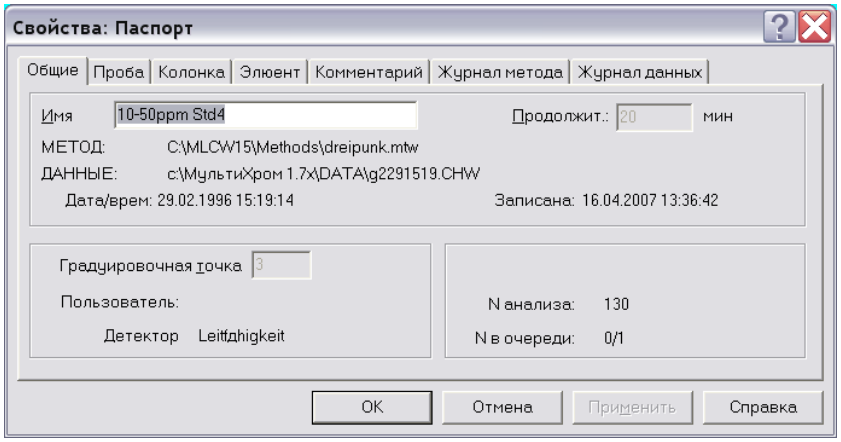
Паспорт хроматограммы

Паспорт хроматограммы - это часть метода, включающая полное описание пробы и условий анализа. Диалоговое окно **Паспорт** можно редактировать в любое время, в том числе и во время приема данных, вызвав опцию меню **Метод/Паспорт** или щелкнув мышкой по пиктограмме . Паспорт состоит из нескольких разделов - диалоговых листов, большинство из которых входит в диалоговое окно **Запуск анализа**, появляющееся при старте хроматограммы. Состав полей некоторых листов зависит от типа хроматографического процесса, который выбирается пользователем в специальном окне **Тип процесса** (см. раздел ***Настройка интерфейса***).

> Некоторые параметры, входящие в описание пробы (Объем, Разведение), столбцы (Вн.Диам., Длина, Размер частиц) и элюента (Поток) используются далее при расчетах.

Общие

Лист **Общие** содержит сводку общих данных паспорта хроматограммы. При этом большинство данных приводится для информации и недоступно для редактирования здесь. Лист **Общие** входит также в состав диалогового окна **Запуск анализа** и **Настройка метода**.



Имя: краткое имя хроматограммы (до 255 символов), используемое при дисковых операциях чтения/записи, а также заголовок, появляющийся как название окна хроматограммы (15 первых символов).
Если идет *очередь* (серия хроматограмм), заголовок берется из **Таблицы очередей**

Продолжит.: продолжительность хроматограммы. Данное поле может редактироваться при запуске метода или во время анализа. В этом случае оно содержит *заявленную продолжительность* сбора данных. Если процесс сбора данных закончен, поле содержит *реальную продолжительность* хроматограммы. Продолжительность измеряется *в единицах удерживания*, выбранных для оси X (секунды, минуты, микролитры, миллилитры, число измерений).

Выбор единиц - через меню **Вид/Вид** или пиктограмму .

---

[6] В отличие от опций окна **Вид**, которые могут задаваться индивидуально для каждой хроматограммы, параметры шрифтов устанавливаются единообразно для всех хроматограмм и задаются в меню **Глобальные настройки** (см. ***Приложение 9***).

Метод: полное имя файла метода, использованного для получения и обработки хроматограммы.
*К*аждая хроматограмма содержит *локальную копию* метода, который может быть произвольным образом модифицирован пользователем и, таким образом, отличаться от содержащегося в отдельном файле метода. Если такие различия нежелательны, можно заблокировать ряд параметров метода от изменения, установив уровень допуска *Нормальный* (см. раздел ***Система безопасности***).
Приписанное к данной хроматограмме имя метода можно изменить, хотя это и не рекомендуется делать во избежание путаницы. Для такого изменения из окна хроматограммы следует записать метод под другим именем с помощью команды **Файл/Сохранить/Метод**.

Хр-ма: имя файла хроматограммы (с указанием полного пути - см. раздел ***Настройка метода/Обработка***). Формируется автоматически из времени и даты запуска хроматограммы (см. раздел ***Файлы хроматограмм***).

Дата/время: дата и время запуска хроматограммы. Заполняется системой и не редактируется.

Записана: дата и время последней записи хроматограммы (последняя редакция). Не редактируется пользователем.

Град.точка: уровень градуировки (номер градуировочной точки), на который будут занесены данные. Рабочим (аналитическим) хроматограммам соответствует значение *0*. Пока хроматограмма не закончилась, его можно изменить. После окончания хроматограммы это можно сделать, обновляя требуемую градуировочную точку или при пакетном пересчете.

Пользователь: имя текущего пользователя. Берется системой из списка пользователей в соответствии с введенным *паролем*.

Детектор: название детектора. Заполняется системой в соответствии со значением, установленным в поле **Имя детектора** окна **Настройка метода/Измерение**.

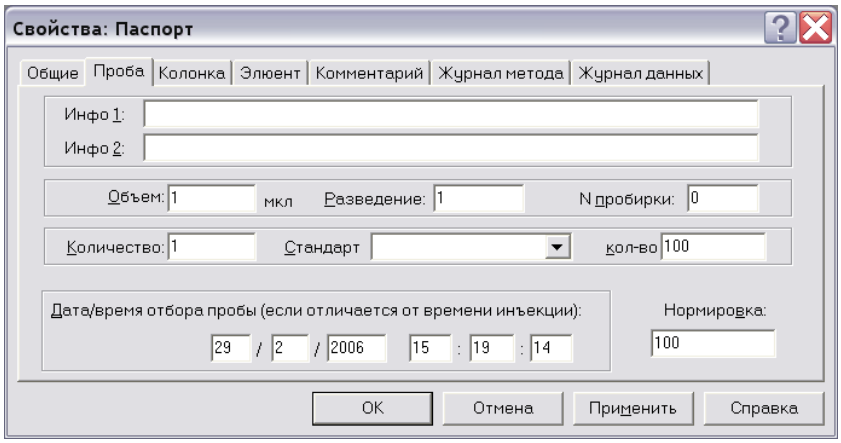
Каналов: число каналов приема данных в данной хроматограмме. Заполняется системой в соответствии со значением, установленным в поле **Число каналов** окна **Настройка метода/Измерение**.

№ анализа: номер текущего анализа. Ведется сквозная нумерация всех полученных хроматограмм с момента установки системы *МультиХром*. Этот параметр недоступен для редактирования пользователем.

№ в очереди: номер текущей хроматограммы в очереди. Представляет собой дробь: текущий номер хроматограммы/общее количество хроматограмм в очереди.

Проба

Лист **Проба** - это часть *паспорта* хроматограммы. Этот лист входит также в диалоговое окно **Запуск анализа**.



Инфо 1, Инфо 2 общее описание пробы, 2 строки до 255 знаков каждая.

Объем: объем пробы в микролитрах, по умолчанию равен 1.

Разведение: разведение исходного образца, по умолчанию равно 1.

№ пробирки: номер позиции автосамплера для отбора текущей пробы.

Количество: количество исходного образца (используется в некоторых фармацевтических методиках)[7], по умолчанию равно 1.

Стандарт: списочное поле для выбора стандарта (при использовании метода внутреннего стандарта) из числа компонентов, внесенных в **Таблицу компонентов** (см. раздел ***Количественный и качественный анализ/Таблица компонентов***).

Кол-во: количество стандарта, по умолчанию равно 100.

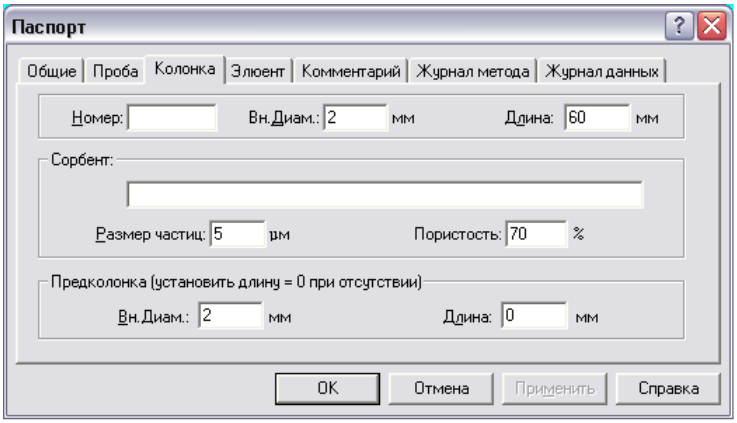
> Если идет серия анализов, все перечисленные параметры берутся из Таблицы очереди.
>
> Значения полей Объем, Разведение, Количество, Кол-во внутреннего стандарта используются при расчете концентраций, поэтому во избежание ошибок эти поля должны быть заполнены до окончания хроматограммы.

Дата и время отбора пробы: по умолчанию в момент запуска хроматограммы программа вводит в это поле текущее значение даты и времени, после чего пользователь может внести необходимые изменения, которые далее будут сохранены.

Нормировка доля вещества, состав которого должен быть определен при выполнении данного анализа, от общего количества вещества в пробе, % (по умолчанию равно 100).

Колонка. Капилляр

Третьим листом *паспорта* хроматограммы является лист **Колонка** (для ЖХ или ГХ) или **Капилляр** (для КЭ, см. раздел ***Капиллярный электрофорез/Паспорт/Капилляр***).



Номер: серийный номер колонки, до 12 символов.

Вн.Диам.: внутренний диаметр колонки в миллиметрах.

Длина: длина колонки в миллиметрах. Используется для расчета линейной скорости подвижной фазы и эффективности колонки на единицу длины.

Сорбент: описание сорбента колонки, до 255 символов.

Размер частиц: размер частиц сорбента в микронах.
Используется для расчета приведенной высоты теоретической тарелки

Пористость: характеристика сорбента = % геометрического объема колонки, занимаемый элюентом. Используется для расчета мертвого времени. Поле доступно для ввода данных только при выборе метода расчета мертвого времени *Из мертвого объема* (см. раздел ***Настройка метода/Формулы***).

> Такие параметры как Вн. Диам., Длина, Мертвый объем и Размер частиц используются в дальнейшем при расчетах.

Предколонка:

Вн. Диам.: внутренний диаметр колонки в *мм*.

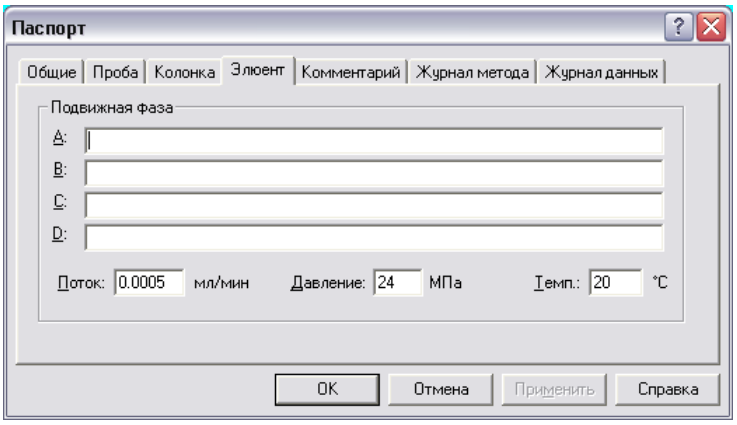
Длина: длина колонки в *мм* (если нет предколонки, устанавливается значение *0*).

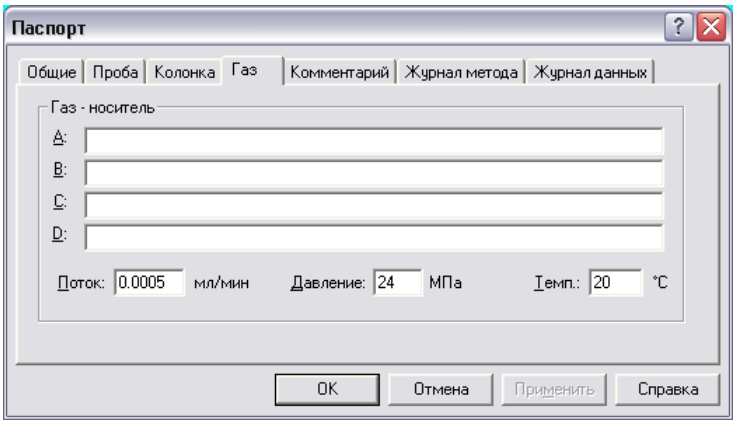
Элюент. Газ. Электрофорез

Четвертым листом *паспорта* хроматограммы является лист **Элюент** (для ЖХ), **Газ** (для ГХ) или **Электрофорез** (для КЭ, см. раздел ***Капиллярный электрофорез/Паспорт/Электрофорез***). Листы **Элюент** и **Газ** имеют одинаковый набор полей и отличаются только заголовками.

---

[7] Может быть использовано также в качестве нормирующего коэффициента, например, при определении содержания компонента на единицу веса образца, использованного для приготовления пробы.





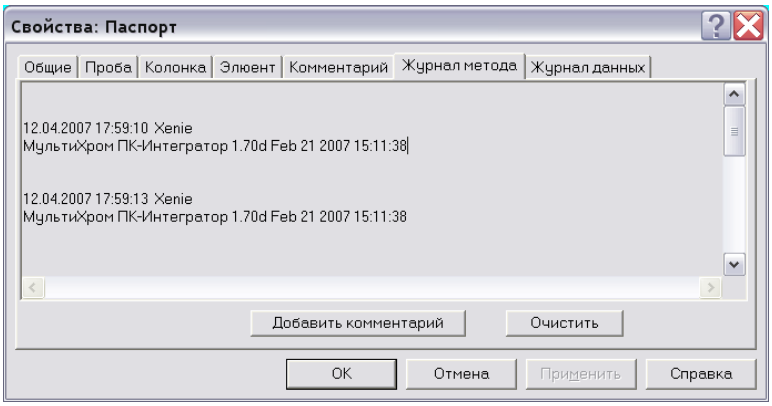
A,B, C, D	состав подвижной фазы в насосах A, B, C, D (ЖХ) или компоненты газовой смеси (ГХ)
Поток	объемная скорость подвижной фазы в единицах, заданных в окне **Общие настройки** (см. ***Приложение 3***, раздел ***Другие настройки/Единицы хроматограммы***). Используется для перехода от временных единиц удерживания к объемным.
Давление	давление на входе колонки в единицах, заданных в окне **Общие настройки** (см. там же)
Темп.	температура термостата колонки, °C

Комментарий

Лист **Комментарий** предназначен для ввода дополнительной информации, не вошедшей в другие разделы паспорта. Объем вводимого текста может составлять несколько печатных страниц.

Журнал метода

На листе **Журнал метода** автоматически фиксируются все изменения, вносимые в метод.



При открытии хроматограммы или метода автоматически записываются следующие данные:

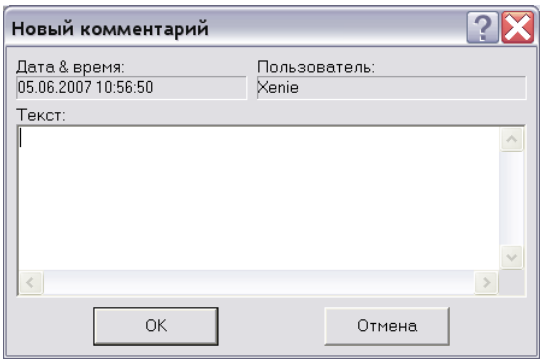
дата и время;
фамилия пользователя;
данные используемой версии программы *МультиХром*;
а также сообщения об ошибках, если они возникли при чтении файла.

Если никакие изменения в метод не вносятся, при закрытии метода или хроматограммы эта запись будет удалена.

При внесении любого изменения в метод автоматически записываются следующие данные:

дата и время;
имя пользователя;
характер внесенных изменений;
имя хроматограммы-прототипа, если метод записывался под новым именем при внесении изменений в хроматограмму;
имя файла, в котором были записаны измененные данные.

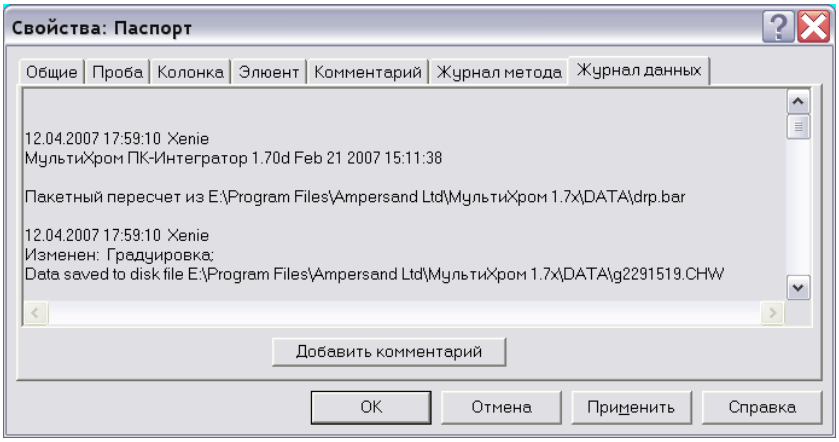
В протокол также можно внести произвольный комментарий, нажав кнопку **Добавить новый**. При этом открывается окно **Новый комментарий**, в который следует ввести текст с клавиатуры и нажать кнопку **ОК**. При записи комментария дата и имя пользователя добавляются автоматически.



Пользователь с правами администратора может полностью удалить записи протокола, нажав кнопку **Очистить**. При этом также откроется окно **Новый комментарий** (текст комментария можно не вводить). При нажатии кнопки **ОК** это окно закрывается, а на месте удаленных записей появляется единственная запись с датой и именем пользователя, который выполнил эту процедуру.

Журнал данных

На листе **Журнал данных** автоматически фиксируются все изменения, вносимые в хроматограмму.



При записи хроматограммы вначале создается запись, содержащая информацию о равномерности приема данных, а также сведения об ошибках регистрации их исправлении в тех случаях, когда это возможно.

При открытии хроматограммы или метода автоматически записываются следующие данные:

дата и время;
фамилия пользователя;
данные используемой версии программы *МультиХром* ;

Если никакие изменения в метод не вносятся, при закрытии метода или хроматограммы эта запись будет удалена.

При несении любого изменения в хроматограмму автоматически записываются следующие данные:

дата и время;
имя пользователя;
характер внесенных изменений;
имя файла, в котором были записаны измененные данные.

В протокол также можно внести произвольный комментарий способом, описанным в предыдущем разделе.

При создании копии хроматограммы все данные протокола сохраняются, а при запуске новой хроматограммы (команда **Измерение/Перезапустить метод**) протокол полностью очищается.

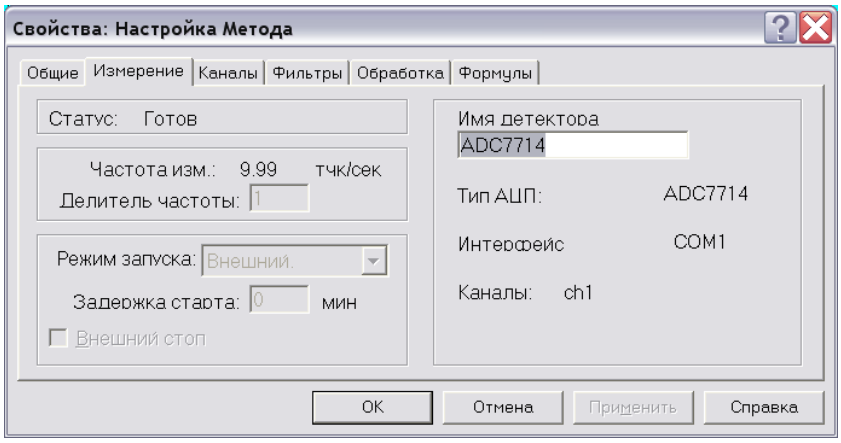
Настройка метода

Настройка метода - это часть метода, хранящая параметры настройки таких операций как прием данных, фильтрация шумов, действия по окончании хроматограммы, а также основные расчетные формулы.

Диалоговое окно **Настройка метода** можно открыть командой **Метод /Настройка метода** или щелчком мышкой по пиктограмме . Окно **Настройка метода** содержит несколько разделов - диалоговых листов, первым из которых так же, как и для окон **Паспорт** и **Запуск анализа**, является лист **Общие** (см. раздел ***Паспорт хроматограммы/Общие***). Некоторые листы окна **Настройка метода** входят также в диалоговое окно **Запуск анализа**, появляющееся при старте хроматограммы.

Измерение

Лист **Измерение** диалогового окна **Настройка метода** предназначен для редактирования и контроля некоторых общих параметров, определяющих процесс сбора данных. Лист **Измерение** входит также в состав диалогового окна **Запуск анализа**, появляющегося при запуске хроматограммы.



Статус — сообщение системы о текущем состоянии хроматографического процесса (см. ***Приложение 8***).

Частота изм. — информирует о частоте сбора данных для хроматограммы. Зависит от типа АЦП и параметра **Делитель частоты**.

Делит. частоты — определяет, во сколько раз частота приема данных для текущей хроматограммы меньше максимальной для данного АЦП. Значение делителя частоты можно непосредственно изменить при редактировании метода или при запуске хроматограммы. Для уже полученной хроматограммы используйте опцию **Обработка**/**Еще**/**Сжатие** для определения оптимального значения делителя частоты. Значение делителя выбирается так, чтобы самый узкий пик содержал не менее 30 точек.

Задержка старта — задержка старта хроматограммы по отношению к моменту ее запуска оператором. При приеме данных по прошествии указанного времени происходит сброс к началу отсчета времени, ранее полученные данные не сохраняются.

Режим запуска — способ синхронизации запуска хроматограммы. Режим запуска можно изменить при редактировании метода или же при запуске хроматограммы.

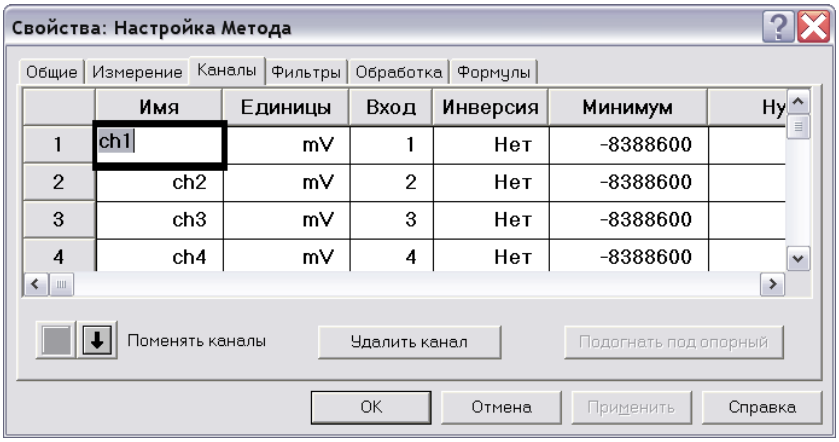
- *Ручной* — хроматограмма запускается сразу же при нажатии кнопки **OK** в окне **Запуск анализа**. При этой установке запуск также происходит по команде **Измерение/Внешний старт** или нажатии кнопки .
- *Внешний* — сбор данных начинается только после замыкания контактов кнопки дистанционного запуска или.

Внешний стоп — установка данного флажка дает возможность завершения хроматограммы повторным нажатием кнопки внешнего запуска и удерживании ее в течение времени, необходимого для приема не менее 25 точек хроматограммы: 2,5 сек при частоте сбора 10 Гц или 1 сек при частоте 50(60) Гц (независимо от установки делителя частоты).

Имя детектора	название детектора (тип детектора, длина волны и т.д.). Произвольно определяется пользователем, например, УФ254 нм или ДИП.
Тип АЦП	тип АЦП из одноименного поля окна **Настройка АЦП** (см. ***Приложение 1/ Настройка АЦП***).
Интерфейс	порт, к которому подключен АЦП.
Каналы	имена каналов, используемые для приема данных.

Каналы

Лист **Каналы** содержит **Таблицу каналов** (см. ***Приложение 1***/***Настройка АЦП***/***Параметры каналов***), в которую можно вносить изменения, влияющие на вид хроматограммы. Кроме того, в **Таблице каналов** в столбце *Шум* содержатся данные о шуме в каждом измерительном канале. Эти величины рассчитываются автоматически по окончании приема хроматограммы и сохраняются неизменными независимо от дальнейшей обработки хроматограммы, связанной с изменением числовых данных (сжатие, фильтрация, урезание хроматограммы). Об алгоритме расчета величины шума см. ***Приложение 11***.



Для каждого канала можно независимо редактировать значения в столбцах *Имя, Единицы, Диапазон.* Кроме того, для многоканальных хроматограмм можно выполнять ряд специальных процедур: изменять порядок расположения графиков различных каналов, исключать отдельные каналы, задавать временной сдвиг относительно *опорного* канала (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы***/***Обработка многоканальных хроматограмм***/ ***Таблица каналов***).

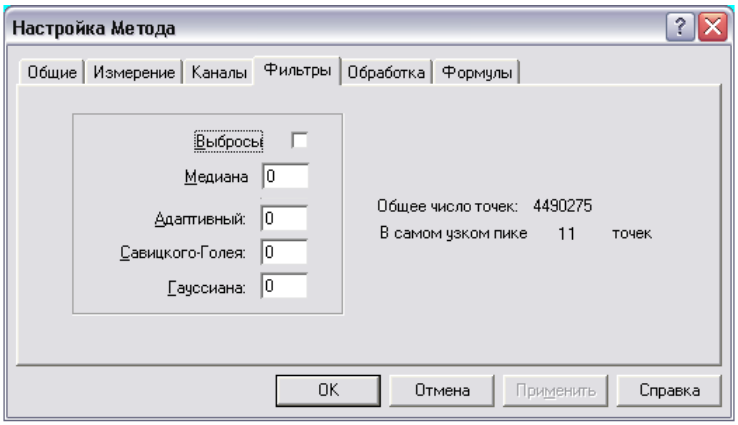
- Для того чтобы изменить значения в столбцах Имя, Единицы или Диапазон, щелкните мышью по нужной ячейке и введите новое значение.

Все процедуры можно выполнять как для завершенных хроматограмм, так непосредственно в процессе получения хроматограммы. В последнем случае все сделанные изменения будут автоматически сохранены при ее записи. Для сохранения изменений в ранее записанной хроматограмме необходимо специально выбрать команду **Файл/Сохранить/Хроматограмма**.

Если лист **Каналы** открыт из *метода*, он не может редактироваться. Для внесения каких-либо изменений в файл метода, их сначала следует внести в лист **Каналы**, открытый для хроматограммы, а затем выбрать команду **Файл/Сохранить/Метод**. При этом в файле метода могут быть сохранены все изменения, сделанные на листе **Каналы**, кроме тех, которые были внесены в столбцы *Единицы* и *Диапазон* - в этих столбцах при запуске метода автоматически устанавливаются значения, введенные в **Таблицу каналов** при настройке интерфейса (см. ***Приложение 1***).

Фильтры

Лист **Фильтры** предназначен для задания параметров цифровой фильтрации шумов, которая используется для увеличения кажущегося отношения сигнал-шум.



В программе предусмотрено несколько алгоритмов фильтрации шумов:

фильтрация одиночных выбросов,
фильтрация по медиане,
фильтрация с помощью адаптивного фильтра,
фильтрация методом Савицкого-Голея,
фильтрация по Гауссу.

Фильтр *одиночных выбросов* (флажок **Выбросы**) изменяет первую и последнюю точку хроматограммы, а также точки, идентифицированные как одиночные выбросы. Одиночный выброс заменяется половиной суммы значений для двух соседних точек. Фильтр одиночных выбросов не искажает форму хроматографических пиков. Его целесообразно использовать практически всегда, даже при отсутствии видимых выпадающих точек, так как он корректирует первую и последнюю точки, нередко имеющие экстремальные значения, которые при использовании опции **Показать все** задают масштабирование, далекое от оптимального для рабочей области хроматограммы.

При использовании фильтров **Медиана, Адаптивный, Савицкого-Голея, Гауссиана** для каждой точки хроматограммы производится замена измеренного значения величиной, полученной путем обработки измерений для группы ближайших точек, число которых задается величиной *щели*. Алгоритм обработки определяется типом фильтра.

Фильтр **Медиана**. При медианной фильтрации значения в пределах щели сортируются в порядке возрастания. Отклик, соответствующий середине щели, заменяется другим значением, попадающим в центр отсортированного массива. Этот метод хорошо сглаживает базовую линию, не меняет форму пика на склонах и очень эффективно устраняет отдельные выбросы (в этом случае выброс заменяется на одну из соседних точек). Однако он слегка "приглаживает" вершины пиков и ложбины между пиками и может изменять как высоту, так и площадь хроматографических пиков.

Фильтр **Адаптивный** использует оригинальный алгоритм предельного подавления шумов, разработанный в ЗАО «Амперсенд». При этом обеспечивается:

- минимальный доверительный интервал для каждой точки;
- максимальное подавление шума, без повреждения формы пика;
- правильная обработка резких изменений сигнала;
- правильные оценки ошибок измерения высоты и площади пика.

Адаптивный фильтр доступен при включении соответствующей опции в лицензию.

Фильтр **Савицкого-Голея**. Применение этого фильтра состоит в построении методом наименьших квадратов аппроксимирующего полинома для точек в пределах щели и заменой измерения для центральной точки расчетным значением с использованием этого полинома. Этот метод не изменяет форму, величину площади и высоты «нормальных» пиков, однако вносит значительные искажения при обработке участков с резкими перепадами амплитуды сигнала.

Фильтр **Гауссиана**. В случае использования этого фильтра вычисляется среднее взвешенное значение всех точек в пределах щели с весом, распределенным по функции Гаусса с центром в середине щели, результат используется как новое значение сигнала для этой точки. Гауссов фильтр, по сравнению с медианным, дает лучшее визуальное сглаживание собственно пиков, но меньше сглаживает шумы базовой линии. Пики после сглаживания становятся ниже и шире, но их площадь при этом не меняется.

Величина щели вычисляется по формуле: ***Число точек = (2*Степень сглаживания + 1)***, где ***Степень сглаживания*** – число, заданное пользователем в поле рядом с названием метода фильтрации. Если степень сглаживания равна 0, фильтрация соответствующим способом не производится.

В качестве первоначального значения **Степени сглаживания** рекомендуется для всех фильтров, кроме **Медианы**, установить примерно четверть величины, указанной в поле **В самом узком пике**, а в случае, если предварительно использовалась процедура оптимального сжатия хроматограммы (см.раздел ***Дополнительная обработка хроматограммы/Сжать***) – значение *5*.

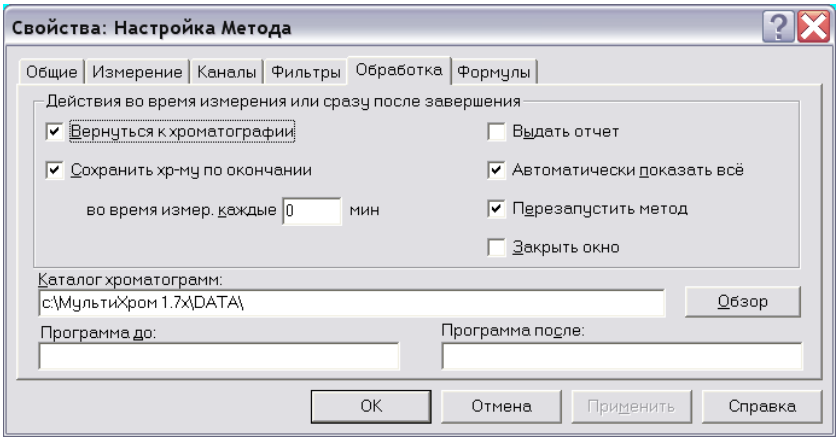
Далее следует сравнить результаты фильтрации, которые получаются при изменениях ширины щели в 1.5 - 2 раза в обе стороны. Учитывая полученный результат, можно продолжить поиск оптимального значения щели. Для **Медианы** рекомендуется установить *1* и не изменять это значение – в этом случае будет обеспечиваться эффективное сглаживание выбросов на базовой линии без заметного искажения вершин пиков и долин между ними.

Наилучший результат с наименьшими затратами времени на настройку процедуры фильтрации достигается при использовании фильтра **Адаптивный**, при этом, как правило, нет необходимости применять другие фильтры. Его целесообразно использовать, если требуется предельное снижение влияния шумов (увеличение отношения сигнал/шум), например, в соответствии с той или иной фармакопейной статьей или при очень низких концентрациях веществ. В других случаях можно обойтись без этой опции, приобретаемой дополнительно, выбирая тот или иной фильтр в зависимости от специфики задачи. Возможно одновременное использование нескольких фильтров, при этом программа производит обработку хроматограммы последовательно в том порядке, как это представлено в окне **Фильтры** – начиная с применения фильтра отдельных выбросов.

> Применение фильтров имеет обратимый характер: при восстановлении для всех фильтров параметров по умолчанию вновь будут представлены в полном объеме исходные данные хроматограммы, как это требуется согласно GLP.

Обработка

Лист **Обработка**, входящий также в диалоговое окно **Запуск анализа**, позволяет определить набор операций, выполняемых программой автоматически по окончании хроматограммы.



Вернуться к хроматографии — флажок устанавливается при работе с несколькими приложениями, для того чтобы по окончании каждой хроматограммы происходило автоматическое возвращение в программу *МультиХром*.

Сохранить хр-му по окончании — при установке флажка хроматограмма будет записана на диск автоматически, сразу после окончания анализа.

Если при этом в поле **во время измер. каждые *xxx* мин** ввести отличное от *0* значение, идущая хроматограмма будет сохраняться с указанным интервалом времени. Это поможет избежать потери данных на первых порах, при освоении системы *МультиХром*. В дальнейшем рекомендуется устанавливать в этом поле *0*, чтобы не записывалось множество ненужных файлов.

Показать все — при установке флажка вся хроматограмма показывается сразу после ее окончания.

Выдать отчет — при установке флажка по окончании хроматограммы автоматически выдается отчет (в соответствии с установками окна **Опции отчета**).

Перезапустить метод — при установке флажка по окончании хроматограммы метод автоматически перезапускается, образуя бесконечный цикл хроматограмм. Если число хроматограмм заранее известно, лучше использовать более гибкий механизм *очередей*. Этот флажок не может быть установлен одновременно со следующим

Закрыть окно — при установке флажка окно хроматограммы по ее завершении закрывается. Этот флажок не может быть установлен одновременно с предыдущим.

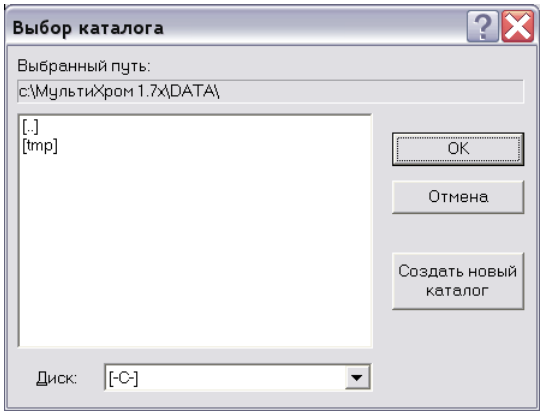
Каталог хроматограмм — полное название каталога на диске, в котором будут сохранены хроматограммы, полученные данным методом. Для смены каталога используется кнопка **Обзор** (см. ниже), возможно также редактирование строки с клавиатуры

Программа до — имя программы (или командного файла), запускаемой перед началом хроматограммы. Может использоваться для инициализации приборов, запуска какого-то процесса и т.д. Если программа находится в каталоге *c:* или *c:\mlcw17*, достаточно написать только ее имя, в остальных случаях – полный путь.

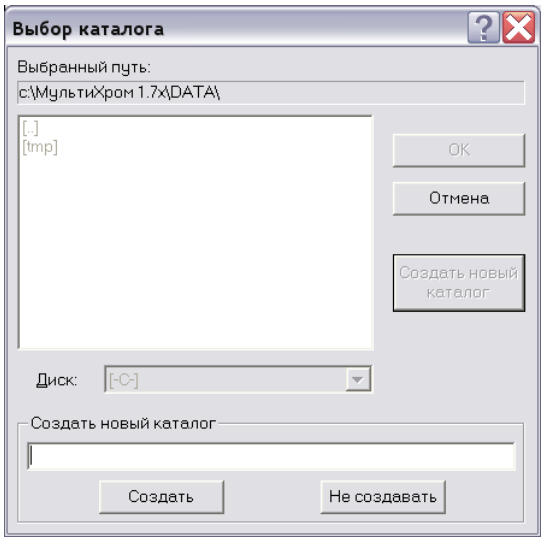
Программа после — имя программы (или командного файла), запускаемой после окончания хроматограммы. Используется, например, для передачи отчета в базу данных, электронную таблицу или другую программу, для вызова программы обработки результатов анализа, и т.д.

Для смены каталога, в который будет записана хроматограмма, выполните следующее.

- Щелкните мышью по кнопке **Обзор**. Откроется окно **Выбор каталога**.



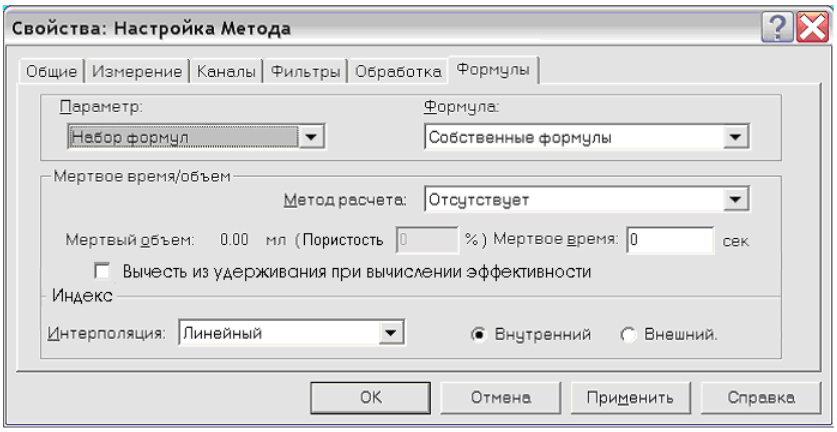
- Для выбора каталога на текущем диске щелкните мышью по строке […] и далее выберите каталог из открывшегося списка.
- Для перехода на другой диск выберите его в списочном поле **Диск**.
- Для создания нового каталога нажмите кнопку **Создать новый каталог**. Внизу окна добавится одноименное поле.



- Введите имя создаваемого каталога и нажмите кнопку **Создать**.
- Завершите выбор каталога, нажав кнопку **ОК**.

Формулы

Лист **Формулы** позволяет выбрать основные зависимости, используемые для расчета *эффективности колонки*, *мертвого времени, индексов удерживания*, *разрешения* и *асимметрии пиков*, а также *сигнала вычисляемого канала* для многоканальных хроматограмм.



Списочные поля **Параметр** и **Формулы** позволяют выбирать различные варианты наборов формул для расчета *эффективности колонки*, *разрешения* и *асимметрии пиков*. Для многоканальных хроматограмм к списку параметров добавляются формулы для расчета сигнала вычисляемого канала.

Если в поле **Параметр** устанавливается значение *Набор формул*, в поле **Формулы** можно выбрать один из трех списков: список изменяемого состава *Собственные формулы*, фиксированные списки *Европейская фармакопея*[8] или *Фармакопея США*.

Если в поле **Параметр** устанавливается одно из следующих значений: *Время удерживания, Теоретические тарелки, Разрешение, Асимметрия*, в поле **Формула** либо можно выбрать формулу для расчета указанного параметра из списка (если первоначально был задан набор *Собственные формулы*), либо в нем будет стоять нередактируемая формула из заданного фиксированного списка (все формулы из фиксированных списков есть также и в списке *Собственные формулы*).

> При смене формулы для времени удерживания изменяется не только сама эта величина, но и ряд других, от нее зависящих (см. формулы в разделе Отчет/Таблица пиков).

Параметр	***Формула*** (обозначения см. в разделе ***Отчет/Таблица пиков***)		
Набор формул	***Собственные формулы***	***Фармакопея США***	***Европейская фармакопея***
Время удерживания	**[1]** Вершина пика **[2]** Цент тяжести пика (1й момент) **[3]** Половина площади (медиана)	**[1]**	**[1]**
Теоретические тарелки	**[1]** 2*π*(T*H/A)^2 **[2]** 5.54*(T/W)^2|50% **[3]** 16*(T/W)^2|BL **[4]** (M1^2)/M2	**[3]**	**[2]**
Разрешение	**[1]** (T1-T)/(W1+W)|60.7% **[2]** 1.18*(T1-T)/(W1+W)|50% **[3]** 2*(T1-T)/(W1+W)|BL	**[3]**	**[2]**
Асимметрия*	**[1]** WT/WF|10% **[2]** W/(2•WF)|05%	**[2]**	**[2]**
Вычисляемый канал (см.раздел ***Многоканальные хроматограммы/.../ Вычисляемый канал***)	**[1]** Отсутствует **[2]** Сумма s/n (отношений сигнал/шум) **[3]** Средний отклик **[4]** Сигнал/Время		

T – время удерживания текущего пика, T1 – время удерживания пика, следующего за текущим.
W – ширина текущего пика (полная) , W1 – ширина пика, следующего за текущим; WF – ширина пика до вершины, WT - ширина пика после вершины; |X% – измерение ширины пиков по уровню X% (для всех значений ширины, входящих в формулу), |BL – измерение ширины пиков по базовой линии.
M1, M2 – первый и второй статистический момент соответственно.

---

[8] Краткое обозначение фармакопеи европейских стран, включая Россию, а также Японии.

Область **Мертвое время/объем:**

Списочное поле **Метод расчета мертвого объема:**

Отсутствует — *мертвое время* считается константой и вводится вручную, в расположенное ниже поле **Мертвое время**;

Первый компонент — пик, соответствующий первому компоненту хроматограммы, служит маркером *мертвого времени*. Если первый компонент не найден, используется его ожидаемое время удерживания;

Первый пик — первый пик хроматограммы служит маркером *мертвого времени*;

Из мертвого объема % — *мертвое время* =(*мертвый объем %* /100)x(геометрический объем колонки)/(скорость потока элюента).

Поле **Мертвый объем** – величина мертвого объема в мл, рассчитываемая из геометрических размеров колонки и пористости сорбента. Величина пористости в % вводится либо в расположенное далее поле **Пористость (%)**, либо в поле **Мертвый объем %** в окне **Колонка** (см. раздел ***Паспорт хроматограммы/Колонка. Капилляр***).

Поле **Мертвое время** – величина мертвого времени, рассчитанная или введенная вручную, в соответствии с выбором метода в поле **Метод расчета мертвого объема**.

Флажок **Вычесть мертвое время при вычислении эффективности** позволяет вводить учет мертвого времени при вычислении эффективности.

Область **Индекс удерживания** (см. раздел ***Количественный и качественный анализ***/***Индексы удерживания***)**:**

Списочное поле **Интерполяция –** выбор интерполяционной формулы для расчета индексов

Линейный — расчет линейных индексов

Логарифмический — расчет логарифмических индексов (индексов Ковача)

Переключатели

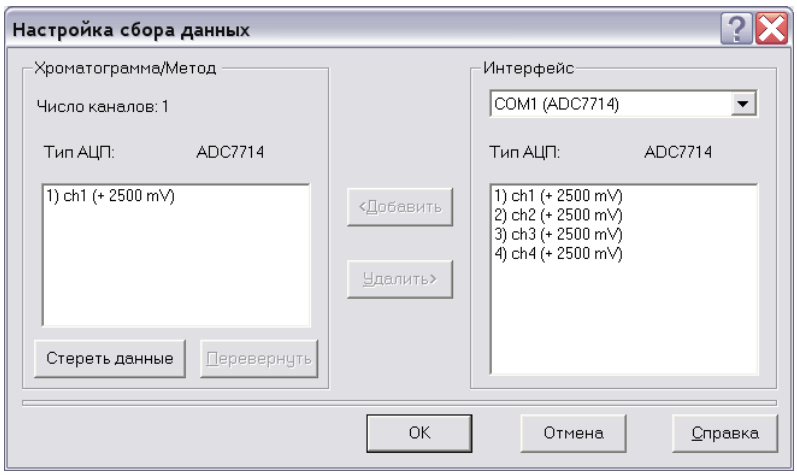
Внутренний — использование внутренней (т.е. построенной на основе текущей хроматограммы) шкалы индексов удерживания

Внешний. — использование внешней (т.е. построенной на основе другой, градуировочной хроматограммы) шкалы индексов удерживания

Настройка сбора данных

Процедура **Настройка сбора данных** используется для смены интерфейса, а также для изменения числа и/или набора используемых каналов. Она выполняется следующим образом.

- Откройте исходный метод или хроматограмму.
- Выберите команду **Метод**/**Настройка сбора данных**. Откроется одноименное окно.



Окно разделено на две области со списками каналов. Левая область, имеющая заголовок **Хроматограмма/Метод**, содержит сведения о каналах, используемых текущим методом (число и список каналов), а также тип АЦП (имя протокола). Правая область, имеющая заголовок **Интерфейс**, содержит сведения об интерфейсе: порт и название устройства (списочное поле), тип АЦП, а также список каналов из **Таблицы каналов** интерфейса (см. ***Приложение 1***).

В списках каналов представлены следующие данные:

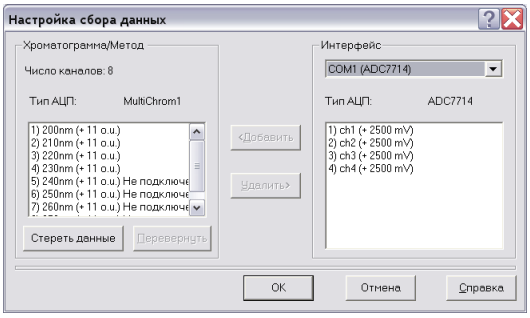
номер входа;
имя канала;
диапазон с указанием *полярности* сигнала и *единиц измерения* (в скобках).

Состав информации, содержащейся в обеих областях окна, различается для случаев метода и хроматограммы.

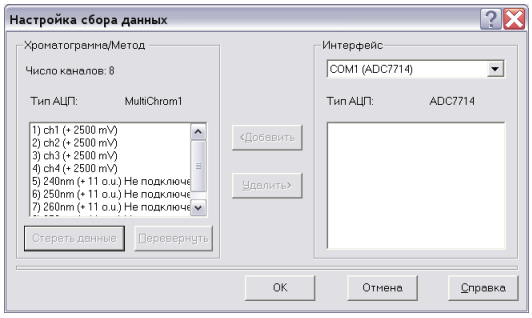
	Область **Хроматограмма/Метод**	Область **Интерфейс**
Метод	*Тип интерфейса* - указанный в области **Интерфейс**. *Список каналов* - каналы метода с теми именами, которые указаны для соответствующих входов в **Таблице каналов** текущего интерфейса.	*Список каналов* - только свободные каналы интерфейса (не вошедшие в список метода). Возможно перемещение каналов между списками интерфейса и метода.
Хроматограмма	*Тип интерфейса* - использовавшийся при приеме хроматограммы. *Список каналов* - каналы метода с теми именами, которые были при приеме хроматограммы (не редактируется).	*Список каналов* - все каналы из **Таблицы каналов** интерфейса (не редактируется).

При смене интерфейса возможна ситуация, когда входы, указанные для каналов метода, отсутствуют в интерфейсе. Такие каналы сохраняются в списке метода с исходными именами и получают отметку *Не подключен.*

- Для того чтобы сменить интерфейс, выберите требуемое значение в списочном поле области **Интерфейс**. При этом изменятся тип АЦП и список каналов, причем для метода изменения в списке каналов[9] произойдут в обеих областях окна, а для хроматограммы – только в области **Интерфейс**.
- Для того чтобы отредактировать список каналов метода, выполните следующее.
  - Если процедура выполняется из окна хроматограммы, щелкните мышью по кнопке **Стереть данные**. При этом окно хроматограммы закрывается, открывается окно ее метода, и соответственно изменяется информация в окне **Настройка сбора данных**.



Хроматограмма



Метод

  - Для того чтобы удалить какие-либо каналы из списка метода, выделите их, щелкнув по каждому из них мышью, а затем нажмите кнопку **Удалить**.

> Если в списке имеются каналы с отметкой Не подключен, они должны быть удалены обязательно!

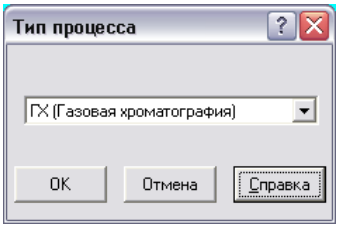
  - Для того чтобы добавить какие-либо каналы в список метода, выделите их в списке интерфейса, а затем нажмите кнопку **Добавить**.
  - Для того чтобы изменить знак сигнала каких либо каналов (только в списке метода), выделите их, а затем нажмите кнопку **Перевернуть**. При этом знак, указанный в строке канала, изменится на противоположный.
- Завершите настройку сбора данных, нажав кнопку **ОК**. Окно **Настройка сбора данных** закроется.
- Запишите измененный метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод** или подтвердив сохранение изменений при закрытии окна метода.

[9] Число каналов и тип интерфейса изменятся при закрытии и повторном открытии окна.

Настройка интерфейса в зависимости от типа хроматографического процесса

Интерфейс ПО *МультиХром* может быть настроен для *жидкостной хроматографии* (*ЖХ*) , *газовой хроматографии (ГХ)* или *капиллярного электрофореза (КЭ)* . Различия касаются третьего (**Колонка** или **Капилляр**) и четвертого (**Элюент**, **Газ** или **Электрофорез**) листов паспорта, разделов отчета в окне **Опции отчета**, а также файлов шаблона отчета. В поставочный набор файлов методов включены файлы всех 3 типов, на основе которых можно создавать собственные методы. Однако из любого файла метода можно сделать метод для процесса другого типа, выполнив следующее.

- Откройте какой-либо файл метода, на основе которого будут создаваться метод для другого типа хроматографического процесса.
- Выберите команду **Метод/Тип процесса** – откроется одноименное окно.

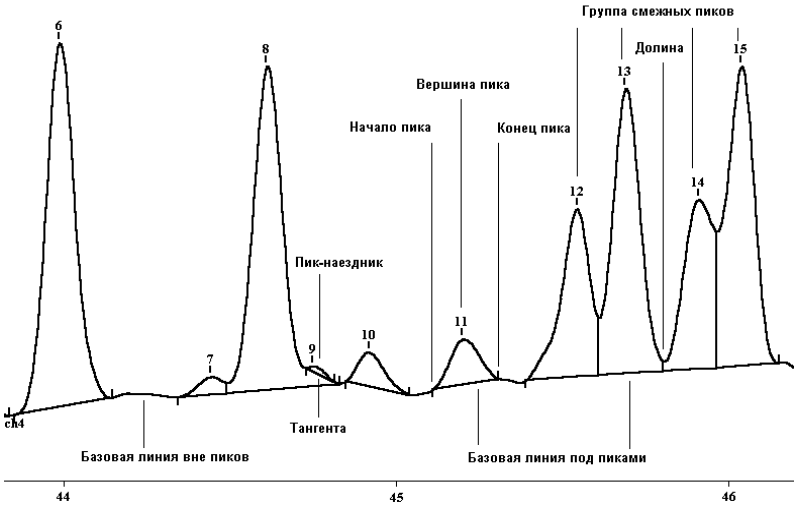


- В списочном поле выберите тип процесса:
- ЖХ (Жидкостная хроматография);
- ГХ (Газовая хроматография);
- КЭ (Капиллярный электрофорез)
- и нажмите кнопку **ОК**.
- Введите необходимую информацию в измененных окнах, обратив внимание на следующее.
  - В окне **Опции отчета** выберите файл шаблона, соответствующий типу процесса.
  - Для капиллярного электрофореза внесите дополнительные параметры на листе **Комментарий** окна **Паспорт**.
- Запишите метод.

Интегрирование

Одной из наиболее важных процедур является разметка хроматограммы на *пики*. Процедура поиска пиков называется *интегрированием*. Интегрирование включает в себя определение *особых точек* пиков (*начало*, *конец*, *вершина, долина*) , построение *базовой линии* , а также вычисление таких характеристик пиков, как время удерживания, высота и площадь.

В состав программы *МультиХром* входит встроенный *детектор пиков* для автоматической разметки, дополненный механизмом включения *событий интегрирования*, а также *редактор пиков* для ручной коррекции.



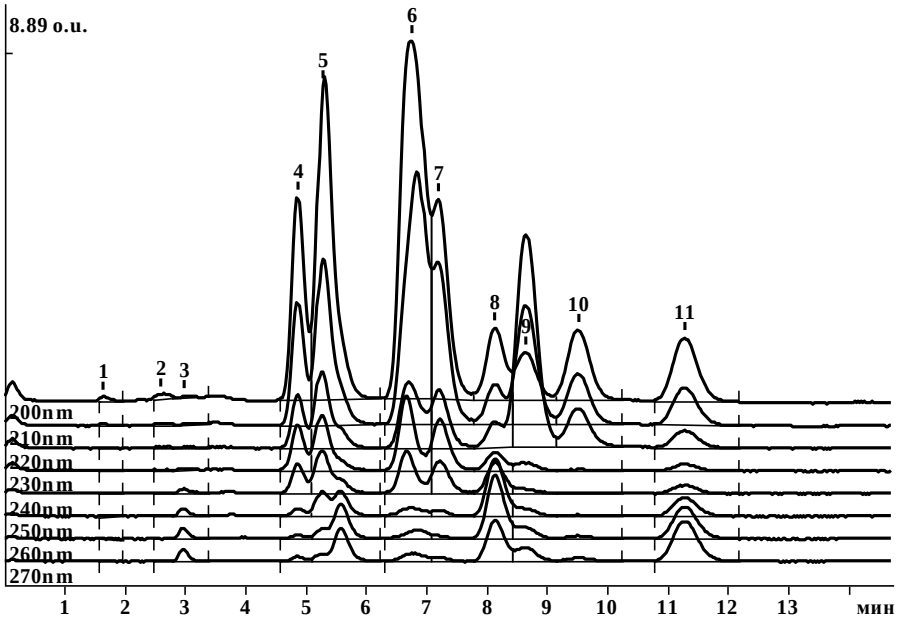
Определение точек начала и конца пика производится по изменению наклона хроматографической кривой, превышающему изменения, обусловленные шумом регистрируемого сигнала. Вершиной является точка между началом и концом пика, в которой достигается максимальное значение сигнала.

Обычно величиной, характеризующей содержание компонента в анализируемой смеси, является площадь пика, ограниченная сверху хроматографической кривой, а снизу - базовой линией. В области пиков базовой линией является прямая, соединяющая начало и конец пика, вне пиков - совпадает с профилем хроматограммы.

Нередко новый пик начинается раньше, чем завершается предыдущий. Такие пики объединяются в группу *смежных пиков*, для которых проводится общая базовая линия от начала первого до конца последнего пика. Общая точка двух смежных пиков называется *долиной*, а их границей служит вертикальная линия, проведенная из этой точки до пересечения с базовой линией.

Если один из смежных пиков существенно меньше второго и располагается на его склоне, разделение по вертикальной линии приводит к большой ошибке определения площади. В этом случае предусмотрено разделение по линии тангенциально спуска (*тангенте*), которая проводится с помощью специальной процедуры. Пик, отделяемый тангентой, называется *пиком-наездником*.

В случае многоканальной хроматограммы положения начала, вершины и конца пика совпадают для всех каналов хроматограммы, в соответствии с разметкой, выполненной по одному из каналов. Часто для разметки многоканальных хроматограмм используется *вычисляемый* канал *Сумма s/n* или *Средний отклик* (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы***/***Обработка многоканальных хроматограмм***/***Вычисляемый канал***), что обеспечивает обнаружение всех пиков, проявляющихся хотя бы на одном из каналов.

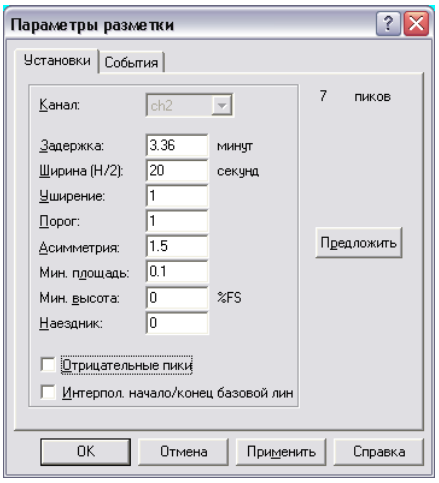


Для многоканальных хроматограмм возможно дополнительное уточнение разметки с использованием *модуля факторного анализа* (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы /Обработка многоканальных хроматограмм/Факторный анализ***). С его помощью возможно разделить два смежных пика, в обычных хроматограммах не разделяющихся из-за сильного перекрытия, если относительная величина этих пиков различна для разных каналов.

Детектор пиков

Детектор пиков - алгоритм автоматического поиска пиков, используемый программой *МультиХром*. Детектор пиков обычно запускается автоматически, по окончании хроматограммы, но может быть вызван пользователем в любое время, в том числе и во время сбора данных.

Настройка алгоритма детектирования состоит в указании полуширины пика в начале хроматограммы, отношения полуширин в конце и в начале хроматограммы, порога срабатывания по производной и некоторых других параметров. Величины параметров могут быть скорректированы в соответствии с особенностями текущей хроматограммы. Параметры детектора пиков собраны в диалоговом окне **Параметры разметки пиков** (меню **Метод**/**Разметка** или пиктограмма).



Наиболее сильное влияние на результаты разметки оказывают параметры **Ширина (H/2)** и **Порог**.

> При высоком соотношении сигнал-шум (100:1 и выше) алгоритм интегрирования слабо чувствителен к изменению параметров интегрирования. Можно менять значения большинства параметров в пределах 3 ÷10 раз без заметного изменения результатов разметки. При высоких уровнях шума базовой линии, напротив, может потребоваться тщательная настройка алгоритма интегрирования.

XXX пиков

Количество пиков, обнаруженных на хроматограмме. На одной хроматограмме программа может обработать до 2000 пиков.

Канал

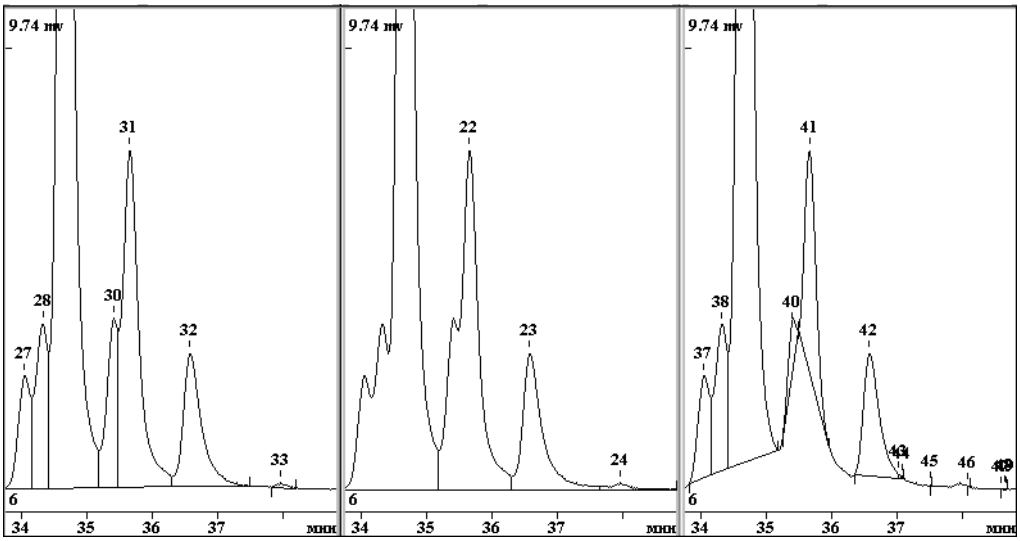
В случае многоканальной хроматограммы для разметки может использоваться любой из каналов (см. раздел). При этом рекомендуется использовать вычисляемый канал *Сумма s/n* или *Средний отклик* (выбор формулы для расчета вычисляемого сигнала производится в окне **Настройки метода**, лист **Формулы**).

Задержка

Данный параметр определяет задержку (в минутах) начала процедуры интегрирования. Пики на начальном участке хроматограммы игнорируются. Данная опция полезна для исключения пика растворителя, без обращения к *событиям интегрирования*.

Ширина (H/2)

Параметр **Ширина (H/2)** позволяет отличить пики от шума и а базовой линии. Параметр **Ширина (H/2)** равен полуширине пика, то есть, ширине на половине высоты, выраженной в секундах. В качестве начального приближения обычно можно принять полуширину самых узких (первых) пиков на хроматограмме.



А **Б** **В**

***А**. Оптимальное значение параметра **Ширина (Н/2)**.*

***Б**. Значение параметра слишком велико: несколько соседних пиков рассматриваются как один; отдельно стоящие соседние пики могут рассматриваться как слившиеся; запаздывание с отметкой конца пика.*

***В**. Значение параметра слишком мало: шум базовой линии принимается за пики; появляется множество мелких пиков; слившиеся пики рассматриваются как отдельно стоящие (подобно разметке "долина-к-долине"); отдельные широкие пики считаются дрейфом базовой линии и пропускаются.*

Для быстрой оптимизации параметров разметки можно воспользоваться опцией Предложить. Для активации опции щелкните мышкой по одноименной кнопке. Достаточно повторить процедуру Предложить/Применить 1-2 раза. Эта процедура устанавливает значения параметров Ширина (Н/2) и Уширение, равные средним для данной хроматограммы. Значения параметров Асимметрия и Порог принимаются равными 1.5 и 2, соответственно.

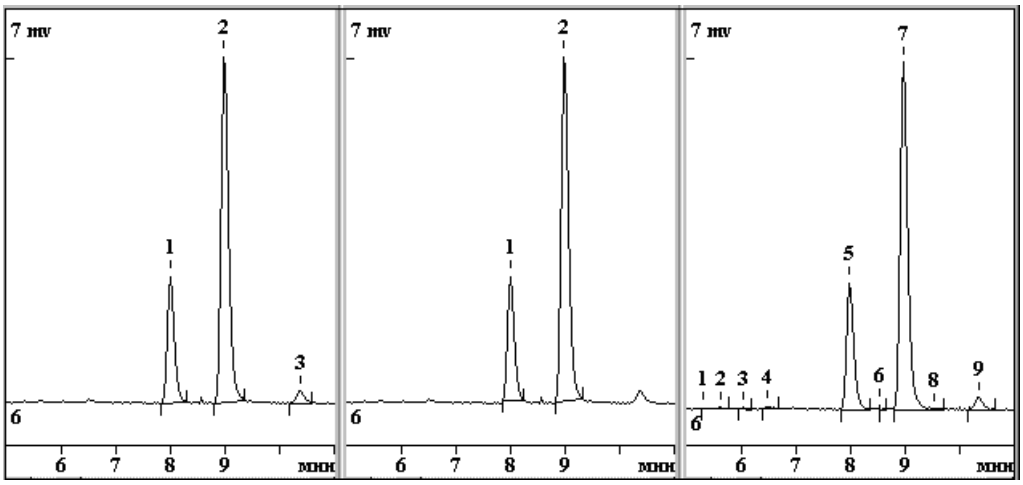
Уширение

Параметр **Уширение** есть отношение параметра **Ширина (Н/2)** для пиков в конце и начале хроматограммы. При изократическом (изотермическом) анализе ширина пиков в конце хроматограммы в несколько раз больше, чем в начале.

Порог

В программе *МультиХром* использован алгоритм детектирования пиков на основе первой производной (наклона) хроматографической кривой. Для того, чтобы решить, является ли наклон в некоторой точке значимым, величина первой производной делится на значение шума базовой линии. Для обеспечения надежного поиска хроматографических пиков в программе *МультиХром* используется специальный алгоритм для определения уровня шума базовой линии по всей хроматограмме. Вычисленная величина шума базовой линии (в единицах преобразования АЦП) указывается в разделе отчета **Таблица каналов**.

Наклон принимается значимым в случае, если это отношение превышает величину **Порог** из диалогового окна **Параметры разметки**. Величины порога для задней и передней части пика могут отличаться (их отношение задается параметром **Асимметрия**). Деление не полностью разделенных пиков производится прямой по вертикали или с использованием тангенциального спуска. Обычно пределы изменения параметра **Порог** лежат в диапазоне 0.5-5 (значение по умолчанию - 3).



А **Б** **В**

***А**. Оптимальное значение параметра "Порог"*
***Б**. Завышенное значение – небольшие пики игнорируются.*
***В**. Заниженное значение – появляются лишние пики.*

Иногда лучшие результаты дает выбор параметра **Порог** в 2-3 раза меньше оптимального и исключение "лишних" пиков заданием параметров **Мин. площадь** и **Мин. высота**.

При правильной идентификации компонентов мелкие "фантомные" пики будут исключены из отчета и не повлияют на результаты анализа (кроме использования метода нормировки площадей). Однако при дрейфе времен удерживания возможна неверная идентификация компонентов. Поэтому рекомендуется убрать лишние пики путем настройки алгоритма разметка или вручную, с помощью редактора пиков.

Асимметрия

Параметр **Асимметрия** есть отношение параметра **Порог** в начале и конце пика. Для "хвостатых" пиков данный параметр больше единицы. Выбирается в диапазоне 0.5 - 5. Значение по умолчанию равно 1.5. Сильного влияния на результаты, как правило, не оказывает.

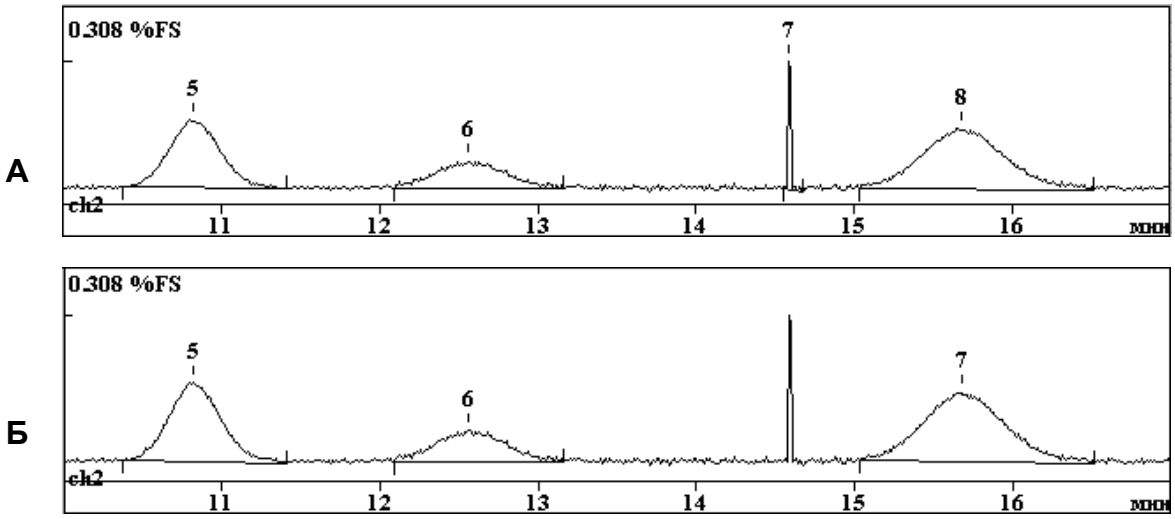
Минимальная площадь и минимальная высота

Эти параметры позволяют игнорировать пики, площадь и/или высота которых менее указанного значения. Обычно используется параметр **Мин. высота**, поскольку его легче определить по рисунку хроматограммы визуально. Параметр особенно полезен при методе расчета *Нормировка отклика*, а также в случае невысокого отношения сигнал/шум.

Мин. высота измеряется в единицах, установленных в **Таблице каналов**.

Единицы измерения параметра **Мин. площадь** не зависят от выбранных единиц по оси *X* (*мин, сек, мкл, мл*) и измеряются в *ЕД*сек*, где *ЕД* - единицы измерения по каналу, установленные в **Таблице каналов**.

Наличие большого количества мелких пиков может также приводить к неверной идентификации компонентов при дрейфе времен удерживания. Использование реперных пиков позволяет решить эту проблему.

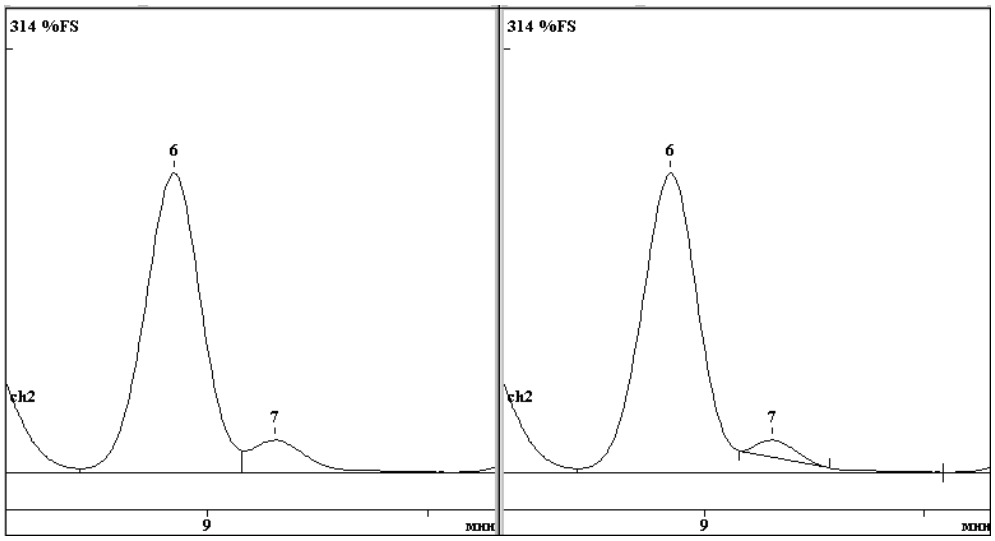


***А**. Исходная хроматограмма.*
***Б**. Исключены пики с площадью меньше 0.5.*

Наездник

Этот параметр задается в тех случаях, когда требуется отделять по тангенте маленькие пики-наездники, находящиеся на склоне больших пиков, во избежание ошибок, возникающих при разделении таких пиков по перпендикуляру. Целесообразно использовать для определения пиков на склоне пика растворителя или реагента.

Параметр **Наездник** равен значению отношения высоты первого из неразделенных пиков к высоте второго, при превышении которого второй пик отделяется от первого по тангенте. Если этот параметр устанавливается равным *0* (значение по умолчанию), идентификация пиков-наездников не производится.



А **Б**

***А**. Значение параметра **Наездник** равно 0 (значение по умолчанию).*
***Б**. Значение параметра **Наездник** равно 5.*

Отрицательные пики

Обычно при интегрировании отрицательные пики игнорируются. Установка флажка **Отрицательные пики** позволяет детектировать все пики, независимо от их полярности.

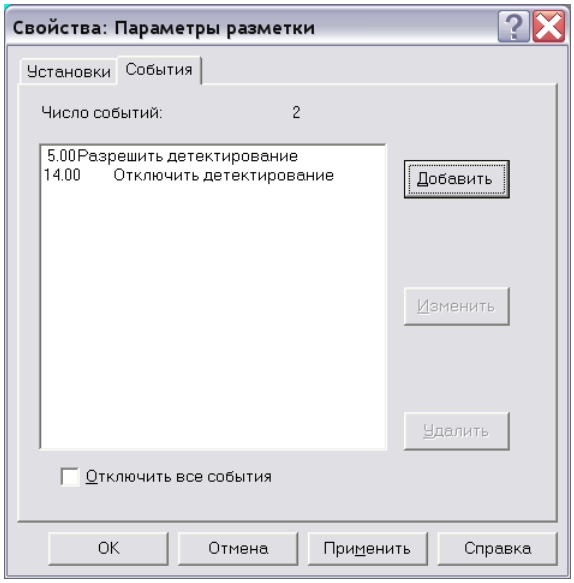
Интрепол. начало/конец базовой линии

Установка флажка **Интрепол. начало/конец базовой линии** (интерполировать начало и конец базовой линии) включает специальную процедуру вычисления координаты ***y*** точек начала и конца пика, обеспечивающую более высокую точность измерения параметров малых пиков (см. ***Приложение 12***, раздел ***Использование алгоритма интерполяции базовой линии для уменьшения погрешности измерения низких концентраций***).

События интегрирования

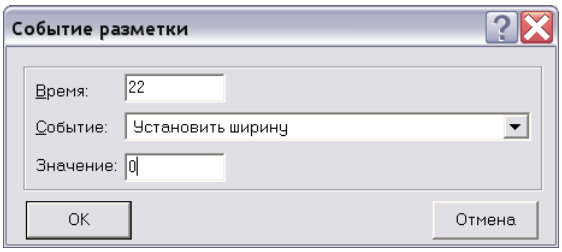
В некоторых случаях невозможно получить удовлетворительную разметку хроматограммы на пики, варьируя параметры автоматического *детектора пиков*. Как правило, в этих случаях используется ручная коррекция с помощью *редактора пиков*. Тем не менее, если ожидается серия однотипных хроматограмм, имеет смысл использовать *события интегрирования*. События интегрирования позволяют настроить процесс разметки в соответствии с особенностями данной серии хроматограмм, задавая для некоторых участков хроматограммы индивидуальные параметры и правила разметки.

- Щелкните по закладке листа **События** окна **Параметры разметки** (меню **Метод/Разметка** или пиктограмма). Появится список событий интегрирования (по умолчанию список событий пуст).



Можно *добавить* или *удалить* событие, а также *изменить* параметры любого из них. Кнопка **Применить** переинтегрирует хроматограмму для оценки влияния сделанных изменений.

- При добавлении события (кнопка **Добавить**) или его редактировании (кнопка **Менять**) события появляется окно **Событие интегрирования**.



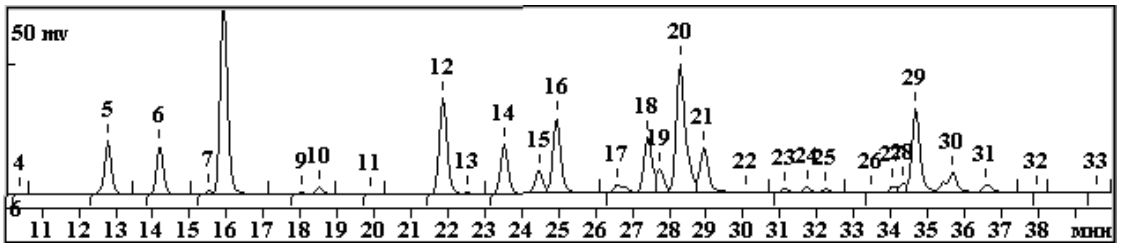
- Введите время активации события.
- Щелкните по кнопке справа от поля **Событие** и выберите требуемое событие из списка
- Введите значение в поле **Параметр**, если данное событие требует этого.
- Щелкните по кнопке **OK** или нажмите [Enter] для принятия изменений.

Список событий интегрирования, использующихся в программе *МультиХром*, приведен ниже. Как правило, события выступают парами: одно для активизации события, второе - для отмены.

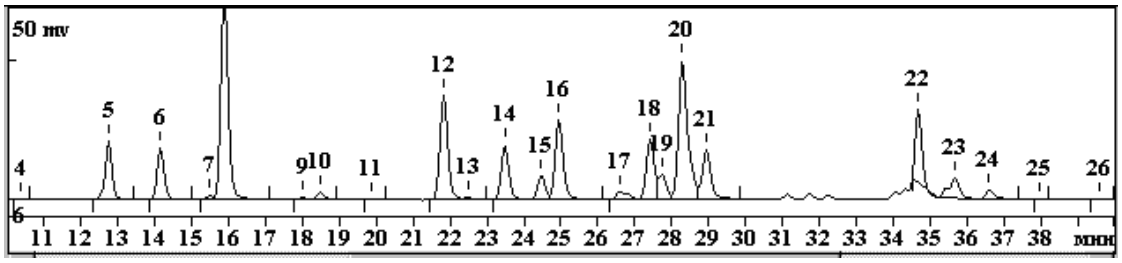
Запретить/разрешить детектирование

Процедура *Запретить детектирование* прекращает интегрирование, начиная с указанного момента времени. Если пик начался до данного события, он либо заканчивается досрочно (пики на стадии спуска) либо не принимаются во внимание (пики на стадии подъема). Процедура *Разрешить детектирование* возобновляет интегрирование, начиная с указанного момента времени.

А



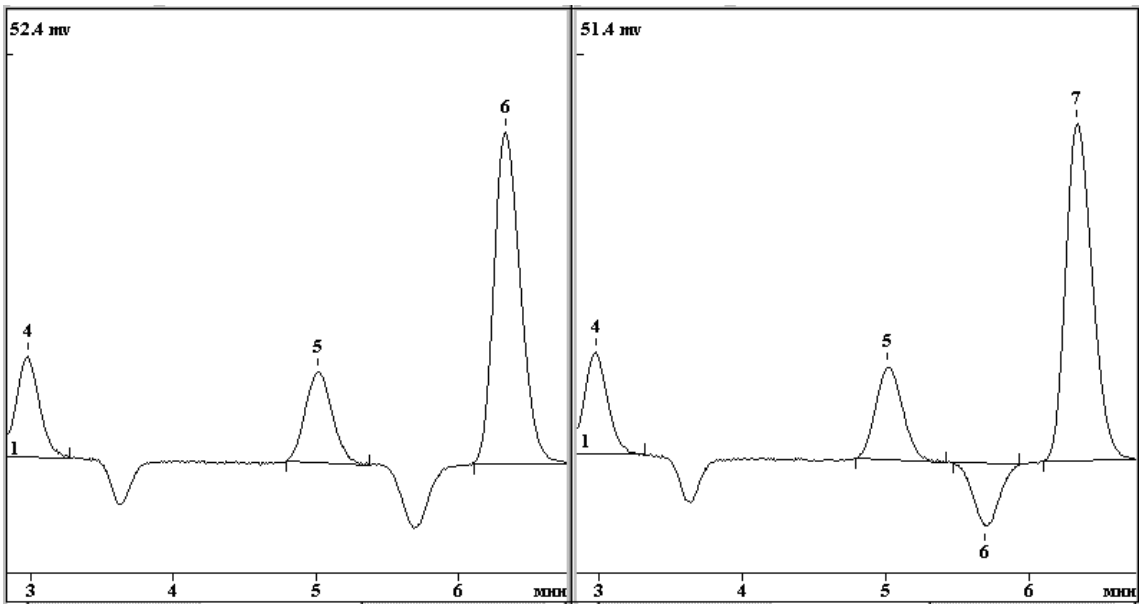
Б



А. *Нормальный режим интегрирования*
Б. *Интегрирование запрещено с 30 до 34.5 мин.*

Разрешить/запретить отрицательные пики

Процедура *Разрешить отрицательные пики* разрешает детектирование отрицательных пиков. Режим детектирования отрицательных пиков уменьшает устойчивость алгоритма поиска пиков. Процедура *Запретить отрицательные пики* запрещает детектирование отрицательных пиков (режим по умолчанию). Событие не влияет на уже начавшиеся отрицательные пики.



А **Б**

А. *Интегрирование по умолчанию.*
Б. *Разрешено интегрирование отрицательных пиков в диапазоне 4 - 6 мин.*

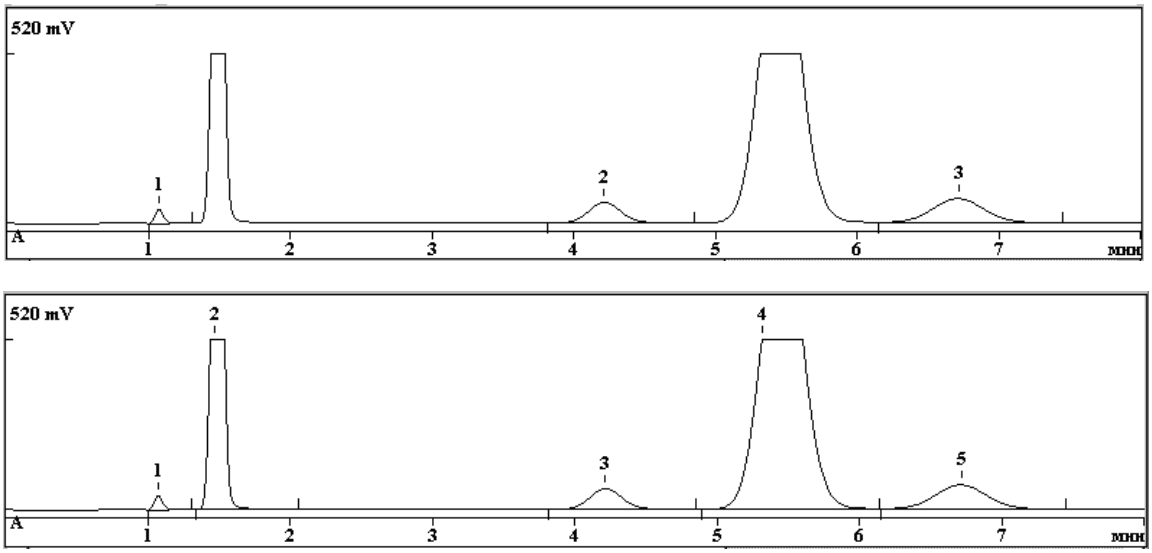
Данные события позволяют интегрировать и обрабатывать отрицательные пики. При этом концентрации таких компонентов рассчитываются в обычном порядке.

Запретить/разрешить отбраковку пиков

Процедура *Запретить отбраковку пиков* устанавливает режим, когда пик не может быть отброшен из-за очень плоской вершины. Процедура *Разрешить отбраковку пиков* отменяет установку *Запретить отбраковку пиков*.

А

Б



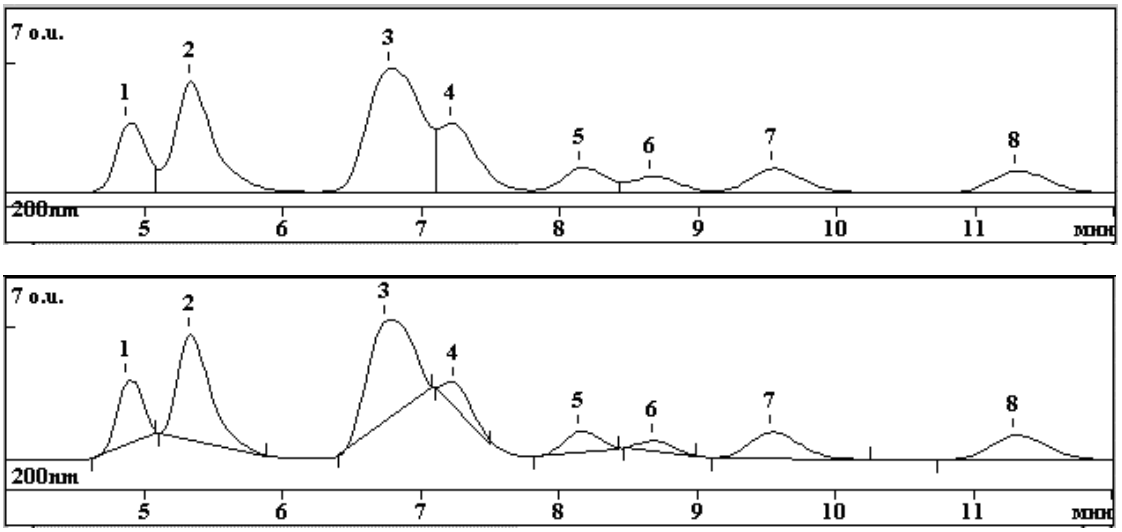
А. *Нормальный режим интегрирования*
Б. *Запрещена отбраковка пиков.*

Включить/отключить базу долина-к-долине

Процедура *Вкл. базу долина-к-долине* запрещает разделение пиков "по перпендикуляру". Проводит базовую линию по самым низким точкам между пиками (долина-к-долине). Процедура *Отключить базу долина-к-долине* разрешает разделение пиков "по перпендикуляру" (нормальный режим разметки).

А

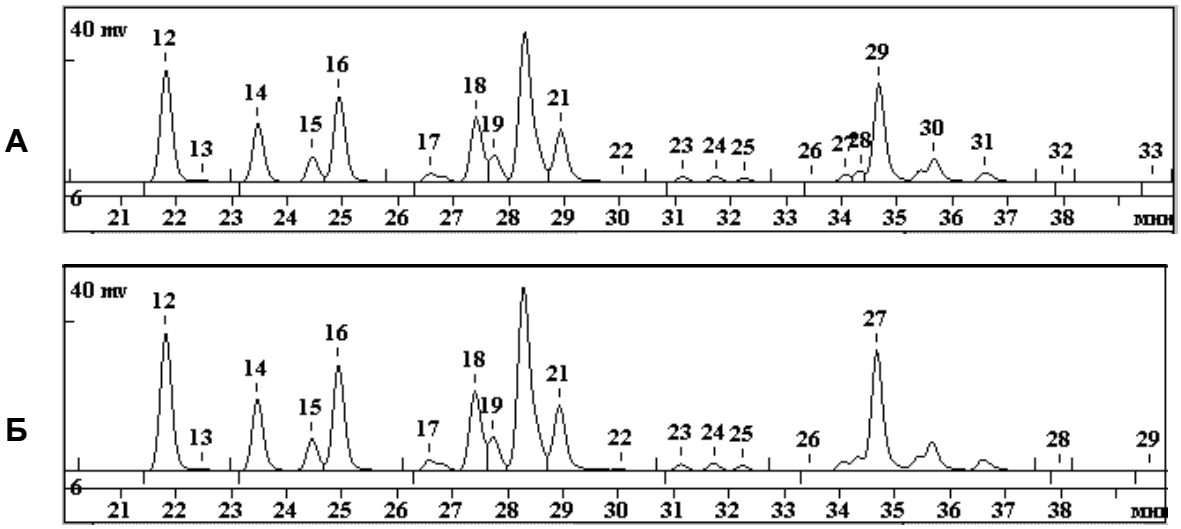
Б



А. *Нормальная база (разделение по перпендикуляру).*
Б. *База “долина-к-долине”.*

Включить/отключить режим одного пика

Процедура *Вкл. режим одного пика* все пики после данного события будут обработаны, как один слившийся пик. Процедура *Откл. режим одного пика* устанавливает нормальный режим разметки, когда каждый минимум между пиками вызывает деление по перпендикуляру или по наклонной.



***А**. Нормальный режим интегрирования*
***Б**. Включен режим одного пика с 34 до 37 мин.*

Данный режим может быть полезен для объединения нескольких близко идущих пиков (например, изомеров, микропримесей и др.) в один. Для более сложных случаев можно воспользоваться объединением пиков в группы (см. раздел ***Объединение*** пакета в многоканальную хроматограмму

Одноканальные хроматограммы, входящие в *пакет,* можно объединить в одну многоканальную хроматограмму. Такое объединение можно производить независимо от того, имеют ли хроматограммы одинаковую продолжительность и совпадают ли единицы, заданные по осям. Для объединения хроматограмм выполните следующее.

- Создайте новый пакет или откройте созданный ранее (раздел ***Количественный и качественный анализ/.../Автоматическая градуировка с использованием ранее полученных хроматограмм),*** при этом откроется окно Пакетный пересчет.
- Нажмите кнопку **Объединить** внизу окна. Окно закроется, а на его месте откроется окно новой многоканальной хроматограммы, которая автоматически получает имя пакета, дополненное словом Объедин.

При сохранении этой хроматограммы на диске ее файлу присваивается имя в соответствии со временем создания объединенной хроматограммы.

> Никакие процедуры, заданные для пересчета хроматограмм, входящих в пакет, при объединении не выполняются!

Группы). В группы могут объединяться пики, стоящие в произвольном порядке, а не только подряд.

Другие события интегрирования

Установить горизонтальную/нормальную базу

Процедура *Установить горизонтальную базу* устанавливает горизонтальную базовую линию, первая точка которой начинается с началом первого пика после данного события. Процедура *Установить нормальную базу* устанавливает режим, принятый по умолчанию. Для группы слившихся пиков горизонтальная база продолжается до последнего пика в группе, затем выходит на базовую линию по умолчанию.

Установить начало/конец пика

Процедура *Установить начало пика* начинает новый пик в этой точке. Если пик уже идет, он или отбрасывается (на подъеме) либо досрочно завершается. Процедура *Установить конец пика*

завершает пик в этой точке. Не достигшие максимума пики отбрасываются (кроме начатых по событию *Установить начало пика*), пики на стадии спуска заканчиваются.

Расщепить пик

Процедура завершает текущий и начинает новый пик в указанном месте.

Установить полуширину

Процедура устанавливает новое значение параметра **Полуширина**. При этом линейное возрастание этого параметра во времени (в соответствии с параметром **Уширение**) прекращается.

Установить порог

Процедура устанавливает новое значение параметра **Порог**.

Установить минимальную высоту

Процедура задает новое значение параметра **Мин. выс**.

Установить отношение наездника

Процедура устанавливает новое значение параметра **Наездник**.

Установить горизонтальную базу назад

Процедура устанавливает горизонтальную базовую линию для второго из двух неразделенных пиков. Линия проводится назад от конечной точки второго пика.

Установить точку базовой линии

Процедура устанавливает точку хроматограммы в заданный момент в качестве точки базовой линии. На участке между двумя точками базовой линией является соединяющая их прямая.

Форсировать/отменить горизонтальную базу

Процедура *Форсировать горизонтальную базу*устанавливает горизонтальную базовую линию для одиночного пика от начальной точки до конечной точки в месте пересечения базовой линии и хроматограммы. Процедура *Отменить горизонтальную базу* отменяет предыдущую команду.

Форсировать/отменить горизонтальную базу назад

Процедура *Форсировать горизонтальную баз у*устанавливает горизонтальную базовую линию для одиночного пика от конечной точки до начальной точки в месте пересечения базовой линии и хроматограммы. Процедура *Отменить горизонтальную базу* отменяет предыдущую команду.

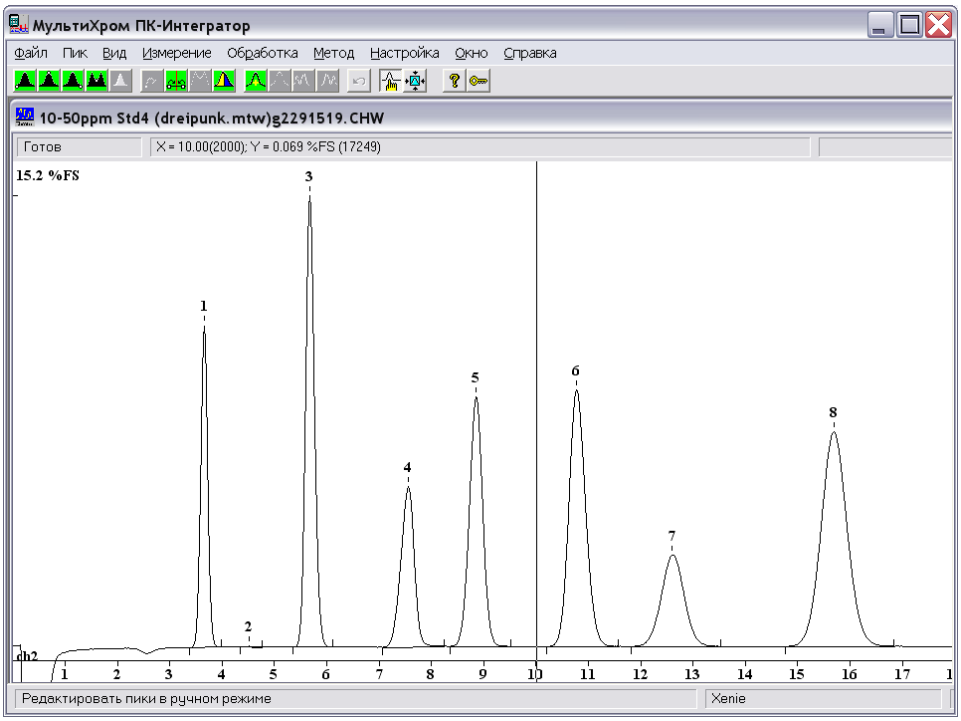
Вкл./Откл. сквозную базовую линию

Процедура *Вкл. сквозную базовую линию* используется в случае следования подряд пиков противоположной полярности. Проводит базовую линию от начала первого пика до конца последнего, разделяя пики в точках пересечения хроматограммы с базовой линией. Процедура *Откл. сквозную базовую линию* отменяет предыдущую команду.

Редактор пиков

Редактор пиков позволяет вручную скорректировать результаты автоматической разметки хроматограммы. С помощью *редактора пиков* можно создать или уничтожить пик, переместить начало, конец или вершину пика, а также выполнить некоторые другие действия по редактированию разметки хроматограммы в соответствии с пожеланиями пользователя.

Редактор пиков активизируется нажатием комбинации [**Alt**]+[**C**] на клавиатуре или кнопки пиктографического меню с помощью мыши. Можно также щелкнуть правой кнопкой мыши и выбрать в открывшемся меню пункт **Ручная разметка**. При этом на экране появляется вертикальная линия (курсор), а вместо пиктографического меню - ряд пиктограмм редактора. Курсор можно переместить в новое положение клавишами-стрелками или с помощью нажатой правой кнопки мыши. При движении курсора в строке информации отображаются его координаты по осям абсцисс и ординат в выбранных единицах, при этом в скобках указаны величины, соответствующие числу точек измерения для оси X и числу дискретов АЦП для оси Y.



Для редактирования положения пика необходимо выбрать одну из его "особых" точек (начало, вершина, конец или долина). Для выбора установите курсор вблизи требуемой точки, внутри интересующего пика, и щелкните мышкой по пиктограмме выбора типа точки:

- выбрать начало пика;
- выбрать вершину пика;
- выбрать конец пика;
- выбрать долину между пиками;
- отмена выделения.

Можно также выбрать особую точку, ближайшую к положению курсора, нажав комбинацию [*Ctrl*]+[*Enter*]. Пик, к которому относится выбранная точка, будет закрашен. Если выбранная точка является долиной двух соседних пиков, будут закрашены оба пика. Тип и принадлежность выбранной точки появятся в статус-строке.

После того, как выбор "особой" точки сделан, можно *переместить ее на новое место*. Для этого нужно установить курсор в требуемую позицию и щелкнуть по пиктограмме или нажать клавишу [**-**] (серый минус или тире).

Если необходимо провести *разделение пика на два*, переместите курсор на желаемое положение границы и щелкните по пиктограмме или нажмите клавишу [*/*] (разделить) Пик будет разделен на два. Для этой операции выбора "особой" точки не требуется.

Если некоторая пара пиков должна рассматриваться как неразделенные пики, а на экране Вы получаете разделение до базовой линии, поставьте курсор на место предполагаемой границы и Щелкните по кнопке или нажмите клавишу [*****]. Пики трансформируются в слившуюся группу с границей на месте расположения курсора. При этом выбора "особой" точки также не требуется.

Существует также возможность *объединить два пика*, сделав один вместо двух, для этого надо щелкнуть по пиктограмме или нажать клавишу [**+**], предварительно выбрав в качестве "особой" точки долину между этими пиками.

Для удаления пика нужно выбрать одну из его точек и щелкнуть по пиктограмме или нажать клавишу *[De]l*. Пиктограмма удалит все пики, находящиеся слева от курсора, а пиктограмма удалит все пики справа от курсора, *включая выбранный*.

Для создания пика необходимо поставить курсор на ожидаемое положение вершины пика и нажать на клавишу [**Ins**] или щелкнуть по пиктограмме .

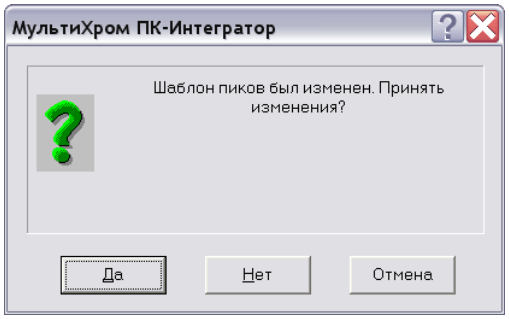
> Для того чтобы отказаться от последнего изменения, выберите команду Пик/Отмена или нажмите кнопку .

При выходе из редактора пиков (повторное нажатие [*Alt*]+[*C*] или кнопки) можно:

•принять сделанные изменения (**Да**),

•отказаться от сделанных изменений (**Нет**)

•вернуться в редактор (**Отмена** или [Esc]).



Мышь	Клавиатура	Выполняемое действие
	[Ctrl]+[Enter]	выбрать ближайшую точку пика
	[←]+[Ctrl]+[Enter]	выбрать левую точку пика (слившиеся пики)
	[→]+[Ctrl]+[Enter]	выбрать правую точку пика (слившиеся пики)
		выбрать начало пика, ближайшее к положению курсора
		выбрать вершину пика, ближайшую к положению курсора
		выбрать конец пика, ближайший к положению курсора
		выбрать долину между соседними пиками
		убрать выделение
	[-]	установить новое положение выбранной точки пика
	[*]	слить пики
	[+]	стереть границу соседних пиков (объединение пиков)
	[/]	расщепить (разделить) пик на два
	[Ins]	создать новый пик с вершиной на месте курсора
	[Del]	стереть выбранный пик
		стереть все пики слева от выбранной точки
		стереть все пики справа от выбранной точки
		отменяет последнюю операцию
ПК[10]	[→], [←]	перемещение курсора вправо или влево
	[Shift] + [→] [Shift] + [←]	быстрое перемещение курсора вправо или влево
	[Alt] + [C]	Включение/выключение режима *редактора пиков*

Разложение по форме

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 формевыполните следующее.

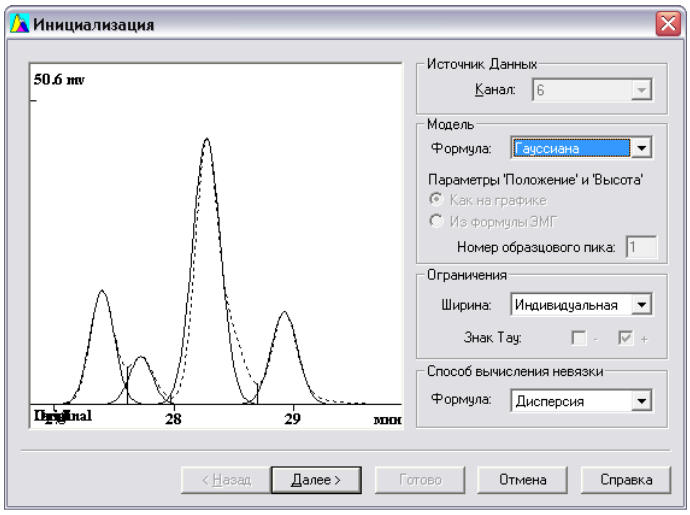
•Откройте хроматограмму и выделите с помощью мыши группу смежных пиков, которые требуется разделить. В результате в окне будет представлена только выбранная область. Рекомендуется

[10] Движение мыши при нажатой правой кнопке.

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 (см. ***Приложение 14/Экспоненциально-модифицированная функция Гаусса***):

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

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

где $\boldsymbol{G(t)}$ – функция Гаусса, $\boldsymbol{E(t)}$ - функция, осуществляющая экспоненциальную модификацию:

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

$\boldsymbol{\tau}$ – 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 $\boldsymbol{h}$ и $\boldsymbol{T}$, 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.

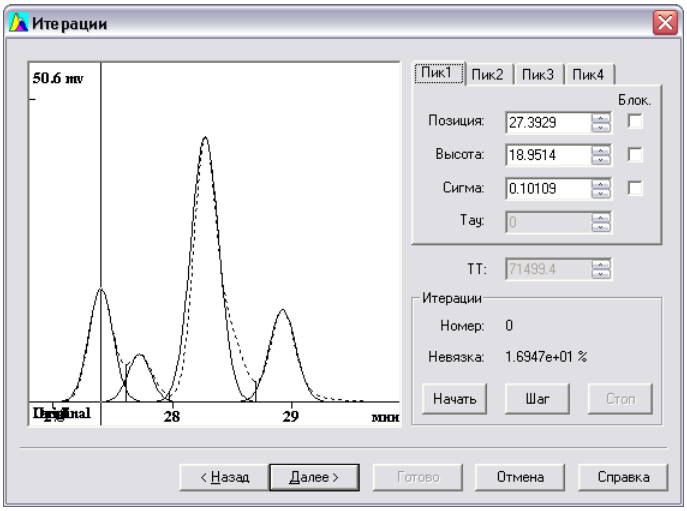
Этот вариант используется в тех случаях, когда различные пики имеют похожую форму, но недостаточно хорошо аппроксимируются функцией Гаусса или ЭМГ.

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

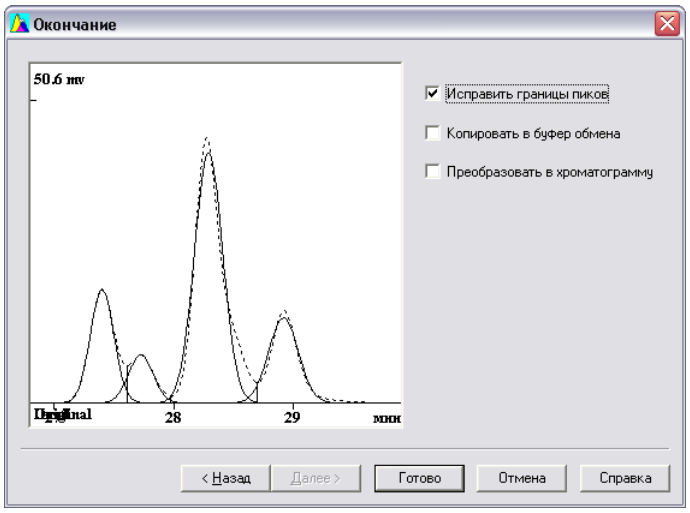
•

Параметры, изменяемые при итерациях

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

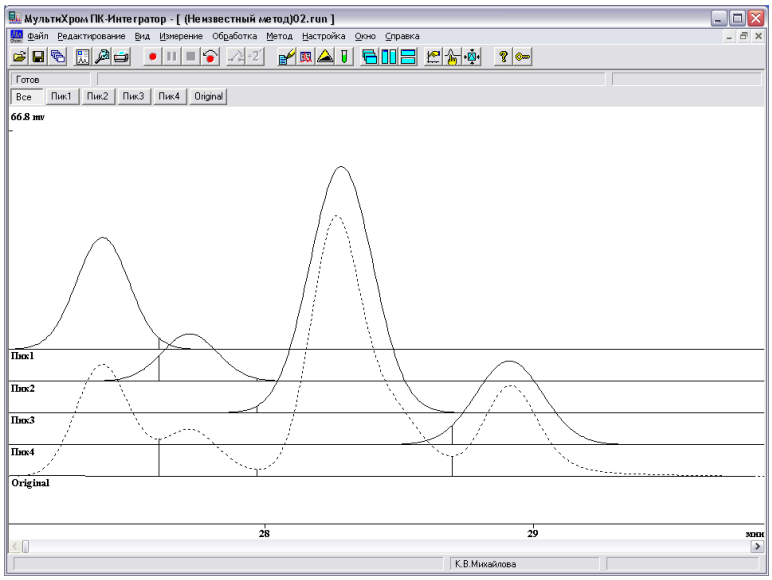
Позиция	Положение максимума пика на графике Для ЭМГ без установки флажка **Как на графике** соответствует параметру ***T*** в формуле ***G(t)*** и ***E(t)***	Изменяется для всех пиков независимо
Высота	Высота пика на графике Для ЭМГ без установки флажка **Как на графике** соответствует параметру ***h*** 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 *Гауссиана* половине ширины пика по уровню 0.607 Для модели *По образцу* – расчетная величина, характеризующая ширину пика (для пиков Гауссовой формы совпадает с σ).	Зависит от установки параметра **Ограничения/Ширина**: *Одинаковая* – изменяется для всех пиков одинаково. *Индивидуальная* – изменяется для всех пиков независимо. *По эффективности* – является вычисляемым параметром.
Тау	Параметр τ в формуле ***E(t)***, используемый только для модели *Эксп. Мод.Гаусс*	Изменяется для всех пиков независимо
ТТ	Эффективность	Зависит от установки параметра **Ограничения/Ширина**: *По эффективности* – 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 аппрокси-мирующих 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.

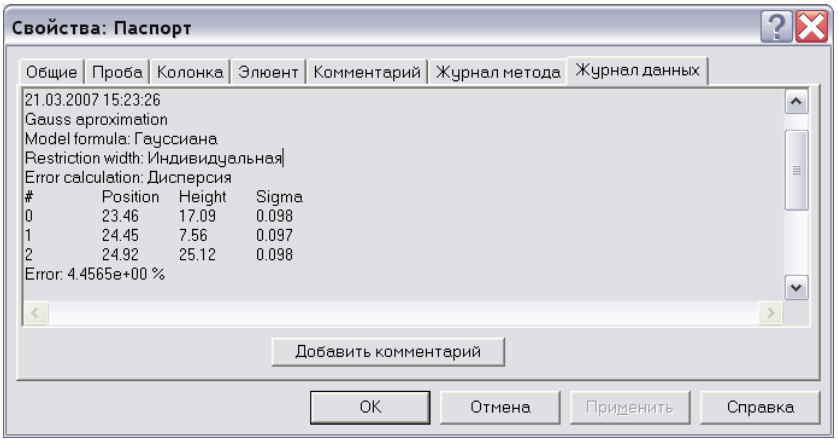


•Завершите процедуру гаусс-разложения, нажав кнопку **Готово** (**Finish**).

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.



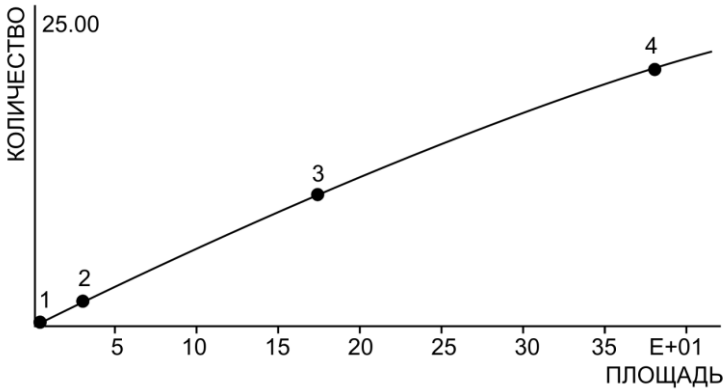
•Для ХИГП можно записать результаты разложения в отчет, установив в окне **Опции отчета** флажок **Другие разделы отчета/Журналы GLP**. Отчет будет содержать данные для исходной хроматограммы (с исправленными площадями пиков, но неизменными положениями вершин и величинами полуширины) и таблицу пиков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

Количественный и качественный анализ

Цель любого хроматографического анализа - ответить на вопросы: "Какие компоненты присутствуют в анализируемом образце и каковы их концентрации?" Первый из вопросов есть задача *качественного анализа*, второй - *количественного*. В хроматографии для решения обеих задач анализу предшествует специальная процедура - *градуировка*.

Проведение *градуировки* преследует две цели: получить характеристику удерживания и получить зависимость отклика детектора от содержания в пробе (*градуировку*) для каждого из интересующих компонентов. *Результатом градуировки* является **Таблица компонентов** (содержит времена или объемы удерживания и имена анализируемых компонентов) и *градуировочная кривая* (зависимость введенное количество - отклик детектора).

Градуировка проводится путем анализа одной или нескольких смесей с известным качественным и количественным составом. В первом случае градуировка называется *одноточечной*, то есть, на графике находится только одна точка, зависимость носит линейный характер и проходит через начало координат. В случае нескольких градуировочных смесей с различными концентрациями компонентов градуировка называется *многоточечной* – на графике имеется несколько градуировочных точек. При этом зависимость может быть аппроксимирована кривой любого, необязательно линейного, типа. Для этого *методом наименьших квадратов* рассчитываются коэффициенты (градуировочные коэффициенты) кривой, наилучшим образом описывающей экспериментальные данные. Одноточечная градуировка является частным случаем многоточечной.



Определение концентраций компонентов в анализируемых образцах производится на основе полученных градуировочных кривых и откликов детектора (площадей или высот пиков).
Вычисления, используемые для определения концентрации компонентов на базе градуировочной зависимости и отклика детектора, называются *Количественным расчетом*.

> Правильное и тщательное проведение градуировки является необходимым условием точности получаемых количественных результатов анализа!

Методы градуировки

Целью градуировки является построение зависимости между количеством компонента в пробе и откликом детектора (градуировочной зависимости).

Основными методами градуировки являются методы, именуемые *Внешний стандарт* и *Внутренний стандарт*. Иногда может использоваться *Табличный метод* градуировки. Эти методы отличаются по способу построения градуировочной зависимости.

В случае использования метода *Внешний стандарт*, т.е., при *абсолютной градуировке* просто строится градуировочная зависимость площадь пика - количество компонента во введенной пробе. Потери образца при пробоподготовке и ошибки при вводе пробы не учитываются. Это - основной, прямой способ построения градуировки.

В случае градуировки *методом внутреннего стандарта* в градуировочной смеси один из компонентов выбирается в качестве внутреннего стандарта. Концентрация *стандартного компонента* в пробе должна быть точно известна. При построении градуировочных кривых это значение будет учитываться для корректировки площадей (высот) всех компонентов. При этом компенсируются ошибки дозирования пробы и потери при пробоподготовке и существенно улучшается воспроизводимость градуировочных точек. В принципе, любой компонент в градуировочной смеси может быть объявлен внутренним стандартом.

Табличный метод градуировки является упрощенным методом абсолютной градуировки. Метод основан на использовании относительных факторов отклика детектора (ФО), известных из литературных данных или полученных экспериментально. Этот метод удобен тем, что требует проведения градуировки только для одного компонента, выбранного в качестве эталона. Однако он применим только в том случае, когда есть уверенность в стабильности относительных ФО для всех остальных компонентов.

> Независимо от способа получения градуировочных кривых расчет концентраций компонентов может быть выполнен любыми имеющимися в программе МультиХром методами.

Абсолютная градуировка (метод внешнего стандарта)

Абсолютная градуировка (реализуемая в программе *МультиХром* в виде метода *Внешний стандарт*) - это основной, базовый способ градуировки. Метод основан на построении зависимости количества введенного компонента от площади или высоты пика, соответствующего этому компоненту. Обычно эта зависимость представляется как градуировочный график: по оси Y откладывается количество введенного в пробе вещества, а по оси X - отклик детектора (площадь или высота пика).

Количество вещества q_i^j, введенного в пробу для получения градуировочной хроматограммы, вычисляется как произведение концентрации компонента C_i^j в градуировочной смеси на приведенный объем вводимой пробы (V'):

$$q_i^j = C_i^j \cdot V' = \frac{C_i^j \cdot V \cdot a}{D},$$

где i – номер компонента, j – номер градуировочной точки, $V' = V \bullet a/D$, V - объем введенной пробы, D - разведение пробы, a – количество (см. раздел ***Паспорт хроматограммы/Проба***). То же при получении градуировочных смесей последовательным разведением:

$$q_i^j = C_i^j \cdot V' = \frac{C_i \cdot V \cdot a}{D^j}.$$

Программа выполняет аппроксимацию градуировочной зависимости количества вещества от отклика детектора R_i полиномом вида

$$Q_i(R_i) = \sum K_{in} \cdot R_i^n .$$

Коэффициенты K_{in} определяются по результатам измерений отклика r_i^j для ряда градуировочных точек с использованием метода наименьших квадратов: $RMS(q_i^j, r_i^j)$. Основной вклад в величину $Q_i(R_i)$ дает член $K_{i1} \bullet R_i$ (прямо-пропорциональная зависимость), коэффициент K_{i1} равен фактору отклика RF_i

Расчет концентрации компонента в исследуемых образцах с использованием полученной градуировочной зависимости производится по формуле

$$C_i = \frac{q_i}{V'} = \frac{Q_i(r_i)}{V \cdot a / D},$$

где r_i – измеренная величина отклика детектора.

> Абсолютная градуировка может быть пересчитана методом Внутреннего стандарта. При этом стандартным может быть выбран любой из компонентов градуировочной смеси.

Метод внутреннего стандарта

Основной причиной ошибок определения концентрации компонента в пробе является вариация количества компонента, достигающего детектора, от анализа к анализу. Это происходит из-за изменения объема пробы от ввода к вводу (даже в случае использования очень хорошего автосамплера), а также из-за различия потерь компонентов во время пробоподготовки и хроматографического разделения. На стадии получения градуировки эти причины приводят к дополнительным погрешностям (как случайным, так и систематическим) определения градуировочных коэффициентов.

Метод *Внутреннего стандарта* позволяет учесть упомянутые выше источники ошибок и увеличить точность и воспроизводимость результатов количественного анализа за счет привлечения дополнительной, априорной информации о концентрации и отклике детектора для одного из компо-

нентов пробы, называемого *внутренним стандартом*, или *стандартным компонентом*. Такая информация может быть использована как при выполнении градуировки (градуировка с использованием метода *Внутренний стандарт*), так и для расчета концентраций компонентов в исследуемых образцах (см. раздел ***Анализ пробы неизвестного состава/Количественное измерение концентрации компонентов/Определение относительной концентрации компонентов (расчет методом внутреннего стандарта)***).

Используемый в программе *МультиХром* метод *Внутренний стандарт* [2] отличается от "классического" метода внутреннего стандарта [3] (более подробно см. ***Приложение 13***).

Градуировочная кривая в методе *Внутренний стандарт* для всех компонентов создается так же, как и в методе *Внешний стандарт*, но для всех компонентов, кроме одного, выбранного в качестве *стандартного,* производится корректировка объема каждой вводимой пробы с учетом заявленной концентрации стандартного компонента в градуировочной пробе:

$$C_s^j = \frac{q_s^j}{V^j} = \frac{Q_s(r_s^j)}{V_e^j},\ V_e^j = \frac{Q_s(r_s^j)}{C_s^j}$$

$$q_i^j = C_i^j \cdot V_e^j = \frac{C_i^j \cdot Q_s(r_s^j)}{C_s^j}$$

где s – номер компонента-стандарта. Градуировку для стандартного компонента обычно проводят с помощью набора тех же градуировочных смесей, что и для остальных компонентов, при этом аппроксимация полиномом выполняется также, как для метода *Внутренний стандарт*. Для всех остальных компонентов процедура аппроксимации выполняется с использованием скорректированных значений количества введенного вещества: $RMS(\frac{C_i^j \cdot Q_s(r_s^j)}{C_s^j}, r_i^j)$.

Если градуировочный график стандарта неизвестен, то принимается, что он имеет линейный характер, проходит через начало координат и *Фактор отклика* для него равен *единице* (см. раздел ***Процедура градуировки: первый этап/Таблица компонентов***). Это приводит к тому, что система ведет себя аналогично "классической" градуировке с помощью метода *Внутреннего стандарта* и рассчитывает относительные коэффициенты отклика детектора. Если зависимость линейна, этот подход обеспечивает правильные величины *Относительной концентрации, Нормированной относительной концентрации* и *Нормированной концентрации*. Вычисленные значения *абсолютной концентрации* в этом случае не имеют смысла (об этих величинах см. раздел ***Отчет***/***Таблица пиков***).

> Использование метода внутреннего стандарта для градуировки существенно улучшает воспроизводимость анализа и точность получения относительных коэффициентов отклика компонентов.
> Погрешность определения абсолютных концентраций в этом случае будет определяться, в первую очередь, погрешностью градуировочной зависимости стандартного компонента, полученной методом Внешний стандарт.

Табличный метод градуировки

Этот способ градуировки является упрощенным вариантом метода *Внешний стандарт*, его можно назвать также *Табулированные факторы относительного отклика.* Использование этого метода существенно облегчает выполнение градуировки, так как при этом можно использовать пробы, в которых известны концентрации только одного компонента, выбранного в качестве стандарта. Однако этот метод требует достоверного знания значений относительных откликов всех остальных компонентов, а также надежности и воспроизводимости результатов хроматографических измерений.

При использовании *Табличного метода* градуировочная зависимость для стандарта получается так же, как и для метода *Внешнего стандарта*:

$$Q_s(R_s) = \sum K_{sn} \cdot R_s^n$$

Для остальных компонентов градуировочная зависимость получается умножением на постоянный коэффициент:

$$Q_i(R_i) = K_{i1} \sum K_{sn} \cdot R_i^n$$

где K_{i1} - относительный фактор отклика для ***i***-того компонента, который вводится пользователем в **Таблицу компонентов**. Как видно из формулы, если градуировочная зависимость для стандартного компонента нелинейна, для всех остальных компонентов также получится подобная нелинейность.

Относительные значения фактора отклика для компонентов могут быть взяты из литературных данных или же получены чисто расчетным путем, а также измерены экспериментально, в частности, с использованием специальной процедуры, предоставляемой пользователю ПО *МультиХром* (см. раздел ***Построение градуировочных зависимостей/Выбор метода градуировки/Табличный метод. Измерение относительных величин ФО***).

Процедура градуировки: первый этап

Процедура градуировки, независимо от использованного метода, состоит из двух этапов получения градуировочных хроматограмм и завершающего этапа построения градуировочных зависимостей.

Первый этап – получение первой градуировочной хроматограммы, настойка алгоритма разметки, создание **Таблицы компонентов** и **Таблицы концентраций**. При обновлении градуировок этот этап сводится к проверке правильности разметки и идентификации компонентов и корректировки их настройки в случае необходимости, а также внесению изменений в **Таблицу концентраций**, если предполагается использовать градуировочные смеси другого количественного состава.

Второй этап – получение всех остальных градуировочных хроматограмм. При обновлении градуировок этот этап является основным.

Завершающий этап – построение градуировочных зависимостей для всех компонентов. Он включает в себя задание метода и параметров градуировки, оценку полученных результатов и, при необходимости, отбраковку отдельных точек. При обновлении градуировок на этом этапе, как правило, требуется только визуальный контроль градуировочных кривых.

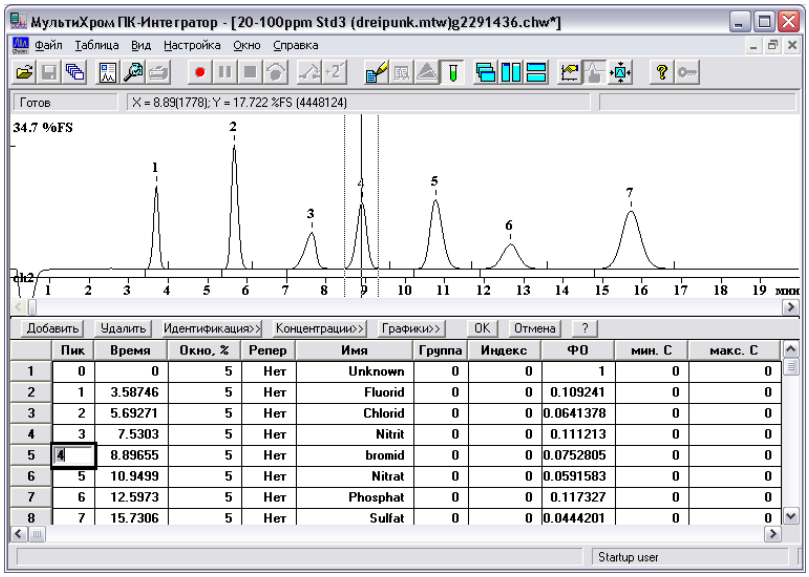
Таблица компонентов

В **Таблице компонентов** хранятся градуировочные данные обо всех анализируемых компонентах: имя, время удерживания, индекс удерживания, градуировочные коэффициенты, а также некоторая другая информация, необходимая для идентификации и количественного расчета. Для наглядности над **Таблицей компонентов** расположен рисунок хроматограммы.

Таблица компонентов создается на базе *градуировочной хроматограммы,* т.е. хроматограммы известной смеси анализируемых компонентов, с известными, как правило, концентрациями. Для создания **Таблицы компонентов** можно использовать данные из нескольких градуировочных хроматограмм, каждая из которых содержит информацию лишь о части интересующих компонентов (см. раздел ***Особенности создания Таблицы компонентов и Таблицы концентраций в случае, когда используются градуировочные смеси разного состава***).

- Получите хроматограмму градуировочной смеси и откройте **Таблицу компонентов**, выбрав команду **Метод/Градуировка/Компоненты** или щелкнув по пиктограмме . Вид окна хроматограммы изменится: в нижней половине окна откроется незаполненная **Таблица компонентов**, в меню главного окна добавится пункт **Таблица**, целый ряд команд (**Сохранить, Печать, Перезапустить**, все команды меню **Метод**) станет недоступным.

- Заполните **Таблицу компонентов**, нажимая кнопку **Добавить** в расположенной линейке кнопок над таблицей или выбирая команду **Таблица/Добавить компонент**. При этом каждое нажатие будет сопровождаться перемещение курсора к очередному пику и появлением в таблице следующей строки, при этом в столбец Имя автоматически будет вводиться имя Пик[номер пика]. О добавлении строки в середину ранее созданной таблицы см. раздел **Особенности создания Таблицы компонентов и Таблицы концентраций в случае, когда используются градуировочные смеси разного состава**. После того, как все пики будут исчерпаны, при нажатии кнопки будут добавляться пустые строки с нулевым временем удерживания. Во избежание ошибок не рекомендуется вводить такие строки в качестве заготовок для компонентов, которые будут добавлены в **Таблицу компонентов** из других хроматограмм.



	Пик	Время	Окно, %	Репер	Имя	Группа	Индекс	ФО	мин. С	макс. С
1	0	0	5	Нет	Unknown	0	0	1	0	0
2	1	3.58746	5	Нет	Fluorid	0	0	0.109241	0	0
3	2	5.69271	5	Нет	Chlorid	0	0	0.0641378	0	0
4	3	7.5303	5	Нет	Nitrit	0	0	0.111213	0	0
5	4	8.89655	5	Нет	bromid	0	0	0.0752805	0	0
6	5	10.9499	5	Нет	Nitrat	0	0	0.0591583	0	0
7	6	12.5973	5	Нет	Phosphat	0	0	0.117327	0	0
8	7	15.7306	5	Нет	Sulfat	0	0	0.0444201	0	0

•Заполните необходимые столбцы для каждого компонента:

Пик — номер пика. При добавлении строки в столбце *Пик* автоматически вводится номер очередного пика, на котором при этом устанавливается к курсор.

Время — ожидаемое время удерживания компонента в единицах, выбранных для графика хроматограммы (см. раздел ***Вид хроматограммы/.../Установки для оси X***). В столбец *Время* при добавлении строки автоматически вводится время удерживания для соответствующего пика.

> В Таблице компонентов указывается ожидаемое время удерживания для компонентов. Оно используется для идентификации компонента и остается неизменным независимо от фактического значения для текущей хроматограммы, до тех пор пока пользователь не произведет коррекцию с помощью специальной процедуры (раздел Анализ пробы неизвестного состава/Общая настройка алгоритма идентификации компонентов/Идентификация компонентов). Внесение поправок вручную не рекомендуется.

Окно% — идентификационное окно компонента, задаваемое в % от его ожидаемого времени удерживания (см. раздел ***Анализ пробы неизвестного состава***/***Окно идентификации***). На хроматограмме окно отмечается пунктирными линиями с двух сторон от курсора.

Репер — триггер (*Да/Нет*), показывающий, является ли данный пик *реперным*. Более подробно см. раздел ***Анализ пробы неизвестного состава***/ ***Идентификация компонентов***/

Реперные пики.

Имя — имя компонента. При создании строки получает значение *Пик [Номер пика]* Должно быть введено обязательно, так как по окончании редактирования все безымянные компоненты будут исключены из **Таблицы компонентов**.

Группа — номер группы, в которую входит данный компонент. Данный параметр позволяет сгруппировать компоненты по некоторым общим признакам. Можно сформировать произвольное число групп. Группы не могут иметь своего имени и различаются только по номерам. Каждый компонент может принадлежать только к одной группе. При выводе отчета, помимо общей **Таблицы пиков** будут напечатаны таблицы пиков по группам. Значение по умолчанию равно нулю (компонент не принадлежит к какой-либо группе).

Индекс — индекс удерживания компонента. Для использования шкалы индексов удерживания необходимо ввести индексы хотя бы для двух компонентов. См. раздел ***Индексы удерживания***.

ФО — фактор отклика детектора для данного компонента. Фактор отклика - первый коэффициент линейной градуировочной зависимости компонента. По умолчанию устанавливается значение ФО = 1. Если значение ФО = 0, концентрация компонента также будет равна нулю. Такие компоненты будут исключены из отчета, за исключением метода расчета *Нормировка отклика*.

Во время процедуры градуировки система автоматически заменяет ФО рассчитанными значениями.
При использовании метода градуировки *Табличный* требуется заполнение столбца *ФО* вручную. Ручной ввод значения ФО требуется также для *Универсального компонента*.

min C (max C) — минимальная и максимальная концентрации компонента в анализируемых смесях. При выходе концентрации какого-либо компонента за указанный диапазон в отчете в **Таблице пиков** в столбце *Тип* будет стоять знак **[!]**. Если ограничений на допустимое значение концентрации не накладывается, в этих столбцах следует установить *0*.

> При перемещении по строкам Таблицы компонентов происходит перемещение курсора к соответствующим пикам хроматограммы. Курсор можно также перемещать вручную, удерживая нажатой правую кнопку мыши. При работе с Таблицей компонентов сохраняется возможность увеличить часть хроматограммы, выделив ее с помощью мыши при нажатой левой кнопке. В этом случае при перемещении по строкам таблицы в окне будет появляться соответствующий пик при сохранении увеличенного масштаба.

- Если необходимо учитывать в расчетах все неидентифицированные пики, создайте т.н. универсальный компонент. Время удерживания для универсального компонента должно быть установлено вручную равным нулю (компонент Unknown, первый в таблице на предыдущем рисунке, является универсальным компонентом). Только один компонент может быть объявлен универсальным.
  Параметры, указанные в строке универсального компонента, будут использованы для всех неидентифицированных пиков. В столбце ФО для универсального компонента следует указать наиболее вероятное значение фактора отклика.

Для удаления компонента используется кнопка Удал. или команда **Таблица/Удалить компонент**. Можно также полностью очистить таблицу с помощью команды **Таблица/Очистить всю таблицу**.

- Щелкнув по кнопке **ОК**, можно закрыть **Таблицу компонентов** и принять сделанные изменения. Для отказа от сделанных изменений щелкните по кнопке **Отмена**.
- Сохраните полученную **Таблицу компонентов**, записав хроматограмму и метод на диск.

> После создания Таблицы компонентов система может проводить идентификацию компонентов и расчет простейшим способом – с использованием метода Нормировка отклика. Если будет использоваться другой метод расчета, процедуру градуировки следует продолжить. Для этого удобно воспользоваться кнопками Концентрации>> и График>> для редактирования Таблицы концентраций и градуировочных графиков, не выходя из Таблицы компонентов.

Идентификация компонентов

После того как создана и записана **Таблица компонентов**, при получении новой хроматограммы с использованием того же метода производится автоматическая идентификация компонентов. Следует проверить правильность идентификации и, если требуется, изменить настройку алгоритма процедуры (подробнее см. раздел ***Анализ пробы неизвестного состава Идентификация компонентов***).

Таблица концентраций

Градуировочная зависимость строится по набору *градуировочных точек*. Соответствующие данные хранятся в **Таблице концентраций**, где строками являются названия компонентов и столбцами - *градуировочные точки*. В столбце, имеющем заголовок *Точка [номер точки]*, содержатся данные из одной *градуировочной хроматограммы* для всех компонентов. Каждая ячейка столбца хранит концентрацию компонента, площадь пика и его высоту. Эти величины представлены на трех листах **Таблицы концентраций**, которые по выбору выводятся на экран. Первый лист содержит значения концентраций, введенные пользователем. Высоты и площади, вычисленные программой автоматически записываются по мере получения градуировочных хроматограмм на второй и третий лист.

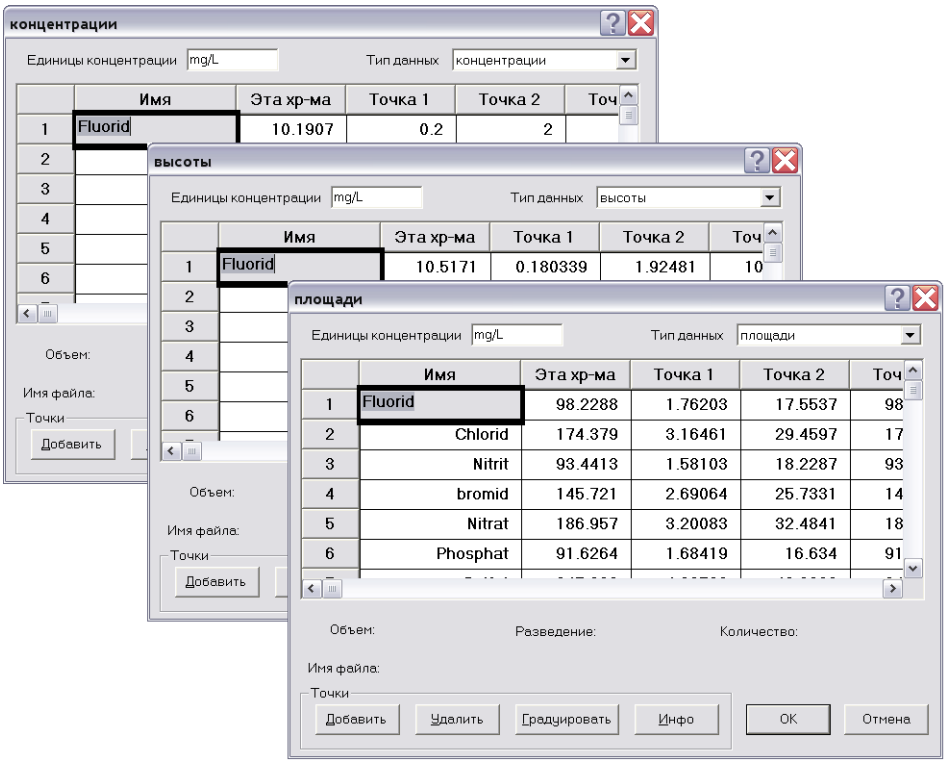


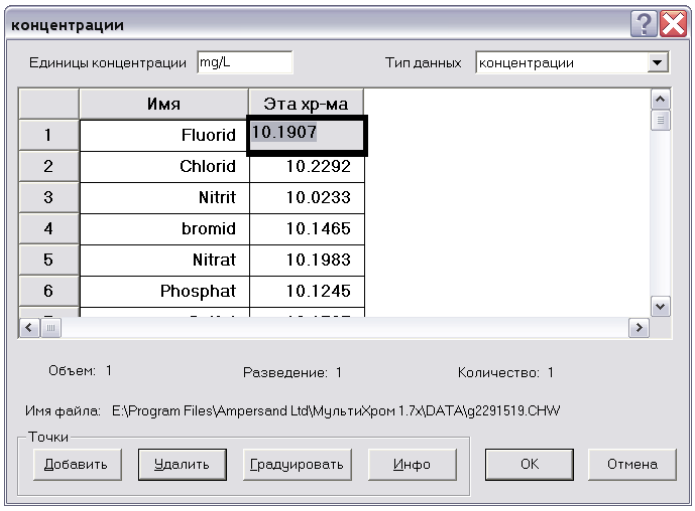
Таблица концентраций создается на основе **Таблицы компонентов**. Рекомендуется выполнять эту процедуру до получения градуировочных хроматограмм, однако, можно создать **Таблицу концентраций** и позже, "задним числом". В этом случае для построения градуировки удобно пользоваться *пакетным пересчетом* (см. часть ***Руководство для начинающих***, разделы ***Этап 19*** и ***Этап 20***).

На подготовительном этапе создается шаблон таблицы, содержащий необходимое число столбцов (равное числу планируемых градуировочных хроматограмм), в которые заносятся концентрации компонентов в используемых градуировочных смесях.

На втором этапе, во время собственно процедуры градуировки, таблица автоматически заполняется площадями и высотами пиков, взятыми из градуировочных хроматограмм.

Для создания **Таблицы концентраций** выполните следующее.

- Выберите команду Метод/Градуировка/Концентрации или щелкните по кнопке Концентрации в Таблице компонентов. Откроется окно Таблица концентраций.



Пустая **Таблица концентраций** содержит только три столбца, недоступные для редактирования: *Номер*, *Имя*, *Эта хр-ма*. Столбец *Имя* заполняется автоматически данными из **Таблицы компонентов**. Столбец *Эта хр-ма* содержит данные одного из столбцов **Таблицы пиков** (см. раздел ***Отчет/Таблица пиков***), в зависимости от выбранного *метода расчета* (там же, раздел ***Выбор метода расчета и задание параметров***):

Метод расчета	*Данные столбца **Эта хр-ма***
Нормировка отклика	*Площадь, %*

Внутренняя нормализация	*Концентрация, %*
Относительная концентрация	*Относительная концентрация* (абсолютные значения)
Остальные	*Концентрация* (абсолютные значения)

Поле **Единицы** содержит наименование единиц концентрации, использованных в данном случае. Это поле является справочным, при изменении единиц никакие пересчеты не производятся.

Списочное поле **Тип данных** позволяет выбрать для просмотра один из листов выбрать **Таблицы концентраций**:

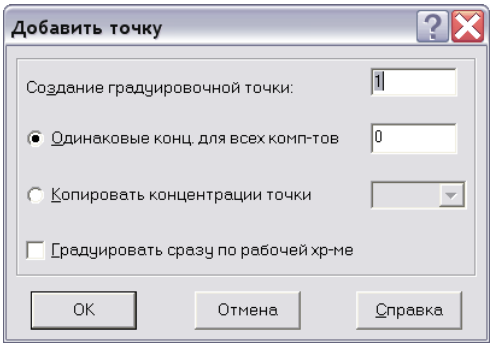
Концентрации — концентрации компонентов (используется по умолчанию). Для градуировочных уровней заполняются оператором.

Высоты — высоты пиков. Заполняются программой во время процесса градуировки.

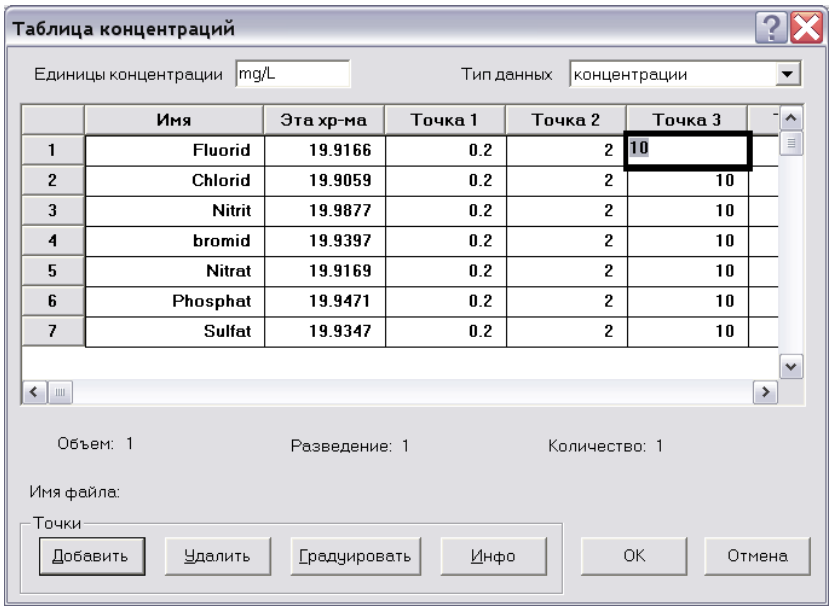
Площади — площади пиков. Заполняются программой во время процесса градуировки.

В нижней части окна под таблицей расположены поля **Объем**, **Разведение** и **Количество**, которые заполняются программой значениями, введенными в одноименные поля окна **Паспорт/Проба** для текущей хроматограммы, имя которой указано в расположенной ниже строке.

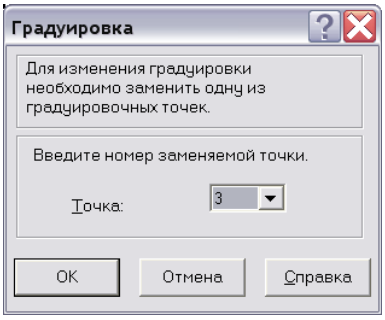
- Создайте в таблице столько столбцов, сколько точек предполагается использовать для получения градуировочной характеристики. Для этого для каждой точки выполните следующее.
  - Щелкните мышкой по кнопке **Добавить**. Откроется окно **Добавить точку**.



  - Если концентрации всех компонентов одинаковы, введите значение в поле **Одинаковые конц. для всех комп-тов**.
  - Если градуировочные смеси готовятся разведением одной исходной смеси, используемой для получения какой-либо градуировочной точки, установите флажок **Копировать концентрации** точки и отредактируйте, если требуется, значение в соответствующем поле.
  - Если используется несколько градуировочных образцов с одной и той же концентрацией, для каждого должна быть создана отдельная градуировочная точка, иначе по мере получения градуировочных хроматограмм данные будут не добавляться, а заменяться.
  - Если текущая хроматограмма соответствует создаваемой градуировочной точке, установите флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме**. При этом номер точки будет автоматически занесен в поле **Град.точка** на листе **Общие** окна **Паспорт**.
  - Нажмите кнопку **ОК**. Окно закроется, а в **Таблице концентраций** справа добавится новый столбец. При этом в строке **Объем**, **Разведение**, **Количество** появятся устанавливаемые по умолчанию значения *1*, которые получения градуировочной хроматограммы заменятся на данные из одноименных полей ее паспорта, а ниже появится имя самой хроматограммы. Сводную информацию для всех хроматограмм можно получить, нажав кнопку **Инфо**.
  - Отредактируйте, если требуется, значения концентраций для всех компонентов.



- Если требуется удалить какой-либо столбец, нажмите кнопку **Удалить**.
- Если текущая хроматограмма является градуировочной, но для нее не был задан номер градуировочной точки в соответствующем поле паспорта и не установлен флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме** при создании точки (см. выше), выполните следующее.
  - Нажмите кнопку **Градуировать**. Откроется окно **Градуировка**.



  - Введите в поле **Точка** номер градуировочной точки, соответствующей текущей хроматограмме.
  - Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Градуировка** закроется. При этом данные текущей хроматограммы будут включены в качестве параметров указанной точки для расчета градуировочной зависимости.
- Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Таблица концентраций** закроется.
- Если **Таблица концентраций** открывалась из окна **Таблицы компонентов**, закройте это окно, нажав кнопку **ОК**.

Особенности создания Таблицы компонентов и Таблицы концентраций в случае, когда используются градуировочные смеси разного состава

Не всегда во всех градуировочных смесях представлены все компоненты – вплоть до варианта, когда для каждого компонента используется отдельный набор градуировочных смесей. В этом случае рекомендуется следующий порядок действий.

- Получите и обработайте первую хроматограмму, выполнив следующее
  - Введите пробу первой смеси, запустите метод и получите хроматограмму.
  - Создайте **Таблицу компонентов** только для тех веществ, которые содержатся в этой смеси.
  - Откройте **Таблицу концентраций** и создайте в ней *первую точку*, установив при этом флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме**.
  - Запишите хроматограмму.
- Получите и обработайте вторую хроматограмму, выполнив следующее.
  - Введите пробу второй смеси, перезапустите первую хроматограмму и получите вторую.
  - Откройте **Таблицу компонентов** и добавьте строки для тех веществ, которых не было в первой хроматограмме.

- Действие кнопки Добавить зависит от того, какая строка выделена в таблице.
- Если выделена строка пика из числа предшествующих добавляемому, новая строка появится на соответствующем ему месте и с именем Пик[номер пика].
- Если выделена строка пика из числа следующих за добавляемым, появится новая строка в начале таблицы, с номером 0 и без имени. В том случае надо ввести вручную номер пика, после чего в столбце Время появится время выхода пика, а также имя – в противном случае безымянный пик будет удален при закрытии Таблицы компонентов.

- Откройте **Таблицу концентраций** и создайте в ней *вторую точку*, установив при этом флажок **Градуировать сразу по рабочей хр-ме**.
- В столбце второй точки введите концентрации для присутствующих во второй смеси компонентов. Для компонентов, которые присутствуют только в первой смеси, укажите концентрацию *0.* Если какой-то компонент из первой смеси идентифицирован (возможно, ошибочно), но его концентрация неизвестна, также введите *0* – в этом случае для этого компонента вторая точка не будет учитываться при градуировке.
- Запишите хроматограмму, сохранив сделанные изменения.

- Получите и обработайте описанным способом все хроматограммы, необходимые для создания полной **Таблицы компонентов**. После этого можно переходить ко второму этапу градуировки.

Процедура градуировки: второй этап

В программе *МультиХром* предусмотрено несколько вариантов проведения второго этапа процедуры градуировки системы.

Автоматические режимы градуировки:

a) внесение данных каждой градуировочной точки при получения хроматограммы, если в ее паспорте указан номер точки, объем, разведение и количество вводимой пробы;

b) использование *очередей* для автоматического построения или обновления градуировки путем получения новых хроматограмм (при использовании автосамплера в этом случае обеспечивается полностью автономный режим работы системы);

c) использование *пакетного пересчета* для автоматического построения или обновления градуировки путем пересчета градуировочных хроматограмм, ранее записанных на диске.

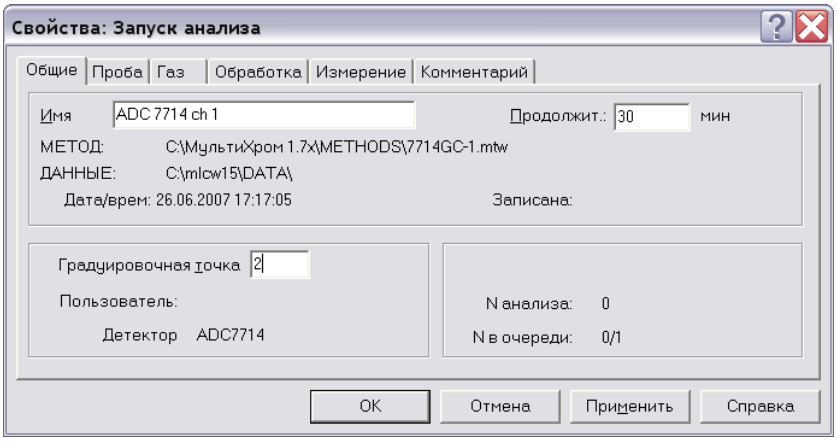
Автоматические методы градуировки являются базовыми в программе *МультиХром*. Их следует использовать во всех случаях, когда результаты автоматической разметки и идентификации пиков не требуют ручной коррекции. Необходимо иметь в виду, что автоматизируется только процесс заполнения уровней градуировочными данными и (пере)расчет градуировочных коэффициентов. При этом шаблон **Таблицы концентраций** должен быть создан заранее.

Ручной режим градуировки - использование данных завершенной или вновь открытой хроматограммы для внесения или обновления данных любой градуировочной точки.

Автоматическое внесение или обновление данных для одной градуировочной точки

Для автоматического внесения или обновления данных градуировочной точки, выполняемого по окончании хроматограммы, выполните следующее:

- При запуске метода на листе **Общие** окна **Запуск анализа** введите номер градуировочной точки в поле **Град.точка**.



Если градуировочные смеси получаются разведением исходной смеси, не забудьте ввести соответствующее значение в поле Разбавление на листе Проба!

- По окончании хроматограммы внесите новые градуировочные данные в метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**.

Если описанная процедура последовательно выполняется для всех градуировочных хроматограмм, в окончательном файле метода будет записана полная информация о выполненной градуировке.

Автоматическая градуировка в процессе получения градуировочных хроматограмм

Автоматическая градуировка в процессе получения градуировочных хроматограмм предполагает внесение данных для всех градуировочных точек, заданных в предварительно созданной **Таблице концентраций**, и построение градуировочных зависимостей в автоматическом режиме, без участия оператора, по мере получения хроматограмм. Автоматическая градуировка проводится с помощью *очередей*. Очередь представляет собой список последовательно запускаемых методов, с указанием некоторых дополнительных параметров и инструкций. В одной очереди можно использовать несколько различных методов, при этом для каждого из них могут быть включены как градуировочные хроматограммы, так и хроматограммы анализируемых смесей.

При создании метода, рассчитанного на автоматическую градуировку следует обратить особое внимание.

Режимы разметки и идентификации должны быть тщательно настроены, чтобы исключить возможные сбои в идентификации компонентов (используйте события интегрирования и механизм реперных пиков).

В Таблице концентраций число точек должно соответствовать числу градуировочных хроматограмм, а концентрация - фактической концентрации компонентов.

Для проведения градуировки с помощью очереди выполните следующее, руководствуясь при выполнении отдельных процедур указаниями раздела ***Запуск программы для работы с очередью***. В всех случаях, когда для команд есть дублирующие кнопки, их можно использовать вместо указанной команды.

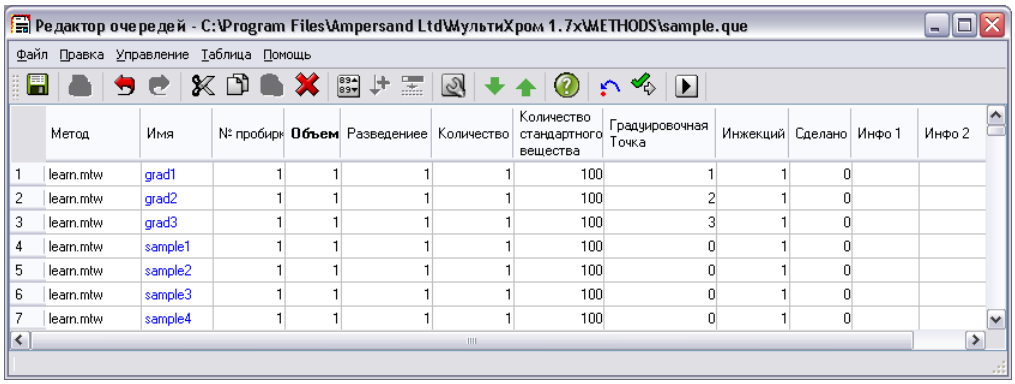
- Создайте новую или откройте ранее созданную очередь.
- Во вновь созданной очереди добавьте требуемое количество строк, в ранее созданной – измените, если нужно, их число.
- Отредактируйте значения полей, обращая особое внимание на правильное заполнение полей Разведение и Градуировочная точка.

При заполнении столбца Градуировочная точка обратите внимание на следующее.

Нельзя задавать номера точек, которых нет в Таблице концентраций.

Номера точек, не равные 0, не должны повторяться.

Для каждого метода все градуировочные хроматограммы должны предшествовать аналитическим.



	Метод	Имя	№ пробирк	Объем	Разведениее	Количество	Количество стандартного вещества	Градуировочная Точка	Инжекций	Сделано	Инфо 1	Инфо 2
1	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1	1	0		
2	learn.mtw	grad2	1	1	1	1	100	2	1	0		
3	learn.mtw	grad3	1	1	1	1	100	3	1	0		
4	learn.mtw	sample1	1	1	1	1	100	0	1	0		
5	learn.mtw	sample2	1	1	1	1	100	0	1	0		
6	learn.mtw	sample3	1	1	1	1	100	0	1	0		
7	learn.mtw	sample4	1	1	1	1	100	0	1	0		

- Запустите очередь, выбрав команду **Управление/Пуск**. Программа перейдет в режим исполнения. При этом, если окно **Редактор очереди** не развернуто на весь экран, за ним будет видно открывшееся окно первой хроматограммы.

- При работе с очередями в поле **Режим старта** (лист **Измерение** окна **Настройка метода**) следует установить значение Внешний. В этом случае окно хроматограммы открывается в режиме измерения базовой линии (цвет фона[11] – белый), предназначенном для контроля ее стабильности перед проведением анализа. Все данные, поступающие в этом режиме (до сигнала внешнего запуска), в дальнейшем не сохраняются.
- Введите первую пробу и запустите процесс. При поступлении сигнала внешнего запуска программа перейдет в режим измерения (цвет фона окна изменится на голубой), и начнется сбор данных.
- По окончании хроматограммы, которое происходит либо автоматически, по истечении времени, заданного в паспорте хроматограммы, либо по внешнему сигналу (если установлен флажок **Внешний стоп** в окне **Установки метода/Измерение**) будет выполнена обработка согласно установкам метода, но с обязательной записью на диск независимо от того, указана ли запись. При этом первая строка в **Таблице очереди** изменит цвет на красный, а значение в ячейке Сделано станет равным 1. Затем откроется окно следующей хроматограммы.
- Введите следующую пробу и запустите процесс. Если используется автосамплер, эта процедура выполняется автоматически. По окончании каждой хроматограммы значение в ячейке Сделано увеличивается на единицу, до тех пор пока не станет равным величине, заданной в ячейке Инжекций. После этого происходит переход к выполнению следующей строки.

> Пробы должны вводиться строго в том порядке, который установлен в Таблице очереди!

- Если требуется остановить очередь, выберите команду **Управление/Останов**. Текущая хроматограмма будет завершена с отметкой о выполнении, очередь остановлена и переведена в режим редактирования.
- Если по окончании выполнения анализа получен неудовлетворительный результат, выберите команду **Управление/Отменить последний анализ**. Отметка о выполнении последней хроматограммы будут снята, и при повторном запуске очереди эта хроматограмма будет запущена снова. Процедуру можно повторять для отмены нескольких анализов.
- Для повторного запуска хроматограммы выберите команду **Управление/Пуск**, при этом будет произведен запуск первой из хроматограмм, которые считаются невыполненными.
- Если требуется повторно запустить очередь сначала, перед запуском выберите команду **Таблица/Сброс**. Все отметки о выполнении будут сняты.

> По окончании очереди, включающей градуировочные хроматограммы, все аналитические хроматограммы будут содержать полную градуировку, согласно которой будет произведен расчет концентраций, а для градуировочных хроматограмм сохранится “историческая” градуировка, то есть та, которая существовала на момент записи именно этой хроматограммы.
>
> При градуировке с помощью очереди данные градуировки, записанные в файле метода, автоматически обновляются!

Автоматическая градуировка с использованием ранее полученных хроматограмм

Группа файлов полученных ранее градуировочных хроматограмм может быть использована для построения новой градуировочной зависимости или для обновления существующей. Для облегчения этой процедуры используется метод, именуемый *пакетным пересчетом*.

Этот метод позволяет создавать **Таблицу концентраций** уже после получения градуировочных хроматограмм, в том числе, и в случае, когда хроматограммы не были ранее объявлены градуировочными.

Пакетный пересчет позволяет также одновременно выполнять для входящих в него хроматограмм некоторые дополнительные преобразования:

проводить переразметку с измененными параметрами;
изменять текстовую информацию в паспорте;
изменять вид хроматограмм при выводе их на экран;
печатать отчеты с изменением их опций.

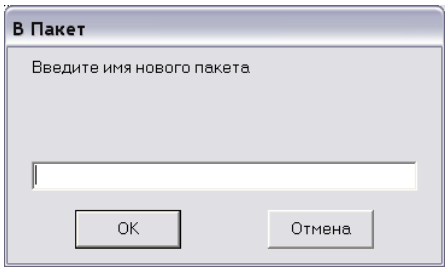
Создание пакета

Для применения пакетного пересчета вначале требуется объединить хроматограммы в пакет или отрыть ранее созданный пакет.

- Для создания пакета выполните следующее.

[11] Цвет фона здесь и далее указан в варианте поставки, его можно изменить, выбрав команду **Вид/Вид/Цвета**.

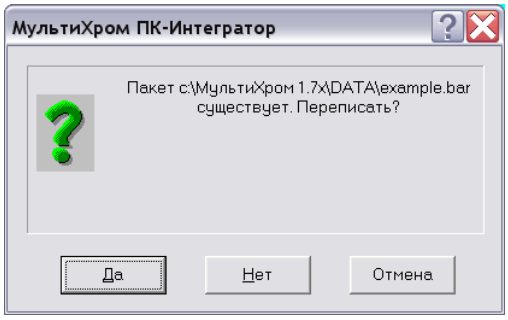
- Откройте окно **Открытие хроматограммы**, выбрав команду **Файл/Открыть/Хроматограмма** или нажав кнопку .
- Выделите все файлы, которые требуется включить в пакет. При выборе хроматограмм руководствуйтесь кратким описанием, приводимым в нижней части окна.
- Щелкните по кнопке **В Пакет**, откроется одноименное окно.



- Введите имя пакета и нажмите кнопку **ОК**. Откроется окно **Пакетный пересчет: [имя файла пакета]** (см. рисунок далее).

•Если пакет с указанным именем уже существует, прежде чем открыть окно пересчета, система предложит сделать выбор, нажав одну из кнопок:

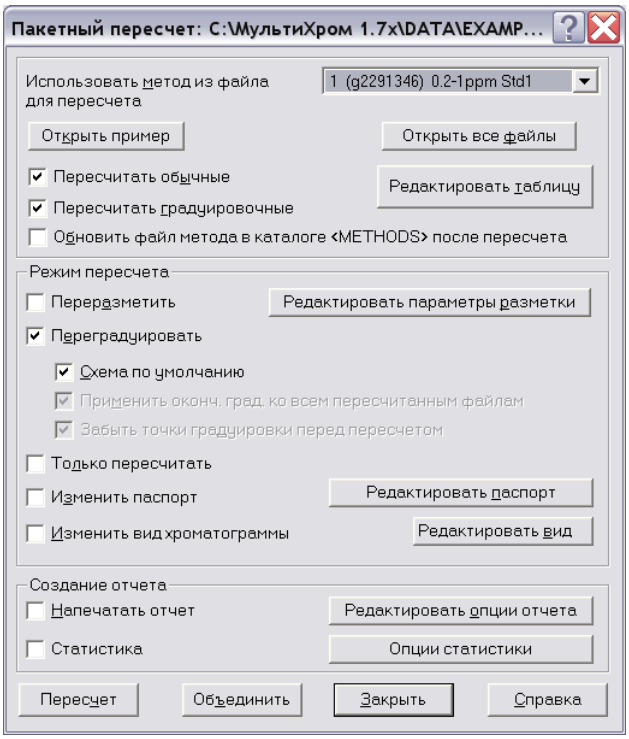
- **Да** – содержимое пакета обновляется;
- **Нет** – выделенные файлы добавляются в пакет.



•Для того чтобы открыть любой ранее созданный пакет, выполните следующее.

- Выберите команду **Файл/Открыть/Пакетный пересчет**. Откроется окно **Открыть файл** со списком файлов пакетов, имеющих расширение **.bar*.
- Выберите требуемый файл и нажмите кнопку **Открыть**. Откроется окно **Пакетный пересчет**.

•Для того чтобы повторно открыть пакет, который открывался последним за время текущего сеанса работы программы МультиХром, выберите команду **Файл/Открыть/Последний пакет** или нажмите кнопку . Откроется окно **Пакетный пересчет**.



- Для того чтобы просмотреть все хроматограммы, включенные в пакет, выполните следующее.
  - Нажмите кнопку **Открыть все файлы**. Откроются окна всех хроматограмм.
  - Закройте окно **Пакетный пересчет** и расположите окна удобным для просмотра образом.
  - Вновь откройте окно **Пакетный пересчет**, нажав кнопку .
- Если требуется выполнить переразметку, изменить вид, внести изменения в паспорт или в форму отчета, укажите для какого типа хроматограмм будут выполняться эти процедуры, установив флажки **Пересчитать обычные** и/или **Пересчитать градуировочные**.
- Если данные новой градуировки должны быть сохранены в файле метода, установите флажок **Обновить файл метода…**

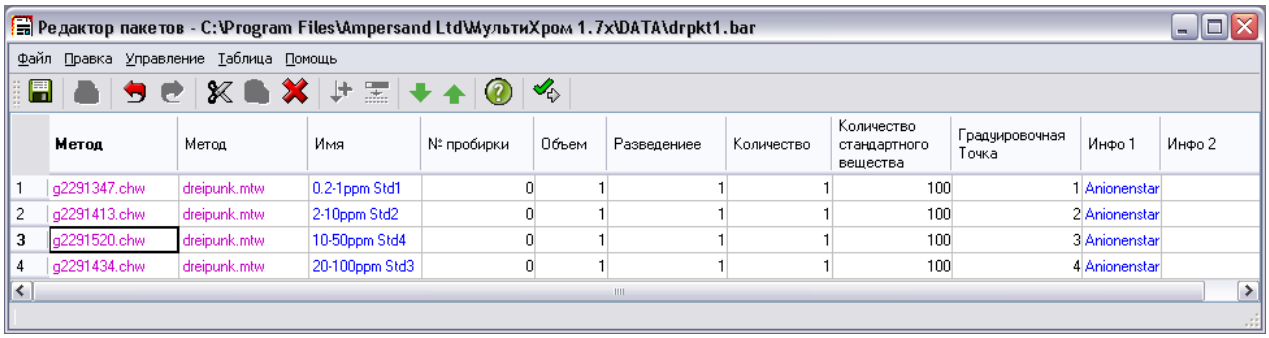
Хроматограмма-пример

Для пересчета включенных в пакет хроматограмм используется метод, взятый из одной хроматограммы, которая далее называется *хроматограмма-пример*. По умолчанию в этом качестве используется первая в списке хроматограмма, но можно выбрать любую.

- Для того чтобы заменить хроматограмму-пример выберите файл нужной хроматограммы в списочном поле **Использовать метод из файла для пересчета**.
- Если требуется внести в метод изменения, касающиеся градуировки, например, увеличить число градуировочных точек, выполните следующее.
  - Нажмите кнопку **Открыть пример**. Откроется окно хроматограммы-примера.
  - Закройте окно **Пакетный пересчет** и внесите требуемые изменения.
  - Вновь откройте окно **Пакетный пересчет**, нажав кнопку .
- Если требуется изменить разметку, паспорт, вид или опции отчета, используйте соответствующие кнопки в окне **Пакетный пересчет**, не открывая хроматограмму-пример.

Редактирование таблицы пакета

- Для того чтобы внести изменения в **Таблицу пакета**, в частности, задать номера градуировочных точек для всех градуировочных хроматограмм, выполните следующее.
  - Нажмите кнопку **Редактировать таблицу**. Откроется окно **Редактор пакетов**.



	Метод	Метод	Имя	№ пробирки	Объем	Разведениее	Количество	Количество стандартного вещества	Градуировочная Точка	Инфо 1	Инфо 2
1	g2291347.chw	dreipunk.mtw	0.2-1ppm Std1	0	1	1	1	100	1	Anionenstar	
2	g2291413.chw	dreipunk.mtw	2-10ppm Std2	0	1	1	1	100	2	Anionenstar	
3	g2291520.chw	dreipunk.mtw	10-50ppm Std4	0	1	1	1	100	3	Anionenstar	
4	g2291434.chw	dreipunk.mtw	20-100ppm Std3	0	1	1	1	100	4	Anionenstar	

- Внесите требуемые изменения (см. раздел ***Групповая обработка хроматограмм/Запуск программы для работы с очередью***).

При заполнении столбца Градуировочная точка обратите внимание на следующее.
Нельзя задавать номера точек, которых нет в Таблице концентраций.
Номера точек, не равные 0, не должны повторяться.

- Закройте окно **Редактор пакетов** с сохранением внесенных изменений.

Переразметка

- Для того чтобы произвести переразметку хроматограмм, выполните следующее.
  - Установите флажок **Переразметить**. В этом случае при разметке всех хроматограмм будут использованы параметры, заданные для хроматограммы-примера.
  - Если требуется изменить параметры разметки, откройте окно **Параметры разметки** (см. раздел ***Интегрирование***), нажав кнопку **Редактировать параметры разметки** и внесите необходимые коррективы.

Переградуировка и пересчет концентраций

- Для того чтобы выполнить переградуировку, то есть, пересчитать градуировочные коэффициенты с использованием данных включенных в пакет градуировочных хроматограмм и/или пересчитать концентрации в обычных хроматограммах (в соответствии с новой градуировкой или градуировкой из хроматограммы-примера), выполните следующее.
  - Установите флажок **Переградуировать**.
  - Выберите схему переградуировки, установив один из флажков:

    Схема по умолчанию – равнозначно одновременной установке двух следующих флажков;

    Применить оконч. град. ко всем пересчитанным файлам – по окончании градуировки для градуировочных хроматограмм “историческая” градуировка (полученная ранее данной хроматограммы) заменяется полно, что позволяет располагать хроматограммы в пакете в произвольном порядке;

    Забыть точки градуировки перед пересчетом – удаляются старые данные для всех градуировочных точек (важно для случая, когда обновляются не все градуировочные точки);

    если ни один из флажков не установлен, сохранится “историческая” градуировка для градуировочных хроматограмм, а также данные для необновленных градуировочных точек, если не для всех точек из **Таблицы концентраций** в пакете указаны новые градуировочные хроматограммы.
- Если требуется только пересчитать концентрации (для хроматограмм выбранного типа) в соответствии с градуировкой из хроматограммы-примера, без переразметки и переградуировки, установите флажок **Только пересчитать**. Установка этого флажка несовместима с одновременной установкой флажков **Переразметить** и **Переградуировать**.

Дополнительные процедуры, выполняемые при пакетном пересчете

- Если требуется ввести одинаковые изменения в некоторые текстовые поля паспорта, например, добавить общий комментарий, выполните следующее.
  - Установите флажок **Изменить паспорт**.
  - Нажмите кнопку **Редактировать паспорт**. Откроется окно **Паспорт** (см. раздел ***Паспорт хроматограммы***), при этом все поля, которые доступны для редактирования, будут пустыми.
  - Внесите требуемые изменения и закройте окно, нажав кнопку **ОК**.

При установке опции Изменить паспорт обратите внимание на следующее.

Изменения будут произведены только в тех полях, в которые были введены новые данные (содержимое полей, оставшихся пустыми, редактироваться не будет).
Никакие данные из паспорта хроматограммы-примера в паспорта других хроматограмм не вносятся.
Если в одноименные поля паспорта при редактировании и Таблицы пакета внесены разные данные, в паспорта хроматограмм после пересчета будут внесены данные из паспорта, а не из Таблицы пакета.

- Для того чтобы изменить вид представления хроматограмм на экране и сохранить его в дальнейшем, выполните следующее.
  - Установите флажок **Изменить вид хроматограммы**.
  - Нажмите кнопку **Редактировать вид**. Откроется окно **Вид**.
  - Внесите требуемые изменения (см. раздел ***Этап 20/Изменения вида хроматограммы***) и закройте окно, нажав кнопку **ОК**.

При установке опции Изменить вид обратите внимание на следующее.
Изменение вида производится только в том случае, если в окне Вид установлен флажок Уст.все.
Изменение вида производится только для открытых хроматограмм.
Изменение вида производится сразу при нажатии кнопки ОК в окне Вид, но изменения сохраняются в файлах хроматограмм только после выполнения пакетного пересчета.

- Для того чтобы напечатать отчеты для всех хроматограмм, выполните следующее.
  - Установите флажок **Напечатать отчет**.
  - Если требуется изменить опции отчета, откройте окно **Опции отчета** (раздел ***Отчет***), нажав кнопку **Редактировать опции отчета** и внесите необходимые коррективы.

В окне Опции отчета для пакетного пересчета по умолчанию всегда устанавливается вывод на принтер, остальные опции – как в хроматограмме-примере.

- Запустите пересчет, нажав кнопку **Пересчет** внизу экрана. После выполнения пересчета окно **Пакетный пересчет закроется**.

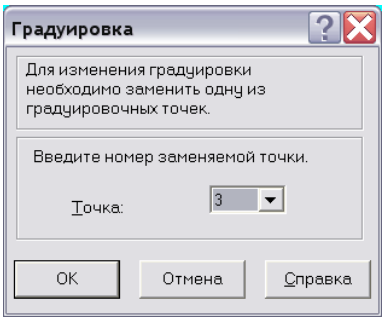
Ручная градуировка

Ручная градуировка используется в тех случаях, когда требуется контролировать или настраивать каждый этап построения градуировки: разметку, идентификацию, построение градуировочной точки и т.д. , и только после этого включать полученную хроматограмму в число градуировочных. В этом случае при запуске хроматограммы в окне **Паспорт** в поле **Град.точка** вводится значение *0,* а соответствующая точка в **Таблице концентраций** создается заранее.

Процедуру добавления хроматограммы к градуировочным можно выполнить двумя способами.

Добавление градуировочной хроматограммы через Таблицу концентраций

- Получите градуировочную хроматограмму или загрузите ее с диска. Проверьте результаты интегрирования и идентификации, внесите требуемые изменения.
- Откройте Таблицу концентраций.
- Нажмите кнопку **Градуировать**. Откроется окно **Градуировка**.



- Введите в поле **Точка** номер существующей градуировочной точки, которой соответствует текущая хроматограмма.
- Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Градуировка** закроется. При этом данные текущей хроматограммы будут включены в качестве параметров указанной точки для расчета градуировочной зависимости.

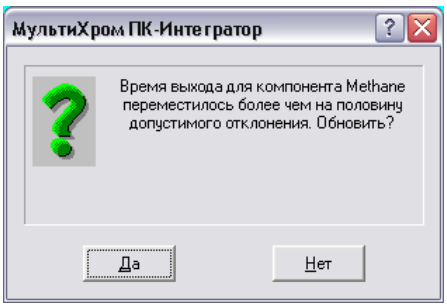
Упрощенный способ добавления градуировочной хроматограммы

Специальная упрощенная процедура заполнения или обновления данных без открытия **Таблицы концентраций** применима только в случае, если пользователь уверен, что соответствующий столбец в этой таблице уже существует.

Для заполнения или обновления данных градуировочной точки выполните следующее.

- Получите градуировочную хроматограмму или загрузите ее с диска. Проверьте результаты интегрирования и идентификации, внесите требуемые изменения.
- Выберите команду **Обработка/Заполнить**. Откроется окно **Градуировка**.
- В списочном поле **Точка** выберите требуемый номер точки (в список включены только точки, существующие в **Таблице концентраций**).
- Нажмите кнопку **ОК**. Данные для указанной точки будут внесены или обновлены, все градуировочные коэффициенты будут пересчитаны.
-

При любом способе ручного изменения данных градуировочной точки программа проверяет дрейф времен удерживания компонентов. Если для какого-либо компонента дрейф превысил половину идентификационного окна, появится сообщение:



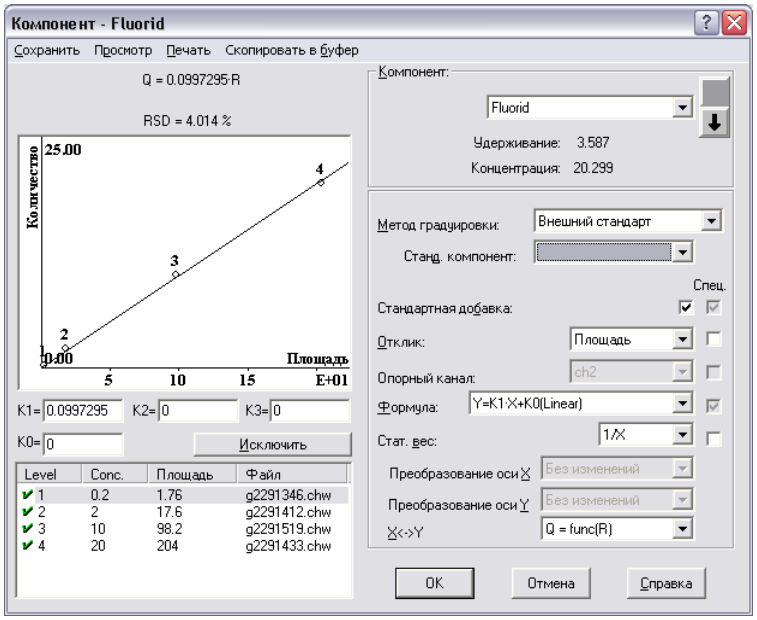
- В случае появления рекомендации обновить времена выхода убедитесь, что это не связано с ошибочной идентификацией, и нажмите кнопку **Да**. В противном случае нажмите кнопку **Нет** и внесите необходимые коррективы.
- Посмотрите результаты градуировки, выбрав команду **Метод/Градуировка/Графики** и внесите изменения, если это необходимо (см. раздел ***Построение градуировочных зависимостей***).
- Запишите метод и хроматограмму на диск, выбрав команды **Файл/Сохранить/Хроматограмма** и **Файл/Сохранить/Метод**.

Построение градуировочных зависимостей

Построение градуировочных зависимостей для каждого из компонентов является конечной целью процедуры градуировки. Программа *МультиХром* дает возможность просмотреть полученные кривые и внести необходимые исправления.

Окно Компонент

- Для просмотра градуировочных кривых выберите команду **Метод/Градуировка/Графики** или, если открыта **Таблица компонентов**, нажмите кнопку **Графики**. Откроется окно **Компонент–[Имя первого компонента]**.



Это окно представляет собой “стопку” однотипных окон для всех компонентов, включенных в **Таблицу компонентов**. При смене компонента заголовок окна будет изменяться на **Компонент-[Имя текущего компонента]**. Далее для краткости окно будет именоваться **Компонент**.

Для того чтобы перейти к окну другого компонента, выполните одно из следующих действий.

- Откройте список в поле **Компонент** и выберите требуемое значение..
- Прокручивайте список в поле **Компонент** вперед или назад, щелкая мышью по кнопкам ⬆ и ⬇ справа от поля.
- Прокручивайте список в поле **Компонент** вперед или назад, выделив текст в этом поле и нажимая на клавиатуре клавиши ↑ и ↓.

Под полем **Компонент** расположены два справочных поля:

Удерживание – значение из столбца *Время* **Таблицы компонентов**;

Концентрация – значение из столбца *Эта хр-ма* **Таблицы концентраций**.

В левой половине окна **Компонент** представлены следующие данные:

полином ***Q = Q(R)***, аппроксимирующий зависимость количества вещества в пробе ***Q*** от величины отклика **R**;

средне-квадратичное отклонения (***СКО***) градуировочных точек от аппроксимирующей кривой; *%);*

график зависимости концентрации от отклика, построенный по формуле ***Q(R)***;

коэффициенты ***K0, K1, K2, K3*** полинома ***Q(R)***, основным из которых является коэффициент при линейном члене ***K1 = ФО*** из **Таблицы компонентов**;

список градуировочных точек, для которых указаны номер точки, исходная концентрация компонента (без учета разбавления), величина отклика, имя хроматограммы, а также признак использования данной хроматограммы для градуировки (✔ – используется, ✕ – не используется), изменяемый с помощью кнопки **Использ**.

> Внимание! Для построения градуировочного графика используются значения концентрации, рассчитанные из величин концентрации, указанных в списке градуировочных точек, с учетом параметров Объем, Разведение, Количество.

В правой половине окна **Компонент** расположена область для ввода параметров, которые позволяют выполнить следующие действия:

- выбрать метод градуировки;
- выбрать отклик, то есть параметр пика (площадь или высота), который будет служить количественной характеристикой величины пика;
- для многоканальных хроматограмм выбрать канал, отклик которого используется для расчета концентраций;
- оптимизировать форму градуировочной кривой, выбрав тип аппроксимирующей зависимости, а также условие оптимизации (статистический вес различных точек);

- для методов градуировки Внутренний стандарт и Табличный выбрать стандартный компонент и его концентрацию;
- установить для текущего компонента локальные (индивидуальные) градуировочные параметры.

> Изменение значений в столбце ФО Таблицы компонентов при изменении параметров в окне Компонент происходит после нажатия кнопки ОК .

Окно **Компонент** имеет собственное меню, предназначенное для просмотра, печати и сохранения данных градуировки независимо от создания отчета. Отдельно графики могут быть скопированы в файл (команды **Сохранить/Записать как WMF** и **Сохранить/Записать как EMF**) или в буфер (команда **Скопировать в буфер**). Все результаты градуировки можно распечатать как отдельно для текущего компонента, так и для все компонентов вместе (команды **Печать/Печать этого компонента** и **Печать/Печать всех компонентов**), при этом возможен предварительный просмотр (команды **Просмотр/Просмотр этого компонента** и **Просмотр/Просмотр всех компонентов**).

Выбор метода градуировки

Программа *МультиХром* позволяет выбрать один из трех *методов градуировки*, используя одноименное списочное поле в окне **Компонент**:

Внешний стандарт
Внутренний стандарт
Табличный.

> При смене метода градуировки пользователь должен подтвердить свое согласие на изменение ГЛОБАЛЬНОГО параметра.

Внешний стандарт

Внешний стандарт является базовым методом, устанавливаемым по умолчанию. При его использовании для всех компонентов получаются независимые градуировочные характеристики. От полученной таким образом абсолютной градуировки можно перейти к любому другому методу.

Внутренний стандарт

Метод внутреннего стандарта позволяет уменьшить ошибки градуировки, связанные с погрешностями ввода пробы, путем пересчета характеристик всех компонентов относительно одного, выбранного в качестве стандарта. При этом для стандарта сохраняется исходная абсолютная градуировка, а для всех остальных компонентов в дальнейшем для расчетов концентраций используются скорректированные градуировочные зависимости.

Для перехода к методу внутреннего стандарта выполните следующее.

- В поле **Метод градуировки** выберите значение Внутренний стандарт.
- В поле **Станд. компонент** выберите компонент, который используется в качестве стандарта.

Табличный метод. Измерение относительных величин ФО

Табличный метод градуировки заключается в введении постоянных относительных значений фактора отклика для всех компонентов, кроме одного, выбранного в качестве стандарта. Для стандарта может использоваться как абсолютная градуировка, что позволяет рассчитывать абсолютные концентрации для всех компонентов, так и произвольно задаваемое значение фактора отклика (в частности, равное 1) для расчетов относительного содержания компонентов методом *Нормализации отклика* (см. раздел ***Анализ пробы неизвестного состава/***

Определение относительного содержания компонентов (без проведения градуировки)). Относительные значения фактора отклика для компонентов рассчитываются по результатам независимых измерений или литературным данным.

Для перехода к табличному методу выполните следующее.

- В поле **Метод градуировки** выберите значение Табличный.
- В поле **Станд. компонент** выберите компонент, который используется в качестве стандарта.
- Выполните градуировку, используя образцы, содержащие только стандартный компонент. При этом в **Таблице компонентов** значение ФО для эталонного компонента станет равным расчетному.
- Введите в **Таблице компонентов** в столбце ФО для остальных компонентов относительные величины фактора отклика, рассчитанные по литературным данным или по ранее произведенным измерениям. При этом расчет абсолютной концентрации эталонного компонента будет про-

изводиться по градуировке, а для остальных компонентов – пересчетом путем умножения на указанные относительные величины ФО.

Табличный метод можно использовать для измерения относительных величин ФО. Для этого выполните следующее.

- Получите хроматограмму градуировочной смеси, содержащей все компоненты.
- В **Таблице концентраций** создайте соответствующую градуировочную точку, при этом можно использовать произвольные единицы концентрации, в том числе, и относительные.
- В окне **Компонент** выберите метод градуировки Табличный.
- В поле **Станд. компонент** выберите компонент, который используется в качестве стандарта. В результате в **Таблице компонентов** в столбце ФО для стандартного компонента будет указана абсолютная величина фактора отклика, а для остальных – относительные. При использовании нескольких градуировочных точек приводится среднее значение ФО, рассчитанных отдельно для каждой точки.

Более подробно о методах градуировки см. раздел ***Методы градуировки***.

Градуировочные кривые

Для построения градуировочной кривой для каждого компонента используются градуировочные точки, для которых значение координаты *X* (величина отклика, то есть, площадь или высота хроматографических пиков, в соответствии с установкой в поле **Отклик**) , берется из градуировочной хроматограммы, а координаты *Y* (значение концентрации) – из соответствующего ей столбца **Таблицы концентраций** с учетом параметров **Объем**, **Разведение**, **Количество**. Число точек одинаково для всех компонентов и практически не ограничено.

Список градуировочных точек с координатами и именами файлов градуировочных хроматограмм приведен в левом нижнем углу окна. Если текущий компонент отсутствует в какой-либо градуировочной смеси (или не идентифицированы системой), соответствующая хроматограмма не используется при расчете, на что указывает значение *Нет* в столбце **Исп.** На графике такая точка имеет по оси X координату *0*.

Для расчета концентраций программа *МультиХром* использует полиномы 1-3 степени, наилучшим образом аппроксимирующие экспериментально полученные градуировочные зависимости. В общем случае градуировочная кривая описывается формулой:

$$Q(R) = K_3 \cdot R^3 + K_2 \cdot R^2 + K_1 \cdot R + K_0$$

Эта формула полностью определяется набором *градуировочных коэффициентов* K_0- K_3, который и сохраняется программой *МультиХром* в качестве результата выполненной градуировки.

Наиболее важным из коэффициентов является K_1 (наклон градуировочной кривой), он называется *фактором отклика (ФО)*. В большинстве случаев не требуется никаких других коэффициентов, так как достаточно хорошим приближением является линейная градуировочная зависимость, проходящая через начало координат (прямо-пропорциональная зависимость):

$$Q(R) = K_1 \cdot R$$

Коэффициент K_0, отличный от 0 для кривых, не проходящих через начало координат, удобно использовать для учета *стандартной добавки*, если она вводится в градуировочные и анализируемые смеси. В программе *МультиХром* предусмотрена специальная процедура вычитания этого коэффициента при установке флажка **Стандартная добавка**, позволяющая получать результирующие градуировочные кривые, проходящие через *0*.

Коэффициенты K_2, K_3 описывают отличие градуировочной зависимости от линейной, вклад соответствующих членов, как правило, невелик.

Выбор типа градуировочной кривой

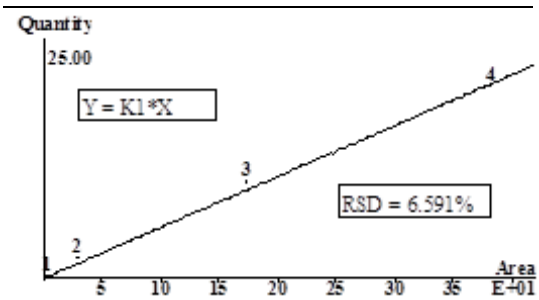
Для выбора типа градуировочной кривой предназначено списочное поле **Формула**, содержащее следующие варианты градуировочных кривых:

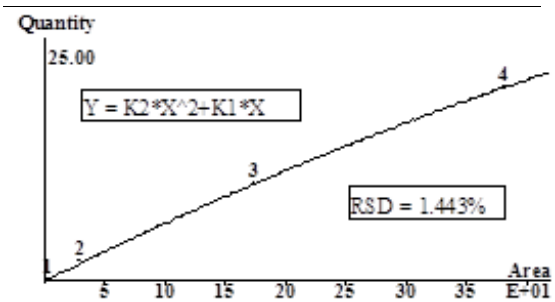
Y = K1•X	прямо-пропорциональная зависимость
Y = K1•X + K0	линейная зависимость со сдвигом относительно начала координат
Y = K2•X^2 + K1•X	квадратичная зависимость, проходящая через начало координат
Y = K2•X^2 + K1•X + K0	квадратичная зависимость со сдвигом относительно начала координат
Y = K3•X^3 + K2•X^2 + K1•X	кубическая зависимость, проходящая через начало координат
Y = K3•X^3 + K2•X^2 + K1•X + K0	кубическая зависимость со сдвигом относительно начала координат

Для однозначного выбора коэффициентов аппроксимирующей кривой их число не должно быть больше числа градуировочных точек. Если это условие нарушено, программа автоматически переходит к формуле с допустимым числом коэффициентов, при этом всегда $K1 \bullet X \neq 0$, а остальные по мере необходимости приравниваются к 0: $K3=0$, затем $K2=0$, в последнюю очередь $K0=0$.

Для выбранного типа кривой программа производит оптимизацию коэффициентов таким образом, чтобы минимизировать отклонение расчетных величин от измеренных.

Полученные значения коэффициентов выводятся в полях **K0**, **K1**, **K2** и **K3** под графиком градуировочной кривой (эти величины можно редактировать). Над графиком располагается формула кривой в виде зависимости **Q(R)**, а также относительная величина среднеквадратичного отклонения (**СКО**) и коэффициент корреляции (**Коэф.Корр.**) Величина СКО удобна для сравнения результатов аппроксимации: чем она меньше, тем удачнее выбор[12]. Коэффициент корреляции вычисляется только при выборе линейно зависимости (формулы $Y = K1 \bullet X$ или $Y = K1 \bullet X + K0$). Подробнее о выборе аппроксимирующей функции см. ***Приложение 14/Построение градуировочной зависимости методом наименьших квадратов***.





По умолчанию в поле **Формула** устанавливается значение $Y = K1 \bullet X$, а в поле **Стат.вес** – значение *1*, именно их рекомендуется использовать в общем случае. Если требуется задать другие значения, это должно быть специально указано в методике проводимых измерений.

Изменение типа координат при построении градуировочной зависимости

В программе предусмотрена возможность использования не только координат Q и R, но и lgQ, lgR, 1/Q, 1/R, а также построения градуировочной зависимости как в виде Q(R), так и R(Q).

- Для выбора типа оси X или Y выполните следующее.
  - Нажмите кнопку в конце поля **Преобразование оси X** или **Преобразование оси Y** - при этом откроется список возможных значений:

    Без изменений – ось X, ось Y

    Логарифмическое – ось lgX*, ось lgY*, где X*, Y* - безразмерные величины, численно равные X, Y соответственно

    Обратное – ось 1/X, ось 1/Y
  - Выберите требуемое значение. При этом появится запрос на подтверждение изменения глобального параметра: «*Вы пытаетесь изменить ГЛОБАЛЬНЫЙ параметр! Пересчитать все компоненты?*»
  - Нажмите кнопку **Да** – преобразование оси будет выполнено.
- Для изменения типа искомой градуировочной зависимости выполните следующее.
  - Нажмите кнопку в конце поля **X**<->**Y** - при этом откроется список возможных значений:

    Q = func (R) – строится зависимость количества вещества от отклика

    R = func (Q) – строится зависимость отклика от количества вещества
  - Выберите требуемое значение. При этом появится запрос на подтверждение изменения глобального параметра: «*Вы пытаетесь изменить ГЛОБАЛЬНЫЙ параметр! Пересчитать все компоненты?*»

[12] Если $n=f$, задача решается точно и СКО=0. Однако такой выбор аппроксимирующей формулы не рекомендуется, так как при этом теряется информация о погрешностях измерений.

- Нажмите кнопку **Да** – полиномиальная аппроксимация будет производиться для обратной функции.

Отбраковка "выпавших" точек

Если некоторые точки "выпадают" из общего хода зависимости, их можно исключить. Для этого точку следует выбрать в списке, затем нажать кнопку **Исключить**. При этом индикатор ✔ заменится индикатором ✕, а кнопка **Исключить** преобразуется в кнопку **Учесть**. Нажатие этой кнопки вновь включит точку в расчет градуировочной зависимости.

> Исключение градуировочной точки затрагивает только один, текущий компонент, для всех остальных компонентов она сохраняется!

Особенности градуировки для многоканальных хроматограмм

При измерении концентраций компонентов по данным многоканальных хроматограмм (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы***) используется сигнал какого-либо одного канала, который называется *опорным*. При проведении градуировки для выбора канала используется списочное поле **Опорный канал**. В качестве опорного рекомендуется выбирать тот канал, для которого пик текущего компонента имеет максимальное отношение сигнал/шум. Для разных компонентов такие каналы могут не совпадать, в этом случае опорный канал для отдельных компонентов может быть задан как *локальный* параметр (см. следующий раздел). При этом разметка должна быть произведена таким образом, чтобы на хроматограмме присутствовали пики всех компонентов (если ни для одного канала все пики не размечаются автоматически, их можно добавить в ручном режиме).

В дальнейшем при расчетах концентраций для каждого компонента используется выбранный для него опорный канал.

Для того чтобы изменить опорный канал, необходимо произвести пересчет градуировки с новым значением в поле **Опорный канал**. Для этого рекомендуется использовать пакетный пересчет (см. раздел ***Этап 20***).

Глобальные и локальные параметры

Параметры, выбираемые для построения градуировочных зависимостей, как правило, являются общими для всех компонентов – в этом случае они называются *глобальными*. Однако для некоторых параметров для отдельных компонентов возможен выбор значения, отличного от других – в этом случае параметр называется *локальным*, а компонент – *специальным*.

Только *глобальными* могут быть такие параметры, как **Метод градуировки**, **Станд. компонент**, а также все параметры преобразования осей.

> При изменении глобального параметра открывается окно с требованием подтвердить проведение пересчета. При изменении локального параметра подтверждения не требуется.

Без ограничений в качестве локального может быть выбран параметр **Отклик** (использование в качестве отклика высоты или площади пика), а также параметры построения градуировочной зависимости – **Формула** и **Стат. Вес**.

- Для того чтобы назначить тот или иной параметр локальным для текущего компонента, установите флажок **Спец**. рядом с соответствующим полем.

Стандартная добавка

Всегда является *локальным* параметр **Стандартная добавка** – если для какого-либо компонента установлен соответствующий флажок, для него будет производиться автоматическое вычитание стандартной добавки. В этом случае для аппроксимации градуировочной зависимости в поле **Формула** всегда представлены только функции с K0 ≠ 0, однако полученное значение K0 вычитается, и в окончательном виде градуировочная кривая, представленная в левой половине окна, проходит через 0.

Метод стандартной добавки не может использоваться с модифицированными осями координат (lgQ, lgA, 1/Q, 1/A).

Опорный канал

Параметр **Опорный канал** доступен для выбора только для многоканальных хроматограмм (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы/Обработка многоканальных хроматограмм/ Вычисляемый канал***). В качестве локального он выбирается для тех компонентов, для которых сигнал на общем канале слишком слаб или вовсе отсутствует. При этом для разметки следует использовать вычисляемый канал, так как в противном случае пики некоторых компонентов не будут размечены. Однако вычисляемый канал не рекомендуется выбирать в качестве опорного (см. раздел ***Многоканальные хроматограммы/Расчет концентраций***).

Хранение и обновление градуировки

Результаты градуировки хранятся как в файле *метода*, так и в файле *хроматограммы*. Если в метод включена градуировка, для любой хроматограммы, полученной с его помощью, будет производиться идентификация компонентов и расчет концентраций с использованием этой градуировки.

> Любые изменения, внесенные в метод, в том числе, и изменение градуировки, не затрагивают хроматограммы, полученные этим методом ранее.

Обычно выполнение градуировки и запись ее в файл метода предшествует получению аналитических хроматограмм. Однако существует несколько способов применения обновленной градуировки к ранее полученным хроматограммам. Наиболее гибким и удобным способом, позволяющим выполнять эту процедуру одновременно для нескольких хроматограмм, является *Пакетный пересчет* (см. раздел ***Автоматическая градуировка с использованием ранее полученных хроматограмм***).

Если требуется перенести новые данные только для градуировки из одной хроматограммы в другую, можно также воспользоваться одним из следующих способов.

- Для переноса данных между хроматограммами, полученными с помощью одного и того же метода, выполните следующее.
  - Откройте хроматограмму, из которой переносится градуировка, и перепишите данные в файл метода, выбрав команду **Метод/Градуировка/Записать в метод**.
  - Откройте хроматограмму, в которую переносится градуировка, и перепишите данные из файла метода, выбрав команду **Метод/Градуировка/Прочитать из метода**.
  - Закройте хроматограмму, сохранив внесенные изменения.

  Этот метод является самым простым способом перенести градуировку из одной хроматограммы в другую, не меняя никакие другие параметры. Его недостатком является потеря градуировки, хранившейся ранее в файле метода, которая может потребоваться для других задач.
- Для переноса данных между хроматограммами, полученными с помощью произвольных методов, выполните следующее.
  - Откройте хроматограмму, из которой переносится градуировка и выберите команду **Метод/Градуировка/Экспорт**. При этом откроется окно для записи данных градуировки в специальный промежуточный файл.
  - Создайте и сохраните файл *[Имя].cal*.
  - Откройте хроматограмму, в которую переносится градуировка и выберите команду **Метод/Градуировка/Импорт**. При этом откроется окно, в котором был записан промежуточный файл.
  - Откройте промежуточный файл. При этом в хроматограмму будут перенесены все данные градуировки, начиная с **Таблицы компонентов**.
  - Закройте хроматограмму, сохранив внесенные изменения.

  Этот метод можно также рекомендовать для переноса градуировки между хроматограммами, созданными одним методом, если нежелательно переписывать файл самого метода.

Анализ пробы неизвестного состава

Идентификация компонентов

Первой задачей при анализе пробы неизвестного состава является определение наличия в образце искомых компонентов. Как правило, для этого производится сравнением времен удерживания для пиков в полученной хроматограмме со значениями этого параметра для компонентов, включенных в **Таблицу компонентов**. Однако в силу нестабильности этого параметра, в частности, дрейфа, нарастающего по мере увеличения промежутка времени между проведением градуировки и выполнением рабочих анализов, а также наличия в анализируемых смесях посторонних примесей, могут возникать ошибки идентификации. В программе *МультиХром* предусмотрен ряд мер, направленных на их предотвращение.

Окно идентификации

Программа ищет компонент в пределах *окна идентификации*, которое составляет $\pm w\%$ от его времени удерживания, где w – величина, заданная для каждого компонента в столбце *Окно%* **Таблицы компонентов**. Величина окна устанавливается по умолчанию равной 5%, кроме следующих случаев, когда величина $0.05t_n$оказывается меньше:

расстояния до ближайшего пика, в этом случае значение w выбирается таким, чтобы величина $0.01wt_n$ составляла 99% от этого расстояния;

ширины пика по уровню 60.7%, в этом случае значение w выбирается таким, чтобы величина $0.01wt_n$ была равна указанной ширине.

Пользователь может редактировать величину окна.

Реперные пики

Для компенсации влияния дрейфа времен удерживания на надежность идентификации предусмотрена возможность назначения *реперных* компонентов. Обычно в качестве реперных выбираются самые большие, отдельно стоящие пики, хотя могут использоваться и другие критерии выбора, например, номер пика, если известно, что на всех хроматограммах он не изменится.

Реперы могут выбираться сразу при создании **Таблицы компонентов**, если заранее ожидается значительный дрейф времен удерживания, например, из-за изменения температуры в помещении в течение рабочего дня. Если же первоначально дрейфа не наблюдается, реперы могут быть назначены позже, в случае необходимости. При наличии дрейфа целесообразно периодически проводить коррекцию времен удерживания в **Таблице компонентов** (см. следующий раздел).

> При наличии реперов перед идентификацией компонентов программа осуществляет пересчет времен удерживания для остальных компонентов, вводя поправку, рассчитанную по временам удерживания для реперов. При этом в **Таблицу компонентов** изменения не вносятся, но при выделении строки в таблице курсор на хроматограмме устанавливается с учетом поправки.

Для назначения реперных компонентов выполните следующее.

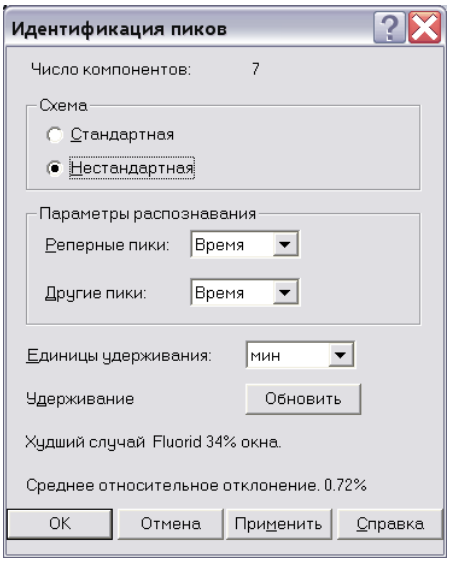
- Откройте Таблицу компонентов.
- Выберите 1-3 компонента, относительно которых известно, что хотя бы один из них обязательно будет присутствовать в любой из исследуемых смесей, и все они достаточно надежно идентифицируются по одному и тому же признаку, список которых приведен в поле **Параметры распознавания** окна **Идентификация пиков** (см. следующий раздел).
- В столбце Репер для всех выбранных компонентов установите Да.
- В столбце Окно % установите значения, соответствующие возможному изменению времен удерживания (обычно 10-15%). При этом эти величины не должны превышать расстояния до ближайших пиков, которые могут быть ошибочно приняты за реперные.
- В окне **Идентификация пиков** (см. следующий раздел) выберите схему и параметры распознавания для реперных и остальных пиков в соответствии с наиболее подходящей процедурой распознавания .

> Обновление идентификации при изменении реперов производится после обращения к окну **Идентификация пиков** или после закрытия **Таблицы компонентов** нажатие кнопки **ОК**.

Общая настройка алгоритма идентификации компонентов

Для получения наилучших результатов этой процедуры предусмотрена возможность настройки параметров алгоритма распознавания.

Параметры распознавание редактируются в окне **Идентификация пиков**, которое открывается командой **Метод/Градуировка/Идентификация** или щелчком по кнопке **Идентификация** в **Таблице компонентов**.



Число компонентов — информация об общем числе компонентов в **Таблице компонентов**.

Схема

Стандартная — стандартная схема устанавливает распознавание *реперных* пиков по высотам, а *всех остальных* - по временам. Это - наиболее часто используемая схема распознавания.

Нестандартная — нестандартная схема позволяет установить произвольную комбинацию *параметров распознавания* для *реперных* и *всех остальных* пиков.

Параметры распознавания

Реперные пики — выбор критерия идентификации для *реперных компонентов*. Значение по умолчанию: *Высоты*.

Другие пики — выбор критерия идентификации для других (обычных) компонентов. Значение по умолчанию: *Времена*.

Для обоих типов пиков возможны следующие значения параметров идентификации:

Время — выбирается пик, ближайший по времени удерживания к *ожидаемому времени удерживания* компонента, в пределах установленного *окна идентификации*.

Высота — выбирается самый высокий пик в пределах *окна идентификации* компонента.

Площадь — выбирается пик с наибольшей площадью в пределах установленного *окна идентификации* компонента.

Номер — выбирается пик, имеющий тот же номер, что и компонент в **Таблице компонентов**.

Индекс — выбирается пик, имеющий индекс, наиболее близкий к ожидаемому индексу удерживания компонента в пределах установленного *окна идентификации*.

В программе принят двухступенчатый механизм распознавания пиков.

- *На первом этапе* распознаются только реперные компоненты (если они заданы!), на втором - все остальные. Реперный пик ищется в пределах заданного для него временного окна. Если в окне присутствует несколько пиков, в качестве реперного обычно выбирается самый высокий пик (хотя можно использовать и другие критерии).
- *На втором этапе*, когда реперные пики найдены, для идентификации остальных пиков используется относительное ожидаемое время удерживания, скорректированное в соответствии с полученными в данной хроматограмме временами удерживания реперных компонентов. Например, если время удерживания реперного компонента (пусть только один компонент объявлен реперным) в данной хроматограмме увеличилось на 10%, то и ожидаемое время выхода всех остальных компонентов также будет увеличено на 10%. Для более точной коррекции времен удерживания рекомендуется выбирать 2-3 реперных компонента, так чтобы был пик в начале хроматограммы и пик ближе к концу. В этом случае погрешность корректировки, появляющаяся из-за неучтенного "мертвого" объема колонки, будет отсутствовать.

Единицы удерживания[13] единицы удерживания, которые используются при выводе данных в **Таблице пиков** (см. раздел ***Отчет/Таблица пиков***) Возможные значения: *секунды*, *минуты*, *микролитры*, *миллилитры*, *N измерений*. Значение по умолчанию: минуты.

> Единицы удерживания в окне **Идентификация** нельзя изменять после получения градуировочных данных, так как это приведет к ошибкам!

Удерживание кнопка **Обновить** позволяет скорректировать ожидаемые времена удерживания компонентов в соответствии с текущей хроматограммой.

При этом удобно ориентироваться по информации в двух нижних строках окна:

Худший случай компонент с наибольшим дрейфом времени удерживания по отношению к величине окна идентификации. Рекомендуется проводить коррекцию, если эта величина превышает 50%.

Среднее относительное отклонение среднее значение модуля относительного отклонения времени удерживания компонентов от ожидаемой величины. Служит для оценки оптимального размера окна идентификации: если эта величина превышает треть от минимального окна, рекомендуется размер окна увеличить[14].

Количественное измерение концентрации компонентов

Для определения количества содержания компонента в образце можно использовать различные величины. В программе *МультиХром* предусмотрено несколько стандартных *методов расчета*, которые оптимизированы для измерения тех или иных величин. Выбор метода производится в окне **Опции отчета**.

Где можно увидеть результаты измерения концентрации

Результаты расчета содержания компонентов представлены:

в отчете в виде **Таблицы пиков** вместе с рядом других параметров пиков, набор которых определяется выбранным методом расчета (см. раздел ***Отчет/Таблица пиков***).

в столбце *Эта хр-ма* **Таблицы концентраций**;

на графике хроматограммы, если для пиков выбраны метки *Имя+количество*.

Определение относительного содержания компонентов (без проведения градуировки)

В ряде случаев нет требуется определять истинную концентрацию компонентов, достаточно узнать их относительное содержание в смеси, то есть, нет необходимости выполнять градуировку.

Если известно, что чувствительность детектора для всех компонентов одинакова (равны величины ФО), мерой количества компонента может служить площадь или высота пика. В этом случае можно использовать метод расчета *Нормировка отклика* и обойтись даже без создания **Таблицы компонентов**, а результат получить в **Таблице пиков** отчета. В этой таблице будут приведены в абсолютных единицах значения площади [*сек·ед.высоты*] или высоты [*ед.высоты*] пиков (в зависимости от выбранной величины в поле **Отклик** окна **Компонент**), а также будет представлен столбец относительных значений этих величин в % от суммы площадей или высот всех пиков.

Если факторы оклика для компонентов различны, но известны их относительные величины, можно использовать метод расчета *Внутренняя нормализация.* В этом случае необходимо создать **Таблицу компонентов** и ввести относительные значения ФО в соответствующий столбец. Концентрация рассчитывается как произведение площади или высоты на ФО. Результат будет представлен в **Таблице пиков** в виде столбца концентраций в % от суммы концентраций для всех компонентов.

Определение абсолютной концентрации компонентов

Определение абсолютной концентрации компонентов производится только на основании градуировки, которая может быть выполнена для всех компонентов методом *внешнего* или *внутреннего* стандарта. Можно также использовать *табличный* метод с проведением градуировки только для одного компонента и вводом в **Таблицу компонентов** относительных ФО для всех остальных

---

[13] Выбранные единицы удерживания используются при выводе **Таблицы пиков**, но не оказывают влияния на единицы по оси *X* на рисунке хроматограммы. Для изменения масштаба осей хроматограммы следует использовать опцию меню **Вид/Оси**.

[14] В случае близко расположенных пиков, когда размер окна автоматически устанавливается <5%, ручная коррекция этой величины не рекомендуется.

компонентов, известных из литературных данных или других источников. Независимо от метода градуировки для расчета в этом случае используется метод *Абсолютная концентрация.*

Для расчета концентрации **i**-того компонента используется формула

$$C_i == \frac{Q_i(r_i)}{V \cdot a / D}$$

где $\mathbf{r_i}$ – измеренная величина отклика, $\mathbf{Q_i(r_i)}$ – вычисленное исходя из градуировочной зависимости количество **i**-того компонента, **V** - объем введенной пробы, **D** - разведение пробы, **A** – количество (см. раздел ***Паспорт хроматограммы/Проба***).

Результат будет представлен в **Таблице пиков** в виде столбца абсолютных концентраций, выраженных в заданных пользователем единицах, и в виде столбца концентраций в % от суммы концентраций для всех компонентов.

Определение относительной концентрации компонентов (расчет методом внутреннего стандарта)

При расчете относительной концентрации (метод расчета *Относительная концентрация*). полагается, что концентрация одного из компонентов, именуемого *стандартом,* известна заранее. Эта дополнительная информация используется программой для корректировки концентраций остальных компонентов.

Обозначим концентрацию стандарта в растворе пробы C_S. Другая величина, получаемая из градуировочной кривой стандарта - количество стандарта, достигшее детектора $Q_S(r_S)$.

Используя эти две величины, вычисляется эффективный объем введенной пробы:

$$V_e = \frac{Q_s(r_s)}{C_s}$$

Эта величина учитывает все ошибки определения объема вводимой пробы, потери образца во время пробоподготовки и т. д.

Концентрация i-го компонента вычисляется путем деления количества компонента, достигшего детектора $Q_i(r_i)$, на эффективный объем пробы V_e по формуле:

$$C_i = \frac{Q_i(r_i)}{V_e} = C_s \cdot \frac{Q_i(r_i)}{Q_s(r_s)}$$

Результат будет представлен в **Таблице пиков** в виде столбца относительных концентраций, выраженных в заданных пользователем единицах, а также в виде столбца относительных концентраций в % (от суммы концентраций для всех компонентов за вычетом концентрации стандарта).

Индексы удерживания

Хроматограмма имеет первичную шкалу удерживания, измеряемую в единицах времени или объема удерживания, и вторичную шкалу, появляющуюся уже после идентификации пиков. Эта шкала называется *Индексом*. Типичным случаем являются индексы Ковача и линейные индексы в газовой хроматографии.

Эта вторичная шкала индексов может представлять совершенно различные физические величины и может быть полезной в большом числе случаев. Так, вместо индекса можно подставлять температуру кипения, октановое число или молекулярную массу, давая возможность дополнительных вычислений с этими величинами. Эта вторичная шкала может быть действительным индикатором относительного времени, если во время градуировки в столбец *Индекс* **Таблицы компонентов** ввести соответствующую физическую величину и использовать линейную интерполяцию индексов.

При вычислениях индекса используется время удерживания предыдущего и последующего пиков с известной величиной индекса. В случае отсутствия пика с известным индексом до или после интересуемого пика, программное обеспечение проводит экстраполяцию, используя два ближайших пика с известными индексами. (Пиками с известным индексом являются пики, соответствующие компонентам с ненулевым значением в столбце *Индекс* **Таблицы компонентов**.)

Для получения более точных значений индексов удерживания необходимо использовать компоненты, служащие базой для используемой системы индексов. Например, в газовой хроматографии для определения индексов Ковача используются н-алканы, для системы индексов

ECL - метиловые эфиры насыщенных жирных кислот и т.д. Если такие компоненты не содержатся в анализируемых смесях, их следует добавить. При этом они могут служить также внутренними стандартами.

Пользователь может выбрать один из двух методов интерполяции индекса – линейный или логарифмический (Ковача).

Линейный индекс вычисляется по формуле:

$$I_i = I_n + (I_{n+1} - I_n) \cdot \frac{(t_i - t_1)}{(t_{n+1} - t_1)},$$

где $\boldsymbol{I}$ – индекс, $\boldsymbol{t}$ **–** время удерживания, $\boldsymbol{i}$ – номер пика, для которого рассчитывается индекс, $\boldsymbol{n}$, $\boldsymbol{n+1}$ – номера предыдущего и последующего пиков с известными индексами.

Логарифмический индекс (индекс Ковача) вычисляется по формуле:

$$I_i = I_n + (I_{n+1} - I_n) \cdot \frac{\log(t'_i) - \log(t'_n)}{\log(t'_{n+1}) - \log(t'_n)},$$

где $\boldsymbol{t'}$ – величина, численно равная скорректированному (чистому) времени удерживания: $\boldsymbol{t' = t - t_0}$ ($\boldsymbol{t_0}$ – мертвое время, см. раздел ***Настройка метода/Формулы***).

Программа *МультиХром* позволяет строить шкалы индексов удерживания двух типов: *Внешняя* и *Внутренняя*.

Внутренняя шкала индексов предполагает, что компоненты, используемые для ее построения, присутствуют во всех анализируемых образцах (или добавлены в них). В этом случае для вычисления индексов используются реальные времена удерживания идентифицированных компонентов.

При построении *Внешней* шкалы индексов используются ожидаемые времена удерживания компонентов из градуировочной хроматограммы. При этом не требуется наличие опорных компонентов в анализируемых образцах, хотя точность вычисления индексов оказывается несколько ниже, чем при использовании внутренней шкалы.

Как правило, расчет индексов производится в отчете (см. раздел ***Отчет***), а столбец *Индекс* **Таблицы компонентов** используется только для ввода известных значений индексов, необходимых для расчета индексов остальных компонентов. Можно получить расчетные значения и в **Таблице компонентов**, выбрав команду **Таблица/Заполнить поля Индекс**, однако этой процедурой не рекомендуется пользоваться без особой необходимости, так как однажды введенные (вручную или как результат расчета) ненулевые значения при дальнейших пересчетах не обновляются, что может привести к появлению ошибок при повторных пересчетах.

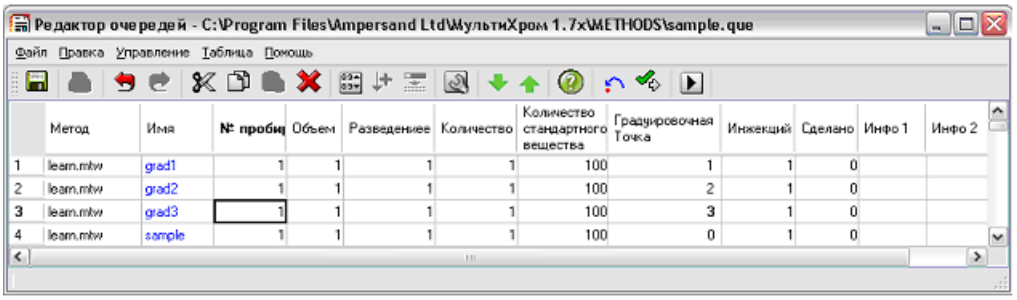
Групповая обработка хроматограмм

Групповая обработка хроматограмм может выполняться как для вновь получаемых, так и для ранее полученных хроматограмм. В первом случае для сбора и обработки новых данных формируются *очереди* многократных запусков одного или нескольких методов, производимых автоматически. Во втором случае для всех видов обработки ранее полученных данных создаются *пакеты* хроматограмм.

Запуск программы для работы с очередью

Для того чтобы запустить программу для работы с очередью, выполните следующее.

- Выберите пункт меню **Файл/Открыть/Очередь**. Откроется окно стандартное **Открыть файл**, которое содержит список файлов очередей, имеющих расширение *.que.
- Для того чтобы создать новую очередь, выполните процедуры, описанные ранее (см. Руководство для начинающих, раздел Этап 17).
- Для того чтобы открыть существующую очередь, выберите требуемый файл и нажмите кнопку **Открыть**. Запустится программа Редактор очередей и откроется окно **Редактор очередей**, содержащее заполненную Таблицу очереди.



	Метод	Имя	№ пробиц	Объем	Разведениее	Количество	Количество стандартного вещества	Градуировочная Точка	Инжекций	Сделано	Инфо 1	Инфо 2
1	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1	1	0		
2	learn.mtw	grad2	1	1	1	1	100	2	1	0		
3	learn.mtw	grad3	1	1	1	1	100	3	1	0		
4	learn.mtw	sample	1	1	1	1	100	0	1	0		

- Одновременно может быть запущено несколько очередей, при условии что в них не включены методы, использующие одни и те же каналы АЦП.

Правила работы с Таблицей

Окно **Редактор очередей** содержит заголовок с названием программы и именем открытого файла, строку меню, панель инструментов, *Таблицу очереди* с полосами горизонтальной и вертикальной прокрутки, а также строку состояния. Это окно имеет значительное сходство с листом, используемым программой *Microsoft Excel*, так как работа *Таблицей очереди* производится по аналогичным правилам.

Первая строка таблицы, содержащая заголовки *столбцов*, и первый столбец, содержащий номера *строк*, представляют собой ряды кнопок.

- Для того чтобы выделить строку или столбец, щелкните мышкой по кнопке с номером или заголовком соответственно.
- Для того чтобы изменить ширину столбца, установите курсор на правой границе кнопки-заголовка и переместите ее в требуемую позицию, удерживая нажатой левую кнопку мыши.
- Для того чтобы изменить высоту строки, выполните вышеописанную процедуру, установив курсор на нижней границе кнопки-номера.
- В таблице могут быть выделены как отдельные ячейки, так и группы ячеек.
- Для того чтобы выделить одну ячейку, щелкните по ней мышкой.
- Для того чтобы выделить группу смежных ячеек, выделите одну ячейку, которая будет занимать угловое положение в группе, а затем, не отпуская кнопки мышки, проведите курсор через все выделяемые ячейки.
- Значения, введенные в ячейки таблицы могут изменяться различными способами:
- редактироваться с клавиатуры;
- копироваться из других источников с помощью специальных процедур;
- изменяться автоматически в процессе работы программы.
- Для редактирования с клавиатуры дважды щелкните по ячейке мышкой. Ячейка перейдет в режим редактирования.

> При вводе числовых данных в Таблицу очереди используется десятичный разделитель, установленный в MS Windows. Во избежание ошибок при передаче данных из таблицы во время работы очереди рекомендуется в качестве десятичного разделителя использовать точку.

Если значения в тех или иных ячейках изменяются в результате работы программы, они, как правило, не доступны для редактирования пользователем.

Поля Таблицы очереди

Столбцы **Таблицы очереди** содержат следующие поля.

Метод — Имя файла метода, используемого при сборе и обработке данных (имя файла в поле **Метод** окна **Паспорт/Общие**). В одной очереди можно использовать несколько различных методов. Имя файла можно ввести либо с помощью команды **Таблица/Сменить метод** (см. следующий раздел), либо вручную.

Имя — Имя хроматограммы (поле **Имя** окна **Паспорт/Общие**).

№ пробирки — Номер пробирки в автосамплере (поле **№ пробирки** окна **Паспорт/Проба**, справочный параметр). Пользователь должен сам следить за соответствием этих номеров фактическим значениям, так как программа *МультиХром, версия 1.7x* не имеет связи с управлением автосамплером. По умолчанию устанавливается значение *0*.

Объем	Объем вводимой пробы (поле **Объем** окна **Паспорт/Проба**). По умолчанию устанавливается значение *1 мл*.
Разведение	Предварительное разведение пробы (поле **Разведение** окна **Паспорт/Проба**). Рекомендуется использовать в случае, когда градуировочные смеси готовятся путем разведения одной исходной, а также в случае разведения анализируемой пробы из-за высоких концентраций, выходящих за пределы регистрации системы. По умолчанию устанавливается значение *1*.
Количество	Количество вещества (поле **Количество** окна **Паспорт/Проба**). Рекомендуется использовать в случае концентрирования исходных образцов как величину, обратную разведению, а также в качестве нормирующего множителя при введении в пробу различных количеств исследуемого образца. Эта величина может быть размерной, но необходимо строго следить, чтобы во всех строках она вводилась в одних и тех же единицах. По умолчанию устанавливается значение *1*.
Количество стандартного вещества	Концентрация вещества, используемого в качестве внутреннего стандарта (поле **кол-во** окна **Паспорт/Проба**). По умолчанию равно *100*.
Градуировочная точка	Номер градуировочного уровня (поле **Град.точка** окна **Паспорт/Общие**). Если соответствующий уровень существует в **Таблице концентраций** используемого метода, при завершении хроматограммы его данные будут обновлены. Номера градуировочных точек не должны повторяться. По умолчанию устанавливается значение *0*, соответствующее обычной (неградуировочной) хроматограмме.
Число инжекций	Число инжекций из одной и той же пробирки автосамплера (справочный параметр, см. *№ пробирки)*. По умолчанию устанавливается значение *1* (для градуировочных хроматограмм другие значения не допускаются).
Сделано	Признак исполнения. До запуска первой хроматограммы (соответствующей первой инъекции) значение равно *0*. При запуске каждой последующей хроматограммы увеличивается на 1. Максимальное значение равно величине, установленной в ячейке *Инжекций*. Не редактируется.
Инфо 1	Информация о пробе (поле **Инфо 1** окна **Паспорт/Проба,** до 256 знаков).
Инфо 2	Информация о пробе (поле **Инфо 2** окна **Паспорт/Проба,** до 256 знаков).

Все значения из **Таблицы очереди**, кроме *Число инжекций* и *Сделано*, при запуске хроматограммы вводятся в указанные поля ее паспорта. Все числовые параметры, кроме *№ пробирки*, используются программой для расчетов, поэтому следует быть особенно внимательным при их вводе.

Режим редактирования Таблицы очереди

В настоящем разделе дано описание меню и панели инструментов окна **Редактор очередей** в режиме редактирования **Таблицы очереди** с указанием характера и порядка выполнения действий.

Меню **Файл**

Сохранить		Сохраняет текущую очередь.
Сохранить как		Сохраняет текущую очередь под новым именем.
Сохранить и выйти		Сохраняет текущую очередь с последующим выходом из программы *Редактор очередей*.
Печать		Открывает окно **Печать** (рис. в разделе ***Отчет***/***Получение отчета***) для печати **Таблицы очереди**.
Выход		Выход из программы *Редактор очередей*.

Меню **Правка**

Отмена		Отменяет последнее действие.
Возврат		Восстанавливает последнее действие.
Вырезать		Удаляет строки с выделенными ячейками и помещает их в буфер.

Скопировать		Копирует строки с выделенными ячейками в буфер.
Вставить		Вставляет строки из буфера над строкой с курсором
Удалить		Удаляет строки с выделенными ячейками.

Меню **Таблица**

Дублировать		Дублирует строки с выделенными ячейками.
Увеличить		Увеличивает на 1 значения в выделенных ячейках столбца (сверху вниз). Применимо для столбцов *Имя, № пробирки, Градуировочная точка, Инфо 1,2.* При отсутствии какого-либо значения в столбцах *№ пробирки* и *Градуировочная точка* ввод значений начинается с *0*. В остальных столбцах процедура выполняется только при наличии числа в последней позиции строки в верхней ячейке.
Размножить		Вводит в выделенные ячейки значения из соответствующих ячеек верхней строки.
Сброс		Снимает отметку о выполнении везде, где она имеется.
Сменить метод		

Меню **Управление**

Пуск		Запускает выполнение очереди (запускается первая из не-выполненных хроматограмм). Переход в режим исполнения.
Останов		В режиме редактирования не активна
Отменить последний запуск		Снимает отметку о выполнении последнего анализа

Меню **Помощь**

Содержание		Открывает окно справки
Индекс		
О программе		

Порядок заполнения Таблицы очереди

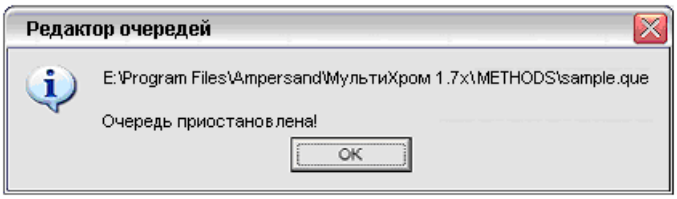
При заполнении **Таблицы очереди** необходимо руководствоваться следующим.

- В очередь может быть включено до 100 хроматограмм.
- При запуске каждой хроматограммы метод считывается с диска, а по окончании вновь перезаписывается. При этом все поля в **Паспорте** остаются неизменными, а градуировочная зависимость, если хроматограмма была градуировочной, обновляется. Из этого следует, что:
  - все градуировочные хроматограммы должны предшествовать хроматограммам для определения концентраций в исследуемых пробах;
  - если в **Таблице очереди** имеется несколько градуировочных хроматограмм с одинаковыми номерами градуировочных точек, для градуировки будут использоваться данные только последней *выполненной* хроматограммы из числа этих хроматограмм.
- В очередь можно включать хроматограммы, использующие разные методы, но файлы этих методов должны быть записаны в одном каталоге.

Режим исполнения

В режиме исполнения все команды меню **Файл**, **Правка** и **Таблица** неактивны. В меню **Управление** активна только команда **Пауза**.

При выполнении команды **Управление/Пауза** или нажатии кнопки прием текущей хроматограммы производится до конца, затем очередь останавливается с отметкой выполнения этой хроматограммы и возвращается в режим редактирования. При этом появляется сообщение



После этого в режиме редактирования пользователь может выполнить 3 действия.

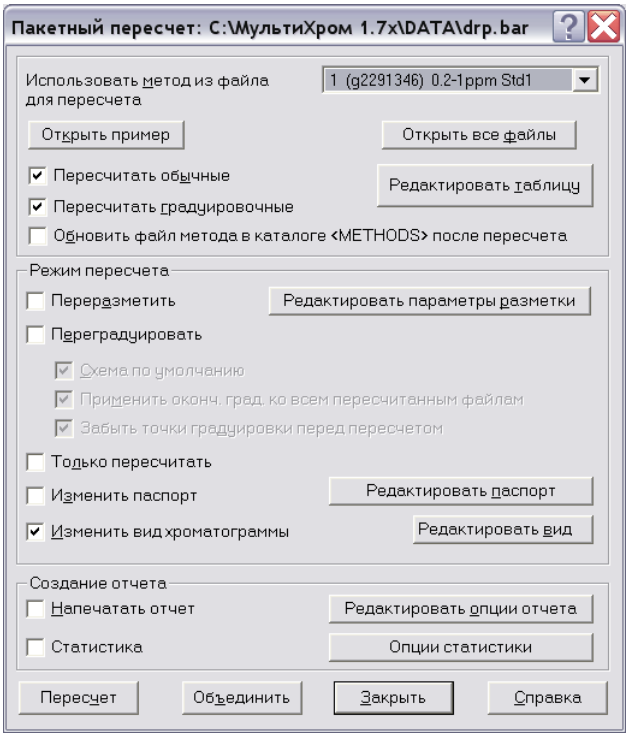
- Продолжить исполнение очереди со следующей хроматограммы, нажав кнопку **Пуск**.
- Продолжить исполнение очереди, повторив последнюю хроматограмму: выбрать команду **Управление/Отменить последний запуск**, затем нажать кнопку **Пуск**. Таким способом можно последовательно отменить результаты нескольких анализов.
- Запустить очередь сначала: нажать кнопку **Сброс**, затем нажать кнопку **Пуск**.

Для остановки текущей хроматограммы используется соответствующая кнопка в окне программы *МультиХром*. При этом остановленная хроматограмма записывается на диск, но без отметки выполнения в таблице очереди, очередь также автоматически останавливается и переходит в режим редактирования.

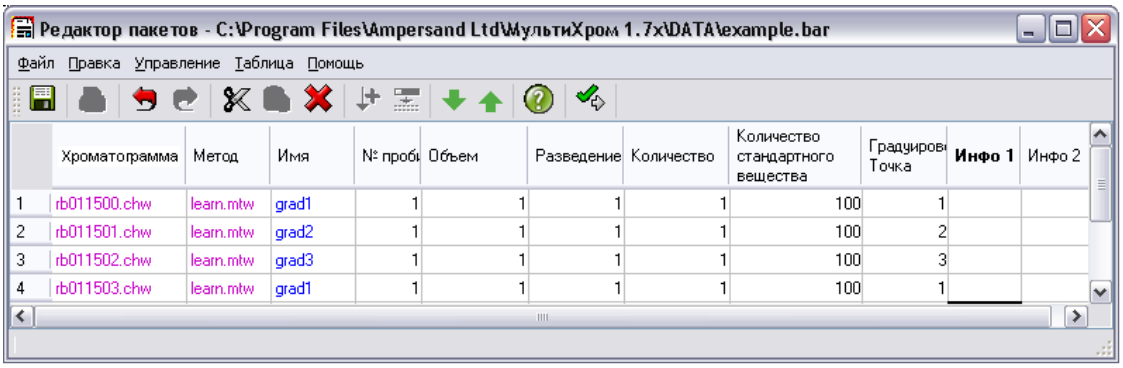
Запуск программы для работы с пакетом

Для того чтобы открыть **Таблицу пакета**, выполните следующее.

- Войдите в режим пакетного пересчета (см. раздел ***Количественный и качественный анализ*** /Процедура градуировки: второй этап/Автоматическая градуировка с использованием ранее полученных хроматограмм).



- Нажмите кнопку Редактировать таблицу. Откроется окно Редактор пакетов, содержащее Таблицу пакета, выбранного для перерасчета.



	Хроматограмма	Метод	Имя	№ проби	Объем	Разведение	Количество	Количество стандартного вещества	Градуировк Точка	Инфо 1	Инфо 2
1	rb011500.chw	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1		
2	rb011501.chw	learn.mtw	grad2	1	1	1	1	100	2		
3	rb011502.chw	learn.mtw	grad3	1	1	1	1	100	3		
4	rb011503.chw	learn.mtw	grad1	1	1	1	1	100	1		

Поля Таблицы пакета

Отличия **Таблицы пакетов** от **Таблицы очередей** состоят в следующем:

добавлен столбец *Хроматограмма*;
отсутствуют столбцы *Инжекций* и *Сделано*.

Основная информация о полях приведена в разделе ***Поля Таблицы очереди***. В настоящем разделе содержатся дополнительные сведения об особенностях редактирования значений полей, относящихся к записанным на диске завершенным хроматограммам.

Хроматограмма — Имя файла хроматограммы (поле **Данные** окна **Паспорт/Общие**). Не редактируется.

Метод — Метод, использованный при регистрации и обработке хроматограммы. Не редактируется.

Имя — Произвольные изменения текстовой информации.

№ пробирки — Значение редактируется только для исправления ошибок при первоначальном вводе данных в паспорт хроматограммы

Объем — То же

Разведение — То же

.

Количество — То же

Количество стандартного вещества — То же

Градуировочная точка — Можно использовать для изменения набора градуировочных хроматограмм. Одновременно должны вноситься соответствующие коррективы в **Таблицу концентраций** используемого метода. Номера градуировочных точек не должны повторяться.

Инфо 1 — Произвольные изменения текстовой информации

Инфо 2 — То же

Меню и панель инструментов окна Редактор пакетов

Меню и панель инструментов окон **Редактор пакетов** и **Редактор очередей** обладают значительным сходством. Полностью совпадают меню **Файл** и **Помощь**. Меню **Правка** отличается только отсутствием команды **Копировать**. В меню **Таблица** включены только команды **Увеличить** и **Размножить**. Меню **Управление** в окне **Редактор пакетов** не используется. Действие всех команд и кнопок аналогично таковым для окна **Редактор очередей** (см. раздел ***Запуск программы для работы с очередью***/***Режим редактирования Таблицы очереди***).

Дополнительная обработка хроматограмм

В системе *МультиХром* предусмотрен ряд дополнительных возможностей обработки завершенных хроматограмм. Соответствующие команды сгруппированы в подменю **Дополнительно…** меню **Обработка**. Некоторые пункты этого меню описаны в настоящем разделе, другие – в седующих местах:

Фильтры – в разделе ***Настройка метода/Фильтры;***

Разложение по форме – в разделе ***Интегрирование/Разложение по форме;***

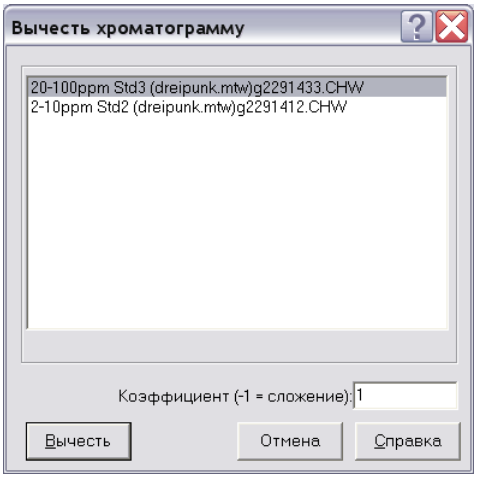
Факторный анализ – в разделе ***Многоканальные хроматограммы/Обработка многоканальных хроматограмм/Факторный анализ***.

Вычесть

Процедура **Вычесть** предназначена для вычитания одной хроматограммы из другой, например, с целью компенсации фона. Она доступна только в том случае, если открыто не менее 2 хроматограмм. Для получения более точных результатов рекомендуется производить вычитание для хроматограмм, имеющих одинаковую частоту сбора данных.

Для вычитания хроматограммы выполните следующее.

- Откройте хроматограммы, над которыми требуется выполнить процедуру вычитания.
- Сделайте активным окно той хроматограммы, из данных которой требуется произвести вычитание, щелкнув мышью по его заголовку.
- Выберите команду **Обработка/Дополнительно…/Вычесть**. Откроется окно **Вычесть хроматограмму**, содержащее список всех открытых хроматограмм[15].



- Выделите хроматограмму, которую требуется вычесть.
- Если требуется перед выполнением процедуры умножить вычитаемую хроматограмму на какой-либо коэффициент, отредактируйте значение в поле **Коэффициент вычитания**, по умолчанию равный 1. В частности, можно произвести сложение хроматограмм, установив коэффициент, равный –1.
- Нажмите кнопку **Вычесть**. Окно **Вычесть хроматограмму** закроется, а на месте окна исходной хроматограммы появится окно с результатом вычитания, имеющее заголовок несохраненной хроматограммы.
- Для того чтобы сохранить результат вычитания, нажмите кнопку или подтвердите сохранение при закрытии окна.

Сжать

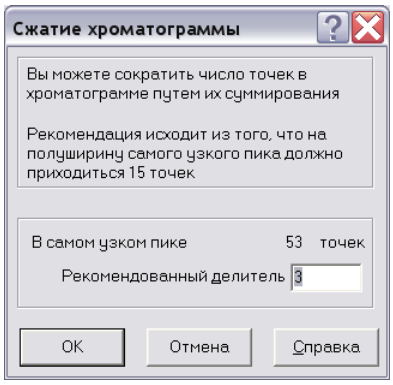
Процедура **Сжать** предназначена для сокращения объема хранимой хроматографической информации путем замены значений для нескольких точек на одно усредненное в тех случаях, когда

[15] Для многоканальных хроматограмм в списке будут представлены только хроматограммы, имеющие одинаковое число каналов.

подробная информация является избыточной. Сжатие завершенной хроматограммы эквивалентно уменьшению частоты сбора данных при приеме хроматограммы.

Для сжатия хроматограммы выполните следующее.

- Выберите команду **Обработка/Дополнительно…/Сжать**. Откроется окно **Сжатие хроматограммы**, содержащее информацию о числе точек в самом узком пике и предлагаемую величину сжатия.



- Отредактируйте, если требуется, значение в поле **Сжатие**. Предлагаемое по умолчанию значение обеспечит около 30 точек в самом узком пике.
- Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Сжатие хроматограммы** закроется. закроется, а на месте окна исходной хроматограммы появится окно с результатом сжатия, имеющее заголовок несохраненной хроматограммы.

Если было применено сжатие не меньшее, чем было установлено по умолчанию, при повторном открытии этого окна в поле **Сжатие** будет стоять значение *1*, означающее, что дальнейшее сжатие не рекомендуется. После выполнения процедуры сжатия изменяется параметр **Делитель частоты** на листе **Измерение** (см. раздел ***Настройка метода***) – исходное значение умножается на величину сжатия.

Перевернуть!

Процедура **Перевернуть** предназначена для изменения полярности сигнала, если все или большая часть пиков имеет отрицательную полярность.

- Для смены полярности сигнала выберите команду **Обработка/Дополнительно…/ Перевернуть!** В окне хроматограммы с исходным заголовком будет представлен перевернутый график. При этом в окне **Настройка сбора данных** (см. ***Установка и настройка***, раздел **Запуск и настройка/Настройка конфигурации системы/*Дополнительные настройки***
- ***По умолчанию предполагается***, что на все каналы АЦП поступают сигналы *положительной* полярности, измеряемые в *мВ*, с максимальным значением *5000 мВ* (для А-24) или 2500 мВ (для Е-24 и Е-18). Если какое-либо из этих условий не выполняется, а также для изменения имени канала (оно служит меткой ***канала на*** хроматограмме)***, следует произвести настройку*** параметров каналов (см. ***Приложение 1,*** раздел ***Настройка АЦП/Параметры каналов***).
- Внесение изменений в файлы методов) в списке каналов метода знак плюс, стоящий перед указанным в скобках верхним пределом измеряемого сигнала, изменится на минус, а в **Таблице каналов** окна **Настройка метода** в ячейке Инверсия появится значение Да.

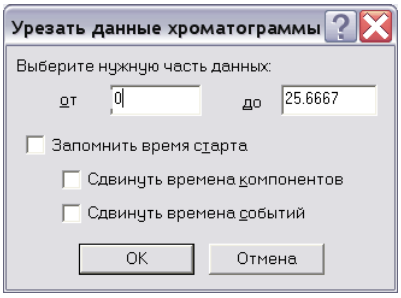
Применение процедуры **Перевернуть** не приводит к потере данных и относится к изменениям настройки метода, поэтому сохранение инверсии производится так, как это описано для изменений метода в разделе ***Файлы хроматограмм***.

Урезать хроматограмму

Процедура **Урезать хроматограмму** предназначена для удаления пустых участков в начале и в конце хроматограммы.

Для урезания данных выполните следующее.

- Выберите команду **Обработка/Дополнительно…/Урезать хроматограмму**. Откроется окно **Урезать данные хроматограммы**.

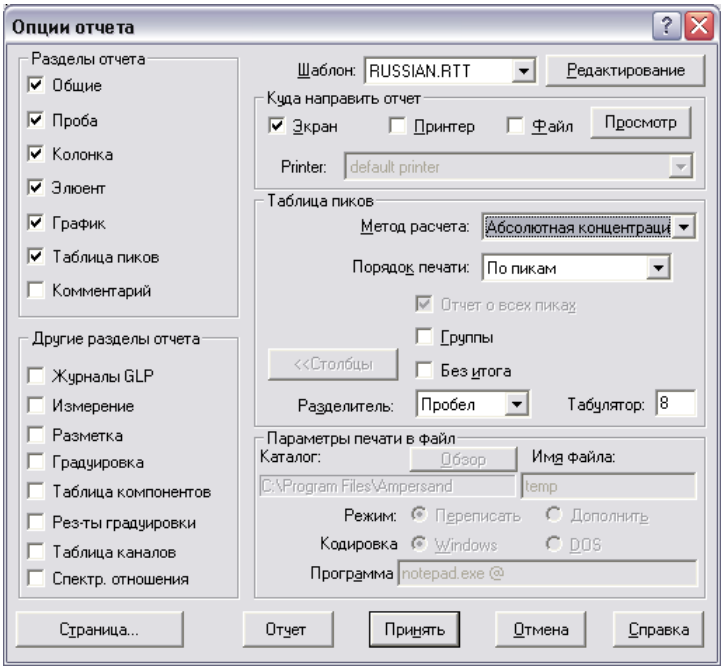


- Введите новые значения для начальной и конечной точки хроматограммы в поля **от** и **до**.
- Выберите требуемое значение флажка **Запомнить время старта**:
  - флажок установлен (по умолчанию) – начальный участок удаляется, но сохраняется исходная привязка по времени;
  - флажок не установлен – начальный участок удаляется и хроматограмма начинается с отметки *0* (вводится временная поправка, равная величине, установленной в поле **от**).
- Если вводится временная поправка (флажок **Запомнить время старта** не установлен), ее можно также учесть для времени удерживания компонентов, а также событий интегрирования, если таковые были заданы.
  - Для того чтобы вести поправку для времен удерживания компонентов, установите флажок **Сдвинуть времена компонентов**.
  - Для того чтобы вести поправку для времен событий интегрирования, установите флажок **Сдвинуть времена событий**.
- Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Урезать данные хроматограммы** закроется. закроется, а на месте окна исходной хроматограммы появится окно с результатом сжатия, имеющее заголовок несохраненной хроматограммы.

Отчет

В программе *МультиХром* предусмотрена процедура выдачи *отчета*, позволяющая вывести результаты выполненного анализа на экран, на принтер или в файл. Создание отчета является существенным этапом хроматографического анализа, так как после завершения хроматограммы автоматически рассчитываются только первичные параметры: высота и площадь для всех идентифицированных пиков, а также концентрация компонентов[16] (см. раздел ***Таблица пиков/Концентрация)***. Все остальные расчеты производятся только при создании отчета. Кроме того, в отчете сводится воедино вся информация о выполненном анализе, ранее представленная в различных окнах: сведения о пробе, параметры хроматографического процесса, сбора и обработки данных и т.п.

Программа *МультиХром* имеет гибкую систему настройки *формата* отчета, позволяющую проводить эту процедуру как непосредственно перед получением отчета, так и заранее, записывая требуемые опции в файлах хроматограмм, файлах методов, а также в специальных файлах *шаблонов отчета* (см. раздел ***Шаблоны отчета***). Настройка формата отчета производится в специальном окне **Опции отчета**.



Настройка опций отчета

- Для того чтобы настроить формат отчета для открытой (текущей) хроматограммы, выполните следующее.
  - Выберите команду **Обработка**/**Выдать отчет, Метод**/**Настройка отчета** или нажмите кнопку . Откроется окно **Опции отчета**.
  - Если требуется установить опции, записанные ранее в файле шаблона, выберите нужный файл в списочном поле **Шаблон**. В этом случае редактирование отдельных опций отчета невозможно, кроме выбора опции **Куда направить отчет**.
  - Если требуется провести установку отдельных опций, выберите в поле **Шаблон** специальный файл *russian.rtt* (или *english.rtt* для создания отчета на английском языке) и далее выполните необходимые настройки:

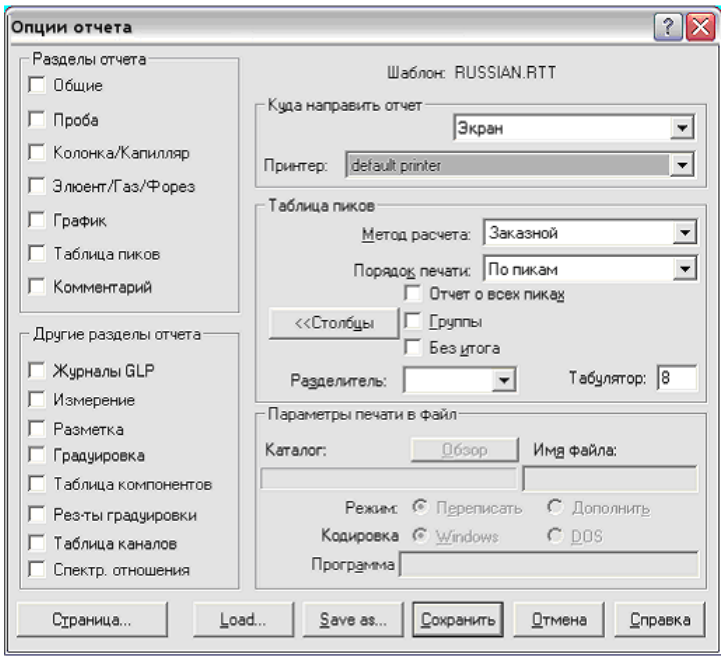
    выберите устройства (см. раздел ***Выбор устройств для вывода отчета***), на которые будет выводиться отчет, установив флажки **Куда направить отчет**;
    выберите разделы отчета (см. раздел ***Выбор разделов отчета***);
    настройте параметры *Таблицы пиков* (см. раздел ***Таблица пиков***).
  - Нажмите кнопку **Отчет** для немедленного получения отчета или кнопку **Принять** для сохранения принятых изменений и закрытия окна без выдачи отчета.

---

[16] В соответствии с градуировкой, а при ее отсутствии – исходя из значений фактора отклика в **Таблице компонентов**.

•Для того чтобы настроить формат отчета для сохранения их в файле шаблона, выполните следующее.

- Выберите команду **Настройки/Настройки отчета** на панели инструментов главного окна или нажмите кнопку **Редактирование** в окне **Опции отчета**. Откроется окно **Опции отчета**, модифицированное для создания файла шаблона.



- Если в качестве основы принимается какой-либо из существующих файлов шаблоном, загрузите его, нажав кнопку **Загрузить** (**Load**) и выбрав файл в открывшемся окне. При этом установки в окне **Опции отчета** изменятся соответствующим образом.
- Проведите требуемую настройку опций:

  выберите устройства (см. раздел ***Выбор устройств для вывода отчета***), на которые будет выводиться отчет, установив флажки **Куда направить отчет**;
  выберите разделы отчета (см. раздел ***Выбор разделов отчета***);
  настройте параметры *Таблицы пиков* (см. раздел ***Таблица пиков***).
- Запишите файл шаблона, нажав кнопку **Сохранить как** (**Save as**).

Выбор разделов отчета

Разделы, содержащие определенным образом сгруппированную информацию, могут целиком включаться или исключаться из отчета при его настройке из окна **Опции отчета**. Изменения внутри разделов вносятся только при редактировании ***rtt***-файла (см. ***Приложение 7***).

•Для того чтобы раздел был включен в отчет, установите флажок рядом с его названием.

•Для того чтобы исключить раздел из отчета, отмените установку флажка.

Разделы отчета

В области **Разделы отчета** объединены флажки всех разделов, которые содержат информацию собственно об анализе, не связанную с особенностями приема и обработки данных системой *МультиХром.* В их число входят разделы, имеющие заголовки листов **Паспорта** хроматограммы: **Общие**, **Проба**, **Колонка**, **Элюент**, **Комментарий**, которые содержат, в основном, информацию из одноименных разделов, а также разделы **График** (график хроматограммы) и **Таблица пиков**, в которую включены все результаты выполненного анализа (см. раздел ***Таблица пиков***).

Другие разделы отчета

В область **Другие разделы отчета** объединены флажки разделов, которые содержат дополнительную информацию, касающуюся приема и обработки данных системой *МультиХром.*

Журнал GLP	все записи, содержащиеся на листах **Журнал метода** и **Журнал данных** окна **Паспорт**
Измерение	параметры настройки приема данных, установленные на листах **Измерение** и **Фильтры** окна **Настройка метода**

Разметка	параметры настройки процесса интегрирования хроматограммы, установленные в диалоговом окне **Параметры разметки**
Градуировка	общие параметры, установленные в диалоговом окне **Компонент**, а также формулы, заданные на листе **Формулы** окна **Настройка метода**
Табл.компонентов	таблица компонентов
Рез-ты градуировки	все данные, содержащиеся в окне **Компонент**, включая градуировочную кривую, для каждого компонента (печатаются на отдельных страницах)
Таблица каналов	способ формирования вычисляемого канала (значение в поле **Формула** на листе **Формулы** окна **Настройка метода**); таблица каналов, представленная на листе **Каналы** окна **Настройка метода**; дополнительная информация для каждого используемого канала: шум, среднеквадратичное отклонение и размах (*пик-к-пику*) сигнала, а также дрейф базовой линии, выраженные в дискретах АЦП и в выбранных физических единицах отклика для каждого канала (о методах расчета этих величин см. ***Приложение 11***)
Спектр.отношения	относительные отклики по всем каналам хроматограммы для всех пиков, включенных в **Таблицу пиков** (за единицу принимается отклик опорного канала, выбранного в диалоговом окне **Компонент**).

Таблица пиков

Таблица пиков является основной частью отчета, содержащей все результаты выполненного хроматографического анализа.

Столбцы Таблицы пиков

В столбцах **Таблицы пиков** представлены результаты измерений и расчетов, выполненных программой, а также информация, введенная пользователем в **Таблицу компонентов**. Набор столбцов, включаемых в таблицу, зависит от выбора *метода расчета* (см. далее раздел ***Выбор метода расчета и задание параметров***).

Кроме строк, соответствующих пикам, в конце таблицы включается итоговая строка (от нее можно отказаться, установив флажок **Без итога**). В этой строке представляются суммарные, средние или максимальные значения для каждого столбца. Итоговая величина определяется, как правило, только с учетом значений для пиков, включенных в таблицу, но для некоторых столбцов учитываются все пики хроматограммы, поэтому в описании каждого столбца указано, как определяется итоговая величина и какие пики при этом учитываются.

При расчете высоты, площади и концентрации в % используется нормирующий коэффициент **NORM**, равный доле вещества, состав которого должен быть определен при выполнении данного анализа, от общего количества вещества в пробе (в %). Этот коэффициент вводится в поле **Нормировка** на листе **Проба** окна **Паспорт** и по умолчанию равен 100.

В **Таблицу пиков** могут быть включены следующие столбцы.

Номер

Номер *компонента* в **Таблице компонентов**, если в поле **Порядок печати** выбрано значение *По компонентам*, или номер *пика* на хроматограмме, если выбрано значение *По пикам* (см. раздел ***Выбор метода расчета и задание параметров***). Итоговая величина показывает общее количество строк, включенных в таблицу.

Время удерживания

Время (или объем) удерживания пика $\mathbf{t_n}$. Итоговая величина соответствует продолжительности хроматограммы.

> Во всех таблицах **Отчета** для величин, измеряемых в единицах удерживания, используются одни и те же единицы, заданные в окне **Идентификация**.

Полуширина

Ширина пиков на половине высоты $\mathbf{W_n|_{50}}$ (в тех же единицах что и *Время удерживания*).

Итоговая величина равна среднему значению полуширины для всех пиков, включенных в таблицу.

Высота

Высота пика $\mathbf{H_n}$. Единицы указываются в соответствии с установкой на листе **Каналы** окна **Настройка метода** для канала, по которому производится разметка, установленному в поле **Канал** в окне **Параметры разметки**.

Итоговая величина равна сумме высот всех пиков, включенных в таблицу.

Высота %

Нормированная высота пика $\mathbf{H_n\%}$, вычисляемая по формуле

$$H_n\% = NORM \cdot \frac{H_n}{\sum H_n}$$

где $\mathbf{NORM}$ – нормирующий коэффициент, а суммирование производится по всем пикам *хроматограммы*.

Итоговая величина равна сумме нормированных высот для всех пиков, включенных в *таблицу*. Таким образом, если в таблицу входят *все* пики или установлен флажок **Отчет о всех пиках**, итоговая величина равна $\mathbf{NORM}$.

Площадь

Площадь пика $\mathbf{A_n}$. Единица измерения равна произведению единицы, установленной для оси *Y*, на единицу, определяемую следующим образом: если для оси *X* установлено *мин* или *сек,* используется *сек*, при установке *мл* или *мкл* используется *мкл*, в остальных случаях – установленная единица удерживания.

Итоговая величина равна сумме площадей всех пиков, включенных в таблицу.

Площадь %

Нормированная высота пика $\mathbf{A_n\%}$, вычисляемая по формуле

$$A_n\% = NORM \cdot \frac{A_n}{\sum A_n},$$

где $\mathbf{NORM}$ – нормирующий коэффициент, а суммирование производится по всем пикам *хроматограммы*.

Итоговая величина равна сумме нормированных площадей для всех пиков, включенных в таблицу. Таким образом, если в таблицу входят *все* пики или установлен флажок **Отчет о всех пиках**, итоговая величина равна $\mathbf{NORM}$.

Фактор удерживания

Фактор удерживания (фактор емкости, коэффициент удерживания) компонента $\mathbf{K'_n}$, вычисляемый по формуле

$$K'_n = \frac{t_n - t_0}{t_0}$$

где $\mathbf{(t_n - t_0)}$ - скорректированное время удерживания компонента, $\mathbf{t_0}$ – мертвое время колонки (см. раздел ***Настройка метода/Формулы***).

Итоговая величина равна фактору удерживания для последнего пика *хроматограммы*.

При включении этого столбца в таблицу требуется задание мертвого времени (если мертвое время не задано, все $\mathbf{K'_n}$ **=** 0).

Разрешение

Разрешение (коэффициент разделения) пары соседних пиков $\mathbf{R_n}$, обычно вычисляемый по формуле

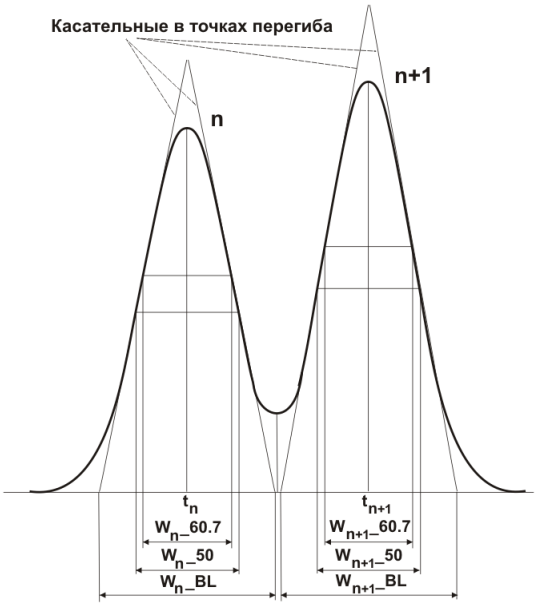
$$R_n = \frac{t_{n+1} - t_n}{(W_{n+1} + W_n)|_{60.7}}$$

Часто используются также следующие формулы:

$$R_n = 1.177 \cdot \frac{t_{n+1} - t_n}{(W_{n+1} + W_n)|_{50}}$$ – европейская фармакопея;

$$R_n = \frac{2 \cdot (t_{n+1} - t_n)}{(W_{n+1} + W_n)|_{BL}}$$ – фармакопея США;

где **t** – время удерживания пика; $\mathbf{W}|_{\mathbf{X}}$ – ширина пика на уровне **X%** (**X=50, X=60.7**), или по базовой (**BL)**; **n** и **n+1** – номера соседних пиков, независимо от того, включен ли **n+1**-ый пик в таблицу.



Все выражения дают сходный результат, и любое из них может быть использовано, если нет специальных требование какого-либо стандарта. Первая формула имеет некоторое преимущество в случае плохо разрешенных пиков. Выбор формулы осуществляется на листе **Формулы** окна **Настройки метода**.

Разрешение для последнего пика, а также итоговая величина не вычисляются.

Эффективность, ТТ

Число теоретических тарелок для пика $\mathbf{N_n}$. Вычисляется по формуле

$$N_n = 2 \cdot \pi \cdot \left(\frac{t_n \cdot H_n}{A_n} \right)^2,$$

где $\mathbf{t_n}$ – время удерживания[17], $\mathbf{H_n}$ – высота, $\mathbf{A_n}$ – площадь пика.

Часто используются также следующие формулы:

[17] Если на листе **Формулы/Настройки метода** установлен флажок **Вычесть мертвое время при вычислении эффективности**, в формулах для расчета эффективности вместо $\mathbf{t_n}$ или **M1**используется соответственно величина ($\mathbf{t_n} - \mathbf{t_0}$) или ($\mathbf{M1} - \mathbf{t_0}$), где $\mathbf{t_0}$ – *мертвое время* (см. раздел ***Настройка метода/Формулы***).

$$N_n = 5.54 \cdot \left(\frac{t_n}{W_n|_{50}} \right)^2$$ – европейская фармакопея;

$$N_n = 16 \cdot \left(\frac{t_n}{W_n|_{BL}} \right)^2$$ – фармакопея США,

где $\mathbf{W_n|_{50}}$ – полуширина пика, $\mathbf{W_n|_{BL}}$ – ширина на уровне базовой линии или тангенты. Все три формулы дают близкий результат для отдельно стоящих пиков Для смежных (неразделенных) пиков предпочтительно использовать первую формулу, так как высота и площадь измеряются со значительно меньшей погрешностью, чем ширина пика. Выбор той или иной формулы осуществляется на листе **Формулы** окна **Настройки метода**.

Может использоваться также формула для расчета через центральные моменты:

$$N_n = \frac{(M1)^2}{M2},$$

где **M1** – первый момент (время удерживания, рассчитанное как центр тяжести пика), **M2** – второй центральный момент (σ^2).

Итоговая величина равна среднему значению для всех пиков, включенных в таблицу.

Эффективность, ТТ/м

Количество теоретических тарелок на метр $\mathbf{N'_n}$ для пика. Вычисляется по формуле

$$N'_n = N_n \cdot \frac{1000}{L},$$

где **L** – длина колонки (в мм), заданная в поле **Длина** на листе **Колонка** окна **Паспорт**.

Итоговая величина равна среднему значению для всех пиков, включенных в таблицу.

ПВЭТТ

Приведенная высота $\mathbf{h_n}$, эквивалентная теоретической тарелке (ПВЭТТ). Вычисляется по формуле:

$$h_n = L \cdot \frac{1000}{N_n \cdot dp},$$

где **L** – длина колонки (в мм), **dp** - диаметр частиц (в мкм).

Итоговая величина равна среднему значению ПВЭТТ для всех пиков, включенных в таблицу.

При включении этого столбца в таблицу требуется задание длины колонки и размера зерна сорбента колонки на листе **Колонка** окна **Паспорт**.

Сигнал/Шум

Отношение высоты пика к величине размаха шума (peak-to-peak). Вычисляется по формуле

$$(\tilde{n}/6\text{ø})_n = \frac{H_n}{6 \cdot \sigma X},$$

где $\mathbf{H_n}$ – высота пика, **σX** – среднеквадратичное значение шума (см. ***Приложение 11Приложение 12***).

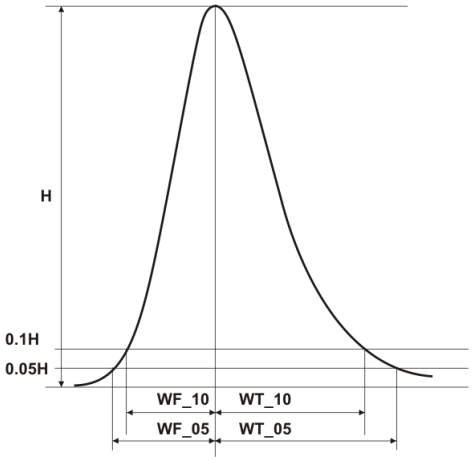
Асимметрия

Асимметрия пика $\mathbf{as_n}$ вычисляется на уровне 10% от высоты пика как отношение ширины за вершиной пика $\mathbf{WT_n}$ к ширине перед его вершиной $\mathbf{WF_n}$ или на уровне 5% как отношение полной ширины $\mathbf{W_n}$ к удвоенной ширине перед его вершиной $\mathbf{WF_n}$

$$as_n = \left.\frac{WT_n}{WF_n}\right|_{10};$$

$$as_n = \left.\frac{W_n}{2 \cdot WF_n}\right|_{05}$$ – фармакопеи США и европейская,

где $|_{10}$, $|_{05}$ означает, что все входящие в формулу величины берутся на уровне 10% или 5% соответственно. Выбор формулы осуществляется на листе **Формулы** окна **Настройки метода**. Величина $\mathbf{as_n}$, как правило, больше 1, то есть, пики имеют “хвосты”.



Итоговая величина равна среднему значению асимметрии для всех пиков, включенных в таблицу.

Фактор отклика

Фактор отклика, указанный в столбце *ФО* таблицы компонентов $\mathbf{RF_i}$.

Итоговым значением $\mathbf{RF}$ является средневзвешенное значение фактора отклика, рассчитанное с весами, равными нормированным откликам, по одной из формул:

$$RF = RF_i \cdot \frac{H_i}{\sum H_i}$$ (если отклик – высота)

$$RF = RF_i \cdot \frac{A_i}{\sum A_i}$$ (если отклик – площадь)

причем суммирование производится только по пикам, включенным в таблицу. Эта величина может использоваться как фактор отклика для универсального компонента.

Концентрация

Концентрация (абсолютная) компонента $\mathbf{C_i}$, вычисленная по формуле

$$C_i = \frac{q_i}{V'} = Q_i(r_i) \cdot \frac{D}{V \cdot a},$$

где $\mathbf{Q_i(r_i)}$ - вычисленное по градуировочной зависимости количество вещества, соответствующее величине отклика $\mathbf{r_i}$,$\mathbf{V'}$ - приведенный объем пробы, $\mathbf{V}$ – объем, $\mathbf{D}$ - разведение, $\mathbf{a}$ – количество (см. ***Приложение 6***, раздел ***Величины, используемые для расчетов***).

Если градуировка не проводилась, то $\mathbf{Q_i(r_i) = r_i \bullet RF_i}$, где $\mathbf{RF_i}$ - *фактор отклика*, указанный в **Таблице компонентов** (по умолчанию равен *1*). Концентрация отлична от 0 только для всех *идентифицированных* (включенных в **Таблицу компонентов**) пиков.

Итоговое значение равно сумме концентраций всех *компонентов*.

Концентрация %

Нормированная концентрация компонента $\mathbf{C_i}$ **%**, вычисляемая по формуле

$$C_i\% = NORM \cdot \frac{C_i}{\sum C_i}$$

где **NORM** – нормирующий коэффициент, а суммирование производится по всем компонентам.

Итоговая величина равна сумме нормированных концентраций компонентов. Таким образом, итоговая величина для общей **Таблицы пиков**, а также сумма итоговых величин для таблиц групп, всегда равны **NORM**.

Относительная концентрация

Концентрация компонента $\mathbf{C'_i}$, скорректированная *относительно* компонента, объявленного *стандартом*, то есть, концентрация, измеренная методом *внутреннего стандарта* (см. ***Количественный и качественный анализ/.../Определение относительной концентрации компонентов*** (расчет методом внутреннего стандарта). Относительная концентрация вычисляется по формуле

$$C'_i = \frac{Q_i(r_i)}{V_e} = \frac{C_s \cdot Q_i(r_i)}{Q_s(r_s)},$$

где $\mathbf{V_e = Q_s(r_s)/C_s}$ - эффективный объем пробы; $\mathbf{C_s}$ - концентрация стандарта, введенная в поле **Концентрация станд.**; $\mathbf{Q_s(r_s)}$ – вычисленное по градуировочной зависимости количество стандарта, соответствующее величине отклика $\mathbf{r_s}$.

Если градуировка не проводилась, $\mathbf{Q_s(r_s) = r_s \bullet RF_s}$, $\mathbf{Q_i(r_i) = r_i \bullet RF_i}$ и относительная концентрация вычисляется по формуле

$$C'_i = \frac{C_s \cdot RF_i \cdot r_i}{RF_s \cdot r_s}$$

где $\mathbf{RF_s}$ и $\mathbf{RF_i}$ - *факторы отклика* для стандарта и **i**-того компонента, указанные в **Таблице компонентов**. В случае, если $\mathbf{RF_s}$ принимается равным *1*, а для остальных компонентов указываются относительные величины факторов отклика $\mathbf{RF_i'}$, формула преобразуется к виду

$$C'_i = C_s \cdot RF'_i \cdot \frac{r_i}{r_s}$$

Итоговая величина равна сумме концентраций всех компонентов, за исключением стандарта, поскольку считается, что стандарт введен в анализируемую пробу *искусственно*.

Относительная концентрация %

Нормированная относительная концентрация $\mathbf{C'_i}$ **%**, вычисленная по формуле

$$C'_i\% = NORM \cdot \frac{C'_i}{\sum C'_i},$$

где **NORM** – нормирующий коэффициент, а суммирование производится по всем компонентам, кроме стандарта.

Итоговая величина равна сумме нормированных относительных концентраций компонентов (также за исключением стандарта). Таким образом, итоговая величина для общей **Таблицы пиков**, а также сумма итоговых величин для таблиц групп, всегда равны **NORM**.

Количество вещества

Количество вещества $\mathbf{q_i = Q_i(r_i)}$, вычисленное по градуировочной зависимости в соответствии с величиной отклика $\mathbf{r_i}$

Индекс

Индекс компонента $\mathbf{I_i}$, рассчитанный программой в соответствии с установками на листе **Формулы** окна **Настройки метода**: по временам удерживания текущей хроматограммы (если задана *Внутренняя* шкала) или временам удерживания из **Таблицы компонентов** (если задана *Внешняя* шкала), путем *Линейной* или *Логарифмической* интерполяции (см. раздел ***Количественный и качественный анализ***/***Индексы удерживания***) с использованием значений индексов для отдельных компонентов, введенных пользователем в **Таблицу компонентов**.

Итоговым значением **I** является средневзвешенное значение индекса, рассчитанное с весами, равными нормированным концентрациям, по формуле:

$$I = I_i \frac{C_i}{\sum C_i}$$

причем суммирование производится только по пикам, включенным в таблицу.

Тип

Тип пика обозначается буквенным кодом.

Первые три буквы, отделенные двоеточием, определяют способ разделения соседних пиков:

B разделение по базовой линии,
D разделение по вертикальной линии,
H основной пик,
R пик-наездник.

Например:
BBH – основной пик, который начинается и заканчивается на базовой линии;
DBR – пик-наездник, который начинается от вертикальной линии и заканчивается на базовой линии.

Остальные знаки определяют тип компонента.

Первую позицию после двоеточия может занимать одна из следующих букв:

S *стандарт* для расчета концентраций, заданный в поле **Стандарт** на листе **Проба** окна **Паспорт**.
A *стандарт* для расчета концентраций, выбранный программой в случае, когда пользователь его не задал
C градуировочный *стандартный компонент*, заданный в окне **Компонент** (если он не совпадает со стандартом для расчета концентраций)

Далее могут подряд идти следующие знаки:

R *реперный* компонент, заданный в **Таблице компонентов**
p *специальный* компонент (для которого указан хотя бы один локальный параметр в окне **Компонент**)
? информация по данному пику недостоверна из-за *превышения допустимого диапазона АЦП или детектора*,
! концентрация компонента *выходит за пределы*, установленные в **Таблице компонентов** в столбцах *мин.С* или *макс.С*
N компонент *вне области градуировки*

Группа

Группа, указанная для компонента в одноименном столбце **Таблицы компонентов**.

Спектральные отношения

Группа столбцов, включающая *относительные* факторы отклика для всех каналов, кроме *опорного* канала, выбранного в диалоговом окне **Компонент**, по отношению к которому они рассчитываются. Столбцы имеют в заголовках имена каналов, их число на единицу меньше их полного числа.

Имя

Имя, указанное для компонента в одноименном столбце **Таблицы компонентов**.

Имя файла

Имя файла хроматограммы. Этот столбец рекомендуется включать в **Таблицу пиков** в том случае, когда отчеты для нескольких хроматограмм записываются в один файл. Если в дальнейшем при обработке такого файла используется совместная сортировка строк всех вошедших в него таблиц (например, сортировка по компонентам для вычисления погрешности измерений для каждого компонента по данным нескольких хроматограмм), в столбце *Имя файла* сохраняются сведения об источнике данных.

Имя хр-мы

Имя хроматограммы, указанное в поле **Имя** на листе **Общие** окна **Паспорт**. Этот столбец имеет то же назначение, что и столбец *Имя файла*.

Для любой величины, которая включена в Таблицу пиков, пользователь может задать точность представления (число знаков), внеся необходимые изменения в rtt-файл (см. ***Приложение 7***).

Выбор метода расчета и задание параметров

Пользователь имеет возможность выбрать один из методов расчета. Все различия между методами отражаются только в **Таблице пиков**: методы отличаются наборами столбцов, соответствующих вычисляемым величинам, и критериями отбора пиков, которыми определяется число строк в таблице.

Каждый метод имеет фиксированный набор столбцов, что упрощает процедуру настройки формы отчета, кроме метода **Заказной**, который позволяет пользователю формировать произвольный набор столбцов. Если расчет величин из столбцов, включенных в метод, требует использования таких параметров, как **Нормировка**, **Станд. компонент** и **Концентрация станд.**, соответствующие поля становятся доступными для ввода информации.

- Для задания метода расчета в списочном поле **Метод расчета** выберите требуемое значение.

Нормировка отклика

Метод можно использовать для *любой* хроматограммы, независимо от градуировки, создания **Таблицы компонентов**, заполнения паспорта хроматограммы и т.п. В **Таблице пиков** всегда приводятся данные для *всех* пиков хроматограммы.

В **Таблицу пиков** включаются столбцы: *Номер, Время,* одна из двух пар колонок *Площадь* и *Площадь%* или *Высота* и *Высота%* (в соответствии со значением, установленным в поле **Отклик** в диалоговом окне **Компонент**) и *Имя*.

Внутренняя нормализация

Метод используется в тех случаях, когда *не требуется* определение *абсолютных* концентраций компонентов. Требует градуировки системы, но допустимо также вместо градуировки задавать в **Таблице компонентов** значения относительных *ФО* для всех компонентов (если есть уверенность в их стабильности и линейности градуировочной зависимости).

Приводятся данные только для идентифицированных пиков, у которых ФО не равен 0 (или не равен 0 хотя бы один из коэффициентов **K0-K3**). Если **Таблица компонентов** содержит т.н. у*ниверсальный компонент* (см. раздел ***Количественный и качественный анализ***/***Процедура градуировки: первый этап***/***Таблица компонентов***), будут включены также все неидентифицированные пики.

В **Таблицу пиков** включаются столбцы: *Номер, Время, Высота, Площадь, ФО, Конц.%* и *Имя*.

Абсолютная концентрация

Метод используется для определения *абсолютных* концентраций компонентов. Требует обязательной градуировки системы.

Отбор пиков, включаемых в таблицу, производится по критериям, указанным выше для метода *Внутренней нормализации.*

В **Таблицу пиков** включаются столбцы: *Номер, Время, Высота, Площадь, ФО, Конц., Конц.%* и *Имя*.

Относительная концентрация

Метод используется для определения абсолютных и нормированных концентраций компонентов при использовании *внутреннего стандарта* (см. раздел ***Количественный и качественный анализ /... Определение относительной концентрации компонентов*** (расчет методом внутреннего стандарта)). Требует обязательной градуировки системы.

Отбор пиков, включаемых в таблицу, производится по критериям, указанным выше для метода *Внутренней нормализации*

В **Таблицу пиков** включаются столбцы: *Номер, Время, Высота, Площадь, ФО, Отн.конц., Отн.конц.%* и *Имя*.

Индекс

Метод используется для расчета *индексов* компонентов (см. раздел ***Количественный и качественный анализ***/***Индексы удерживания***). Требует создания **Таблицы концентраций** и задания в ней в столбце *Индекс* значений хотя бы для двух компонентов.

В таблице, по выбору пользователя, могут быть представлены данные для всех или только для идентифицированных пиков.

В **Таблицу пиков** включаются столбцы: *Номер, Время, Высота, Площадь, Индекс,* и *Имя*.

Тест колонки

Метод используется для определения параметров колонки и хроматографического процесса в целом. Для его использования должна быть создана **Таблица компонентов**. Требует ввода

параметров **Длина** и **Размер частиц** на листе **Колонка** окна **Паспорт**, а также задания способа определения мертвого времени на листе **Формулы** окна **Настройка метода**.

В таблице, по выбору пользователя, могут быть представлены данные для всех или только для идентифицированных пиков.

В **Таблицу пиков** включаются столбцы: *Номер, Время, Коэффициент емкости, Эффективность ТТ, Эффективность ТТ/м, ПВЭТТ, Асимметрия* и *Имя*.

Заказной

Заказной метод дает пользователю возможность выбрать столбцы, включаемые в **Таблицу пиков**, по своему усмотрению. При этом следует обращать особое внимание на требования задания тех или иных параметров, необходимых для вычисления выбранных величин.

> На странице формата А4 помещается не более 10 столбцов при вертикальном расположении листа и не более 14 - при горизонтальном!

В таблице, по выбору пользователя, могут быть представлены данные для всех или только для идентифицированных пиков.

В зависимости от выбранного метода расчета задайте далее остальные параметры.

- Для любого метода выберите в списочном поле **Порядок печати**, в каком порядке и каком составе будут представлены строки **Таблицы пиков**:

По компонентам — в **Таблицу пиков** включаются все компоненты; отсутствующие компоненты включаются с концентрацией равной нулю. Все неидентифицированные пики присутствуют в отчете как один суммарный пик *универсального* компонента, если он был задан в **Таблице компонентов** – в противном случае они игнорируются.

По пикам — в **Таблицу пиков** включаются только компоненты, для которых на хроматограмме обнаружены соответствующие пики. Если установлен флажок **Отчет о всех пиках**, буду включены также все *неидентифицированные* пики.

- Для метода Заказной выберите столбцы, включаемые в **Таблицу пиков**, выполнив следующее.
  - Нажмите кнопку **<<Столбцы**. При этом в левой части окна откроется полный список столбцов, в котором выделены названия столбцов, ранее включавшихся в **Таблицу пиков**.
  - Измените набор столбцов требуемым образом, щелкая мышью для выделения или снятия выделения того или иного названия.
- Для методов Нормировка отклика, Индекс, Тест колонки, Заказной, чтобы включить в отчет данные для всех пиков, установите флажок **Отчет о всех пиках**. В противном случае в таблицу войдут только идентифицированные пики.
- Для любого метода, если компоненты распределены по группам и требуется получить дополнительные отдельные **Таблицы пиков** для групп, установите флажок **Группы**.

Формат представления таблиц

В формате отчета предусмотрена возможность использования разделителей различного типа между столбцами в **Таблице пиков**, а также в других таблицах. Так, установка определенного типа разделителя может быть необходима для последующей обработки таблиц из файла отчета с помощью различных прикладных программ.

- Измените, если требуется, тип разделителя между столбцами таблиц, выбрав требуемое значение в списочном поле **Разделитель**.
  - Для наиболее компактного представления таблиц выберите значение *Пробел.*
  - Для дальнейшей обработки файла с помощью *Microsoft Word*[18] выберите тип *Запятая* или *Точка с запятой*. Можно также использовать тип *Табуляция*, выбрав оптимальное значение параметра **Табулятор** (см. ниже).
  - Для дальнейшей обработки файла с помощью *Microsoft Excel* или экспорта данных в электронные таблицы выберите тип *Табуляция.*

  При работе с другими приложениями уточните, какой для них нужен тип разделителя.

[18] Выбор типа разделителя требуется только в том случае, если таблица, записываемая в файле как текст, должна быть в дальнейшем преобразована собственно в таблицу с помощью специальной процедуры, например, для того чтобы представить ее в разграфленном виде.

- При использовании в качестве разделителя табуляции, измените, если требуется, расстояние между столбцами, отредактировав количество вводимых между ними добавочных пробелов в поле **Табулятор** (от 1 до 32, по умолчанию равно 8). Этот параметр влияет на вывод отчета на экран и печать на принтере, но игнорируется при записи отчета в файл.

Шаблоны отчета

Все сведения о формате отчета и форматах входящих в него величин содержатся в файлах *шаблона*, имеющих расширение ***.rtt**. Кроме того, в этих файлах могут быть зафиксированы настройки окна **Опции отчета** для их перенесения в другие методы и хроматограммы. В комплект поставки включаются файлы *russian.rtt* и *english.rtt* соответственно для русского и английского варианта отчета, а также специальные файлы *RetTim.rtt* для выдачи расширенного набора данных об асимметрии пиков и *gauss.rtt* для выдачи результатов гаусс-разложения.

Пользователь может, открыв файл шаблона отчета с помощью какого-либо текстового редактора, вносить в формат отчета следующие изменения:

изменять порядок пунктов внутри раздела;
переносить пункты из раздела в раздел;
исключать и восстанавливать пункты;
вводить дополнительный текст;
изменять формат (число знаков) выводимых величин;
разбивать текст на отдельные страницы.

Редактирование ***rtt***-файла – достаточно редкая процедура, ее выполнение можно рекомендовать только достаточно опытным пользователям (подробное описание процедуры – см. ***Приложение 7***).

Шаблоны russian.rtt и english.rtt

Шаблоны *russian.rtt* и *english.rtt* – базовые шаблоны для получения отчетов на русском и английском языках. Их имена не могут быть использованы для других шаблонов. При загрузке этих шаблонов сохраняются все бывшие перед этим установки для опций, но снимается запрет на их изменение.

Шаблон RetTim.rtt

Шаблон *RetTim.rtt* – специальный шаблон для вывода детальной информации об асимметричных пиках. При использовании этого шаблона отчет содержит только *Таблицу пиков*, к которой добавляются еще 2 блока.

Первый блок содержит следующие столбцы:

	RetTime	время удерживания (вершина пика)
	Median_R	медианное время удерживания (половина площади)
T		площадь пика
	M0	1-й момент (центр тяжести пика)
	M1	2-й центральный момент
	M2	3-й центральный момент
	M3	4-й центральный момент
	M4	дисперсия ($(M2)^{1/2}$)
	Sigma	асимметрия ($M3/(M2)^{3/2}$)
	Skew	эксцесс ($M4/(M2)^2 - 3$)
Excess		

Второй блок содержит следующие столбцы (обозначения см. ***Приложение 6***, раздел ***Параметры пиков***):

RetTime	время удерживания
Height	высота пика
WF_01/WT_01	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.01
WF_02/WT_02	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.02
WF_04.4/WT_04.4	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.044*
WF_05/WT_05	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.05
WF_10/WT_10	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.10
WF_13.4/WT_13.4	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.134**
WF_25/WT_25	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.25
WF_50/WT_50	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.50
WF_60.7/WT_60.7	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по уровню 0.607***
WF_BL/WT_BL	ширина пика до вершины/ширина пика после вершины по базовой линии

* для пиков гауссовой формы соответствует ширине 5σ;

** для пиков гауссовой формы соответствует ширине 4σ;
*** для пиков гауссовой формы соответствует ширине 2σ.

Шаблон gauss.rtt

Шаблон *gauss.rtt* предназначен для вывода результатов гаусс-разложения (см. раздел ***Результаты разложения***). Он используется в отчете многоканальной хроматограммы (см. раздел ***Результаты разложения/****Ошибка! Источник ссылки не найден.*), в которую преобразуются эти результаты. При использовании этого шаблона отчет содержит только график и запись из журнала данных: все установки из окна **Инициализация**, а также таблицу параметров всех пиков и результирующую невязку из окна **Итерации**.

Выбор устройств для вывода отчета

Отчет может быть направлен на *экран*, *принтер* или в дисковый *файл*, причем можно выбрать любую комбинация из устройств вывода.

- Для выбора устройства вывода установите требуемые флажки в области **Куда направить отчет** в верхней части диалогового окна.

Для всех устройств при выводе отчета используются значения, установленные в полях **Шаблон**, **Разделитель** и **Табулятор**, а также шрифты, выбранные с помощью команды **Настройка/Шрифты/ Шрифты для отчета** (см. ***Приложение 9***) Для отчетов используются только *равноширинные* типы шрифтов (имеющие одинаковую ширину для всех знаков). Если необходимо иметь полное соответствие вида отчета на экране и при распечатке, следует выбирать TrueType шрифты, отмеченные в списке двумя буквами TT.

Вывод на экран

Отчет выводится на экран в отдельном окне поверх окна хроматограммы и имеет заголовок **Отчет: [Заголовок окна хроматограммы]**. Оно содержит только текстовую часть отчета, поскольку рисунок хроматограммы уже представлен на экране.

Окно отчета может быть развернуто во весь экран, свернуто или закрыто. При закрытии окна хроматограммы окно отчета закрывается автоматически.

На экране можно одновременно представить отчеты для всех открытых хроматограмм. Окна хроматограмм и отчетов можно упорядочить с помощью команд **Каскад**, **Вертикальная мозаика** или **Горизонтальная мозаика**, при этом окно отчета для каждой хроматограммы будет расположено соответственно перед, ниже или справа по отношению к окну хроматограммы.

Если окно отчета активно, в строке меню представлены только пункты **Файл**, **Редактирование**, **Настройка**, **Окно**, **Справка**. При этом в меню **Файл** доступны только команды, относящиеся к выводу отчета: **Закрыть**, **Печать**, **Страница**, **Настройка принтера** и **Выход**.

- Для того чтобы получить отчет с измененными опциями, выполните следующее.
  - Активизируйте окно хроматограммы, щелкнув по нему мышью.
  - Вновь откройте окно **Опции отчета** и внесите требуемые изменения.
  - Нажмите кнопку **Отчет**. Обновленный отчет будет выведен в ранее открытом окне – одновременное получение на экране двух отчетов к одной хроматограмме невозможно.

Копирование отчета через буфер

- Для того чтобы скопировать в буфер текст отчета, выведенный на экран, выберите команду **Редактирование/Скопировать в буфер**.
- Для того чтобы скопировать в буфер фрагмент текста отчета, выделите его с помощью мыши, а затем выберите команду **Редактирование/Скопировать в буфер**.

Сохранение отчета в виде rtf-файла

Сохранение отчета в виде rtf-файла рекомендуется использовать в том случае, когда предполагается создание текстового документа с последующим редактированием с помощью *MS Word*. В тех же случаях, когда отчет далее автоматически обрабатывается какой-либо программой, следует сохранять его в виде файла непосредственно из окна **Опции отчета** (см. далее раздел ***Вывод в файл***).

- Для того чтобы сохранить отчет, представленный в окне, в виде rtf-файла, выполните следующее.
  - Щелкните мышью по пиктограмме . При этом откроется окно **Сохранить как** (**Save as**) для записи файла в каталог, ранее выбранный в окне **Опции отчета**.
  - Измените, если требуется, имя файла отчета и запишите его (по умолчанию файлу присваивается имя *[имя файла хроматограммы].rtf*).

Вывод на принтер

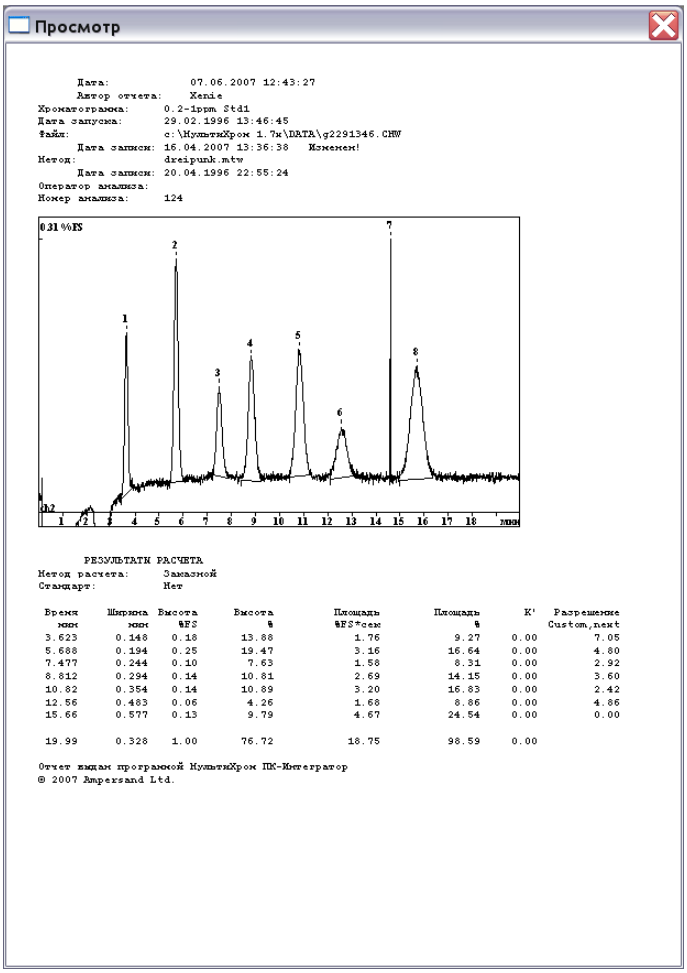
Программа *МультиХром* использует принтер, установленный в системе *MS Windows* как принтер по умолчанию, но может быть также выбран любой из доступных принтеров.

При использовании черно-белой печати цвета на графиках хроматограмм будут передаваться как оттенки серого, при цветной печати - в соответствии с установками на листе **Цвета** окна **Вид**, но в обоих случаях цвет фона всегда будет былым (см. раздел ***Вид хроматограммы/Диалоговое окно Вид/Цвета***).

Предварительный просмотр

Для предварительного просмотра отчета нажмите кнопку **Просмотр** в верхней части окна, при этом откроется одноименное окно.

> Если используется Заказной метод расчета с большим количеством столбцов, проверьте, все ли столбцы Таблицы пиков поместились на странице! В случае необходимости перейдите к горизонтальному расположению страницы (см. ниже раздел ***Настройки принтера***)



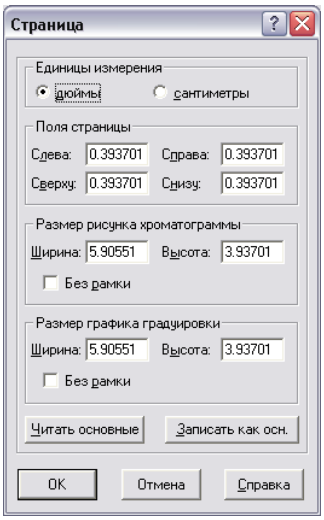
Если текст отчета занимает более одной страницы, для просмотра используйте клавиши *PageUp/PageDown* или полосу вертикальной прокрутки.

Параметры страницы

Для печати отчетов программа *МультиХром* использует стандартные страницы формата А4. Пользователь имеет возможность изменять поля страницы, а также задавать размеры графиков хроматограммы и градуировки. Эти параметры могут быть заданы как для отдельной хроматограммы, так и для метода. Кроме того, предусмотрены установки параметров страницы по умолчанию, именуемые *основными*, которые позволяют выводить на печать хроматограммы из старых файлов, полученных с помощью DOS-версий программы *МультиХром* и не содержавших необходимых установок для печати.

Если требуется изменить поля страницы отчета, размеры рисунка хроматограммы или графика градуировки, выполните следующее.

•Нажмите кнопку **Страница** в окне **Опции отчета** или выберите команду **Файл/Страница**, при этом откроется окно **Страница**.



•Измените, если требуется, единицу измерения размеров, щелкнув мышью по переключателю **дюймы** или **сантиметры**.

•Задайте размеры полей страницы, установив требуемы значения в полях **Слева**, **Справа**, **Сверху**, **Снизу** в области **Поля страницы**.

•Задайте размеры рисунка хроматограммы и графика градуировки.

- Установите требуемы значения в полях **Ширина** и **Высота** в областях **Размеры рисунка хроматограммы** и **Размеры рисунка градуировки** соответственно.
- Удалите, если требуется, рамки рисунков, установив флажок **Без рамки**.

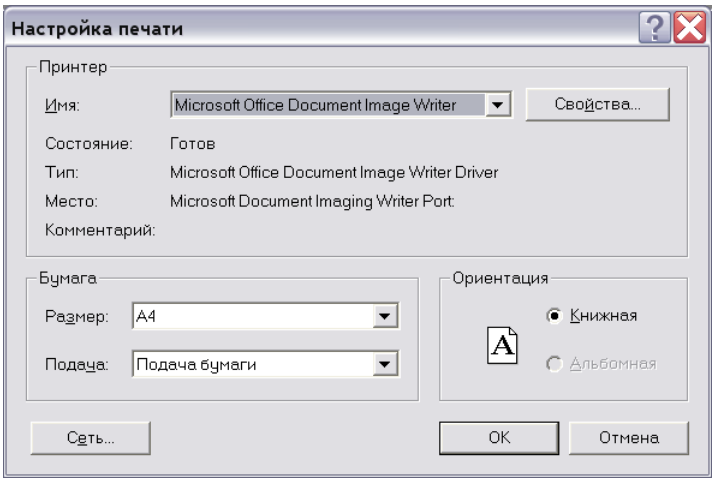
•Для записи текущих параметров страницы в качестве основных нажмите кнопку **Запис. как основные**. Это действие не отменяется при нажатии кнопки **Отмена**.

•Если требуется восстановить основные параметры для текущей хроматограммы, нажмите кнопку **Читать основные**.

•Нажмите кнопку **ОК**, окно **Страница** закроется. Принятые параметры страницы сохранятся при следующем открытии файла хроматограммы независимо от того, как закрывалось окно **Опции отчета** – нажатием кнопки **Отчет**, **Принять** или **Отмена**.

Настройки принтера

Для того чтобы выбрать другой принтер, изменить размеры и/или ориентацию страницы, выбрать источник бумаги и т.п., выберите команду **Файл/Настройки принтера**. При этом откроется стандартное окно системы *MS Windows* для настройки принтера (**Настройка принтера** или **Printer Setup** для русско- или англоязычной версии *MS Windows* соответственно). Все процедуры в этом окне выполняются по общим правилам работы в *MS Windows*.

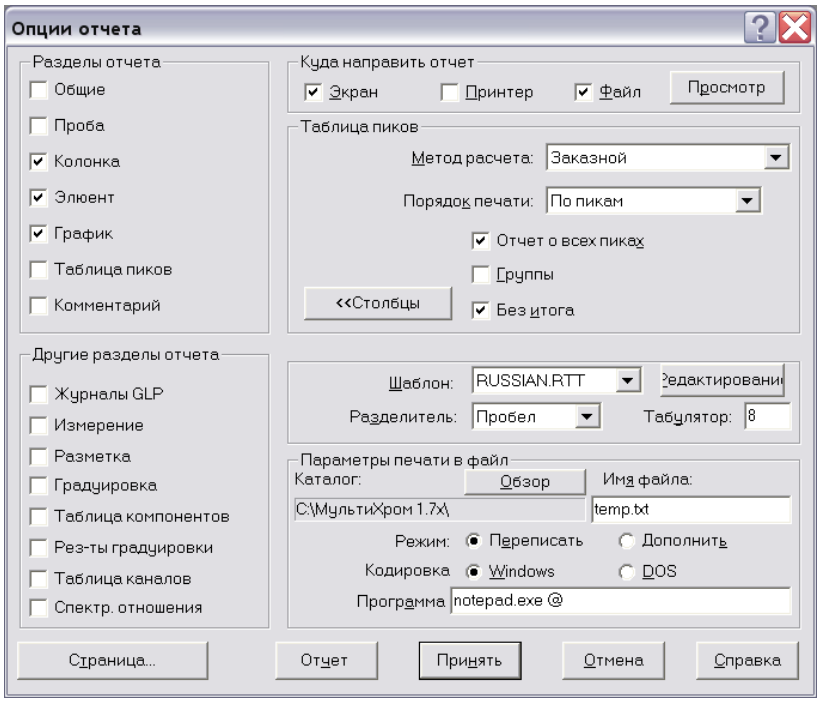


Вывод в файл

Отчет может быть записан в файл для сохранения или последующей обработки с помощью какой-либо прикладной программы, в том числе, с автоматическим запуском этой программы непо-

средственно после получения отчета. При выборе опции **Вывод в файл** открывается доступ к параметрам, сгруппированным в области **Параметры печати в файл**.

> Если предполагается проводить совместную статистическую обработку данных, содержащихся в нескольких хроматограммах, с помощью какой либо специализированной программы, выберите в качестве шаблона файл stat.rtt. При этом в отчет будет включаться только Таблица пиков, независимо от установок флажков разделов отчета.



Для вывода отчета в файл выполните следующее.

- Задайте имя файла отчета.
  - Введите в поле **Имя файла** имя файла вместе с *расширением* (оно может быть любым). Если в отчет включен раздел *График*, дополнительно автоматически будет создаваться одноименный файл с расширением ***.wmf,** содержащий рисунок хроматограммы в формате WMF (*Windows metafile*).
  - Если требуется, смените каталог, в который будет записан файл отчета, используя кнопку **Обзор**, как это описано в разделе ***Настройка метода/Обработка***.
- Измените, если требуется, режим записи в файл с помощью переключателей **Режим**

  Переписать обновление файла отчета (установлен по умолчанию).
  Дополнить добавление отчета к существующему файлу [19].
- Измените, если требуется, кодировку символов с помощью переключателей **Кодировка**. Эта установка существенна только для знаков русского алфавита и символов псевдографики. Как правило, приложения DOS используют ASCII кодировку, а приложения MS Windows - ANSI.

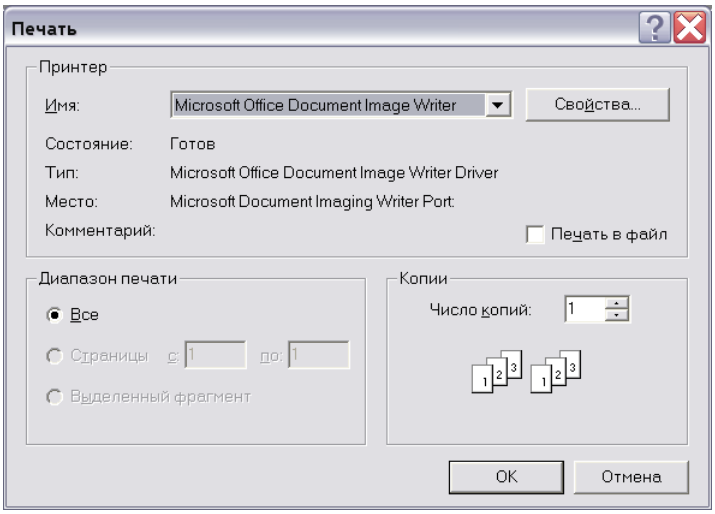
  Windows ANSI-кодировка символов (установлена по умолчанию).
  DOS ASCII набор символов.
- Для экспорта отчета в другую программу (электронную таблицу, текстовый редактор или базу данных) для дальнейшей обработки выполните следующее.
  - Введите в поле **Программа** имя исполняемого файла, включая полный путь. (Если для программы создан ярлык, удобно скопировать всю строку из *Свойств* ярлыка).
  - Введите далее после пробела знак @, при этом при запуске программы полное имя созданного файла отчета будет использоваться в качестве параметра.

[19] При установке переключателя **Добавить** добавляется только текстовая часть отчета в файл, указанный в поле **Имя файла**, файл рисунка ***.wmf** всегда обновляется. То же относится и к пакетному пересчету.

Получение отчета

Отчет может быть получен на экране, в печатном виде и/или в виде файла непосредственно из окна **Опции отчета** или по завершении хроматограммы. Кроме того, он может быть напечатан в любой момент из окна хроматограммы, минуя окно **Опции отчета**.

- Для того чтобы получить отчет из окна **Опции отчета**, нажмите кнопку **Отчет**. Отчет во всех заданных формах будет получен немедленно.
- Для того чтобы автоматически получать отчет во всех заданных формах по завершении хроматограммы, при настройке метода на листе **Обработка** окна **Запуск анализа** или **Настройка метода** установите флажок **Выдать отчет**. Эту установку можно выполнить также из окна хроматограммы перед ее повторным запуском.
- Для того чтобы только напечатать отчет из окна хроматограммы, независимо от установок **Куда направить отчет** в окне **Опции отчета**, выберите команду **Файл/Печать** или нажмите кнопку на панели инструментов. При этом откроется стандартное окно системы MS Windows **Печать** (**Print**). Все процедуры в этом окне выполняются по общим правилам работы в Windows. Отчет будет напечатан в соответствии с опциями, записанными для формата отчета в файле хроматограммы, независимо от того, был ли установлен флажок **Принтер** в окне **Опции отчета**.



- Нажмите кнопку **ОК**. Отчет будет напечатан на принтере в соответствии с ранее установленными опциями, независимо от того, был ли установлен флажок **Принтер** в окне **Опции отчета**.

Статистическая обработка результатов анализов

Встроенный модуль для статистической обработки позволяет обрабатывать данные нескольких хроматограмм, объединенных в пакет. Процедура выполняется для одного параметра (одного столбца **Таблицы пиков**), заданного пользователем (*Время, Концентрация* и т.п.). В файл статистического отчета выводятся результаты расчета для одного, нескольких или всех компонентов.

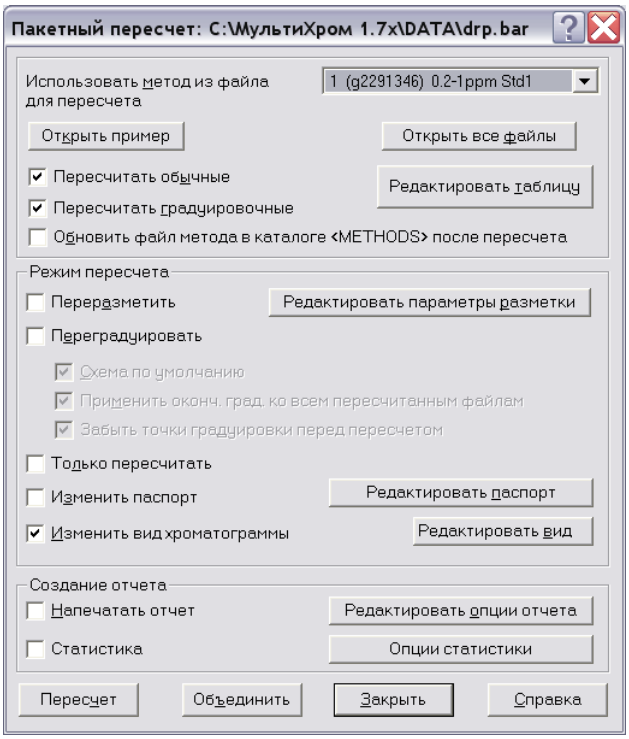
Общая процедура

Для получения статистического отчета выполните следующее.

- Объедините все хроматограммы, которые требуется обработать, в пакет (см. **Руководство пользователя, Этап 20**) или откройте ранее созданный пакет.

> Все хроматограммы должны иметь одинаковые Таблицы компонентов. Если в разных хроматограммах имя одного и того же компонента будет написано по-разному, в отчете появится строка: «В некоторых хроматограммах имя компонента написано с ошибкой. Проверьте и исправьте!»
>
> Если ошибки допущены для нескольких компонентов, появится соответствующее число одинаковых строк, независимо от числа хроматограмм с ошибочным написанием.

- Задайте, если требуется, параметры пересчета. Не забудьте установить нужным образом флажки **Пересчитать обычные** и **Пересчитать градуировочные**.

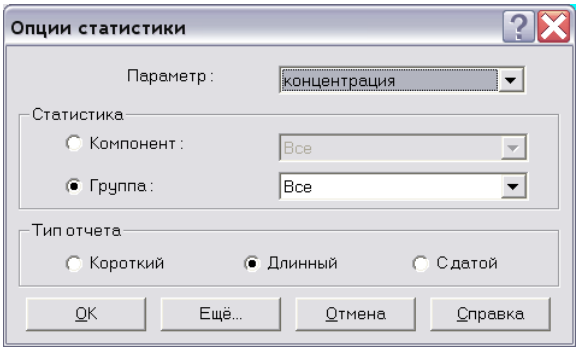


- Если параметры статистической обработки заданы ранее и не требуют редактирования, установите флажок **Статистика**.
- Если требуется настроить параметры статистической обработки, нажмите кнопку **Опции статистики** и внесите необходимые изменения (см. ниже).
- Нажмите кнопку **Пересчет**. По окончании выполнения всех процедур будет запущена программа просмотра файла статистического отчета.

Настройка параметров статистической обработки

Для настройки параметров статистической обработки выполните следующее.

- Нажмите кнопку **Опции статистики**. Откроется окно **Опции статистики**.



- В поле **Параметр** выберите из списка параметр (имя одного из столбцов Таблицы пиков), значения которого будут обрабатываться.
- Выберите компоненты, для которых будут представлены результаты статистической обработки.
  - Для получения отчета для *всех* компонентов выберите значение **Все** из списка в любом поле – **Компонент** или **Группа**.
  - Для получения отчета для *одного* компонента установите переключатель **Компонент** и далее выберите имя компонента из списка.
  - Для получения отчета для *нескольких* компонентов установите переключатель **Группа** и далее выберите номер группы из списка.

> Для того чтобы получить отчет для нескольких компонентов, в Таблице компонентов в столбце Группа для них должен быть задан один и тот же номер. Если группы не были выделены в Таблице компонентов заранее, к выполнению этой процедуры можно перейти из окна Пакетный пересчет (см. ниже раздел Выделение групп в Таблице компонентов).

- Выберите тип отчета: Короткий, Длинный, С датой.

- *Короткий* отчет имеет следующий вид.

drp - Блокнот

Файл Правка Формат Вид Справка

```
07.06.2007  12:54
Conc., mg/L
Group: ALL
Component: All
-------------------------------------------------------------------------------
Name:            Pts:        Mean:            RSD:          RSD, %      NegDev/RSD      PosDe
Fluorid            4          8.05          9.0362          112.3       -0.87( 1)        1.:
Chlorid            4          8.05          9.0403          112.3       -0.87( 1)        1.:
Nitrit             4          8.05          9.0342          112.2       -0.87( 1)        1.:
bromid             4          8.05          9.0375          112.3       -0.87( 1)        1.:
Nitrat             4          8.05           9.039          112.3       -0.87( 1)        1.:
Phosphat           4          8.05           9.036          112.2       -0.87( 1)        1.:
Sulfat             4          8.05           9.037          112.3       -0.87( 1)        1.:
-------------------------------------------------------------------------------
1. g2291346.CHW    0.2-1ppm Std1
2. g2291412.CHW    2-10ppm Std2
3. g2291433.CHW    20-100ppm Std3
4. g2291519.CHW    10-50ppm Std4
```

В нем содержится следующая информация.

1. *Дата и время выполнения пересчета*
2. *Имя параметра и единица измерения.*
3. *Номер группы*
4. *Таблица результатов расчета, содержащая 7 столбцов:*

Имя	*имя компонента;*
Измер.	*число измерений (хроматограмм), использованных при расчетах для данного параметра (может быть меньше общего числа хроматограмм, если в какой-либо из них пик компонента не обнаружен);*
Среднее	*среднее значение параметра;*
СКО	*среднеквадратичное отклонение (абсолютная величина);*
СКО, %	*среднеквадратичное отклонение (в %);*
Макс-% (N)*	*максимальное отрицательное отклонение от среднего (в %);*
Макс+% (N)*	*максимальное положительное отклонение от среднего (в %)*

** в скобках указывается номер хроматограммы, для которой измерено значение.*

5. *Список хроматограмм с указанием номера, имени файла и имени хроматограммы.*

- *Длинный* отчет имеет следующий вид.

drp - Блокнот

Файл Правка Формат Вид Справка

```
07.06.2007  12:53
Conc., mg/L
Group: ALL
Component: All
------------------------
                                  Fluorid        Chlorid         Nitrit         bromid
1          0.2-1ppm Std1          0.19231        0.20266        0.17572        0.20227
2           2-10ppm Std2           1.9003         1.8622         2.0132         1.9115
3         20-100ppm Std3           19.917         19.906         19.988          19.94
4          10-50ppm Std4           10.191         10.229         10.023         10.147
-----------------------------------------------------------------------------------------
                     Max:          19.917         19.906         19.988          19.94
                     Min:         0.19231        0.20266        0.17572        0.20227
                    Mean:            8.05           8.05           8.05           8.05
                  StdDev:          9.0362         9.0403         9.0342         9.0375
                    RSD%:           112.3          112.3          112.2          112.3
-----------------------------------------------------------------------------------------

1. g2291346.CHW    0.2-1ppm Std1
2. g2291412.CHW    2-10ppm Std2
3. g2291433.CHW    20-100ppm Std3
4. g2291519.CHW    10-50ppm Std4
```

В нем содержится следующая информация.

Дата и время выполнения пересчета

Имя параметра и единица измерения.

Номер группы

Сводная таблица значений параметра, содержащая следующие столбцы:
Номер хроматограммы
Имя хроматограммы (20 знаков)
Значения параметра (число столбцов по числу выбранных компонентов)

- Список хроматограмм с указанием номера, имени файла и полного имени хроматограммы.

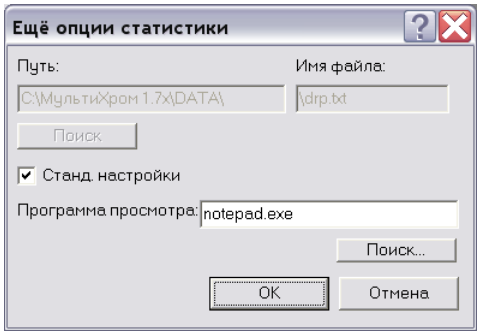
- Отчет *с датой* имеет тот же вид, что и отчет в полной форме, но после столбца *Имя хроматограммы* добавляется столбец *Дата и время забора пробы*.

По умолчанию файл отчета записывается в ту же директорию, где помещен файл пакета, под именем *[имя файла пакета].txt*, для просмотра которого используется программа *Notepad*. При создании следующего отчета файл переписывается под тем же именем.

> При использовании программы Notepad можно последовательно получать несколько отчетов с одним и тем же именем файла, не закрывая окна – все отчеты будут представлены на экране в отдельных окнах, а на диске под этим именем будет записан только последний отчет. При использовании других программ перед созданием нового отчета, как правило, необходимо закрыть предыдущее окно.

Для изменения настроек выполните следующее.

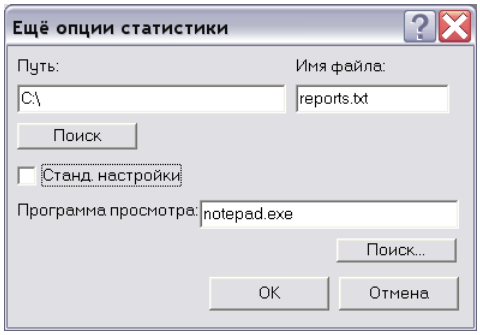
- Нажмите кнопку **Еще...** Откроется окно **Еще опции статистики**.



- Для изменения программы просмотра введите в поле **Программа** имя соответствующего файла с полным путем. При необходимости используйте кнопку **Поиск...**

- Для изменения имени файла отчета и пути выполните следующее.

- Снимите флажок **Станд. настройки**. При этом в полях **Путь** и **Имя файла** будут представлены последние значения, которые были введены пользователем, доступные для редактирования.



- Введите в поле **Путь** требуемое значение, используя кнопку **Поиск...**
- Отредактируйте требуемым образом значение в поле **Имя файла**.

> При работе с MS Excel файл статотчета обязательно должен иметь расширение (рекомендуется *.xls).

- Для восстановления установок по умолчанию установите флажок **Станд. настройки**.
- Закройте окно, нажав кнопку **OK**.

Печать статистического отчета

Печать статотчета осуществляется средствами той программы, которая используется для просмотра файла.

- Отчет в краткой форме может быть распечатан с помощью используемой по умолчанию программы NOTEPAD. При этом для того чтобы все столбцы таблицы нормально разместились на странице, необходимо уменьшить поля, изменить ориентацию страницы или выбрать более мелкий шрифт, выполнив одно из следующих действий.
  - В меню **Файл** (**File**) выберите команду **Параметры страницы** (**Page setup**) и в открывшемся окне либо задайте левое и правое поле по 10 мм, либо установите альбомную ориентацию страницы.
  - В меню **Формат** (**Format**) выберите команду **Выбор шрифта** (**Font**) и в открывшемся окне установите шрифт *Courier New Cyr* , размер 8.

> Для того чтобы при распечатке файла статотчета заголовки не смещались относительно столбцов, необходимо использовать только равноширинные (monospaced) шрифты.

- Если файл статотчета требует более сложного редактирования, чем то, которое доступно из редактора NOTEPAD, используйте WORDPAD или WinWord.
- Если отчет в полной форме содержит большое число столбцов, используйте MS Excel, с помощью которого таблица будет разбита по страницам. Специально для удобства работы с MS Excel в таблице файла статотчета используется разделитель Tab.

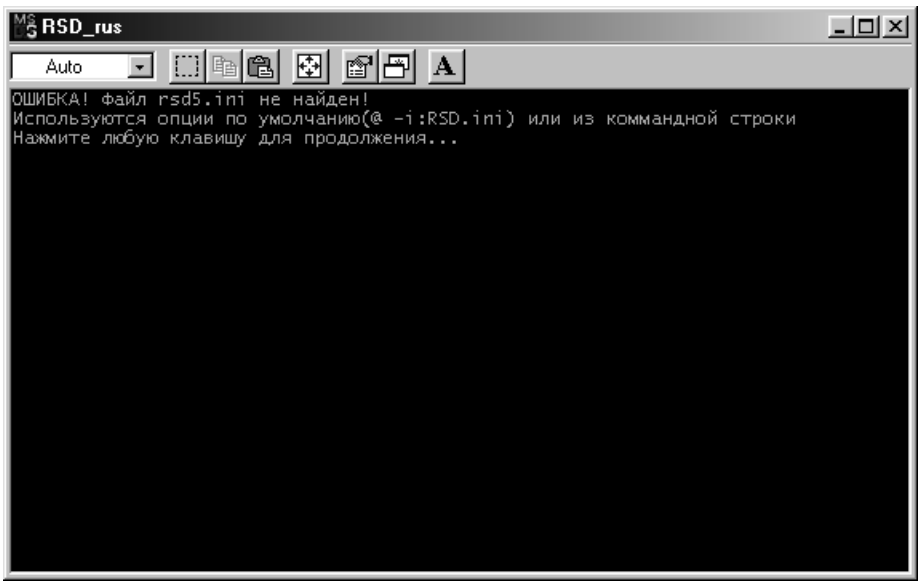
Выделение групп в Таблице компонентов при обработке пакета

Для того чтобы выделить группы компонентов, для которых будет выполняться статистическая обработка, выполните следующее.

- В окне Пакетный пересчет выберите в качестве хроматограммы-примера (см. раздел Количественный и качественный анализ/.../Хроматограмма-пример) первую хроматограмму в списке.
- Нажмите кнопку **Открыть пример** – откроется окно хроматограммы-примера.
- Закройте окно **Пакетный пересчет** и откройте Таблицу компонентов хроматограммы-примера.
- Сформируйте требуемые группы, поставив для всех компонентов из одной группы одно и то же число в столбце Группа.
- Закройте Таблицу компонентов, нажав кнопку **OK**.
- Сохраните хроматограмму под тем же именем, ответив Да запрос: «Хроматограмма XXX.chw уже существует. Переписать?»
- Вновь откройте пакет, нажав кнопку , и выполните статистический расчет для группы компонентов.

Сообщения об ошибках

При нормальной работе программы статобработки после запуска пересчета на короткое время открывается ее окно, которое тут же сменяется окном программы, открывающей файл отчета. В случае ошибки это окно остается на экране и содержит сообщение об ошибке. В частности, сообщение: *«Ошибка! Нет пиков в файле...»* может появиться в том случае, если в *Таблице компонентов* какой-либо хроматограммы количество компонентов меньше, чем в хроматограмме-примере.



На некоторых компьютерах могут возникать проблемы с выводом сообщения на русском языке, связанные с автоматическим выбором шрифта в соответствии с размером окна. В этом случае можно сделать следующее.

- Увеличить размер окна, нажав кнопку , или растянув окно с помощью мыши.
- Выбрать в списочном поле вместо Auto шрифт с отметкой True Type удобного размера, например, 8 x 13.
- Нажать кнопку A и в открывшемся окне установить переключатель в положении **True Type only**.

Капиллярный электрофорез

Процесс капиллярного электрофореза заметно отличается от традиционного хроматографического процесса, что требует внесения ряда изменений в интерфейс ПО *МультиХром.* Эти изменения касаются представления данных в окне хроматограммы (*электрофореграммы*) и некоторых листов окна **Паспорт**, а также соответствующих им разделов отчета.

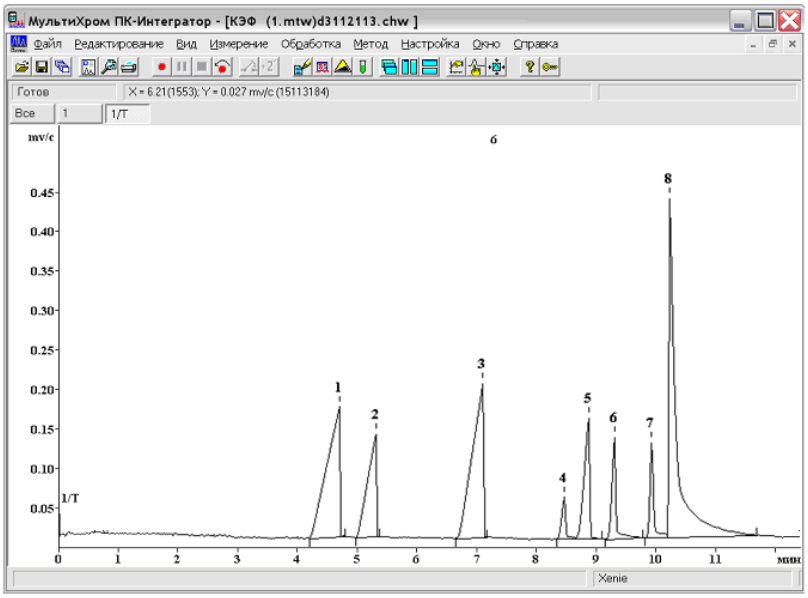
Набор параметров, использующихся для описания процесса капиллярного электрофореза, несколько различается для оборудования различного типа. По этой причине в ПО *МультиХром* параметры, общие для всех типов оборудования, внесены на листы **Капилляр** (заменяющий лист **Колонка**) и **Электрофорез** (заменяющий лист **Элюент**), а остальные рекомендуется записывать на листе **Комментарий**. При этом целесообразно создать небольшое число базовых методов, например, для каждого способа ввода пробы, с соответствующим шаблоном записи на листе **Комментарий** (см. пример в ***Приложении***), на основе которых далее создавать методы для частных задач. Базовые методы, как правило, включаются в комплект поставки.

Вычисляемый канал Сигнал/Время

После записи и повторного открытия электрофореграммы в окно может быть выведен либо канал принятых данных *ch1,* либо специальный вычисляемый канал *ch1/T* (*Сигнал/Время*[20]). Сигнал этого канала равен исходному сигналу, деленному на текущее значение времени, что

[20] При переходе к капиллярному электрофорезу в поле **Вычисляемый канал/Формула** окна **Настройка метода/Формулы** автоматически устанавливается значение *Сигнал/Время* (см. раздел **Настройка метода/Формулы**)

является более удобным представлением результатов для капиллярного электрофореза. Выбор канала производится с помощью кнопок в левом верхнем углу окна.

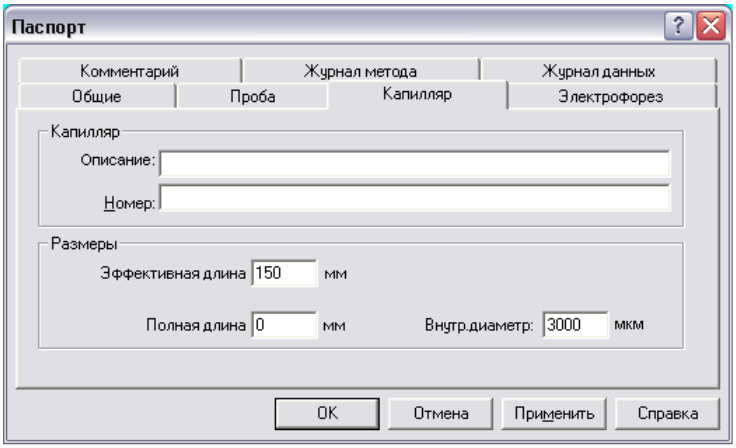


Канал *Сигнал/Время* можно использовать в качестве *опорного* для градуировки и расчета концентраций. Выбор опорного канала производится так же, как для многоканальных хроматограмм (см. ***Многоканальные хроматограммы/Обработка многоканальных хроматограмм/Расчет концентраций***).

Паспорт

Для капиллярного электрофореза в окне **Паспорт** лист **Колонка** заменяется листом **Капилляр**, а лист **Элюент** – листом **Электрофорез**.

Капилляр



Описание: описание капилляра, до 255 символов.

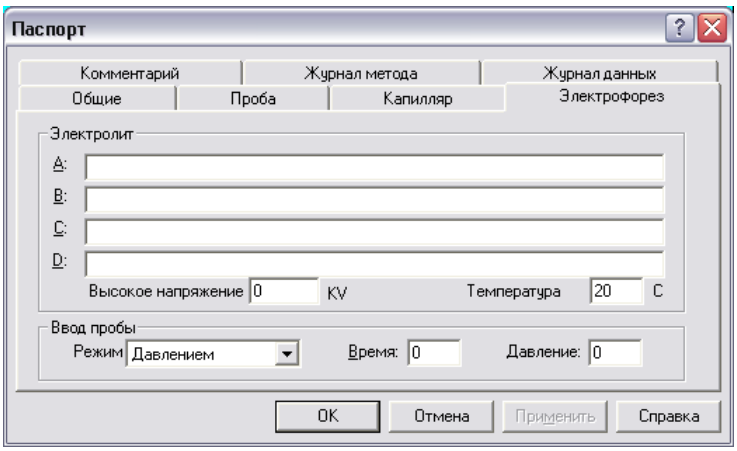
Номер: номер; это поле может также использоваться для ввода дополнительной текстовой информации.

Эффективная длина: эффективная длина капилляра (длина до детектора) в миллиметрах.

Полная длина: полная длина капилляра в миллиметрах.

Внутр.диаметр: внутренний диаметр капилляра в микрометрах.

Электрофорез



Область **Электролит**:

A,B, C, D компоненты электролита.

Высокое напряжение напряжение, приложенное к капилляру, *кВ*.

Температура температура капилляра, *°С*.

Область **Ввод пробы**:

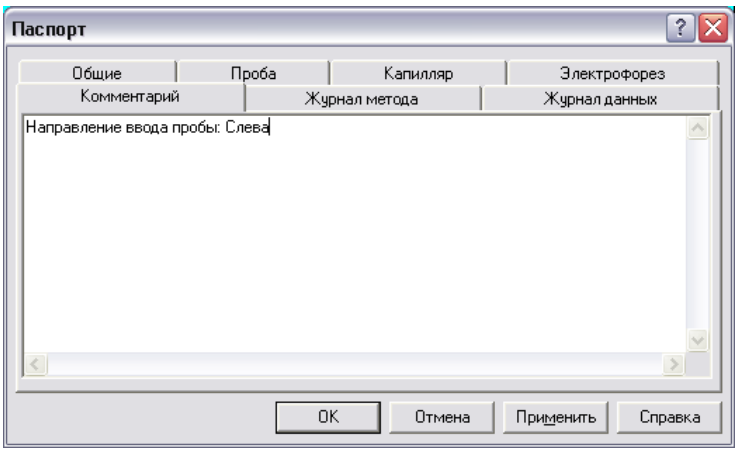
Режим списочное поле для выбора режима ввода пробы: *Давлением* или *Напряжением.*

Время время действия давления или напряжения.

Давление (Напряжение) значение давления (напряжения), *мбар* (*кВ*) в соответствии с выбранным режимом.

Комментарий

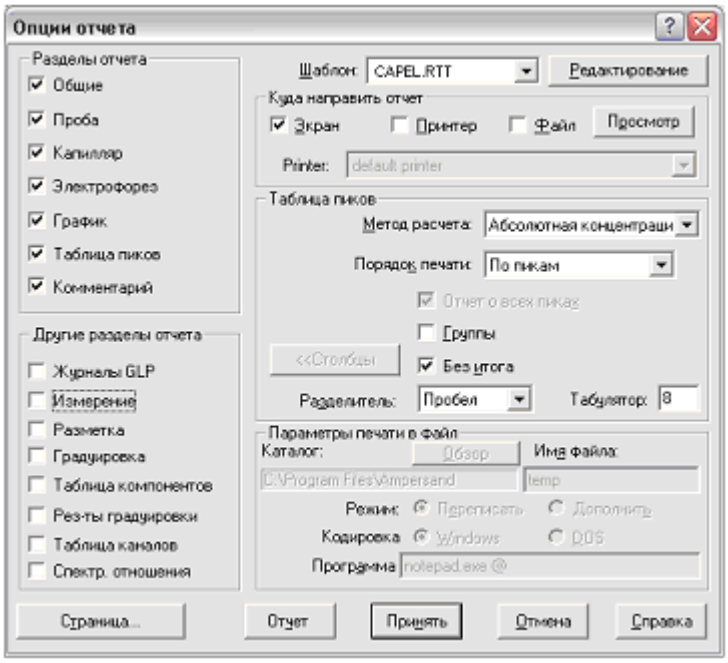
На листе **Комментарий** в файле метода рекомендуется создать шаблон для ввода дополнительных параметров. Они не требуются для расчетов, выполняемых программой *МультиХром,* но должны быть представлены в отчете. Если для этих параметров используется небольшое количество вариантов, можно создать несколько методов с фиксированным набором параметров. В противном случае параметры вводятся для каждой электрофореграммы.



В окне **Комментарий** дополнительно может быть введен произвольный текст.

Отчет

В окне **Опции отчета** для капиллярного электрофореза разделы **Колонка** и **Элюент** заменены разделами **Капилляр** и **Электрофорез**. В поле **Шаблон** следует выбирать только файлы **.rtt*, специально предназначенные для капиллярного электрофореза. Базовые файлы такого типа включаются в комплект поставки с именами, указывающими на названия оборудования для капиллярного электрофореза, например, *capel.rtt.*



Идентификация по электрофоретической подвижности

В программе *МультиХром* предусмотрена возможность определения *электрофоретической подвижности* (далее – *подвижности*) компонентов и использования этой величины для идентификации компонентов. Такой способ идентификации применим только в случае неизменности подвижности компонентов для всех электрофореграмм и постоянства подвижности *электроосмотического потока* (*ЭОП*) в течение одной электрофореграммы – например, он не может применяться при разных температурных условиях или при изменении давления по ходу эксперимента.

Время выхода компонента $\mathbf{t_n}$ связано с подвижностью компонента $\mathbf{m_n}$ следующим соотношением:

$$m_n = \frac{L_e \cdot L_f}{U \cdot t_n} - m_0,$$

где $\mathbf{L_e}$ и $\mathbf{L_f}$ – эффективная и полная длина капилляра соответственно, $\mathbf{U}$ – напряжение, приложенное к капилляру, $\mathbf{m_0}$ – подвижность ЭОП.

Чтобы определить *калибровочные* значения подвижности компонентов, которые хранятся в **Таблице компонентов** и далее используются при идентификации, необходимо получить электрофореграмму смеси, в которой присутствует *нейтральный компонент-маркер*. Подвижность ЭОП принимается равной подвижности маркера и определяется по формуле:

$$m_0 \equiv m_M = \frac{L_e \cdot L_f}{U \cdot t_M},$$

где $\mathbf{t_M}$ – время удерживания маркера. Калибровочные значения подвижности компонентов $\mathbf{m_{Cn}}$ рассчитываются по формуле:

$$m_{Cn} = \frac{L_e \cdot L_f}{U} \cdot \frac{1}{t_{Cn}} - m_0$$

Чтобы проводить идентификацию компонентов на основе значений подвижности, требуется выбрать среди них хотя бы один *реперный* компонент, пик которого будет легко идентифицироваться на любой электрофореграмме - например, как самый большой пик на достаточно широком участке электрофореграммы. Подвижность ЭОП в случае одного репера для каждой электрофореграммы рассчитывается по формуле:

$$m_0 = \frac{L_e \cdot L_f}{U \cdot t_R} - m_R,$$

где $\mathbf{t_R}$ – измеренное время удерживания репера, $\mathbf{m_R}$ – калибровочное значение подвижности репера. В случае нескольких реперов берется среднее значение. Определенная таким образом величина $\mathbf{m_0}$ используется для расчета ожидаемого времени удерживания компонентов $\mathbf{t_{Cn}}$ с использованием значений их подвижности $\mathbf{m_{Cn}}$ из **Таблицы компонентов**:

$$t_{Cn} = \frac{L_e \cdot L_f}{U \cdot (m_{Cn} + m_0)}.$$

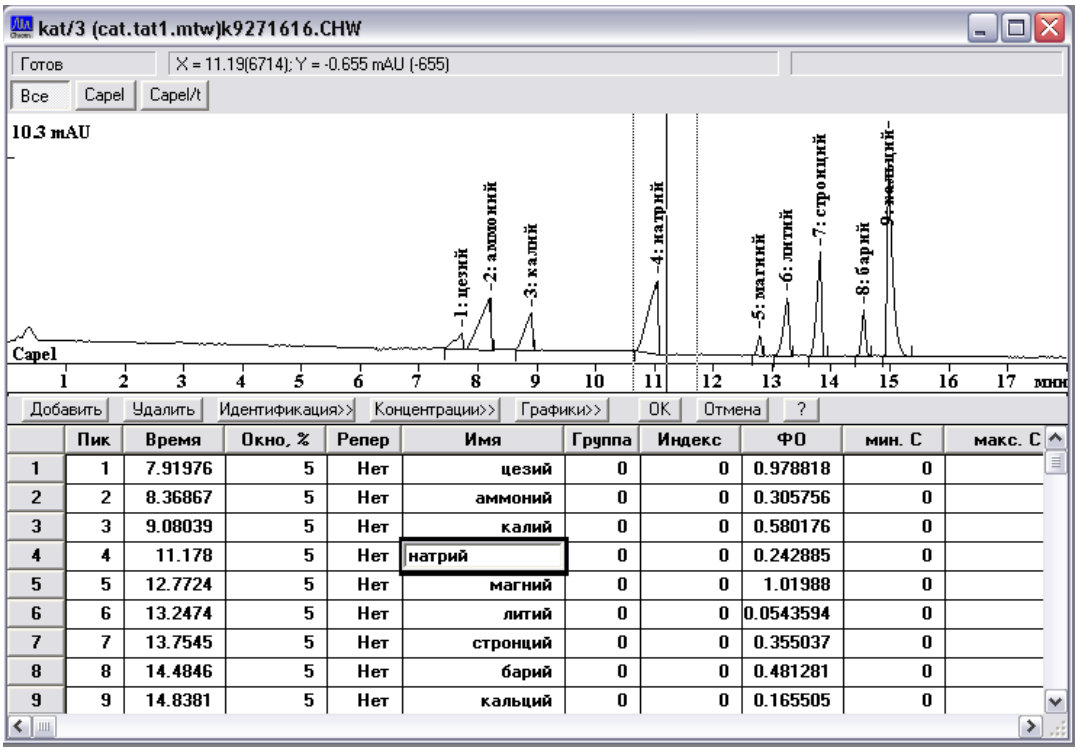
Идентификация проводится путем сравнения $\mathbf{t_{Cn}}$ с измеренными в данной электрофореграмме временами удерживания $\mathbf{t_n}$. Сравнение производится по времени удерживания, а не по подвижности, так как именно для удерживания задаются границы окна, в пределах которого производится поиск. Значения подвижности $\mathbf{m_n}$, которые рассчитываются по измеренным временам удерживания $\mathbf{t_n}$, приводятся в отчете как дополнительная информация.

Для перехода к идентификации компонентов по подвижности выполните следующее.

- Получите образцовую электрофореграмму смеси, содержащей все определяемые компоненты. Если в их числе нет нейтрального компонента, который может служить маркером ЭОП, такой компонент необходимо добавить специально.

> Для расчета подвижностей необходимо, чтобы были заполнены поля **Эффективная длина** и **Полная длина** на листе **Паспорт/Капилляр** и **Высокое напряжение** на листе **Паспорт/Электрофорез**!

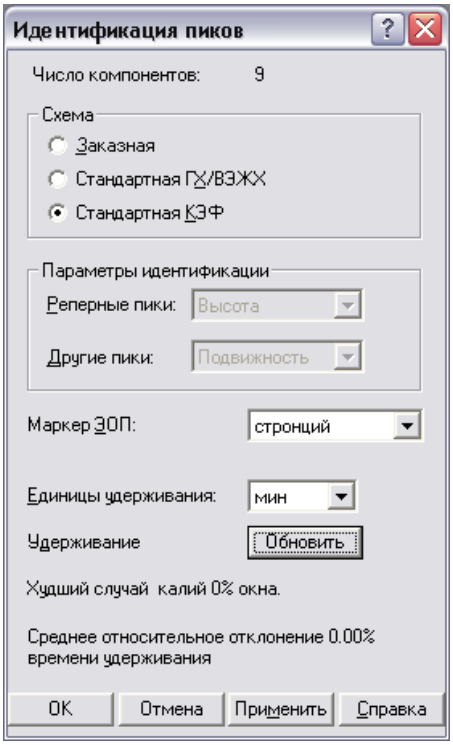
- Создайте Таблицу компонентов (см. раздел Этап 11).



	Пик	Время	Окно, %	Репер	Имя	Группа	Индекс	ФО	мин. С	макс. С
1	1	7.91976	5	Нет	цезий	0	0	0.978818	0	
2	2	8.36867	5	Нет	аммоний	0	0	0.305756	0	
3	3	9.08039	5	Нет	калий	0	0	0.580176	0	
4	4	11.178	5	Нет	натрий	0	0	0.242885	0	
5	5	12.7724	5	Нет	магний	0	0	1.01988	0	
6	6	13.2474	5	Нет	литий	0	0	0.0543594	0	
7	7	13.7545	5	Нет	стронций	0	0	0.355037	0	
8	8	14.4846	5	Нет	барий	0	0	0.481281	0	
9	9	14.8381	5	Нет	кальций	0	0	0.165505	0	

•

•Откройте окно Идентификация компонентов, нажав кнопку Идентификация.



•Выберите 1-3 компонента, которые будут в дальнейшем использоваться в качестве реперов, то есть, компонентов, которые будут определяться по какому-либо обычному хроматографическому параметру (высота, площадь, номер пика)[21]. В качестве реперов следует выбирать компоненты, которые будут присутствовать в любой электрофореграмме. Определите, по какому признаку будут идентифицироваться реперы.

- Если идентификация реперов будет производиться по высоте, в области **Схема** установите переключатель **Стандартная КЭФ**.
- Если идентификация реперов будет производиться по другому признаку, в области **Схема** установите переключатель **Заказная**, а в области **Параметры идентификации** в списочном поле **Реперные пики** выберите требуемый параметр, в поле **Другие пики** – параметр **Подвижность**.

•В списочном поле **Маркер ЭОП** выберите компонент-маркер.

•Закройте окно, нажав кнопку **ОК**. При этом будет произведен расчет калибровочных значений подвижности для всех компонентов.

> При измерении калибровочных значений подвижности в **Таблице компонентов** ни должно быть ни одного отмеченного репера!

•Для просмотра полученных результатов выполните следующее.

- Откройте окно **Опции отчета**, нажав кнопку .
- В списочном поле **Шаблон** выберите файл *capel.rtt.*
- В области **Куда направить отчет** установите флажок **Экран**.
- Нажмите кнопку **Отчет**. В открывшемся окне отчета под **Таблицей пиков** добавится раздел с результатами расчета подвижностей.

---

[21] См. также раздел ***Количественный и качественный анализ/Анализ пробы неизвестного состава/ Идентификация компонентов/***

Реперные пики

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКАЯ ПОДВИЖНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ
Подвижность ЭОП 18.1109*10^6 см^2/(В*с)
Маркер ЭОП стронций

No	Удерживание с	Удерживание ожидаемое,с	Подвижность *10^6	Подвижность Калибр.*10^6	Имя
1	462.7	462.7	14.31	14.31	цезий
2	491.9	491.9	12.38	12.38	аммоний
3	534.2	534.2	9.969	9.969	калий
4	661.9	661.9	4.55	4.55	натрий
5	766.7	766.7	1.453	1.453	магний
6	794.7	794.7	0.7631	0.7631	литий
7	828.2	828.2	0	0	стронций
8	872.4	872.4	-0.9168	-0.9168	барий
9	897.4	897.4	-1.396	-1.396	кальций

Таблица содержит столбцы *No* (номер пика **n**), *Удерживание* (измеренные значения $\mathbf{t_n}$), *Удерживание ожидаемое* (ожидаемые значения $\mathbf{t_{Cn}}$), *Подвижность* (значения $\mathbf{m_n}$, определенные для данной электрофореграммы), *Подвижность калибр.* (калибровочные значения $\mathbf{m_{Cn}}$), *Имя* (имя компонента). Удерживание измеряется в единицах, заданных в поле **Единицы удерживания** окна **Идентификация компонентов**, подвижность – в (см^2/В•с)•10^6 .

В случае электрофореграммы, по которой производится измерение калибровочных значений подвижности, в столбцах *Удерживание* и *Удерживание ожидаемое*, а также *Подвижность* и *Подвижность калибр.* стоят одни и те же величины, кроме того, для компонента-маркера значения подвижности равны 0.

- Закройте окно отчета.
- В **Таблице компонентов** для выбранных реперов в столбце **Репер** установите значения Да и увеличьте, насколько возможно, величину параметра в столбце **Окно**.
- Если маркер не входит в число определяемых компонентов и присутствие его в **Таблице пиков** в отчете не желательно, удалите соответствующую строку из **Таблицы компонентов**.
- Просмотрите полученные результаты в отчете. Оцените правильность выполняемой идентификации компонентов. При неудовлетворительном результате произведите дополнительную настройку процедуры идентификации: выберите другие реперы и/или измените схему распознавания.

Подвижность ЭОП 18.2543*10^6 см^2/(В*с)
Маркер ЭОП

No	Удерживание с	Удерживание ожидаемое,с	Подвижность *10^6	Подвижность Калибр.*10^6	Имя
1	454.4	460.6	14.76	14.31	цезий
2	480.2	489.6	12.98	12.38	аммоний
3	524.8	531.5	10.33	9.969	калий
4	650.7	657.8	4.797	4.55	натрий
5	763.5	761.1	1.393	1.453	магний
6	788.6	788.8	0.7663	0.7631	литий
7	870.6	865.2	-1.025	-0.9168	барий
8	903	889.8	-1.643	-1.396	кальций

- Закройте **Таблицу компонентов**, нажав кнопку **ОК**.
- Сохраните метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**.
- Получите с помощью созданного метода несколько электрофореграмм и, при необходимости, проведите дополнительную коррекцию процедуры идентификации.

Многоканальные хроматограммы

ЗАО «Амперсенд» имеет большой опыт по многоканальной обработке данных [4], основанный на работе с микроколоночными хроматографами серии "Милихром" начиная с 1981 года. Эти приборы оснащены многоволновым сканирующим ультрафиолетовым детектором, обеспечивающим получение многоканальных хроматографических данных. В настоящее время технология многоканальной обработки, впервые реализованная в версии программы *МультиХром-Спектр* для *MS-DOS*, в полном объеме развита в ПО *МультиХром, версия 2.x.*

Использование с программой *МультиХром* многоволновой или многоканальной измерительной схемы обеспечивает следующие преимущества:

- Расширенный динамический диапазон при определении количества вещества; возможность детектирования разных классов соединений с максимальной чувствительностью, или, наоборот, предотвращения "зашкаливания" пиков с высокими концентрациями.
- Сравнение спектров и идентификация пиков по спектрам.
- Надежный и интуитивно понятный профиль гомогенности хроматографического пика.
- Вычисляемый канал, представляющий собой средний отклик или сумму отношений сигнал/шум для всех каналов и устраняющий вопрос "Какой канал лучше?".
- Анализ неразделенных пиков, который может производиться как в случае полного отсутствия первичной информации, так и с учетом заранее известных спектров некоторых компонентов. Такой анализ обеспечивает определение как количества компонентов в области перекрывающихся пиков, так и профиля элюирования каждого из компонентов. Разделение пиков базируется на методах векторной алгебры (многомерный регрессионный и факторный анализ).

Использование этих возможностей дополняет пространственное разделение, получаемое с помощью хроматографии, спектральным разделением, получаемым из многоканальной схемы регистрации сигнала. Дополнительные возможности программы могут упростить схему хроматографического разделения (для точного количественного определения концентрации не требуется полное пространственное разделение хроматографических зон) и обеспечивают исследователя дополнительной информацией для оценки надежности получаемых результатов.

ПАК *МультиХром, версия 1.7x* не является полнофункциональной многоканальной системой, однако в нем предусмотрено использование ряда специальных методов обработки многоканальных хроматограмм. Он ориентирован, главным образом, на подключение к АЦП А-24 (2 канала) или Е-24 (2 или 4 канала) нескольких детекторов в различных комбинациях, например, УФ + рефрактометр, УФ + радиоактивность, УФ + электрохимический детектор в случае ВЭЖХ, и ДТП + ДИП, ДЭЗ + ДИП, ФИД + ДИП в случае газовой хроматографии. Кроме того, в последнее время все большее распространение получают многоканальные Уф детекторы с фиксированными длинами волн. Следует учесть, что максимальное количество каналов в многоканальной хроматограмме определяется числом каналов используемого АЦП. Если требуется иметь более чем четырехканальную хроматограмму, можно использовать 8- канальную систему с двумя АЦП Е-24 или другие типы АЦП.

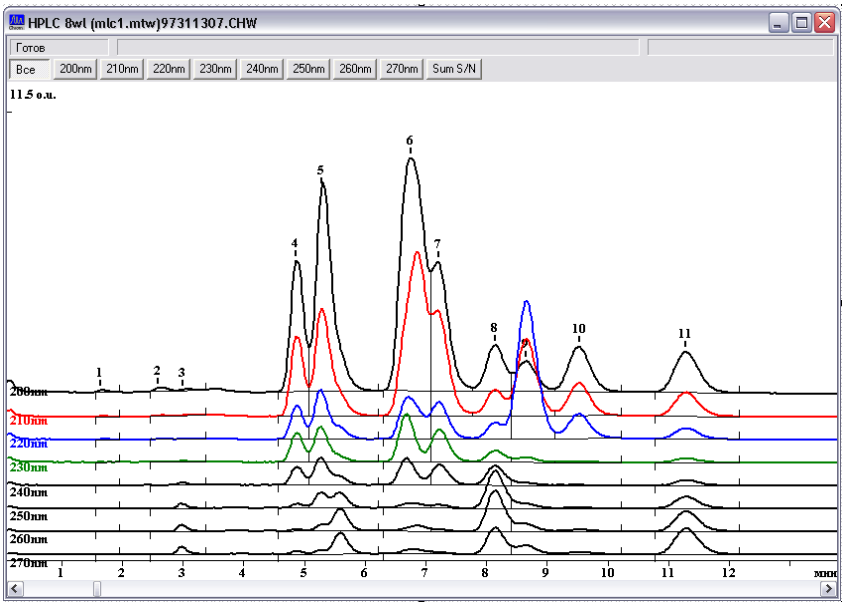
В некоторых случаях представляет интерес объединение нескольких одноканальных хроматограмм в одну многоканальную – такая возможность также предусмотрена в ПО *МультиХром*. Для проведения операции объединения необходимо воспользоваться процедурой программного пересчета (см. раздел ***Объединение пакета в многоканальную хроматограмму***).

Специальный вариант многоканальной хроматограммы предлагается в ПО *МультиХром* для капиллярного электрофореза (см. раздел

Хотя нет принципиальной разницы в использовании многоканальных и обычных, одноканальных методов, их создание и настройка, а также обработка многоканальных хроматограмм имеет некоторые особенности и требует учета дополнительных факторов.

Вид многоканальной хроматограммы

В окне многоканальной хроматограммы по умолчанию представлены все каналы.

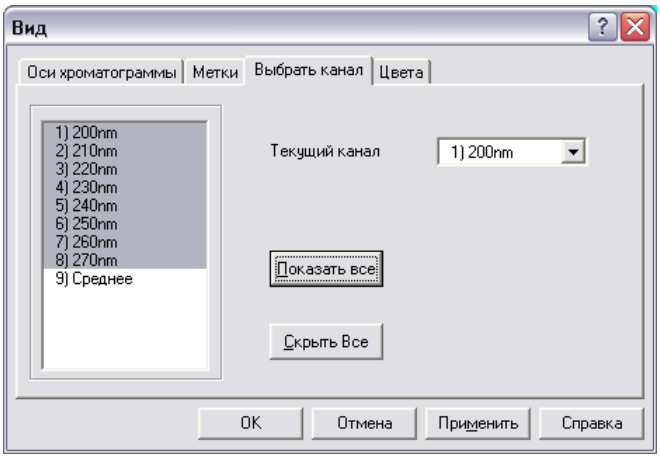


Окно многоканальной хроматограммы имеет специальные кнопки для оперативного управления видом хроматограммы.

Кнопка	**В окне представлены:**
Все	одновременно все каналы
Кнопки отдельных каналов	один выбранный канал
[Вычисляемый канал] (см. раздел ***Обработка многоканальных хроматограмм/Вычисляемый канал***)	Канал, определяемый выбором в окне **Формулы/ Настройка метода** (см. раздел ***Настройка метода/Формулы***):
Sum S/N	Сумма s/n
Среднее	Средний отклик
[Последний канал]/t	Сигнал/время

Используя кнопки, можно выбрать либо все, либо один любой канал. Для того чтобы представить на экране одновременно несколько выбранных каналов, нужно обратиться к процедуре на листе **Выбрать канал** окна **Вид**.

- Выберите команду **Вид/Вид** и в открывшемся окне щелкните мышью по закладке **Выбрать канал**. На этом листе представлен список каналов, в котором выделены строки, соответствующие представленным в окне хроматограммы каналам.



- Для вывода на экран сигналов всех каналов нажмите кнопку **Показать все**.
- Для создания произвольного набора представляемых сигналов выполните одно из следующих действий.
  - Нажмите кнопку **Показать все**, а затем удалите ненужные каналы, щелкнув по ним мышью.
  - Нажмите кнопку **Скрыть все**, а затем выберите требуемые каналы, щелкнув по ним мышью.
  - Используйте щелчок мышью для того, чтобы сделать канал активным или неактивным, в зависимости от его исходного состояния.

- Для выбора вычисляемого канала щелкните мышью по последней строке в списке, содержащей его название. Вычисляемый канал будет выделен, а остальные каналы станут неактивными.

Один из каналов, представленных на экране, является *текущим*. Текущим каналом определяются единицы измерения по оси *Y*, а также масштаб изображения при использовании команд **Все** и **Автомасштабирование** (см. раздел ***Вид хроматограммы/Масштабирование изображения***). Кроме того, при активном курсоре в строке *Информация* (см. ***Введение***, раздел ***Общее знакомство с программой/Окно хроматограммы***), значение по оси *Y* также соответствует величине сигнала именно для текущего канала. По умолчанию текущим устанавливается первый канал в списке, но может быть сделан любой.

- Для выбора текущего канала щелкните мышью по кнопке справа от списочного поля **Текущий канал** и выберите нужное значение из полного списка каналов. Если ошибочно выбран канал, отсутствующий на экране, текущим становится канал по умолчанию. При смене текущего канала автоматически выполняется команда **Все по вертикали**.
- Закройте окно **Вид**, нажав кнопку **ОК**. В окне хроматограммы будет представлен требуемый набор графиков.

> Обратите внимание на то, что при изменении набора выводимых на экран сигналов сохраняется разметка на пики, сделанная ранее, возможно, по графику, более не представленному на экране.

Графики каналов располагаются один над другим с интервалом примерно 1/20 от размера экрана. Для того чтобы расположить графики на экране наилучшим образом воспользуйтесь следующими процедурами.

- Измените интервал между графиками с помощью клавиш:

[Shift+↑]	Увеличить расстояние между каналами хроматограммы
[Shift+↓]	Уменьшить расстояние между каналами хроматограммы

- Измените относительное расположение графиков, как это описано выше в разделе ***Таблица каналов***.

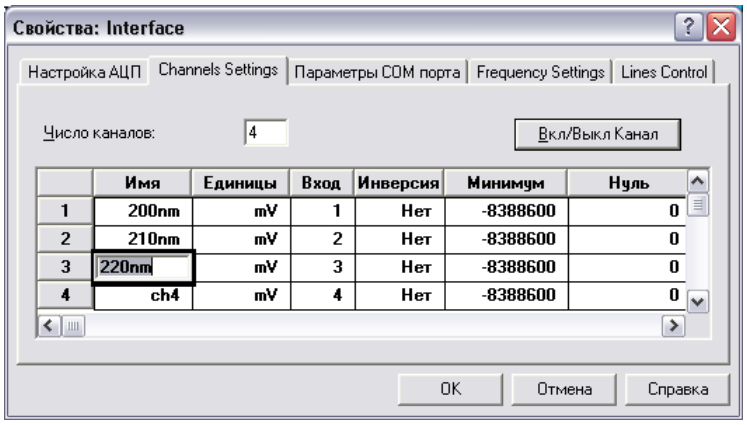
Если по оси *Y* установлены абсолютные метки (см. раздел ***Вид хроматограммы/Диалоговое окно Вид/ Оси хроматограммы***), графики будут располагаться таким образом, чтобы для *текущего* канала график соответствовал абсолютным значениям сигнала. При изменении текущего канала все графики автоматически перемещаются с сохранением взаимного расположения и интервала. В остальных случаях (установлен переключатель **Нет** или **Относительные**) смена текущего канала не влияет на вид хроматограммы.

Сбор данных

Настройка интерфейса

Для работы с многоканальными хроматограммами необходимо подключить к АЦП все детекторы и изменить конфигурацию интерфейса. Эти действия доступны только пользователю, имеющему доступ на уровне *Администратора*.

- Соедините входы АЦП с соответствующими выходами используемых детекторов. Как правило, детектор, идущий первым в хроматографической системе, соединяется с первым каналом АЦП.
- Откройте диалоговое окно **Интерфейсы**, выбрав команду **Настройка**/**Интерфейсы**.
- Выберите интерфейс АЦП, к которому было произведено подключение, щелкнув мышью по соответствующему рисунку.
- Для выбора исходного файла конфигурации, на основе которого будет создан новый, выполните одно из следующих действий.
  - Если для выбранного устройства ранее был загружен файл конфигурации (рисунок имеет имя), щелкните по кнопке **Настройка>>**. Откроется окно **Настройка АЦП**.
  - Для устройства с подписью *Нет* вначале нажмите кнопку **Прочитать** и в открывшемся окне **Открыть файл** выберите подходящий файл конфигурации, а затем щелкните по кнопке **Настройка>>**.
- Введите в поле **Устройство** новое название, желательно, отражающее каким-либо образом особенности вновь создаваемого интерфейса.
- Выполните настройку параметров каждого канала (см. ***Приложение 1***).

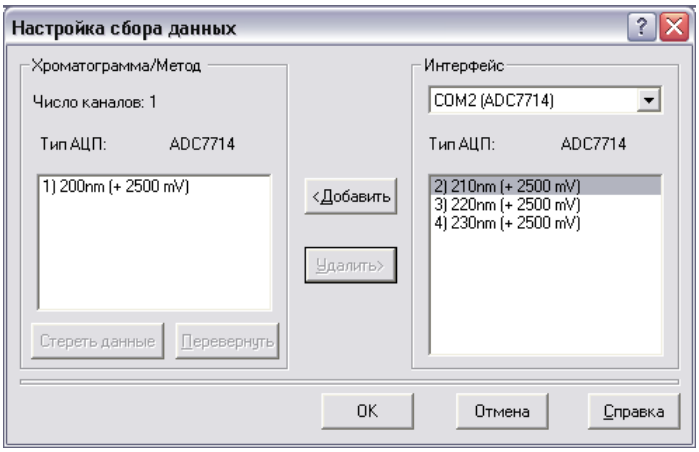


- Щелкните по кнопке **ОК**. Окно **Настройка АЦП** закроется.
- Запишите созданную конфигурацию интерфейса, выполнив следующее.
  - В окне **Интерфейсы н**ажмите кнопку **Записать как**. Откроется одноименное окно.
  - Введите имя файла нового интерфейса, например, используя значение, ранее введенное в поле **Устройство**, и нажмите кнопку **Сохранить**. Окно **Записать как** закроется.
- Щелкните по кнопке **ОК**. Окно **Интерфейсы** закроется.

Настройка метода

Получение многоканальных хроматограммам требует использования специальных многоканальных методов, которые могут быть получены модификацией одноканальных методов, использовавшихся ранее для анализа сходных смесей. Для получения многоканального метода выполните следующее.

- С помощью команды **Файл/Открыть/Метод** выберите исходный метод.
- Выберите команду **Метод**/**Настройка сбора данных**. Откроется одноименное окно, разделенное на две области со списками каналов. Левая область, имеющая заголовок **Хроматограмма/ Метод**, содержит сведения о каналах, используемых текущим методом (число и список каналов), а также тип АЦП (имя протокола). Для одноканального метода в список включен только один канал. Правая область, имеющая заголовок **Интерфейс**, содержит сведения об интерфейсе: порт и название устройства (списочное поле), тип АЦП, а также список каналов из **Таблицы каналов** интерфейса, которые не используются текущим методом (***Приложение 1***).



- Если требуется, измените интерфейс, выбрав в списочном поле значение, соответствующее АЦП, к которому подключено несколько детекторов.
- Выберите в правом списке все каналы, к которым подключены детекторы, последовательно щелкнув по ним мышью.
- Нажмите кнопку **<Добавить.** Выбранные каналы переместятся в левый список, при этом над ним будет указано новое **Число каналов**.
- Если требуется удалить какие-либо каналы из левого списка, выделите их и нажмите кнопку **Удалить>.**
- Если сигналы, поступающие по каким-либо каналам, имеют отрицательную полярность, выделите эти каналы и нажмите кнопку **Перевернуть**. Знак плюс, стоящий перед указанным в скобках верхним пределом измеряемого сигнала, изменится на минус. При такой установке пики отрицательной полярности будут изображаться на хроматограмме как положительные.

•Нажмите кнопку **ОК**, окно **Настройка сбора данных** закроется.

•Сохраните созданный метод под новым именем с помощью команды **Файл/Сохранить/Метод**.

Обработка многоканальных хроматограмм

Вычисляемый канал

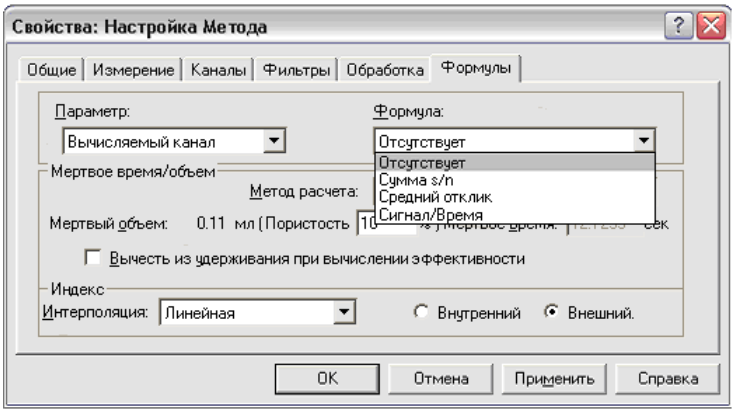
Особенностью многоканальных хроматограмм является возможность создания дополнительного вычисляемого канала, который формируется из всех остальных каналов. Пользователь может выбрать канал одного из трех типов:

Сумма s/n	Сумма сигналов всех каналов с коэффициентами, равными отношению сигнал/шум для каждого канала (используется с целью уменьшения вклада каналов с малым отношением с/ш, которые ухудшают с/ш для суммарного канала)
Средний отклик	Среднее значение отклика по всем каналам
Сигнал/Время[22]	Текущее значение сигнала последнего в списке канала, деленное на текущее значение времени. Для того чтобы выполнить эту процедуру для любого канала, его следует переместить в списке на последнюю позицию (см. раздел ***Обработка многоканальных хроматограмм/ Таблица каналов/Редактирование таблицы каналов***).

Для того чтобы выбрать тип вычисляемого канала, выполните следующее.

•Выберите команду **Метод/Настройки метода** и в открывшемся окне щелкните мышью по закладке **Формулы**.

•В списочном поле **Параметр** выберите значение Вычисляемый канал.



•В списочном поле **Формула** выберите требуемое значение.

•Для удаления ранее созданного вычисляемого канала выберите значение Отсутствует. Эта процедура будет выполнена только после записи хроматограммы и повторном ее открытии.

•Закройте окно **Настройка метода**, нажав кнопку **ОК**.

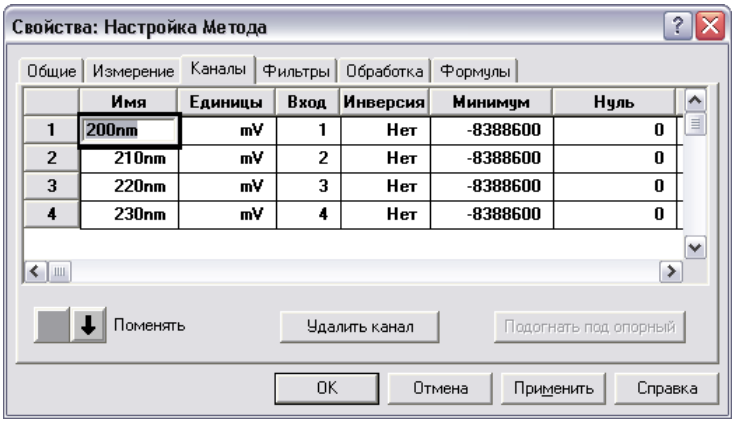
После выполнения указанных процедур вычисляемый канал будет добавлен в **Таблицу каналов** в окне **Настройка метода** (лист **Каналы**), а также в соответствующие списочные поля в окнах **Компонент**, **Параметры разметки** и **Вид** (лист **Выбор канала**).

Таблица каналов

Многоканальные хроматограммы имеют в **Таблице каналов**, представленной на листе **Каналы** окна **Настройка метода**, список всех каналов, заданных в окне **Настройка сбора данных**,. а также дополнительную строку вычисляемого канала, если он был сформирован (в таблице каналов для многоканального *метода* строка вычисляемого канала не показывается).

---

[22] Этот тип вычисляемого канала используется также для одноканальных хроматограмм, в частности, для электрофореграмм выводится на экран по умолчанию (см. раздел ***Капиллярный электрофорез*** /*Ошибка! Источник ссылки не найден.*).



Редактирование таблицы каналов

В Таблице каналов для многоканальных хроматограмм можно независимо редактировать значения в столбцах *Имя, Единицы, Диапазон* для каждого канала, а также изменять порядок следования каналов в списке, исключать отдельные каналы, задавать временной сдвиг относительно *опорного* канала (см. ниже раздел ***Разметка на пики***).

- Для того чтобы изменить значения в столбцах Имя, Единицы или Диапазон, щелкните мышкой по нужной ячейке и введите новое значение.
- Для того чтобы исключить канал, выделите его, а затем нажмите кнопку **Удалить канал**. Эта процедура предназначена, главным образом, для исключения хроматограмм, ошибочно включенных в пакет для объединения.

> Удаление канала из Таблицы каналов является окончательным, данные после этого не могут быть восстановлены!

- Для того чтобы изменить положение канала в списке, выделите его щелчком мыши, а затем переместите в требуемое положение с помощью кнопок **Поменять**. Эта процедура приводит к изменению относительного расположения графиков в окне хроматограммы и может быть полезна для более удобного расположения графиков, если они накладываются друг на друга. Она используется также для выбора канала, из которого формируется вычисляемый канал Сигнал/Время (см. раздел **Вид многоканальной хроматограммы**).

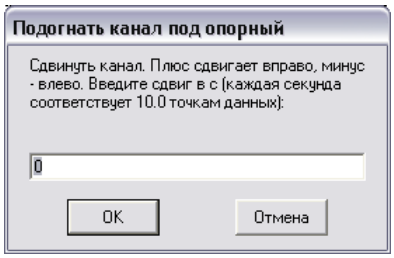
> Строку вычисляемого канала в Таблице каналов нельзя ни перемещать, ни удалять.

Синхронизация каналов.

Если сигналы от различных детекторов приходят не одновременно, например, при последовательном расположении детекторов, можно синхронизовать каналы таким образом, чтобы пик одного и того же вещества на всех каналах имел одно и то же время удерживания. Для выполнения этой процедуры необходимо в последний столбец **Таблицы каналов** ввести значения параметра *Сдвиг*.

- Для того чтобы заполнить столбец Сдвиг, получите многоканальную хроматограмму какой-либо смеси и далее для каждого канала выполните следующее .
  - Определите по хроматограмме величину сдвига, вычислив разность времен удерживания для одного и того же компонента, измеренных для выбранного и опорного[23] каналов. Величина сдвига может быть как положительной, так и отрицательной, в случае, если для опорного канала задержка больше, чем для выбранного.
  - Выделите канал, а затем нажмите кнопку **Подогнать под опорный**. При этом откроется одноименное окно.

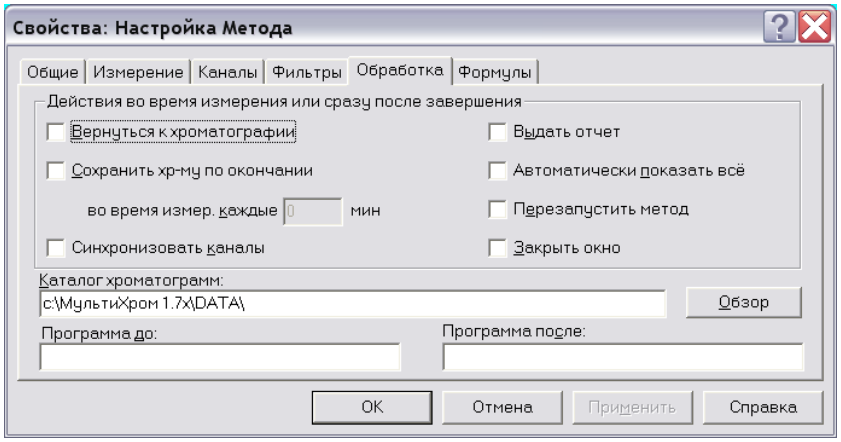
[23] По умолчанию опорным является канал, идущий первым в списке каналов, но может быть сделан любой канал (см. раздел ***Расчет концентраций***), причем этот выбор может быть сохранен в методе независимо от наличия таблицы компонентов. Отличительным признаком опорного канала в таблице каналов служит блокировка кнопки **Подогнать под опорный** при его выделении.



- Введите величину временного сдвига в секундах. При повторном вводе этой величины новое значение прибавляется к введенному ранее.
- Нажмите кнопку **OK**. При этом окно закроется, а введенное значение будет пересчитано в число точек на хроматограмме и введено в ячейку *Сдвиг* **Таблицы каналов**.
- Сохраните, если требуется, установленные значения сдвигов в файле метода, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**.

Обратите внимание на то, что параметр Сдвиг зависит от скорости элюента и при ее изменении нуждается в корректировке.

- Если в столбец Сдвиг **Таблицы каналов** все значения введены, возможно автоматическое выполнение процедуры синхронизации по завершении приема хроматограммы. Для этого на листе **Обработка** окна **Настройка метода** установите флажок **Синхронизовать каналы**.



Разметка на пики

Разметка многоканальной хроматограммы производится по сигналу одного из каналов аналогично разметке одноканальной хроматограммы и без изменений переносится на все остальные каналы. Такая разметка соответствует предположению об одновременной регистрации одного и того же пика всеми каналами, поэтому если в действительности между каналами существует временной сдвиг, он должен быть скомпенсирован, как это описано выше в разделе ***Таблица каналов***.

Любой из каналов хроматограммы может быть использован для разметки. Особенно удобно использовать для этой цели вычисляемый канал (*Сумма s/n* или *Средний отклик*). При этом система находит все пики, даже те, которые существуют только на каком-то одном канале хроматограммы.

- Для выбора канала, который будет использован для разметки, откройте окно **Параметры разметки** с помощью команды **Метод/Разметка** и выберите нужный канал в одноименном списочном поле.

Факторный анализ

Процедура **Факторный анализ** предназначена для выделения отдельных компонентов, пики которых существенно перекрываются, на основании дополнительной информации, получаемой из многоканальных хроматограмм.

Спектры многоканальных хроматограмм

Одним из широко распространенных вариантов многоканальных хроматограмм являются хроматограммы, получаемые путем измерения поглощения излучения в узком спектральном диапазоне, как правило, в УФ области спектра, для некоторого набора длин волн. Отклик каждого детектора зависит от коэффициента поглощения вещества для соответствующей длины волны, а совокупность всех откликов может быть названа *спектром* компонента, так как является грубым подобием спектра поглощения вещества. По аналогии *спектром* компонента, а также спектром

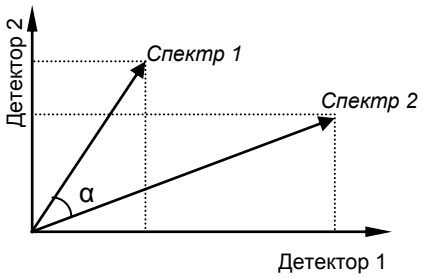
пика, участка или отдельной точки хроматограммы можно назвать совокупность откликов всех детекторов, независимо от природы регистрируемых сигналов.

Определение спектра для различных участков или точек одного хроматографического пика позволяет исследовать его *однородность* (*гомогенность*). Если пик связан только с одним компонентом, спектр сигнала в переделах всего пика будет неизменен. И наоборот, различие спектров отдельных участков пика свидетельствует о том, что в действительности этот пик образовался в результате наложения двух или более близкорасположенных пиков разных компонентов с отличающимися спектрами. Таким образом, анализ спектров многоканальных хроматограмм является мощным средством выделения отдельных компонентов при их плохом хроматографическом разделении.

Для исследования количественных характеристик спектров удобно воспользоваться их представлением в виде векторов. В случае двухканальной хроматограммы спектр представляется на плоскости в виде вектора, проекции которого на оси X и Y равны откликам детекторов 1 и 2 соответственно. Мерой различия двух спектров может служить угол между их векторами.

Для многоканальной хроматограммы спектр является вектором абстрактного многомерного пространства, который не имеет столь простого наглядного представления. Однако угол между векторами по-прежнему можно использовать как меру различия двух спектров (два вектора, выходящие из одной точки, всегда лежат в одной плоскости).

Для однородного хроматографического пика угол между спектрами соседних точек мало отли-



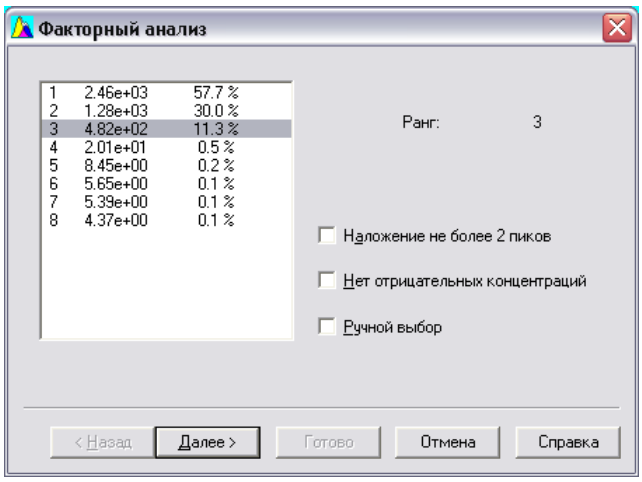
чается от нуля (примерно на величину шума). Если же пик неоднороден, этот угол заметно возрастает, достигая максимумов в областях максимального перекрытия пиков и минимумов там, где существенно преобладает только один из компонентов.

По величине угла между спектрами можно достаточно надежно определить, является ли тот или иной пик однородным и оценить число компонентов. Однако для точного определения числа компонентов, вносящих свой вклад в сигнал на анализируемом участке хроматограммы, более эффективным является использование строгого аппарата *факторного анализа*. При этом максимальное число определяемых компонентов (*факторов*) равно числу каналов хроматограммы.

Процедура факторного анализа

В программе *МультиХром* предусмотрена специальная процедура, позволяющая определять число компонентов по результатам применения факторного анализа и производить соответствующую переразметку участка хроматограммы. Она выполняется следующим образом.

- Выделите с помощью мыши (или другим способом) участок хроматограммы, относительно которого существует предположение, что он содержит неоднородные пики. При это не рекомендуется выходить за пределы группы слившихся пиков.
- Выберите команду **Обработка/Дополнительно/Факторный анализ** (она доступна только для многоканальных хроматограмм). Откроется окно **Факторный анализ**.



В основном поле этого окна представлены результаты проведенного анализа в виде списка вкладов отдельных факторов, полное число которых равно числу каналов хроматограммы. При этом используется набор некоторых абстрактных факторов, полученный в результате решения задачи факторного анализа. Спектры этих факторов, как правило, никак не связаны со спектрами реальных компонентов. Но ценность такого анализа состоит в том, что число *значимых* факторов, то есть таких, вклад которых превышает погрешность измерения, равно числу различных компонентов, которые существенно влияют на формирование рассматриваемого участка хроматограммы.

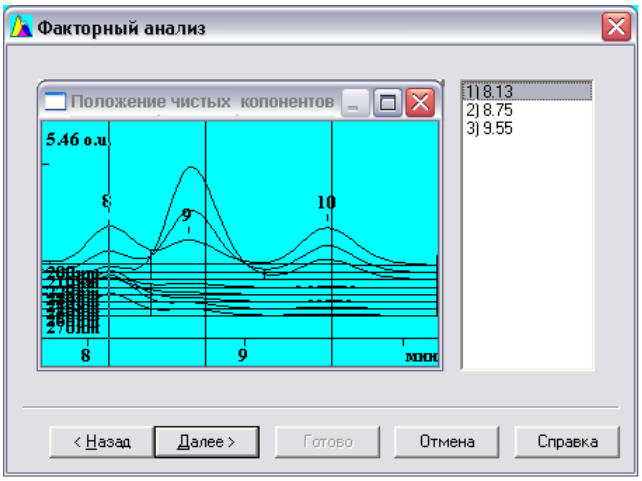
Список факторов составлен в порядке убывания их вклада, последний из числа значимых факторов выделен, а в поле **Ранг** указано их полное число (*ранг*). По умолчанию граница значимости устанавливается на уровне 1%. Пользователь имеет возможность изменить ранг, исходя из собственных оценок этой границы.

- Для изменения ранга переместите границу значимости с помощью клавиш управления вертикальным перемещением курсора или щелчком мыши по нужной строке. При этом соответствующим образом изменится значение в поле **Ранг**.

На следующем шаге производится разложение участка хроматограммы на сумму сигналов отдельных компонентов, число которых равно заданному рангу, а спектры примерно соответствуют минимумам на кривой углов между соседними точками. При этом могут получиться участки с отрицательным сигналом для какого-либо компонента, формально соответствующие отрицательной концентрации. Пользователь имеет возможность исключить отрицательные сигналы, а также учитывать для каждой точки вклады не более чем 2 компонент.

- Для исключения отрицательных сигналов установите флажок **Нет отрицательных концентраций**.
- Для ограничения числа учитываемых компонент установите флажок **Наложение не более 2 пиков**.
- Для просмотра и редактирования положения пиков чистых компонентов установите флажок **Ручной выбор**.

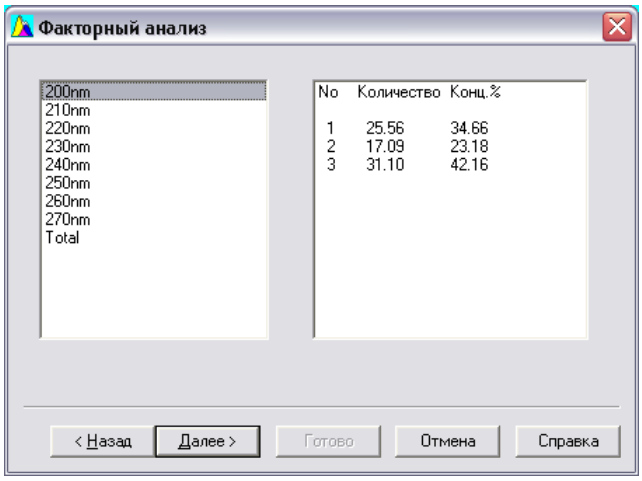
•Нажмите кнопку **Next**. Произойдет переход на следующий лист. Если был установлен флажок **Ручной выбор**, это будет дополнительный лист, на котором можно редактировать положение пиков чистых компонентов.



В левом поле представлены графики для всех каналов с отмеченным курсорами положением пиков чистых компонентов, в правом – время удерживания для этих пиков. Для того чтобы изменить положение пика, выполните следующее.

- Выделите строку требуемого пика в правом поле.
- Перейдите в левое поле при нажатой *правой* кнопке мыши – курсор установится на выделенном пике.
- Не отпуская кнопку мыши, переместите курсор в требуемое положение.
- Отпустите кнопку мыши, при этом в выделенной строке в правом поле установится новое значение.

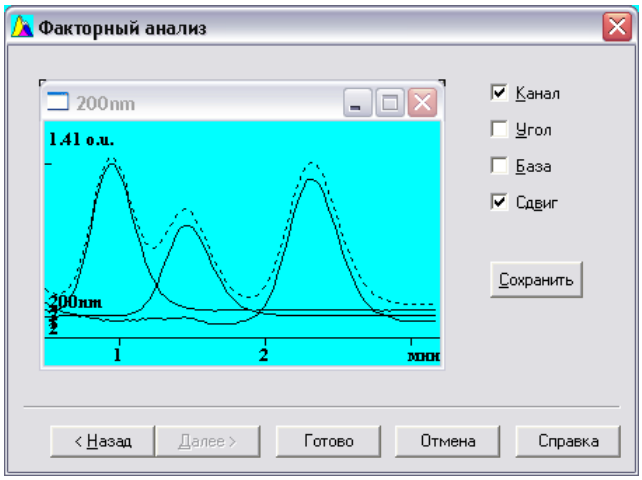
•Нажмите кнопку **Next**. Произойдет переход на следующий лист.



На этом листе в левом поле представлен список всех каналов, а в правом – вклады всех определенных компонентов в сигнал канала, выделенного в левом поле (в столбце **Количество** – абсолютная**,** а в столбце **Конц.%** - относительная величина вклада).

- Для просмотра данных для какого-либо канала, выделите его в левом поле щелчком мыши по нужной строке или с помощью клавиш управления вертикальным перемещением курсора.

•Нажмите кнопку **Next**. Произойдет переход на следующий лист.



На этом листе представлено дополнительное окно, которое имеет заголовок выбранного на предыдущем шаге канала, содержащее участок хроматограммы. В нем пунктиром изображен сигнал выбранного канала, а сплошными линиями – сигналы отдельных компонентов, полученные в результате анализа.

- Для того чтобы удалить из окна график сигнала канала, снимите установку флажка **Канал**.
- Для того чтобы показать в окне график изменения угла (в относительных единицах), установите флажок **Угол**. График будет представлен в окне сплошной красной линией. В тех областях, где сигнал близок к нулю, для изменения угла показывается некоторая постоянная величина.
- Для того чтобы изменить масштаб изображения по оси *Y*, переместить его или изменить расстояние между кривыми, активизируйте окно, щелкнув по нему мышью, и далее используйте клавиатуру, как при работе в окне хроматограммы (см. ***Приложение 5***).
- Для того чтобы увеличить окно графика до полного размера экрана, нажмите стандартную кнопку в верхнем правом углу окна.
- Для того чтобы закрыть окно графика, нажмите стандартную кнопку в верхнем правом углу окна или специальную кнопку **Закрыть**. При этом на месте закрытого окна появится надпись **Показать окно здесь**, по которой следует щелкнуть мышью для восстановления закрытого окна.
- Для того чтобы сохранить результат анализа на диске, нажмите кнопку **Сохранить**. При этом окно графика закроется, а его содержимое переместится в открывшееся стандартное окно незаписанной хроматограммы, при закрытии которого будет автоматически создан файл.

•Для завершения процедуры факторного анализа и включения его результатов в разметку хроматограммы нажмите кнопку **Finish**. Окно **Факторный анализ** закроется.

В результате применения факторного анализа на выбранном участке хроматограммы изменяется следующим образом.
Число и положение вершин пиков устанавливается в соответствии с найденными компонентами.
Границы между пиками устанавливаются так, чтобы площади пиков были равны площадям пиков на кривых отдельных компонентов.

- Для сохранения измененной разметки запишите хроматограмму, выбрав команду **Файл/Сохранить/ Хроматограмма** или щелкнув по пиктограмме .

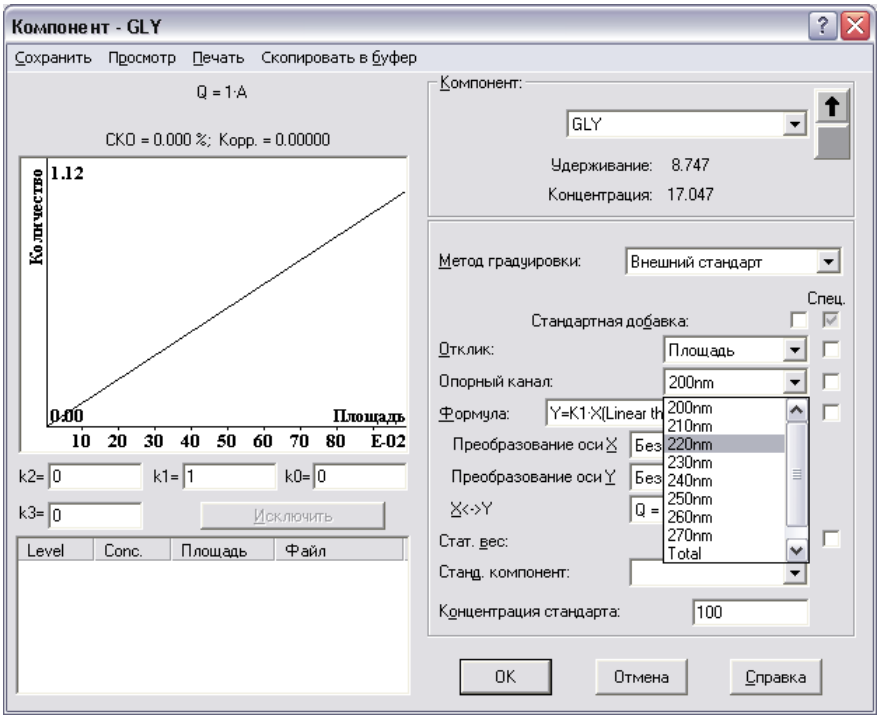
Расчет концентраций

Канал, используемый для расчета концентраций, называется *опорным* (см. раздел ***Количественный и качественный анализ/Построение градуировочных зависимостей/ Особенности градуировки для многоканальных хроматограмм***). Опорным может быть назначен любой из каналов, в том числе, и вычисляемый (см. раздел ***Вычисляемый канал***). Однако канал *Сумма s/n* использовать не рекомендуется, так как случайные изменения уровня шума при получении отдельных хроматограмм могут сделать полностью непригодной проведенную градуировку. Канал *Средний отклик* может использоваться только при неизменном числе каналов.

Без компенсации сдвига никакой канал, кроме того, по которому была произведена разметка, нельзя использовать в качестве опорного при расчете концентраций!

Для выбора опорного канала выполните следующее.

- Откройте окно Компонент, выбрав команду Метод/Градуировка/Графики, или из Таблицы компонентов, нажав кнопку Графики.
- В списочном поле **Опорный канал** выберите требуемое значение. Откроется окно с предупреждением об изменении глобального параметра.



- Подтвердите изменение, нажмите кнопку **ОК**. Выбранный канал станет опорным для всех компонентов.
- Если для какого-либо компонента требуется выбрать специальный (локальный) опорный канал, отличный от общего, выполните следующее.
  - Выберите компонент в одноименном списочном поле.
  - Установите флажок рядом с полем **Опорный канал** и выберите в этом поле требуемое значение.
- Закройте окно **Компонент**, щелкнув по кнопке **ОК**. Если оно было открыто из **Таблицы концентраций**, закройте ее также, обязательно нажав кнопку **ОК**.

•Запишите хроматограмму и/или метод с помощью команд **Файл/Сохранить/Хроматограмма** или **Файл/Сохранить/Метод** соответственно.

> Значения в столбце ФО Таблицы компонентов и в столбце Эта хр-ма Таблицы концентраций, в поле Концентрация окна Компонент, а также в столбцах отчета Высота, Высота %, Площадь, Площадь%, Фактор отклика, Концентрация, Концентрация %, Отн. концентрация, Отн. концентрация %, для каждого компонента указываются для его опорного канала.

Объединение пакета в многоканальную хроматограмму

Одноканальные хроматограммы, входящие в *пакет*, можно объединить в одну многоканальную хроматограмму. Такое объединение можно производить независимо от того, имеют ли хроматограммы одинаковую продолжительность и совпадают ли единицы, заданные по осям. Для объединения хроматограмм выполните следующее.

•Создайте новый пакет или откройте созданный ранее (раздел ***Количественный и качественный анализ***/.../***Автоматическая градуировка с использованием ранее полученных хроматограмм***), при этом откроется окно Пакетный пересчет.

•Нажмите кнопку **Объединить** внизу окна. Окно закроется, а на его месте откроется окно новой многоканальной хроматограммы, которая автоматически получает имя пакета, дополненное словом Объедин.

При сохранении этой хроматограммы на диске ее файлу присваивается имя в соответствии со временем создания объединенной хроматограммы.

> Никакие процедуры, заданные для пересчета хроматограмм, входящих в пакет, при объединении не выполняются!

Группы

Группа - это несколько объединенных по какому-то признаку компонентов.

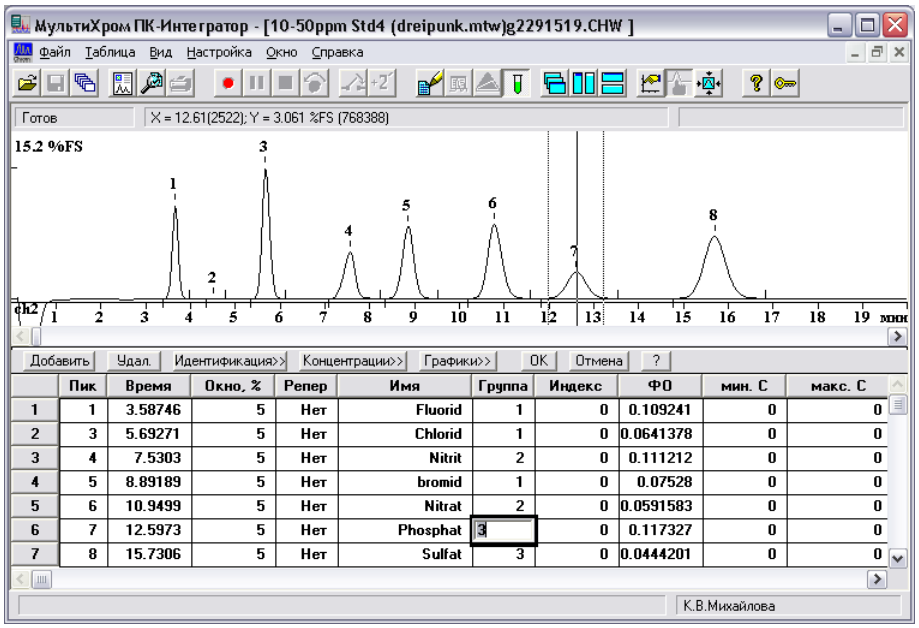
Каждый компонент в **Таблице компонентов** может получить свой собственный номер, определяющий его принадлежность к какой-то группе. Все компоненты с одним номером в столбце *Группа* включаются в состав одной группы. Во время вывода отчета программа *МультиХром* позволяет после общей, сводной **Таблице пиков** напечатать таблицы пиков по группам.

> Настоящая версия МультиХром не позволяет давать группам имена и различает их только по номерам.

По умолчанию всем компонентам присваивается нулевая группа.

Для того, чтобы определить номер группы в **Таблице компонентов**:

•Откройте Таблицу компонентов (Метод/Градуировка/Компоненты или).



	Пик	Время	Окно, %	Репер	Имя	Группа	Индекс	ФО	мин. С	макс. С
1	1	3.58746	5	Нет	Fluorid	1	0	0.109241	0	0
2	3	5.69271	5	Нет	Chlorid	1	0	0.0641378	0	0
3	4	7.5303	5	Нет	Nitrit	2	0	0.111212	0	0
4	5	8.89189	5	Нет	bromid	1	0	0.07528	0	0
5	6	10.9499	5	Нет	Nitrat	2	0	0.0591583	0	0
6	7	12.5973	5	Нет	Phosphat	3	0	0.117327	0	0
7	8	15.7306	5	Нет	Sulfat	3	0	0.0444201	0	0

•Введите в столбец Группа одинаковые номера для всех входящих в данную группу компонентов. Например, создайте группу №1 для галоидов, группу №2 - для нитросоединений и группу №3 - для всех остальных.

При выводе отчета групповые *таблицы пиков* имеют структуру, что и сводная таблица.

Ниже приведен пример **Таблицы пиков** для случая, когда определены три группы.

Quantitation method: Заказной
Standard component: Нет
Normalization: 100.00

No	Retention мин	Height %FS	Area %FS*сек	Conc. mg/L	Group	Name
1	3.65	10.52	98.229	10.191	1	Fluorid
2	4.51	0.03	0.404	0.000	0	
3	5.66	14.73	174.379	10.229	1	Chlorid
4	7.55	5.24	93.441	10.023	2	Nitrit
5	8.84	8.15	145.721	10.146	1	bromid
6	10.76	8.38	186.957	10.198	2	Nitrat
7	12.60	2.99	91.626	10.124	3	Phosphat
8	15.68	7.00	245.066	10.157	3	Sulfat
8	20.00	57.04	1035.823	71.069		

Group 1

No	Retention мин	Height %FS	Area %FS*сек	Conc. mg/L	Group	Name
1	3.65	10.52	98.229	10.191	1	Fluorid
3	5.66	14.73	174.379	10.229	1	Chlorid
5	8.84	8.15	145.721	10.146	1	bromid
3	20.00	33.39	418.329	30.566		

Group 2

No	Retention мин	Height %FS	Area %FS*сек	Conc. mg/L	Group	Name
4	7.55	5.24	93.441	10.023	2	Nitrit
6	10.76	8.38	186.957	10.198	2	Nitrat
2	20.00	13.63	280.398	20.222		

Group 3

No	Retention мин	Height %FS	Area %FS*сек	Conc. mg/L	Group	Name
7	12.60	2.99	91.626	10.124	3	Phosphat
8	15.68	7.00	245.066	10.157	3	Sulfat
3	20.00	9.99	336.692	20.28		

Импорт - экспорт данных

В некоторых случаях возникает необходимость в обмене данными между различными программами. Например, может потребоваться прочитать хроматограммы, полученные другими программами, передать отчет для обработки текстовым редактором, электронной таблицей или другой программой. Для этой цели и служат операции импорта - экспорта.

Импорт хроматограмм

Программа *МультиХром* позволяет импортировать хроматограммы, полученные некоторыми другими системами сбора и обработки хроматографических данных. При этом из исходного файла извлекается максимально возможное количество информации, необходимой для представления хроматограммы. Для тех типов файлов, в которых такой информации не достает, пользователю предлагается выбрать один из файлов методов программы *МультиХром* и после открытия хроматограммы произвести необходимые изменения (корректировка разметки, ввод дополнительной информации и т.п.).

Для импорта хроматограмм:

•Выберите команду **Файл/Импортировать**. Откроется окно **Открыть файл**.

•Выберите требуемый дисковод и каталог (при наличии сети она также доступна).

•Выберите тип файлов для импорта.

МультиХром-DOS (.CHM)* файлы хроматограмм программы “*МультиХром для DOS*”, версии 2.6x и 2.7x. Вся информация о хроматограмме, включая установки метода, импортируется полностью.

AIA (.CDF)*	файлы хроматограмм в формате AIA. Частично включают информацию метода. Кроме собственно хроматограмм содержат основные данные **Таблицы компонентов**, дополненные данными об их концентрации, а также некоторую информацию из паспорта (см. ***Приложение 10***).
HyperData (._RD)*	файлы хроматограмм программы "*HyperData*".
ЭнвайроХром (.CHR)*	файлы хроматограмм программы "*ЭнвайроХром*", используемой для управления многоволновым микроколоночным градиентным хроматографом "Милихром А-02".
Longinteger (.*)*	файлы данных хроматограмм в целочисленном бинарном формате (4 байта). Поддерживается многими программами.
Текстовый файл (.TXT)*	файлы данных хроматограмм в формате ASCII (см. раздел ***Формат текстовых файлов для экспорта и импорта***).

- В появившемся списке файлов выберите нужный файл. Можно выбрать несколько идущих подряд хроматограмм с помощью нажатой левой кнопки мышки или комбинации клавиш стрелок с клавишей [Shift]. Щелкните по кнопке **ОК.** Выбранные файлы будут прочитаны, каждый в свое собственное окно. При этом возможен один из следующих вариантов.
  - Если файл относится к типу *МультиХром-DOS* или *AIA*, откроется окно хроматограммы.
  - Если файл относится к любому другому типу, откроется окно **Открыть файл** со списком файлов методов. Это связано с тем, что в файлах содержатся только данные собственно хроматограммы, без данных метода, и для просмотра хроматограмм требуется выбрать какой-либо подходящий метод. После того, как будет выбран метод, откроется окно хроматограммы.

Экспорт данных

Необходимость в экспорте данных возникает, если требуется передача хроматограммы или отчета в другие программы. Наиболее часто используется передача рисунка хроматограммы и/или текста отчета в текстовый редактор типа *Microsoft Word* для встраивания в документ или же передача отчета и/или хроматограммы в электронную таблицу типа *Microsoft Excel* для дальнейшей обработки.

Экспорт данных можно произвести через буфер обмена *MS Windows* (*Clipboard*) или через файл.

Экспорт данных через буфер обмена

MS Windows имеет встроенный механизм передачи данных между приложениями через буфер обмена. При этом возможна передача как текста, так и рисунков (копии всего экрана или текущего окна). Операции передачи данных через буфер обмена выполняются оператором вручную и не поддаются автоматизации в полной мере.

Передача рисунка хроматограммы через буфер обмена

Для того чтобы вставить рисунок в документ, используя буфер обмена, выполните следующее.

- Выберите требуемый масштаб и вид хроматограммы. Используйте для этого клавиши управления изображением (см. ***Приложение 5***) и пункты меню **Вид**.
- Выполните одно из следующих действий.
  - Поместите в буфер *черно-белую копию* рисунка хроматограммы, выбрав опцию меню **Редактирование/Скопировать в буфер**.
  - Поместите в буфер копию экрана или активного окна *с сохранением цветов*, используя клавишу [Print Screen] или комбинацию [Alt]+[Print Screen] соответственно.
- Перейдите в приложение, которое используется для работы с документом, и вставьте рисунок с помощью стандартной команды **Правка/Вставить** (**Edit/Paste** в английском варианте).

Передача всего отчета через буфер обмена

Для передачи отчета через буфер обмена выполните следующее.

- Выведите отчет в требуемой форме на экран (см. раздел Отчет).
- Выберите опцию меню **Редактирование/Скопировать в буфер**. Нажмите клавиши [Ctrl]+[Ins].
- Перейдите в приложение, которое используется для работы с документом, и вставьте текст с помощью стандартной команды **Правка/Вставить** (**Edit/Paste** в английском варианте).

Экспорт данных через файлы отчета

Программа *МультиХром* дает возможность записывать отчет и рисунок хроматограммы в файлы на диске. При этом операция передачи данных может выполняться автоматически, при

выводе отчета по окончании хроматограммы. Автоматическая запись в файл производится при установке флажка **Файл** в окне **Опции отчета**. При этом текст отчета записывается по выбору в кодировке *WINDOWS* или *DOS*, а график хроматограммы – в формате WMF (*Windows metafile*). Если название программы для обработки экспортируемого файла указано в поле **Программа** окна **Опции отчета**, она автоматически запускается после записи файла отчета. Более подробно о записи отчета и рисунка хроматограммы в файлы см. в разделе ***Отчет/Выбор устройств для вывода отчета/Вывод в файл***.

Данные отчетов, записанные в виде файлов, можно обычным образом загружать в другие приложения для дальнейшей обработки. В случае использования *Microsoft Excel* и *Access* обработку данных из файлов удобно проводить с помощью макросов автоматически.

Экспорт данных через файлы формата AIA

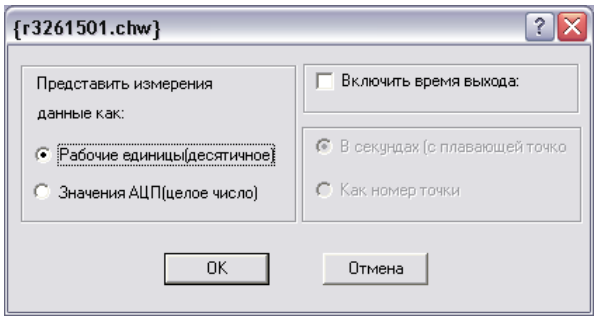
Для экспорта данных в формате AIA (см. предыдущий раздел) выполните следующее.

- Выберите команду **Файл/Экспорт/AIA**. Откроется окно **Сохранить как** для файлов типа *.CDF.
- Выберите дисковод и каталог, в который экспортируется файл (при наличии сети она также доступна).
- Введите имя файла и нажмите кнопку **Сохранить**.

Экспорт данных через текстовые файлы

Данные, содержащиеся в хроматограмме в необработанном виде, могут экспортироваться через текстовые файлы. Для экспорта данных в текстовый файл выполните следующее.

- Выберите команду Файл/Экспорт/В текст. Откроется окно {Имя файла хроматограммы}.



- Выберите единицы измерения сигнала, установив требуемый переключатель:

Рабочие единицы (десятичное)	измерение в физических единицах, заданных для данного канала при настройке интерфейса (десятичные числа);
Значение АЦП (целое)	измерение в дискретах АЦП (целые числа).

- Если требуется также включить в файл значение времени для каждой точки, установите флажок **Включить время выхода** и выберите единицы измерения времени:

В секундах (десятичное)	время удерживания в секундах (десятичные числа);
Как номер точки	номер точки.

- Нажмите кнопку **OK**. Окно закроется, и вместо него откроется окно **Сохранить как**.
- Выберите дисковод и каталог, в который экспортируется файл (при наличии сети она также доступна).
- Введите имя файла и нажмите кнопку **Сохранить**.

Формат текстовых файлов для экспорта и импорта

Файл, создаваемый при экспорте данных в формате ASCII, имеет заголовок, который содержит следующие данные:

полное число точек хроматограммы (`cycles`);
временной интервал между точками (`cyctime`);
величина дискрета АЦП в заданных физических единицах (`coef`);
заданные физические единицы (`units`).

Далее после строки DATA: представлены данные хроматограммы в виде одного или двух столбцов:

в первом (если установлен соответствующий флажок) – значение времени;
во втором – измеренное значение сигнала.

```
Число точек: cycles=3998
Фактический интервал: cyctime=0.3
шаг АЦП: coef=3.9841e-06
Единицы измерений АЦП: units='%FS'
DATA:
0        :94939
1        :95214
2        :97102
3        :94225
4        :95940
5        :95363
6        :96968
7        :-96313
```

Текстовый файл указанного формата может быть импортирован системой *МультиХром*. Если требуется импортировать файл, имеющий иной формат, в него достаточно внести следующие изменения:

в начале файла ввести три строки специально вида, которые содержат информацию о временном интервале между точками в секундах (cyctime) и цене одного дискрета АЦП в единицах 100%-ной шкалы (coef), а также заголовок данных (DATA:);

данные представить в виде одного (величины отклика) или двух столбцов (время и величина отклика), разделенных двоеточием.

```
cyctime=1.2
coef=9.960251e-07
DATA:
0        :94939
1        :95214
2        :97102
3        :94225
4        :95940
5        :95363
6        :96968
7        :-96313
```

5. ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Интерфейсы

Общие сведения

Интерфейс - это способ, которым АЦП соединен с компьютером, а также протокол обмена данными между ними и программой *МультиХром*.

> Поскольку эта информация очень важна для правильной работы системы, доступ к ней имеет только *администратор системы*. Не изменяйте параметры настройки интерфейса, если не уверены в результатах каждой операции.

Программное обеспечение *МультиХром* поставляется с конфигурацией интерфейса, соответствующей подключению одного АЦП, причем для выносного модуля предполагается, что он соединен с портом COM1. Такая же конфигурация записана в поставляемых файлах методов. В этом случае после установки АЦП и ПО никакой дополнительной настройки интерфейса не требуется.

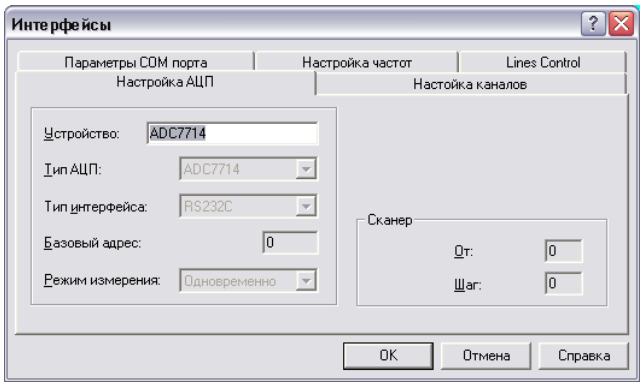
При подключении выносного модуля к любому другому порту, при подключении дополнительных АЦП или при замене АЦП на устройство другого типа требуется произвести настройку интерфейса. Вся базовая информация по интерфейсу хранится в специальном файле с расширением *dew*. Каждый тип АЦП имеет свой **.dew*-файл. Загрузив с диска файл, соответствующий установленному устройству, вы сконфигурируете свою систему, как это описано в главе ***Установка и настройка***, раздел ***Запуск и настройка/Настройка конфигурации системы***.

Основные параметры АЦП, загружаемые из **.dew*-файла, либо недоступны для изменения пользователем, либо требуют редактирования в некоторых особых случаях, например, при установке дополнительных плат АЦП. Кроме основных, в **.dew*-файлах записаны параметры отдельных каналов, в число которых входят данные подключенных к АЦП детекторов – такие параметры могут изменяться пользователем по своему усмотрению. Все изменения параметров производятся при выполнении настройки АЦП.

Настройка АЦП

Для изменения параметров настойки АЦП выполните следующее.

- Выберите пункт меню **Настройка**/**Интерфейсы**. Откроется окно **Интерфейсы**.
- Щелкните по кнопке **Настройка>>**. Откроется окно **Интерфейс** .



- Произведите настройку основных параметров на листе **Настройка АЦП**.

Устройство	название АЦП, которое указывается для выбранного порта в окне **Интерфейсы**. Рекомендуется присваивать различные имена однотипным устройствам, если для них отличаются какие-либо параметры.
Тип АЦП	тип АЦП, который указывается в одноименном поле окна **Настройки метода**, закладка **Измерение**. Не редактируется.
Тип интерфейса	тип порта ввода-вывода компьютера (*RS232C* или *Плата*) для приема данных от АЦП. Не редактируется.
Базовый адрес	базовый адрес порта ввода-вывода компьютера. Используется только при работе с АЦП в виде компьютерных плат - в случае установки второй платы вводится значение согласно положению перемычек на платах.
Режим измерения	режим измерения (одновременный, мультиплексный, сканер). Не редактируется.

Сканер параметры, устанавливаемые для хроматографа Милихром-4.

От начало диапазона сканирования длины волны (190 нм для УФ диапазона и 380 нм для видимого диапазона).

Шаг шаг изменения длины волны (2 нм для УФ диапазона и 4 нм для видимого диапазона).

- Произведите настройку параметров на других листах окна (см. следующие разделы). О листе Линии см. Приложение 2, раздел Выносной модуль Е-24/АЦП с возможностью цифрового управления оборудованием.
- Нажмите кнопку **ОК**. Окно **Настройка АЦП** закроется, в окне **Интерфейсы** останется выделенным выбранное устройство.
- Если требуется, сохраните измененные параметры настройки в виде нового *.dew-файла. Для этого нажмите кнопку **Записать как** и далее запишите новый файл стандартным способом. Создание нескольких файлов конфигурации рекомендуется в случае, когда к одному и тому же АЦП попеременно подключаются различные датчики с несовпадающими параметрами – перенастройка системы при этом производится с минимальными потерями времени.

Параметры каналов

Параметры отдельных аналоговых входов АЦП, служащие для индивидуальной настройки каждого канала в соответствии с подключенным к нему детектором, сведены в таблицу на листе **Параметры каналов**. Эта таблица доступна в двух случаях:

- при настройке конфигурации интерфейса (команда **Настройка/Интерфейсы/Настройка>>**), когда число каналов и их параметры могут задаваться произвольно;
- при настройке метода (команда **Метод/Настройка метода/Каналы**), когда возможно только вносить некоторые изменения, влияющие на вид хроматограммы (см. **Справочник по основным операциям**, раздел ***Настройка метода/Каналы***).

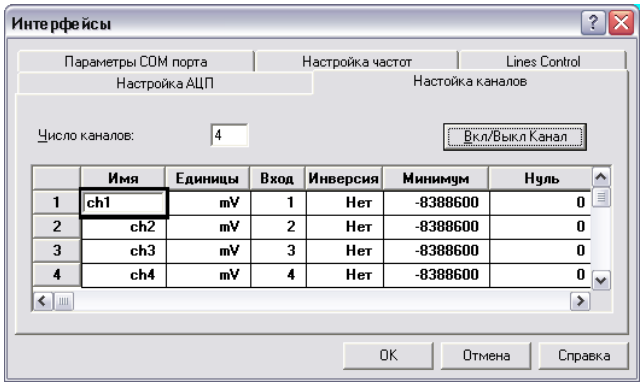


Таблица **Параметры каналов** содержит следующие столбцы:

Имя название канала. При записи хроматограммы служит меткой для сигнала, поступающего с канала (появляется в начале хроматограммы при ее запуске). Обычно содержит имя детектора, длину волны и т.д.

Единицы единицы измерения. Часто используется %FS - % от полной шкалы (Full Scale), но можно установить также физические единицы отклика детектора (электрические: мВ, пА; оптические: AU, %T и др.)

Вход номер входа АЦП, по которому идет прием данных с детектора. При конфигурации интерфейса не редактируется. При настройке метода используется для выбора номеров каналов, если задействованы не все каналы, установленные в интерфейсе.

Инверсия опция не используется.

Минимум минимум линейного диапазона АЦП или подключенного к нему детектора (в единицах преобразования). Устанавливается изготовителем при настройке АЦП. Пользователь может только уменьшить абсолютное значение этой величины в случае, если линейный диапазон детектора уже линейного диапазона АЦП. Используется программой для проверки условия переполнения при отрицательной полярности сигнала.

Нуль величина отклика АЦП (в единицах преобразования) при нулевом сигнале на его входе. Используется при настройке устаревших типов АЦП, при проведении пуско-наладочных работ.

Максимум	максимум линейного диапазона АЦП (см. *Минимум*). Используется программой для проверки условия переполнения при положительной полярности сигнала.
Диапазон	величина сигнала детектора (в выбранных *Единицах* измерения), соответствующая верхнему пределу линейного диапазона АЦП или подключенного к нему прибора, установленному в столбце *Максимум*.
Коэф.	вес одного двоичного разряда АЦП (одной единицы преобразования в выбранных *Единицах* измерения. Автоматически вычисляется программой по формуле: К*оэф. = Диапазон/(Максимум – Нуль).*
Шум	вычисленное системой значение шума базовой линии (в единицах преобразования АЦП). Автоматически вычисляется по окончании приема хроматограммы.
Сдвиг	сдвиг данного канала относительно опорного, выраженный в числе точек измерений (для многоканальных хроматограмм).

- Для изменения числа каналов введите требуемое значение в поле **Число каналов** и нажмите кнопку **ОК**. После повторного открытия окна число каналов изменится.

При конфигурации интерфейса любой канал может быть временно выключен, а затем снова включен с сохранением всех установленных для него параметров.

- Для того чтобы включить или выключить канал, установите курсор на соответствующую строку таблицы и нажмите кнопку **Вкл./Выкл.Канал.**

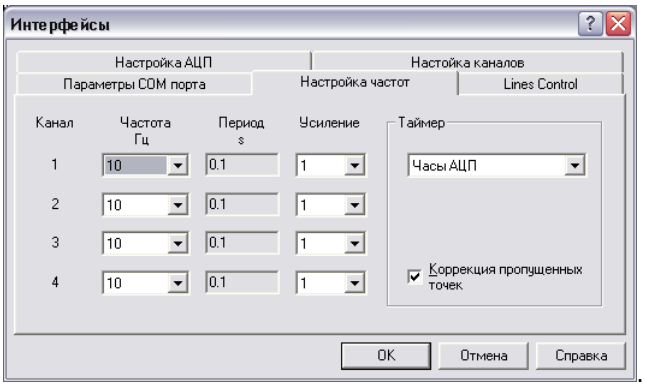
Настройка наиболее часто изменяемых параметров каналов производится следующим образом.

- Для изменения имени канала щелкните мышкой в ячейке Имя требуемой строки таблицы **Параметры каналов**. Введите имя детектора, подключенного к выбранному каналу, например, длину волны, название или какую-либо характеристику детектора и пр. При записи хроматограммы имя будет служить меткой для кривой сигнала, поступающего с этого канала (появляется в начале хроматограммы при ее запуске).
- Если на вход канала поступает сигнал отрицательной полярности, щелкните мышкой в ячейке Инверсия, в ячейке появится кнопка со стрелкой. Щелкните мышкой по кнопке – слово Нет заменится на слово Да. При такой установке пики отрицательной полярности будут изображаться на графике как положительные.
- Для изменения единиц измерения щелкните мышкой в ячейке Единицы и введите единицы отклика детектора, например, %FS (% от полной шкалы - Full Scale), AU (единицы оптического поглощения) и др. Затем щелкните по горизонтальной линейке прокрутки, чтобы увидеть правую часть таблицы. В столбце Диапазон введите значение отклика детектора (в заданных Единицах), соответствующее максимальному сигналу, поступающему на АЦП (2500 мВ), например, 100, если выбраны единицы %FS. При этом в столбце Коэф. появится значение, вычисленное по формуле: Коэф. = Диапазон/(Максимум – Нуль)
- Если линейный диапазон детектора меньше 2500 мВ, в столбце Диапазон установите значение, соответствующее его границе, например, 80%FS при максимально допустимом сигнале детектора 2000 мВ. Далее щелкните мышкой в ячейке Максимум и введите новое значение, пропорционально уменьшив величину, установленную в этой ячейке изготовителем - в рассматриваемом примере ее следует умножить на 0,8. Для сигналов отрицательной полярности то же значение (по абсолютной величине) введите в ячейку Минимум.

Настройка частоты

Для каждого канала может быть проведена индивидуальная настройка максимальной частоты сбора информации, а также коэффициента усиления. Для настройки выполните следующее.

- Перейдите на лист **Настройка частоты**



•Для настройки канала выполните следующее.

- Выберите требуемое значение максимальной частоты сбора данных (*10, 50* или *60*Гц).
- Выберите требуемое значение периода.
- Выберите требуемое значение усиления (2, 4, 8, …128, по умолчанию равно 1).

В этом же окне производится настройка таймера, по которому программа измеряет время.

•Для настройки времени приема каждой точки хроматограммы выполните следующее.

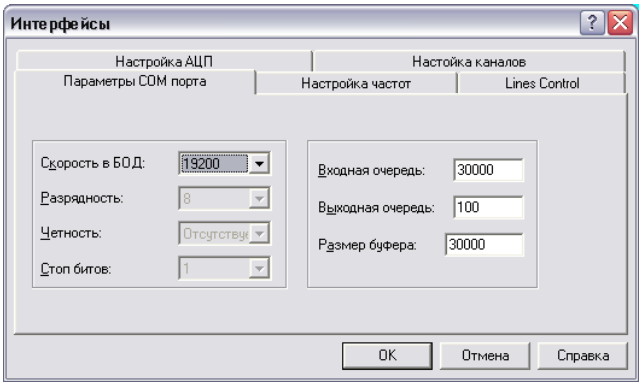
- Выберите таймер:

Часы компьютера	регистрация по часам компьютера
Часы АЦП	регистрация по часам АЦП
Фиксированная частота	Согласно номинальной частоте

- Если требуется, установите флажок **Коррекция пропущенных точек**.

Настройка параметров COM-порта

Настройка параметров COM-порта производится на листе **Параметры COM порта**.



Скорость	скорость передачи данных по COM-порту
Данные	число бит в слове, (7 или 8)
Четность	проверка четности (Да/Нет)
Стоп битов	количество стоповых битов (1 или 2)
Входная очередь	размер входного буфера данных
Выходная очередь	размер выходного буфера данных
Размер буфера	

Приложение 2. Аналого-цифровые преобразователи

Выносной модуль А-24

Общая информация

Аналого-цифровой преобразователь (АЦП) А-24 – это 24-битный АЦП с возможностью цифрового/аналогового управления внешним хроматографическим оборудованием зарубежных и отечественных производителей

- Соединение с компьютером по USB шине (RS-232 соединение – как вариант при удаленном расположении модуля).
- Два независимо синхронизируемых гальванически развязанных аналоговых входа от -4,5 В до +4,5 В с частотой оцифровки от 10 до 1000 Гц с коэффициентом усиления входного сигнала от 1 до 64.
- Счетный канал для датчика радиоактивности в диапазоне от 0 до 200000 импульсов в секунду.
- Два 16-битных цифро-аналоговых преобразователя (ЦАП) с выходом от 0 до 15 В.
- 8 цифровых линий, работающих как на вход, так и на выход.
- Дополнительные возможности, реализуемые при использовании совместно с МультиХром версии 3.x:
  - создание бинарных градиентных систем из насосов для жидкостной хроматографии с управлением напряжением, а также частотой или скважностью сигнала[1] (производства фирм Beckman, Pharmacia – список постоянно расширяется);
  - включение и выключение клапанов, поворот кранов, отслеживание событий остановка насосов, внешний стоп всей хроматографической системы.

Спецификация

Соединение с компьютером

Интерфейс связи с компьютером	USB или RS-232
Интерфейс USB	USB 1.1 USB 2.0 совместимый

АЦП

Тип	24-битный Дельта-Сигма преобразователь.				
Количество аналоговых входов	2				
Эффективное число разрядов, бит	23				
Линейность аналого-цифрового преобразования, % от всей шкалы	+/-0,002				
Частота оцифровки, Гц	10	50/60	100	500	1000
Эффективная разрядность преобразования[2], бит	23,0	22,0	21,8	20,5	20,0
Рабочий диапазон напряжений (вход дифференциальный), В	+/- 4,5				
Коэффициенты усиления входного аналогового сигнала	1, 2, 4, 8, 16, 32, 64				
Входное сопротивление, Мом, не менее	1				
Величина допустимого превышения входного напряжения, В	25 – непрерывно 30 – 1 мин 40 – 3 сек				

ЦАП

Количество аналоговых выходов	2
Выходной диапазон	0 – 15
Разрядность, бит	16
Время установления, мкс.	5
Максимальный выходной ток, мА	8

Цифровые каналы

Количество цифровых линий вход/выход	8
Счетный канал, импульсов в секунду	0 – 200000

Дополнительная информация

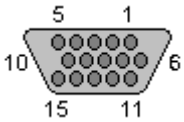
---

[1] Синхронный или асинхронный сигнал с широтно-импульсной модуляцией (ШИМ)

[2] Величины эффективной разрядности преобразования приведены при коэффициенте усиления 1 методом цифрового усреднения выходных данных с учетом эквивалентного входного шума.

Питание	по шине USB
Потребляемый ток, А, не более	0,4
Рабочий температурный диапазон, °С	+10 до +40
Размеры, мм, не более	40x90x125
Вес (без кабелей), кг, не более	0,2
Гарантия, мес	18
Срок полезного использования, лет	6

Разъемы на лицевой панели

Разъем ЛИНИИ I/0 (DHR-15F)	**Разъемы ВХОД 1, ВХОД 2** (Mini-DIN4F)
	
1 = GND (цифровая земля = земля USB) 2 = GND (цифровая земля) 3 = +5 В 4 = +5 В 5 = GND (цифровая земля) 6 = D0 7 = D1 8 = D2 9 = D3 10 = UOUT2 (ЦАП 2) 11 = D4 12 = D5 13 = D6 14 = D7 15 = UOUT1 (ЦАП1)	1 = аналоговый вход «–» 2 = контакт 1 линии внешнего запуска 3 = аналоговый вход «+» 4 = контакт 2 линии внешнего запуска Гальваническая развязка до 300В: - между аналоговым входом и землей компьютера; - между цифровым входом и землей компьютера; - между цифровым и аналоговым входами. Внешний запуск: короткое замыкание контактов 2,4 («сухой контакт») или подача на них TTL сигнала (4=GND, 2=IN).

Возможное назначение цифровых линий:

Выход TTL сигнала для управления клапанами, кранами и т.п. (линии D0-D7)
Вход сигнала *Стоп* для аналоговых каналов (линии D0-D7)
Вход сигнала *Авария* для остановки всего оборудования (линии D0-D7)
Выход асинхронный сигнала ШИМ для управления насосами (линии D0-D7)
Выход синхронного сигнала ШИМ для управления насосами (линии D5, D6)
Вход счетного канала (только линия D0)
Вход сигнала инжекции для счетного канала (линии D1-D7)
Вход сигнала *Стоп* для счетного канала (линии D1-D7)

Разъемы на задней панели:

Стандартный DB-9F – интерфейс RS-232;
Стандартный USB тип B Female – интерфейс USB.

Кабели

Кабель для подключения к порту USB длиной 3 м
2 аналоговых кабеля для подключения к хроматографу длиной 1 и 3 м.

Подключение АЦП к хроматографу и компьютеру

Для подключения АЦП компьютер должен иметь свободный USB-порт.

Все хроматографы и компьютер должны иметь общую шину заземления. В большинстве случаев достаточно, чтобы они имели трехпо-люсные вилки с заземляющим контактом и были подключены к одному щитку.

Помните, что неправильное заземление оборудования может привести к выходу из строя любого из соединяемых приборов, а также ведет к увеличению уровня шумов АЦП!

Подключение аналоговых каналов к хроматографу

Кабель для подключения аналогового входа АЦП к хроматографу на одном конце имеет разъем для подключения к Mini-DIN4F, на другом свободные концы проводов для подключения к хроматографу.

Цвет провода	Сигнал	На хроматографе	Контакт Mini-DIN4F
Красный (экран)	Входной сигнал «–»	Выход «Интегратор», «Самописец» или выход детектора	1
Красный (жила)	Входной сигнал «+»		3
Черный	Заземление	«Земля»	корпус
Белый (экран)	Внешний запуск	Клеммы «Инжекция», «Запуск интегратора», контактная пара инжектора[3]	2
Белый (жила)	Внешний запуск		4

Подключение к компьютеру

Соединение USB-порта АЦП с USB-портом компьютера производится с помощью кабеля из комплекта поставки. При этом на экране появляется сообщение об обнаружении нового оборудования и откроется окно программы-установщика для установки драйвера АЦП А-24.

Окна программы-установщика в зависимости от установленного на компьютере ПО могут иметь различный вид, поэтому при выполнении установки следует руководствоваться следующими общими рекомендациями:

- не надо обращаться к Windows Update;
- следует выбирать автоматическую установку ПО;
- если ПО по какой-то причине не установилось автоматически, указать в качестве места поиска каталог *А-24* на CD-ROM;
- если открывается окно с выбором: продолжить или прекратить установку ПО – выбирать продолжение установки.

При подключении АЦП создается виртуальный COM-порт, через который производится подключение АЦП к ПО *МультиХром* (см. раздел ***Установка и настройка/Установка АЦП/Отключите компьютер и*** хроматографы от сети.

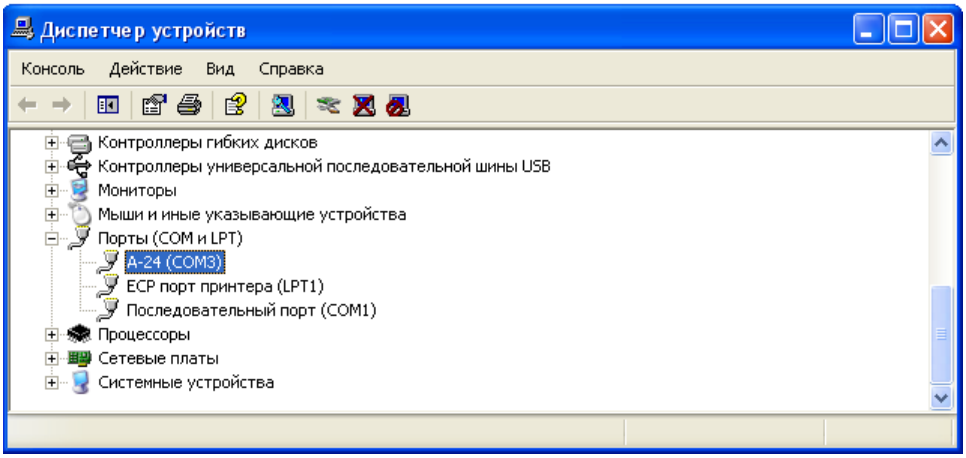
- Убедитесь, что все хроматографы и компьютер имеют общую шину заземления. В большинстве случаев достаточно, чтобы они имели трехполюсные вилки с заземляющим контактом и были подключены к одному щитку. Однако при повышенных требованиях к снижению уровня шумов желательно иметь отдельное заземление всех корпусов непосредственным подсоединением к одной и той же заземляющей шине (желательно в одной точке).

> Помните, что неправильное заземление оборудования может привести к выходу из строя любого из соединяемых приборов, а также ведет к увеличению уровня шумов АЦП!

- Включите компьютер.

Подключение АЦП А-24).

Если требуется узнать номер созданного виртуального COM-порта без запускп ПО *МультиХром*, следует открыть меню ***Пуск*** **(*Start*)** и далее перейти в окно ***Диспетчер устройств***, последовательно открывая окна ***Панель управления/Система/Оборудование/ Диспетчер устройств***.



[3] Если сигнал инжекции производится коротким замыканием контактов («сухой контакт»), концы провода могут подключаться произвольно. Если подачей TTL сигнала, то следует учитывать, что «земле» соответствует жила.

При отсутствии контактов для подключения синхронизации можно припаять к указанным проводам микропереключатель либо производить запуск хроматограммы вручную в окне программы кнопкой .

Управление с использованием цифровых линий

Для управления различными устройствами можно использовать от 1 до 8 цифровых линий (выходы D0…D7), на которые могут быть поданы сигналы:

низкий логический уровень – 0 TTL;

высокий логический уровень – 1 TTL;

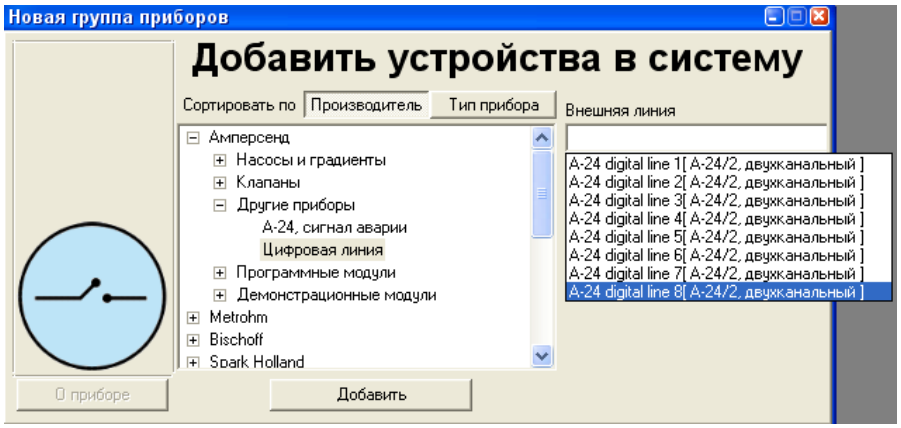
импульс – 1 TTL длительностью 250 мс.

Программа управления устройствами может быть задана двумя альтернативными способами: в виде набора отдельных программ для каждой используемой линии или в виде одной программы для всех 8 линий, причем в последнем случае не обязательно задействовать для управления все линии – часть может либо совсем не использоваться, либо использоваться для входных сигналов. В обоих случаях в систему должно быть добавлено соответствующее устройство.

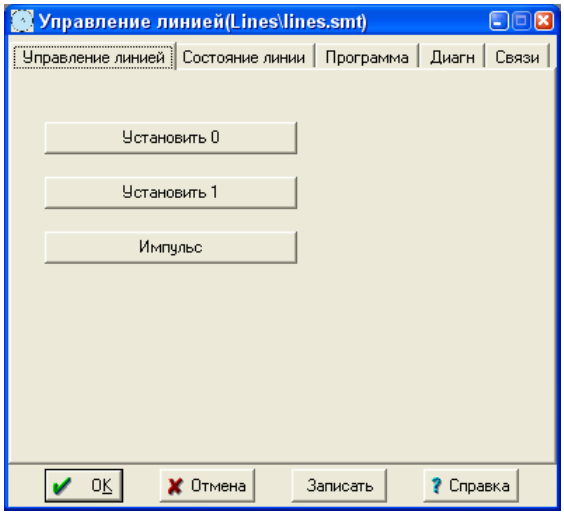
С помощью линий можно управлять устройством по заранее заданной программе. Для этого необходимо задать режим запуска программы (немедленно после запуска анализа или после инжекции), начальное состояние линий и написать *таймерную программу*.

Отдельные линии

- Для того чтобы добавить в систему цифровую линию, выполните следующее.
  - При создании системы после добавления на рабочий стол АЦП А-24 на листе **Добавить устройства в систему** выберите *Амперсенд/Другие приборы/Цифровая линия.*
  - В списке **Внешние линии** выберите линию, к которой подключается управляемое устройство.
  - Нажмите кнопку **Добавить** – в окне системы добавится пиктограмма линии.



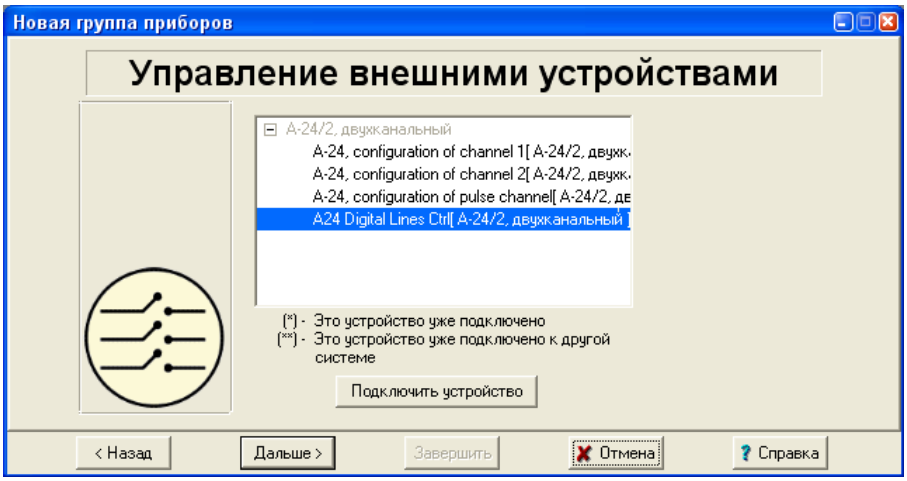
  - Если требуется, таким же способом добавьте другие линии.
- Для того чтобы открыть окно драйвера линии, щелкните мышью по пиктограмме линии в окне системы. При этом откроется, окно содержащее несколько страниц. Информация о номере линии, к которой относится данный драйвер, находится на странице **Связи**.



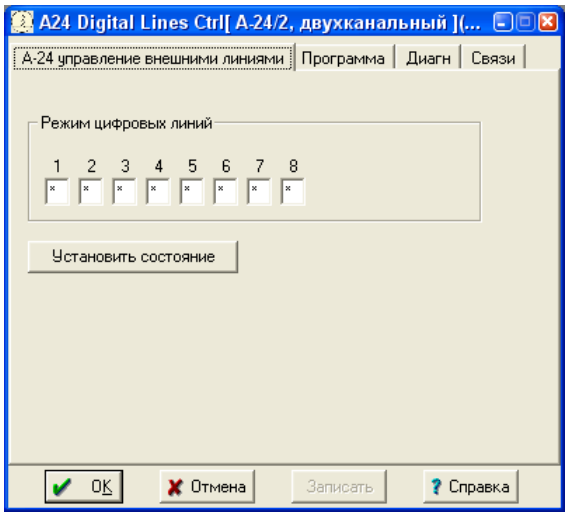
- Для ручного управления линией используйте кнопки **Установить 0**, **Установить 1**, **Импульс** на первой странице **Управление линией**.
- Для создания программы управления линией выполните следующее.
  - Задайте режим запуска программы, как это описано в разделе ***Задание режима запуска программы***.
  - Задайте начальное состояние линии на странице **Состояние линии**.
  - Создайте таймерную программу аналогично тому, как это описано в разделе ***Создание таймерной программы*** для всех линий.

Все линии

- Для того чтобы добавить в систему все цифровые линии, выполните следующее.
  - При создании системы после добавления на рабочий стол АЦП А-24 на листе **Управление внешними устройствами** выберите *A24 Digital Lines Ctrl[A-24/2, двухканальный.*
  - Нажмите кнопку **Подключить устройство** – в окне системы добавится пиктограмма группы линий.



- Для того чтобы открыть окно драйвера линии, щелкните мышью по пиктограмме линии в окне системы. При этом откроется, окно содержащее несколько страниц.

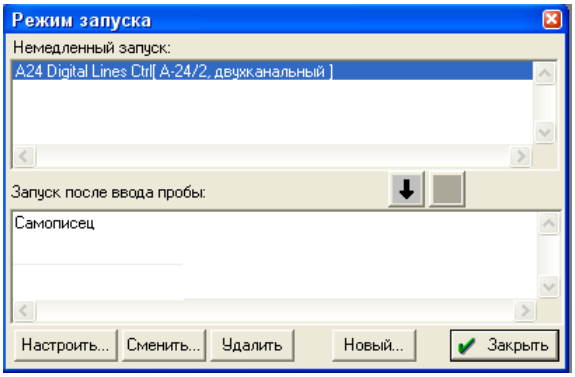


- Для создания программы управления всеми линиями выполните следующее.
  - Задайте режим запуска программы, как это описано в разделе ***Задание режима запуска программы***.
  - Задайте начальное состояние линий на странице **А-24 управление внешними линиями**: введите значения в поля **1…8** (*1, 0, p* – импульс, * - значение не задано) и нажмите кнопку **Установить состояние**.
  - Создайте таймерную программу, как это описано в разделе ***Создание таймерной программы***.

Задание режима запуска программы

Для того чтобы задать режим запуска программы, выполните следующее.

- В окне системы выберите команду **Настройки/Режим запуска**, откроется одноименное окно.



Если в системе установлена группа линий, в окне будет строка *A24 Digital Lines Ctrl[A-24/2, двухканальный]*, если одиночные линии – одна или несколько строк *Управление линией.* Эти строки могут быть в списке устройств для немедленного запуска после начала анализа (область **Немедленный запуск**) или для запуска после инжекции (область **Запуск после ввода пробы**).

- Если требуется изменить режим запуска, выделите нужную строку и нажмите активировавшуюся кнопку ↓ или ↑.

Создание таймерной программы

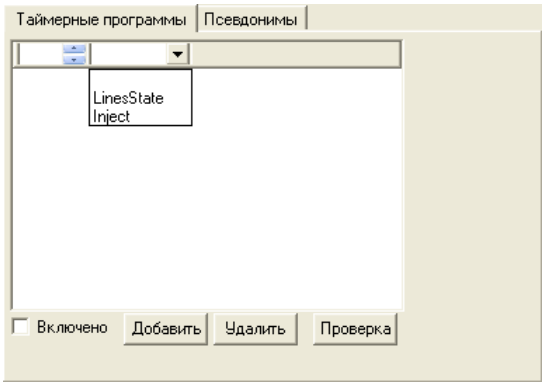
Таймерная программа представляет собой таблицу изменений состояния линий, в каждой строке которой записано время изменения и новые значения состояния. В настоящем разделе описано создание программы для более сложного случая всех линий. Как создать таймерную программу, удобнее рассмотреть на примере.

Предложим, требуется при запуске анализа повернуть кран 1, подключенный к линии *1,* в положение *Waste*, через 3 мин. повернуть кран 2, подключенный к линии *2,* в положение *Load*, затем включить насос, подключенный к линии *3.* После заполнения петли насос выключить, повернуть кран 2 в положение *Inject*, передать сигнал об инжекции, а по окончании анализа через 20 мин. после инжекции повернуть кран 2 в положение *Recycle.*

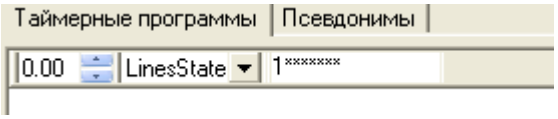
- Для создания перейдите на страницу **Программа**, содержащую две вкладки **Таймерная программа** и **Псевдонимы** (**Конфигурация событий**). Эта процедура может быть выполнена двумя способами.

Первый способ – запись состояния линий

- Для создания строки 1 таймерной программы (первый поворот крана 1), выполните следующее.
  - На вкладке **Таймерная программа** нажмите кнопку **Добавить**, при этом появится строка для ввода данных.



  - В первом поле введите значение времени в минутах. Для первого поворота крана 1 следует ввести *0.00.*
  - Во втором поле выберите значение *LinesState,* при этом откроется третье поле для ввода состояния.
  - В этом поле введите 1 – состояние *1* для линии 1, при этом в поле появится восьмизначное слово *1********, где знак * означает, что состояние соответствующей линии не изменяется.

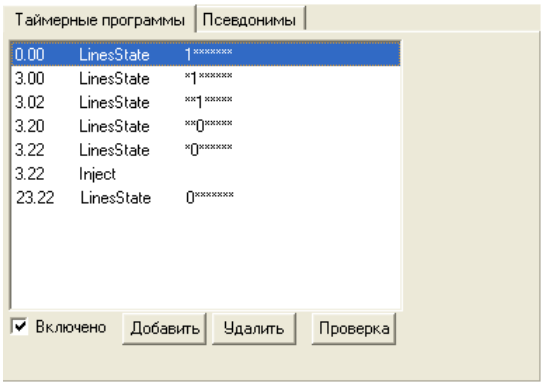


- Для создания строки 2 (первый поворот крана 2) повторите процедуру со следующими изменениями.
  - В первом поле введите значение *3.00*.
  - В поле состояний введите **1*.
- Для создания строки 3 (включение насоса) повторите процедуру со следующими изменениями.
  - В первом поле введите значение *3.02*.
  - В поле состояний введите ***1*.
- Для создания строки 4 (выключение насоса) повторите процедуру со следующими изменениями.
  - В первом поле введите значение *3.20*.
  - В поле состояний введите ***0*.
- Для создания строки 5 (второй поворот крана 2) повторите процедуру со следующими изменениями.
  - В первом поле введите значение *3.22*.
  - В поле состояний введите **0*.
- Для создания строки 6 (передача сообщения о выполнении инжекции общей программе, управляющей выполнением анализа) повторите процедуру со следующими изменениями.
  - В первом поле введите то же, значение, что и для команды на выполнение инжекции – *3.22.*
  - Во втором поле выберите значение *Inject*.

> Совпадение времени выполнения команд допустимо, только если одна из них *Inject* – в противном случае при проверке будет указана ошибка.

- Для создания строки 7 (второй поворот крана 1) повторите процедуру со следующими изменениями.
  - В первом поле введите значение *23.22*.
  - В поле состояний введите *0*.
- При необходимости удалить строку выделите ее и нажмите кнопку **Удалить**.
- После ввода последней строки нажмите кнопку **Проверка** – при наличии ошибок внизу появится поле с соответствующей информацией. Кроме того, если строки были записаны не по порядку их выполнения, они будут переставлены в соответствии с заданными временами.

  В окончательном виде таймерная программа имеет следующий вид.



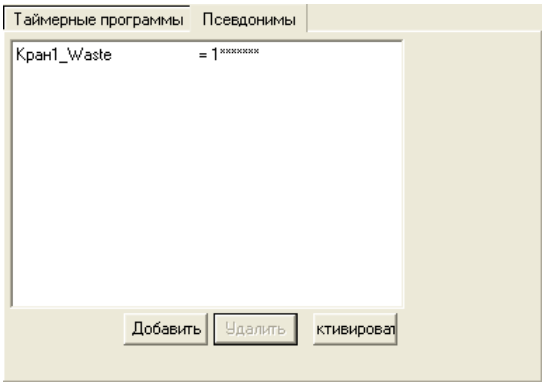
- Для того чтобы программа выполнялась при проведении анализа установите флажок **Включено**.

Второй способ – использование псевдонимов

В некоторых случаях, например, если какие-то состояния встречаются в таймерной программе неоднократно или одновременно изменяются состояния многих линий, удобнее присвоить используемым состояниям *псевдонимы*.

- Перейдите на вкладку **Псевдонимы**.
- Создайте первую строку, выполнив следующее.

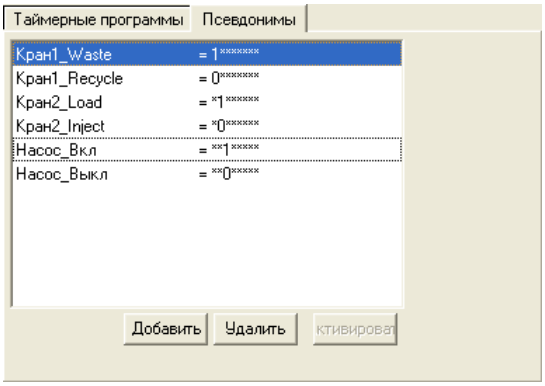
- Нажмите кнопку **Добавить**, при этом появится строка для ввода данных.
- В первом поле введите псевдоним – любую комбинацию знаков без пробелов, например, *Кран1_ Waste.*



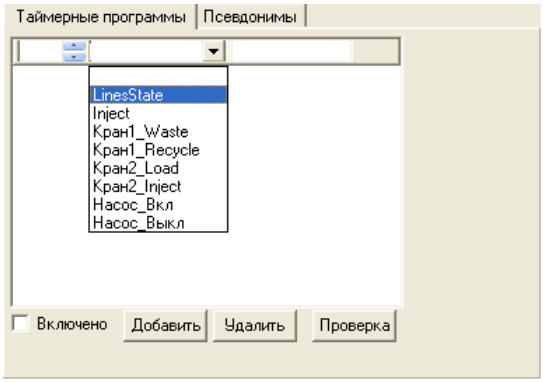
- Во втором поле введите состояние, как это описано в предыдущем разделе для записи состояния.

- Повторите описанную процедуру для создания требуемого количества псевдонимов.
- При необходимости удалить строку выделите ее и нажмите кнопку **Удалить**.
- Для того чтобы созданные псевдонимы можно было использовать при написании таймерной программы, нажмите кнопку **Активировать** (**Применить**).

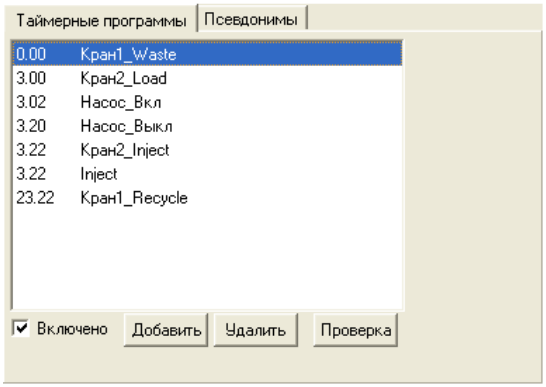
В окончательном виде список псевдонимов имеет следующий вид.



- Для создания таймерной программы перейдите на вкладку **Программы**.
- При создании строк вместо записи состояний используйте выбор из списка псевдонимов.



Таймерная программа, описанная в предыдущем разделе, в случае использования псевдонимов приобретает следующий вид.



Выносной модуль E-24

Общая информация

Выносной модуль E-24 (англоязычное название 24-bit AD Converter) выпускается в 2- и 4-канальной модификациях, с независимым дистанционным запуском хроматограмм по каждому из каналу. Возможность регистрации четырех различных хроматограмм при использовании одного АЦП является дополнительным преимуществом работы с выносным модулем.

Модуль соединяется с компьютером с помощью цифрового кабеля через порт RS232C. Через этот же кабель осуществляется питание АЦП. Стандартный IBM-совместимый PC имеет 1 или 2 последовательных портов RS232, поэтому к компьютеру легко подсоединяется соответствующее число модулей АЦП (если используется PS/2 мышь). При недостаточном количестве портов можно использовать платы расширения[4] или USB/COM конверторы.

Основные параметры

Разрядность, бит 24
Динамический диапазон, бит 20
Количество каналов ..... 2 или 4
Скорость сбора данных, (изм/с) ..... 10, 50, 60, 100, 120[5]
Диапазон входных напряжений, В ..... -2.5 до +2.5[6]
Допустимое напряжение на входе, В ..... +3.0[7]
Допустимое кратковременное напряжение на входе, В ..... + 40.0[8] (< 1 мин)
Собственный шум, мкВ ..... <1.3
Межканальные перекрестные помехи ..... -126 дБ при 10 Гц
Скорость передачи данных, бод ..... 2400…38400
Входное сопротивление, МОм ..... >10
Габариты, мм 130x75x27
Масса, кг 0.25
Силовое питание: от последовательного порта или 12В постоянного тока.

Условия эксплуатации и хранения

Рабочая температура, °С ..... 0 … +50
Температура хранения, °С ..... -20 … +70
Влажность ..... 0 – 95% (без конденсации)

Комплект поставки

Выносной модуль АЦП E-24 1
Цифровой кабель 1
Сигнальный кабель ..... по числу каналов

---

[4] В этом случае для бесконфликтной работы каждый COM-порт должен иметь свой аппаратный номер прерывания. Обычно порт COM1 имеет прерывание 4, COM2 - 3, для COM3 можно установить 5, а для COM4 - любое из свободных 10, 11, 12 (в этом случае нужна мультикарта типа AT, VESA или PCI). Можно также использовать прерывание 2 (для IBM PC/AT оно отображается в прерывание 9).

[5] Может быть установлена отдельно для каждого канала программным способом.

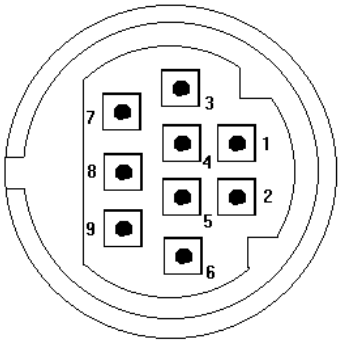
[6] Необходимое усиление (до 128) может быть установлен для каждого канала программным способом.

[7] Сохранение работоспособности остальных каналов при подаче напряжения на один из каналов.

[8] Восстановление работоспособности после снятия напряжения.

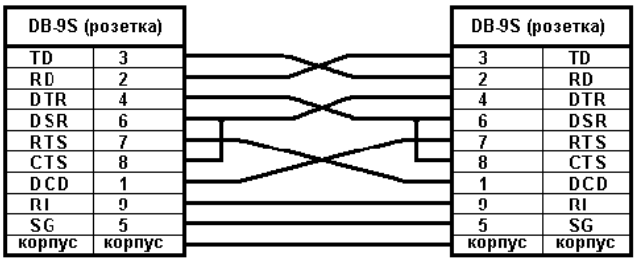
Описание внешних разъемов

Для каждого аналогового входа на корпусе модуля Е-24 предусмотрен отдельный разъем, к которому для соединения с хроматографом подключается кабель из комплекта поставки. Все разъемы имеют одинаковую схему выводов, приведенную ниже (она также изображена непосредственно на корпусе модуля). В стандартном исполнении используются пять из девяти контактов разъема (выделены в списке жирным шрифтом). Цвета проводов на втором конце кабелей, соединенных с этими контактами, указаны в скобках.



1. **Первый контакт сигнала синхронизации запуска сбора данных (двойной провод)**
2. Не задействован
3. **Второй контакт сигнала синхронизации запуска сбора данных (двойной провод)**
4. **Аналоговый вход "+", основной канал (желтый провод)**
5. **Аналоговый минус "-", основной канал (сиреневый провод)**
6. **Аналоговая земля, основной канал (белый провод)**
7. Аналоговая земля, дополнительный канал (не используется)
8. Аналоговый вход "+", дополнительный канал (не используется)
9. Аналоговый вход "-", дополнительный канал (не используется)

Для подключения цифрового кабеля, соединяющего АЦП с портом RS232C компьютера, на корпусе модуля Е-24 предусмотрен стандартный разъем (вилка) DB-9P. Через этот же разъем, как правило, осуществляется питание АЦП[9]. Кабель, входящий в комплект поставки, снабжен двумя разъемами (розетками) типа DB-9S, что позволяет подключить модуль к порту в том случае, если он имеет разъем типа DB-9P. Для подключения к разъему типа DB-25P следует использовать специальный переходник.

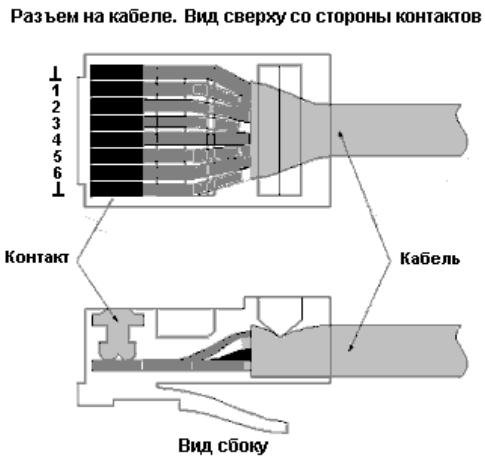


DB-9S (розетка)		DB-9S (розетка)	
TD	3	3	TD
RD	2	2	RD
DTR	4	4	DTR
DSR	6	6	DSR
RTS	7	7	RTS
CTS	8	8	CTS
DCD	1	1	DCD
RI	9	9	RI
SG	5	5	SG
корпус	корпус	корпус	корпус

АЦП с возможностью цифрового управления оборудованием

Новый двухканальный модуль АЦП Е-24/2D, кроме 2 входных каналов для приема аналоговых сигналов с датчиков и одного цифрового канала для связи с компьютером, имеет 6 цифровых выходов для управления оборудованием. Для подключения соединительного кабеля на корпусе АЦП установлен разъем RJ45 (кабель в комплект поставки не входит).

[9] Если требуется внешний источник питания, он может быть подключен через специальный разъем.

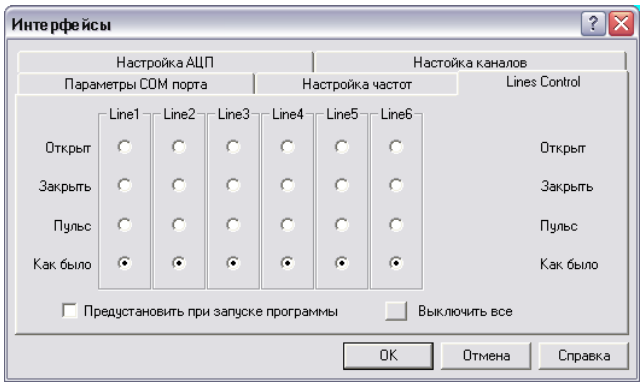


В качестве управляющего сигнала на каждый из выходов может подаваться одна из 4 команд (см. ниже).

Однократная подача команд

Команды на выходы можно подать однократно, выполнив следующее.

- Выберите команду **Настройка/Интерфейсы** и далее в открывшемся окне **Интерфейсы** нажмите кнопку **Настройка**[10]. При этом откроется окно **Настройка АЦП**.
- Перейдите на лист **Линии**.



- Для однократной подачи команды на какой-либо выход установите для него переключатель:

Hold	*Как было*	сохранять исходное состояние
Close	*Замкнуть*	замкнуть контакты (допустимый ток нагрузки до 20 мА)
Open	*Разомкнуть*	разомкнуть контакты (допустимое напряжение на выходе до 40 В)
Pulse	*Импульс*	замкнуть контакты на 0,25 с

- Для перевода всех контактов в разомкнутое состояние нажмите кнопку **Выключить все**.
- Если требуется, чтобы указанные команды выполнялись при каждом запуске программы, установите флажок **Установить при запуске программы**.

Управление оборудованием во время приема хроматограммы

Во время приема хроматограммы управление оборудованием осуществляется с помощью предварительно записанной *программы*, включенной в состав *метода*. Программа представляет собой список *действий*, которые должны производиться в определенные моменты *времени* до начала и во время выполнения анализа.

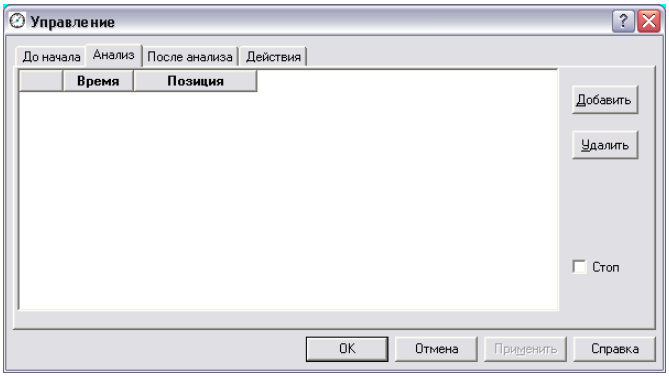
Для формирования программы управления оборудованием выполните следующее.

- Откройте метод или хроматограмму, к которым добавляется программа управления.
- Выберите команду **Метод/Управление** - откроется окно **Управление**, содержащее 4 листа:
- **До начала** – программа, выполняемая до инжекции;
- **Анализ** – программа, выполняемая после инжекции;

[10] Если АЦП подключен не к COM1, вначале выделите строку соответствующего COM-порта.

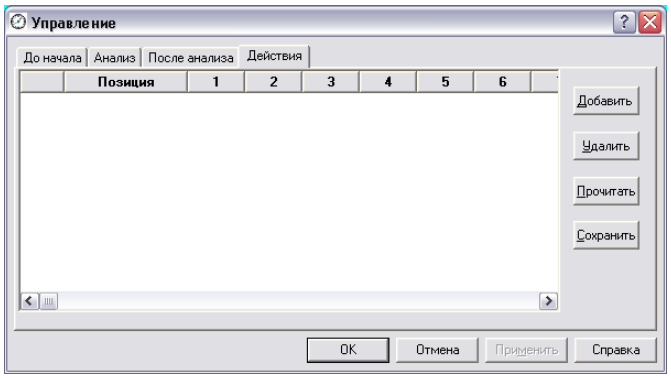
•**После анализа** – программа выполняется после окончания анализа;

•**Действия** – описания действий, т. е., набора команд, подаваемых на все выходы.

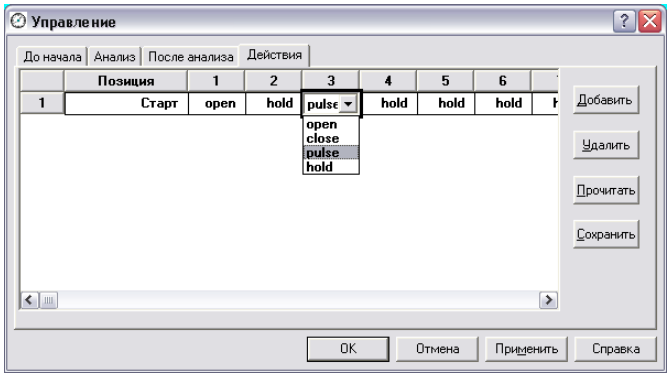


•Создайте список команд, выполнив следующее.

- Перейдите на лист **Действие**.



- Нажмите кнопку **Добавить**, при этом появится строка для описания действия. Команды, которые установлены для каждого выхода первоначально, задаются в окне через окно **Интерфейсы** (см. радел ***Однократная подача команд***).
- Введите в поле **Действие** название действия, которое в дальнейшем будет использоваться для его краткого обозначения при составлении программы.
- Укажите для каждого из 6 выходов выполняемую команду, выбирая в списочном поле одно из 4 возможных значений, перечисленных выше.

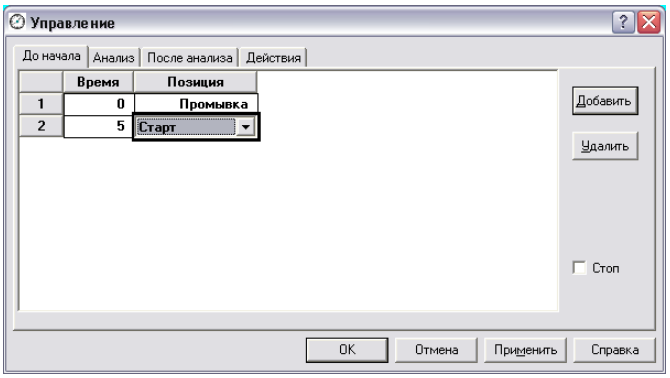


- С помощью описанной процедуры создайте все действия, которые предполагается использовать для написания программ.
- При необходимости удалить какую-либо строку, щелкните мышью по любому полю этой строки и нажмите кнопку **Удалить**.
- Запишите созданный список действий, нажав кнопку **Сохранить**.

•Создайте программу, выполняемую до начала анализа.

- Перейдите на лист **До начала**.
- Нажмите кнопку **Добавить**, при этом появится первая строка программы.
- Введите время выполнения (в единицах, указанных на хроматограмме) и название выполняемого действия.
- Нажимая кнопку **Добавить** и вводя требуемы значения, создайте всю программу. При этом строки можно вводить в произвольном порядке, независимо от указываемого

времени – после закрытия окна **Управление** они будут автоматически расставлены в порядке выполнения.



- Таким же образом создайте на листе **Анализ** программу, выполняемую во время проведения анализа.
- Закройте окно **Управление**, нажав кнопку **OK**, и запишите метод.

Выносной модуль Е-18

Выносной модуль АЦП Е-18 производства ЗАО “АКВИЛОН” выпускается с одним или двумя независимыми каналами сбора данных (канал сбора данных состоит из канала АЦП и канала дистанционного запуска) и с восемью цифровыми независимыми каналами управления внешними устройствами. АЦП поставляется с файлом драйвера *aquilon.dew*, для установки которого при настройке интерфейса необходимо выбирать порты COM1...COM4 (см. ***Установка и настройка***, раздел ***Запуск и настройка/Настройка конфигурации системы/Выбор интерфейса***).

В комплект ПО входят также следующие исходные файлы методов:

aquilon 1.mtw – для первого канала,
aquilon 2.mtw – для второго канала,
aquilon.mtw – для двух каналов одновременно.

Основные параметры

Разрядность, бит……..…24
Динамический диапазон, бит…….……...19
Количество каналов сбора данных……..…1 или 2
Количество каналов управления внешними устройствами……..8
Скорость сбора данных, (изм/сек)…….. 10, 50, 60
Диапазон входных дифференциальных напряжений, В……-2,5 до +2,5
Допустимое напряжение на входе, В……...±40
Собственный шум, мкв…….<10
Скорость передачи данных, бод……...9600
Входное сопротивление, МОм……>10
Габариты, мм…….125x85x34
Масса, кг…….0.25
Силовое питание (от сетевого адаптера), В……..+8…+15 (+ на центральном контакте).

Условия эксплуатации и хранения

Рабочая температура, °С…….....0 … +50
Температура хранения, °С…….....……-20 … +70
Влажность…….....……..0 – 95% (без конденсации)

Комплект поставки

Выносной модуль АЦП Е-18.....1
Цифровой кабель.....1
Сигнальный кабель..... 1 или 2
Сетевой адаптер.....1

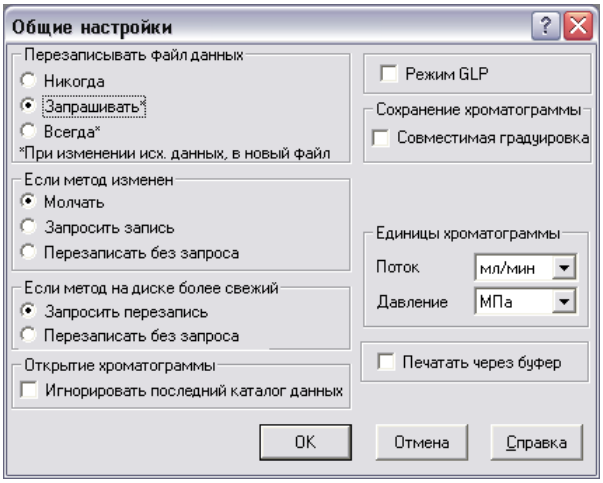
АЦП Е-18 соединяется с компьютером через порт RS232C с помощью стандартного кабеля-удлинителя. Питание осуществляется от сети с помощью сетевого адаптера, входящего в комплект поставки.

Подключение детектора хроматографа осуществляется через специальный разъем на корпусе АЦП с помощью кабеля, включенного в комплект поставки. Второй конец кабеля подключается к выходу “Интегратор” хроматографа: к клемме “+” светлый провод, к клемме “-” черный или коричневый провод, который, при необходимости, может быть заземлен. Провода синхрони-

зации (сдвоенный длинный провод) подключаются к выходу “Инжектор” или “Автосамплер”. Сигналом запуска измерения для программы *МультиХром* является переход от разомкнутого состояния этих контактов к замкнутому.

Приложение 3. Общие настройки

В программе *МультиХром* предусмотрен ряд общих настроек, касающихся режима перезаписи при обновлении данных, а также некоторых других параметров, для чего используется команда **Общие настройки** из меню **Настройка**, открывающая одноименное окно.



Перезапись при изменении данных

Ниже описываются установки переключателей, определяющие режимы перезаписи при обновлении данных. Возможность изменения этих установок блокируется в двух случаях:

- Если установлен флажок - при этом переключатели фиксированы в положениях, соответствующих требованиям международного стандарта GLP (Good Laboratory Practice - "Хорошая лабораторная практика").
- Если пользователь имеет уровень доступа Нормальный - при этом переключатели фиксированы в положениях, ранее установленных пользователем с доступом Расширенный или Администратор.

Перезаписывать файл данных

Группа переключателей, с помощью которых устанавливается один из возможных вариантов реакции системы при закрытии окна хроматограммы, в которой были сделаны изменения.

Никогда Файл закрывается без изменений *(установка GLP)*

Запрашивать Предлагается подтвердить сохранение изменений, а при подтверждении - выбрать запись в новый файл или перезапись старого

Всегда Записывается новый файл с изменениями

Если метод изменен

Группа переключателей, с помощью которых устанавливается один из возможных вариантов реакции системы при закрытии окна метода или хроматограммы, в которой были сделаны изменения в *методе*.

Молчать Файл метода остается без изменений

Запросить запись Предлагается подтвердить внесение изменений в файл метода, а при подтверждении - открывается окно **Сохранить как** *(установка GLP)*

Переписать без запроса Файл метода обновляется

Если метод на диске более свежий

Группа переключателей, с помощью которых устанавливается один из возможных вариантов реакции системы при закрытии окна хроматограммы, в которой были сделаны изменения в методе.

Молчать	Файл метода остается без изменений
Запросить перезапись	Предлагается подтвердить внесение изменений в файл метода а при подтверждении - открывается окно **Сохранить как** *(установка GLP)*

Другие настройки

Открытие хроматограммы

Если установлен флажок **Игнорировать последний каталог данных,** в окне **Открытие хроматограммы** открывается каталог, содержащий хроматограмму, окно которой является активным. В противном случае открывается тот каталог, к которому было последнее обращение.

Сохранение хроматограммы

Флажок **Совместимая градуировка** следует устанавливать для поддержания совместимости градуировки в тех случаях, когда предполагается использование хроматограмм для работы с другими версиями программы *МультиХром*.

Единицы хроматограммы

Списочные поля **Поток** и **Давление** для выбора единиц измерения скорости потока и давления элюента.

Печать

Флажок **Печатать через буфер** следует устанавливать в том случае, если печать непосредственно из программы нарушает работу программы (для некоторых моделей струйных принтеров Hewlett-Packard).

Приложение 4. Особенности работы ПО *МультиХром* с оборудованием фирмы “Люмэкс”

ПО *МультиХром* используется для приема и обработки хроматографической информации хроматографическим комплексом ФЛЮОРАТ и системой капиллярного электрофореза КАПЕЛЬ, производимыми фирмой “Люмэкс”. ПО работает в режиме одноканального приема данных с АЦП, входящих в состав указанных комплексов.

По умолчанию подключение АЦП комплекса ФЛЮОРАТ к компьютеру осуществляется через порт COM1 (драйвер устройства fl-02-2m.dew), АЦП системы КАПЕЛЬ – через порт COM2 (драйвер устройства capel.dew). При подключении этих устройств к другим COM-портам требуется произвести настройку интерфейса.

В комплект поставки включены следующие файлы методов, при использовании которых получаемые хроматограммы (комплекс ФЛЮОРАТ) или электрофореграмм (система КАПЕЛЬ) будут записываться в соответствующие директории:

ФЛЮОРАТ	*FL_02-2M.MTW*	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data*
	b(a)p.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\бензапирен*
	афл_B1.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\афл_B1*
	афл_M1.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\афл_M1*
	вит_AE.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\вит_AE*
	нитрозамины.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\нитрозамины*
КАПЕЛЬ	*анионы.mtw*	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\анионы*
	катионы.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\катионы*
	консерванты.mtw	*c:\ProgrammFiles\Lumex\mlcw17\Data\консерванты*

В те же директории включены наборы характерных хроматограмм (для комплекса ФЛЮОРАТ) или электрофореграмм (для системы КАПЕЛЬ), иллюстрирующих возможности использования оборудования.

ПО *МультиХром*, поставляемое с оборудованием фирмы “Люмэкс”, защищается от несанкционированного копирования с помощью электронного ключа. Он представляет собой двухсторонний разъем с электронной схемой внутри, который вставляется в параллельный порт между компьютером и принтером. Ключ на работу принтера не влияет, однако если компьютер оснащен двумя принтерными портами, лучше ключ вставить во второй порт, а первый оставить для принтера. При установке нескольких программ, защищенных ключами, допускается вставлять ключи один в другой.

Приложение 5. Использование клавиатуры и мыши

Основные клавиатурные комбинации[11] управления изображением

Комбинация	*Выполняемое действие*
Курсор неактивен	
[↑]	увеличение чувствительности по оси Y;
[↓]	уменьшение чувствительности по оси Y;
[→]	растянуть хроматограмму по оси X;
[←]	сжать хроматограмму по оси X;
[Ctrl]+[Home]	автомасштабирование по оси X (показать все по X);
[Ctrl]+[End]	автомасштабирование по оси Y (показать все по Y);
[PageUp]	сдвиг хроматограммы на 1/10 часть экрана вверх;
[PageDown]	сдвиг хроматограммы на 1/10 часть экрана вниз;
[Shift]+[↑]	увеличить расстояние между каналами хроматограммы
[Shift]+[↓]	уменьшить расстояние между каналами хроматограммы
[Z] или [0]	установить нуль по последней точке хроматограммы
В случае, когда видна только часть хроматограммы:	
[→]	растянуть хроматограмму по оси X;
[←]	сжать хроматограмму по оси X;
[Ctrl]+[→]	переместиться вправо на одно окно (без изменения масштаба по X и Y);
[Ctrl]+[←]	переместиться влево на одно окно (без изменения масштаба по X и Y);
[Home]	показать начало хроматограммы (без изменения масштаба по X и Y);
[End]	показать конец хроматограммы (без изменения масштаба по X и Y);
[Z] или [0]	установить нуль по самой нижней точке видимой в окне части хроматограммы
Курсор активен	
[Z]	установить нуль в местоположении курсора
[→]	переместить курсор вправо;
[Shift]+[→][12]	быстро переместить курсор вправо;
[←]	переместить курсор влево;
[Shift]+[←]	быстро переместить курсор влево;
[Home]	переместить курсор в начало окна;
[End]	переместить курсор в конец окна;
[Shift]+ [Home]	установить начало окна в местоположении курсора
[Shift]+ [End]	установить конец окна в местоположении курсора

Основные функции редактора пиков

Мышь	Клавиатура	Выполняемое действие
	[Ctrl]+[Enter]	выбрать ближайшую точку пика
	[←]+[Ctrl]+[Enter]	выбрать левую точку пика (слившиеся пики)
	[→]+[Ctrl]+[Enter]	выбрать правую точку пика (слившиеся пики)
		выбрать начало пика, ближайшее к положению курсора
		выбрать вершину пика, ближайшую к положению курсора
		выбрать конец пика, ближайший к положению курсора

[11] Комбинации, выделенные жирным шрифтом, работают в режиме активного и неактивного курсора.

[12] Быстрое перемещение курсора удобно выполнять мышкой, при нажатой правой кнопке.

		выбрать долину между соседними пиками
		убрать выделение
	[-]	установить новое положение выбранной точки пика
	[*]	слить пики
	[+]	стереть границу соседних пиков (объединение пиков)
	[/]	расщепить (разделить) пик на два
	[Ins]	создать новый пик с вершиной на месте курсора
	[Del]	стереть выбранный пик
		стереть все пики слева от выбранной точки
		стереть все пики справа от выбранной точки
		отменяет последнюю операцию
ПК[13]	[→], [←]	перемещение курсора вправо или влево
	[Shift] + [→];[Shift] + [←]	быстрое перемещение курсора вправо или влево
	[Alt] + [C]	Включение/выключение режима *редактора пиков*

Другие полезные комбинации клавиш

[*Ctrl*]+[*F6*] переключиться между окнами хроматограмм

[*Ctrl*]+[*F4*] закрыть текущее окно хроматограммы

[*Shift*]+[*F1*] вызвать оглавление *Подсказки*

[Alt]+[C] включить/выключить режим *Редактора пиков*

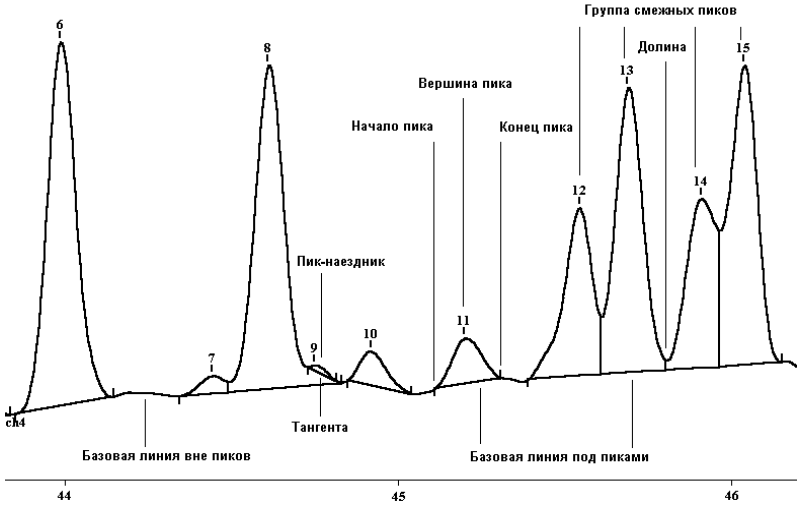
ПК+ПК двойной щелчок правой кнопкой мыши включает/выключает *Редактор пиков*

ЛК+ЛК двойной щелчок левой кнопкой мыши выполняет операцию **Показать все**.

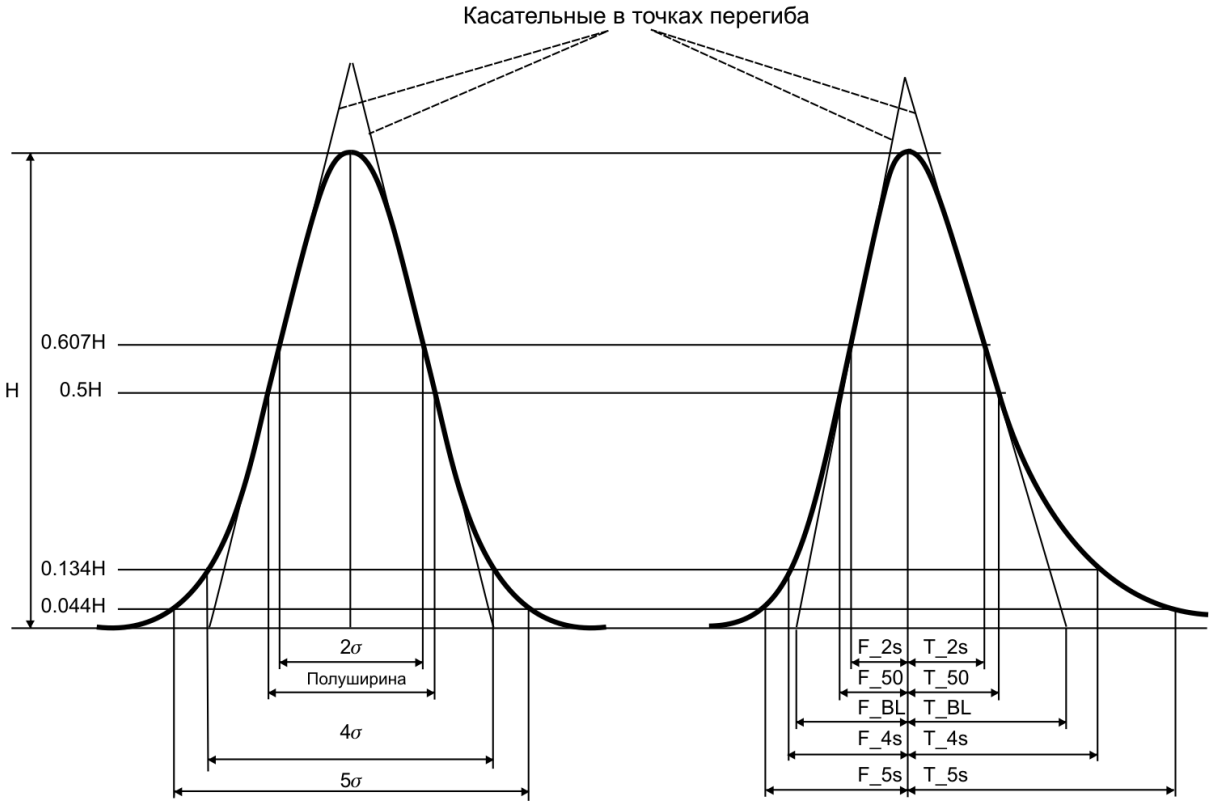
[13] Движение мыши при нажатой правой кнопке.

Приложение 6. Обозначения

Пики и особые точки хроматограммы



Параметры пиков



Пик Гауссовой формы $G(t) = H \cdot e^{\frac{-(T-t)^2}{2\sigma^2}}$

Симметричный пик: F_X=T_X
W_X - ширина по уровню X%, W_X = F_X + T_X
W_50 - полуширина
W_BL = 4σ - ширина по базовой линии или тангенте

Асимметричный пик

F_X - ширина пика до вершины по уровню X%
T_X - ширина пика после вершины по уровню X%
F_ks, T_ks - ширина по уровню, соответствующему для гауссова пика ширине kσ (k = 2, 4, 5).

Величины, используемые для расчетов

Для описания алгоритмов градуировки и количественного расчета используются следующие обозначения:

R	величина отклика детектора (площадь или высота, в зависимости от установки, выбранной в диалоговом окне **Компонент**)
V	объем введенной пробы
D	коэффициент разведения (указывает, в какое количество раз первоначальный раствор пробы был разведен перед вводом в хроматограф)
a	количество исходного образца - величина, обратная разведению, используемая в некоторых фармацевтических методиках, Может служить также в качестве нормирующего коэффициента, например, при определении содержания компонента на единицу веса образца, использованного для приготовления пробы.
V'=V•a/D	скорректированный (приведенный) объем введенной пробы. Коррекция проводится с учетом коэффициента разведения и количества
C	концентрация компонента в первоначальном растворе (перед разведением)
q=C*V'	введенное количество компонента (используемое для построения градуировочной зависимости)
t	время удерживания компонента
t_0	мертвое время (время удерживания абсолютно неудерживаемого компонента)
$t'=t-t_0$	скорректированное (чистое) время удерживания
L	длина колонки
$v=L/t_0$	линейная скорость потока

$Q(R)=K_3R^3 + K_2R^2 + K_1R + K_0$

градуировочная зависимость количества вещества в пике от отклика детектора. В случае линейной градуировочной зависимости, проходящей через начало координат, только коэффициент K_1 отличается от нуля и таким образом $Q=.K_1R$. Концентрация компонента в анализируемой смеси вычисляется по формуле **C=Q(R)/V'**.

RMS(Q, R)

процедура, используемая для вычисления коэффициентов регрессии градуировочной зависимости **Q(R)** с использованием метода наименьших квадратов. Процедура в качестве исходных данных использует набор градуировочных точек (количество **Q** - отклик **R**) и тип выбранной градуировочной зависимости **Q(R)**. На выходе процедура дает коэффициенты K_2, K_1 и K_0 градуировочной зависимости **Q(R)**, используемой для вычисления количества компонента в пике **q = Q(r)**.

Используемые индексы:

- **n** номер хроматографического пика,
- **i** номер компонента,
- **s** стандартный компонент,
- **j** номер градуировочной точки.

Приложение 7. Файл шаблона отчета

В комплект поставки программного обеспечения *МультиХром* включены два файла шаблонов отчета: русско- и англоязычная версии полного текста отчета *russian.rtt* и *english.rtt.*

RTT-файлы - это текстовые файлы, записанные в кодировке ANSI (кодировка, принятая в *MS Windows*). Для просмотра и редактирования этих файлов можно пользоваться редактором Notepad, входящим в стандартный набор приложений *MS Windows*, или любым другим текстовым редактором, использующим указанную кодировку.

Общие сведения

Полный текст файла шаблона содержит разделы, соответствующие разделам отчета:

Раздел шаблона	**Раздел отчета**
[PRN_HEADER]	Общие
[PRN_SAMPLE]	Проба
[PRN_COLUMN]	Колонка
[PRN_ELUENT]	Элюент
[PRN_CHROMPLOT]	График
[PRN_PEAKS]	Таблица пиков
[PRN_COMMENT]	Комментарий
[PRN_GLPLOG]	Журналы GLP
[PRN_ACQUISITION]	Измерение
[PRN_INTEGRATION]	Разметка
[PRN_CALDEFAULTS]	Градуировка
[PRN_COMPONENTS]	Таблица компонентов
[PRN_CHANNELS]	Таблица канала
[PRN_SPECRATIO]	Спектр. отношения
[PRN_CALIBGRAPH]	Рез-ты градуировки

Каждый параметр, который выводится в отчет, представлен в файле шаблона отдельной строкой. Эта строка обязательно содержит *спецификацию формата* представления данных и *внутреннее имя* параметра. Кроме того, в нее может быть включен произвольный текст. В начале строки, до спецификации формата, как правило, указывается название параметра в соответствии с именем поля, где этот параметр задается. Если после значения параметра идет какой-либо постоянный текст, например, название единицы измерения, он записывается после спецификации формата через требуемое число пробелов.

Пример строки из файла шаблона:

Частота сбора данных: %5.2f тчк/сек\n| SAMPLING_RATE

Формат представления данных, начинающийся со знака %, имеет следующую структуру:

%[width] [.prec] [type]

Если сразу после знака "%" стоит знак "-", печатаемая величина выравнивается влево, в противном случае - вправо.

[width] минимальное количество печатаемых знаков: если указанное значение больше числа знаков в выводимом параметре, при печати перед числом вводится недостающее количество пробелов. Может быть опущен.

[.prec] точность (см. ниже описание типа переменной). Точка перед числом обязательна; если после нее нет числа, величина округляется до целого значения. Повышение точности может потребоваться, например, при измерении низких концентраций компонентов, но при этом не рекомендуется задавать значения, большие 6. Может быть опущен, при этом по умолчанию значение равно 6.

[type] тип печатаемой переменной. Должен быть задан обязательно.

- **s** текст
- **f** действительное число с фиксированной точкой; точность означает число знаков после точки. В исходных файлах russian.rtt и english.rtt этот тип указан для всех параметров.
- **g** действительное число с плавающей точкой; точность означает число значащих цифр. Может быть представлено в экспоненциальном виде.
- **e** действительное число с плавающей точкой, представленное в экспоненциальном виде; точность означает [число значащих цифр – 1].
- **d** двухбайтное целое число

ld четырехбайтное целое число

Если идущий далее текст должен начинаться с новой строки, после спецификации формата параметра следует признак конца стоки **\n**. Если в отчете два параметра должны быть напечатаны в одной строке (например, величина и изменяемая единица измерения), то в строке, относящейся к первому параметру, признак конца строки не ставится.

Внутреннее имя параметра отделяется от остальной части строки знаком | (вертикальной чертой), редактировать внутреннее имя параметра запрещается.

Кроме строк, обеспечивающих вывод отдельных параметров, файл шаблона содержит строки команд для печати таблиц, графиков и печати всего отчета в целом, а также чисто текстовые строки (заголовки разделов и пр.).

Все таблицы, включаемые в отчет, кроме **Таблицы пиков**, печатаются в фиксированном формате, недоступном для редактирования из файла шаблона. Для редактирования формата **Таблицы пиков** в конце файла шаблона включены два специальных раздела: раздел [CUSTOM_TITLE], содержащий заголовки ее столбцов, и раздел [CUSTOM_FORMAT], содержащий спецификации форматов этих столбцов.

В полные тексты файлов шаблонов *russian.rtt* и *english.rtt* входят все параметры, используемые при работе программы, многие из которых в большинстве случаев не требуется включать в отчет. Поэтому некоторые строки имеют в начале два знака // - такие строки считаются комментарием и не используются при создании отчета. Удаляя знаки // или ставя их в начале других строк, можно добавлять или удалять отдельные параметры или строки текста в отчете.

Создание нового файла шаблона

При редактировании файла шаблона в него можно случайно внести ошибки, которые сделают отчета невозможным, поэтому исходные файлы шаблонов записаны с атрибутом read-only (только для чтения), запрещающим внесение изменений. Для получения измененного шаблона отчета следует сначала скопировать исходный файл *russian.rtt* или *english.rtt* под новым именем.

При первом опыте создания собственного шаблона рекомендуется предварительно распечатать *rtt*-файл и созданный с его использованием отчет для ознакомления со структурой файла шаблона, установления соответствий между текстами и подготовки внесения изменений.

Для создания нового файла шаблона выполните следующее.

- Скопируйте исходный файл под новым именем и внесите в него требуемые изменения.
- Для того чтобы переместить параметр или текстовую строку внутри раздела или из одного раздела в другой, используйте стандартные процедуры копирования и удаления текста. Если требуется, один и тот же параметр может быть напечатан в различных местах отчета.
- Для того чтобы исключить или восстановить строку в файле шаблона, поставьте или соответственно удалите в ее начале символы //. Обратите внимание, что одной строке в отчете может соответствовать более одной строки в шаблоне.
- Для того чтобы добавить дополнительный текст, напечатайте его в требуемом месте файла шаблона. Если текст должен быть в виде отдельной строки, его следует вводить после строки, содержащей символы **\n**, и заканчивать теми же символами.
- Для того чтобы ввести дополнительную пустую строку, ведите в требуемом месте дополнительные символы **\n**.
- Для того чтобы какая-либо часть отчета печаталась с новой страницы, введите строку | RS_PAGEBREAK.
- Для того чтобы изменить точность, с которой параметр печатается в отчете, измените величину **[.prec]** в соответствующей строке.
- Для того чтобы изменить формат вывода данных в **Таблице пиков**, выполните следующее.
  - Определите в разделе [CUSTOM_TITLE] порядковый номер столбца, формат которого требуется изменить, и перейдите к строке с тем же номером в разделе [CUSTOM_FORMAT].
  - Если требуется, измените тип параметра **[type]** следующим образом:

    g - для печати отчета в случаях, когда параметр изменяется в широких пределах.
- **e** - для экспорта данных для обработки другими программами.
  - Измените требуемым образом величину **[.prec]** (с учетом типа параметра).
  - Если требуется изменить расстояние между отдельными столбцами, отредактируйте величину **[width]**.

	Что нельзя делать при редактировании файла шаблона:
	Редактировать внутренние имена параметров, а также строки в квадратных скобках или начинающиеся с символа |.
	Удалять, добавлять или переставлять строки в разделах [CUSTOM_TITLE] и [CUSTOM_FORMAT].
	Использовать в тексте знак %.

Приложение 8. Статус процесса

Статус процесса показывает информацию о текущем состоянии программы. Появляется в специальном поле в левом верхнем углу окна хроматограммы.

Готов	хроматограмма готова к запуску;
Ожидание	программа ждет сигнала внешнего запуска;
Измерение (Базовой линии)	идет запись базовой линии;
Измерение	идет прием данных хроматограммы;
Приостанов	прием данных приостановлен;
Конец	измерения закончены, но хроматограмма не обработана
Обработка	хроматограмма обрабатывается после ее окончания;
Не вкл.	никаких операций в текущем окне не проводится.
Ошибки:	
Авария	неожиданная остановка насоса и т.д.
Ошибка COM порта	ошибка в интерфейсе COM порта.

Приложение 9. Настройка шрифтов

Комплект поставки системы *МультиХром* не включает собственных шрифтов и системных драйверов, а использует возможности установленной на компьютере ОС *MS Windows*. Для работы на русском языке рекомендуется использовать с русскоязычную версию ОС. Если на компьютере установлена англоязычная версия ОС, следует произвести настройки, обеспечивающие работу на русском языке[14].

Работа на русском языке включает возможность использовать русские буквы в именах файлов.

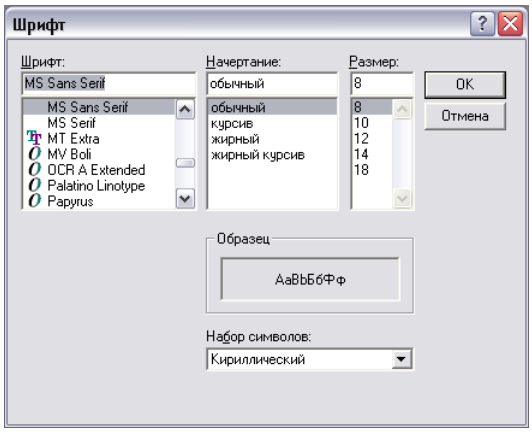
В программа *МультиХром* предусмотрена общая настройка шрифтов для всех хроматограмм одновременно. Для настройки шрифта выполните следующее.

- Выберите команду **Настройка/Шрифты**. Откроется дополнительный список команд для выбора отдельно настраиваемых шрифтов:

Шрифты для диалогов	Настройка шрифтов для всех надписей в диалоговых окнах, кроме заголовков, закладок и названий универсальных кнопок, а также для названий кнопок в **Таблице компонентов**
Шрифты для отчетов	Настройка шрифтов для отчетов
Шрифты для таблиц	Настройка шрифтов для данных **Таблицы компонентов** и **Таблицы концентраций**
Шрифты для графиков	Настройка шрифтов для всех надписей на графиках хроматограмм и градуировок

- Выберите шрифт, который требуется настроить. Откроется стандартное окно MS Windows для выбора шрифта (**Шрифт** или **Font** для русско- или англоязычной версии MS Windows соответственно).

[14]Более подробно о настройках при работе с различными версиями ОС *MS Windows* см. «МультиХром, версия 1.5x. Руководство пользователя», Приложение 9 (http://www.ampersand.ru/files/rukov15.pdf).



•Выберите тип шрифта, начертание и размер.

	При работе на русском языке в поле Набор символов (Script) должно стоять значение Cyrillic.

•Подтвердите сделанные изменения, нажав кнопку **OK**, окно для выбора шрифта закроется. Установки будут использоваться для всех хроматограмм текущего сеанса работы.

•Если требуется сохранить сделанные изменения в установках шрифтов для последующих сеансов работы с программой МультиХром, выберите команду **Настройка/Шрифты/ Сохранить настройки шрифтов**.

Приложение 10. AIA-файлы

AIA-файлы – файлы специального формата, создаваемые в соответствии с протоколом обмена аналитическими данными ANDI (Analytical Data Interchange, Andi Protocol). Этот протокол был разработан Ассоциацией аналитического приборостроения (Analytical Instrument Association, AIA) для обеспечения возможности обмена хроматографическими (1992г.) и масс-спектрометрическими (1994г.) данными, получаемыми с помощью оборудования различных фирм-производителей.

В AIA-файлах, имеющих расширение *.cdf, хранятся “сырые” и/или обработанные данные, содержатся сведения о пробе и оборудовании, а также комментарий оператора. Данные из этих файлов могут передаваться для обработки различными приложениями.

Процедуры экспорта и импорта в формат AIA позволяют производить обмен данными между программой *МультиХром* и хроматографическим оборудованием следующих фирм

Dionex Corporation	**Perkin-Elmer**	**Thru-Put Systems, Inc**
Hitachi Instruments	**Shimadzu Scientific**	**Varian Associates**
Hewlett-Packard	**Thermo Separation Products**	**Waters Corporation**

При импорте данных из AIA-файлов необходимо учитывать, что эти файлы содержат только часть информации, предусмотренной форматом файлов хроматограмм программы *МультиХром*, поэтому некоторые поля будут оставаться пустыми или заполняться значениями по умолчанию.

Приложение 11. Алгоритм расчета шумов

Основная процедура

В качестве величины, характеризующей уровень шума измерительного канала, обычно используют величину среднеквадратичного отклонения от среднего значения измеряемого сигнала (СКО) . Таким образом можно, например, измерить шум базовой линии в отсутствие хроматографических пиков.

В хроматографической практике также часто используют разность максимального и минимального значения (размах, peak-to-peak) шумового сигнала, удобную для оценки максимальной допускаемой ошибки измерений. Для того чтобы оценить величину размаха по измеренному значению СКО, ее следует умножить на 6 (такое соотношение справедливо, если шум канала близок к “белому”).

При наличии хроматографических пиков формально рассчитанная величина СКО будет много больше величины шума из-за вклада измерений, соответствующих пикам. В программе

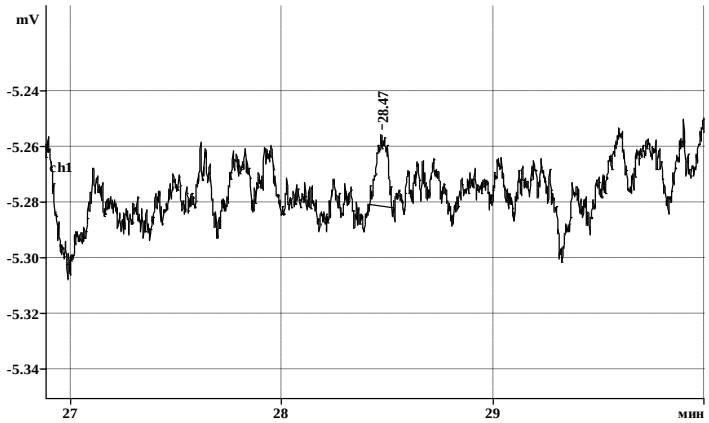
МультиХром используется специальная процедура измерения величины шума, позволяющая исключить пики. Она состоит в следующем.

Рассматриваются значения разности сигналов (приращение) для двух соседних точек хроматограммы. Если три идущие подряд приращения имеют один и тот же знак, это считается признаком того, что точки находятся на склоне пика. Такие точки из дальнейшего рассмотрения исключаются. Далее рассчитывается СКО для оставшихся точек. Поскольку в их числе могут оказаться точки, относящиеся к плоским вершинам пиков, а также случайные одно- или двухточечные выбросы большой амплитуды, далее исключаются все точки, отклонение которых от среднего значения превышает 5-кратную величину СКО. Процедура вычисления СКО и отбраковки выпадающих точек повторяется до тех пор, пока число точек не перестает уменьшаться.

Измеренная с использованием описанной процедуры величина шума для сигнала без пиков мало отличается от рассчитанной для него величины СКО.

Дополнительные возможности измерения шумов

Процедура измерения шума, применяемая в ПО *МультиХром* (см. предыдущий раздел), при отсутствии хроматографических пиков обеспечивает получение значений, близких к СКО. Однако это справедливо только в случае "белого" шума, например, собственного шума АЦП. При так называемом "химическом" шуме, когда имеется некоторое подобие низкочастотных колебаний, связанных с периодическим изменением различных параметров процесса, такое соотношение нарушается. В качестве примера проявления “химического” шума на рисунке представлен участок хроматограммы, на котором видны “пики” с характерным периодом 0.1 - 1 мин.



В последних версиях ПО *МультиХром* в комплект поставки включены обновленные файлы шаблона отчета *russian.rtt*, *english.rtt* (см. ***Приложение 7***), с использованием которых может выполняться специальная процедура обработки шума, позволяющая измерять его величину в условиях работы реального оборудования. Эта процедура предназначена для специальных хроматограмм или отдельных участков реальных хроматограмм без хроматографических пиков. Она заключается в следующем: хроматограмма или выбранная часть хроматограммы разбивается на участки ("окна") заданной длины[15], для каждого из которых определяются величины *СКО* и *Пик-к-пику* (при этом может выбрасываться одна точка, если ее значение отстоит от среднего более чем на 3σ). Далее рассчитываются средние значения и дисперсия этих величин для всей хроматограммы или для выбранной части, определяются их максимальные значения и начало участка, на котором эти значения достигаются, а также рассчитывается *дрейф* базовой линии. Вся информация выдается в разделе отчета *Каналы*.

В исходных файлах шаблона отчета *russian.rtt*, *english.rtt* строки, обеспечивающие выполнение описанной процедуры, начинаются с символов //, то есть, эта процедура не выполняется (см. ***Приложение 7***, раздел ***Общие сведения***). Для того чтобы нужным образом изменить файл шаблона, выполните следующее.

- Скопируйте под новым именем файл russian.rtt или english.rtt и откройте его.
- Перейдите к разделу Каналы (жирным шрифтом выделены строки, относящиеся к процедуре измерения шума):

[15] Для окна рекомендуется величина, в 2-3 превышающая полуширину ожидаемых хроматографических пиков.

КАНАЛЫ\n
Вычисляемый канал: %s\n| TOTAL_TYPE
| RS_CHANNAMES
No Имя Единицы Вход Минимум Ноль Максимум Диапазон Коэффициент Шум Сдвиг\n\n
| RS_CHANTABLE
| RS_CHANNOISE
//| **RS_NOISERMS | 60.0**
//| **RS_NOISERMS | 15.0:1020.0:1200.0**
\n

- Если требуется измерить параметры шума для всей хроматограммы (в случае отсутствия пиков), выполните следующее.
  - Удалите символы // в начале строки | **RS_NOISERMS | 60.0**.
  - Измените, если требуется, величину окна (в секундах). Заданное по умолчанию значение **60.0** сек обеспечивает учет шумов с периодом 1 мин и меньше. Это соответствует обычной процедуре измерения шума на хроматограмме без хроматографических пиков.
- Если требуется измерить параметры шума для отдельного участка хроматограммы, на котором нет пиков, выполните следующее.
  - Удалите символы // в начале строки **RS_NOISERMS | 15.0:1020.0:1200.0.**
  - Измените, если требуется, величину окна, а также начала и конца выбранного участка (в секундах), для которых по умолчанию заданы значения 15 сек, 17 мин и 20 мин соответственно.
- Если требуется измерить параметры шума для нескольких участков хроматограммы, на которых нет пиков, выполните следующее.
  - Удалите символы // в начале строки **RS_NOISERMS | 15.0:1020.0:1200.0**.
  - Скопируйте эту строку столько раз, сколько требуется выделить участков, введя между ними строку \n, означающую конец абзаца.

| **RS_NOISERMS | 15.0:1020.0:1200.0**
\n
| **RS_NOISERMS | 15.0:1020.0:1200.0**
\n
| **RS_NOISERMS | 15.0:1020.0:1200.0**

  - Измените требуемым образом в каждой строке величину окна, а также начала и конца выбранного участка (в секундах).
- Сохраните сделанные изменения, записав файл шаблона.

Приложение 12. Оценка величины шума и ее использование при обработке хроматографического сигнала

Каламбет Ю. А., Михайлова К. В., *Лабораторный журнал, №1, 2002, с.32-35*.

Одним из важнейших параметров процесса измерения, определяющих его метрологические характеристики, является уровень шумов. В хроматографическом процессе именно шумами определяется предельное значение такого важного параметра, как предел обнаружения. Значительный вклад вносят шумы, наряду с погрешностями ввода пробы, и в суммарную погрешность измерения концентрации, особенно при низком уровне содержания компонентов.

В качестве меры уровня шумов в хроматографии традиционно используется *размах* $2\Delta X$ (peak-to-peak – “пик к пику”) - разность максимального и минимального измерения уровня сигнала базовой линии за заданное время измерения, рассчитанная за вычетом *дрейфа* (Рис. 1). Выбор этой характеристики связан с простотой ее измерения при регистрации сигнала с помощью интегратора и самописца.[1]

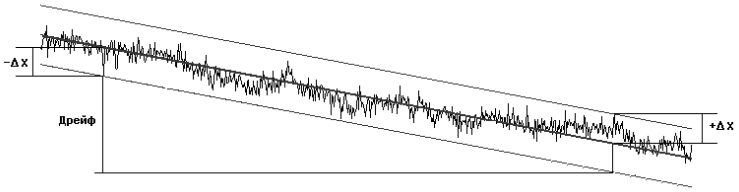


Рис. 1 Шумы и дрейф базовой линии

Переход к приему сигнала с помощью аналого-цифровых преобразователей (АЦП) с последующей обработкой его с помощью компьютерной техники позволяет рассчитывать другую характеристику шумового процесса - *среднеквадратичное отклонение* σX (*СКО*). При автоматической обработке сигнала использование этого параметра предпочтительно, так как его величина мало чувствительна к одиночным выбросам большой амплитуды, что было особенно важно на ранних этапах использования АЦП, когда появление артефактов подобного рода имело довольно высокую вероятность (для современных АЦП этой проблемы практически не существует).

Расчет шумовых характеристик в программе “МультиХром”

В отсутствие хроматографических пиков расчет СКО для базовой линии представляет собой элементарную задачу. При наличии пиков формально рассчитанная величина СКО будет много больше величины шума из-за вклада измерений, соответствующих пикам. В программе “*МультиХром*” используется оригинальная процедура оценки величины шума, позволяющая исключить пики. Она состоит в следующем. Рассматриваются значения разности сигналов (приращение) для двух соседних точек хроматограммы. Если три идущие подряд приращения имеют один и тот же знак, это считается признаком того, что точки находятся на склоне пика. Такие приращения из дальнейшего рассмотрения исключаются. Далее рассчитываются параметры распределения для оставшихся приращений. Поскольку в их числе могут оказаться величины, относящиеся к вершинам пиков, а также случайные одно- или двухточечные выбросы большой амплитуды, далее исключаются все приращения, отклонение которых от среднего значения превышает 5-кратную величину среднеквадратичного отклонения для распределения приращений. Такая процедура пересчета с отбраковкой выпадающих приращений повторяется до тех пор, пока их число не стабилизируется.

Расчет величины шума производится автоматически по окончании хроматограммы, поскольку в программе "*МультиХром*" эта процедура выполняется, в первую очередь, для решения "внутренней" задачи: его величина используется при определении точек начала и конца хроматографического пика. Алгоритм детектирования пиков основан на определении первой производной (наклона) хроматографической кривой и сравнении его с уровнем шума. Для того чтобы решить, является ли наклон в некоторой точке значимым, величина первой производной делится на значение шума базовой линии. Если полученная величина превышает величину *порога*, заданного пользователем, точка считается началом пика. Конец пика определяется в точке, в которой указанное отношение становится меньше порога (величины порога для начала и конца пика могут не совпадать).

Дополнительный вопрос возникает при разметке многоканальных хроматограмм: какой канал выбрать для этой цели, если ни в одном из них не представлены все пики? В этом случае в программе "*МультиХром*" создается синтетический суммарный канал, причем суммируемые сигналы предварительно нормируются на величину шума канала. Такая процедура позволяет получить канал, содержащий все пики, и одновременно избежать ухудшения отношения сигнал/шум.[2]

По окончании приема хроматограммы пользователь имеет возможность увидеть величину шума в одном из окон. Значения собственно СКО, а также размаха сигнала могут выводиться при создании отчета дополнительно. Для сигнала без пиков измеренная с использованием описанной процедуры величина шума будет мало отличается от рассчитанной для него величины СКО, а соотношение между СКО и размахом составит приблизительно $2\Delta X = 6\sigma X$ (для "белого" шума при количестве точек измерения 10^3 - 10^4).Если в соответствии с требованиями методик или стандартов необходимо использовать для вычисления тех или иных хроматографических параметров величину размаха, можно рекомендовать использовать его расчет-

ное значение по величине автоматически определяемого шума, однако предварительно необходимо убедиться в выполнении указанного соотношения на хроматограммах без пиков.

Источники шумов

Шумовой сигнал, который видит пользователь в окне хроматограммы, как правило, совместно создают АЦП, наводки на соединительные провода, детектор, поток элюента. Можно экспериментально оценить вклад каждого источника, считая их независимыми, и последовательно измеряя вначале шум одного АЦП с замкнутыми контактами на входе; затем АЦП вместе с кабелями, подсоединенными к выключенному детектору; далее - то же, но с включенным детектором без потока элюента, и, наконец, шум при реальных условиях регистрации хроматограммы. В случае недопустимо высокого уровня шумов подобный анализ поможет правильно определить наиболее слабое звено всего измерительного тракта.

Как правило, вклад современного АЦП в суммарный шум является наименьшим. Для используемого в системе "*МультиХром*" 24-разрядного выносного модуля Е-24 он составляет менее 1.3 мкВ, или 2-3 младших двоичных разряда (при скорости сбора данных 10 Гц). При большей скорости приема данных уровень шума несколько возрастает (при 50 Гц эффективная разрядность АЦП соответствует 19).

Для уменьшения вклада наводок АЦП рекомендуется устанавливать в непосредственной близости от хроматографа, так чтобы длина кабелей, соединяющих детекторы с входами АЦП, не превышала 3-5м. Самое пристальное внимание необходимо уделять вопросам заземления - предпочтительно иметь отдельное заземление корпусов хроматографа и компьютера непосредственным подсоединением к одной и той же заземляющей шине.

При соблюдении указанных требований основные источники шумов, как правило, оказываются вне системы "*МультиХром*", поэтому далее в настоящей публикации не рассматриваются.

Использование специализированных алгоритмов обработки сигнала - наиболее эффективный метод борьбы с шумами

Традиционно для уменьшения влияния шумов используются различные методы фильтрации. Некоторые такие фильтры были включены в программу "*МультиХром*". Но развитие специализированных алгоритмов обработки сигнала, применяемых на отдельных участках хроматограммы привело к тому, что выигрыш от предварительной фильтрации сигнала практически перестал давать дополнительный выигрыш в сглаживании шумов. Однако само рассмотрение достоинств и недостатков фильтров шумов в контексте современных методов обработки хроматографического сигнала представляется весьма поучительным.

В дальнейшем изложении используется определение “точка хроматограммы”, - под этим следует понимать пару чисел (отклик по ординате, время измерения).

Фильтрация шумов (сглаживание) может рассматриваться как применение к каждой точке хроматограммы некоторой процедуры, заменяющей значение ординаты на новое, предположительно более точно соответствующее действительному значению сигнала во время измерения. Перечислим наиболее популярные процедуры:

Медианная фильтрация

Фильтрация одиночных выбросов

Замена центральной точки окна на сумму соседних по времени точек нефильтрованного массива с некоторыми коэффициентами. В частности, *метод скользящего среднего*, *Гауссово сглаживание*, *метод Савицкого-Голея* [3].

Кратко опишем каждый метод, обращая внимание на его достоинства и недостатки.

При *медианной фильтрации* значения внутри окна сортируются в порядке возрастания. Отклик, соответствующий середине окна, заменяется другим значением, попадающим в центр отсортированного массива. Этот метод влияет на хроматографические пики в наименьшей степени, хорошо сглаживает базовую линию, не меняет форму пика на склонах и очень эффективно устраняет отдельные выбросы (в этом случае выброс заменяется на одну из соседних точек). Однако он слегка "приглаживает" вершины пиков и ложбины между пиками и может изменять как высоту, так и площадь хроматографических пиков.

Фильтрация *одиночных выбросов* - уникальный метод фильтрации, основанный на знании шумовых параметров сигнала. Применяется в программе "*МультиХром*" для выявления только точек с ошибочной ординатой (выбросов). Имеет скорее историческую ценность, поскольку для современных АЦП причины выбросов - сбои измерения и передачи данных - редки. После применения этого метода с небольшой вероятностью может измениться как площадь, так и высота пика, однако в подавляющем большинстве случаев ничего не изменяется.

Метод *скользящего среднего* состоит в замене точки на среднее значение в окне. В программе "*МультиХром*" применяется при вычислении производной в процессе разметки хроматограммы на пики и, возможно (в зависимости от предпочтений пользователя), при отображении хроматограммы на экране. Отличается очень высокой скоростью выполнения алгоритма, пропорциональной только числу точек в хроматограмме. Площадь пика сохраняется, высота изменяется.

Гауссово сглаживание состоит в замене значения на сумму точек окна с весами, распределенными по Гауссу. Площадь пика сохраняется, высота и полуширина изменяются.

Метод *Савицкого-Голея* состоит в замене ординаты точки на значение, полученное путем аппроксимации хроматографической зависимости в пределах окна полиномом третьей степени. В большинстве случаев не должны изменяться ни высота, ни полуширина, ни площадь хроматографического пика. Возможны артефакты: при избыточной ширине окна интерполяции возникают характерные провалы перед началом

пика и, реже, после окончания. При отсутствии артефактов - весьма эффективный метод, артефакты могут приводить к существенному изменению как площади, так и высоты пика.

После знакомства с методами фильтрации шумов зададимся вопросом: для чего фильтруются шумы? Чаще всего экспериментаторы дают следующие обоснования.

1. Облегчение работы алгоритмов обработки данных (поиска пиков).
2. Более точный расчет площадей, высот и полуширин пиков.
3. Улучшение визуального представления данных.
4. Исправление сбоев измерения.

Внимательно рассмотрим каждую из причин.

1. ***Облегчение работы алгоритмов обработки данных (поиска пиков).***

Это так, только если алгоритм поиска пиков разработан без учета присутствия шумов. Нормальный алгоритм должен давать одинаковые результаты на исходных и фильтрованных данных.

2. ***Более точный расчет площадей, высот и полуширин пиков.***

Для всех методов фильтрации существуют артефакты, поэтому корректность измерения высоты и площади может вызывать сомнения.

Высота. Для корректного измерения высоты пика нужно очень точно знать положение максимума пика и базовой линии, т.е. аппроксимация в большинстве точек не нужна, - она нужна только в точке максимума и в точках, определяющих положение базовой линии. При этом избежать аппроксимации даже отфильтрованных данных не удастся: максимальная высота достигается обычно не в одной из этих точек, а между ними, и вершина аппроксимирующей параболы может быть как выше, так и ниже самой высокой точки пика. Поэтому при определении высоты по отфильтрованным данным нет преимущества ни по точности, ни по сложности процедуры. Более того, фильтрация обычно ведется одинаково для всех точек и неоптимально для пиков разной ширины. В программе "*МультиХром*" применен адаптивный способ вычисления окна квадратичного полинома, аппроксимирующего вершину пика - это окно зависит от полуширины конкретного пика. Для более широких пиков это окно будет больше, чем для узких, что дает дополнительный выигрыш в точности.

Площадь. Для точного вычисления площади необходимо знать только положение базовой линии. В самом деле, поскольку сглаживающие функции конструируются так, чтобы не менять площадь пика в условиях "идеальной" базовой линии, изменение площади, подсчитанной по сглаженным и несглаженным данным, зависит в основном от способа проведения базовой линии (подробнее см. следующий раздел). Более того, при аппроксимации точки начала базовой линии по исходным данным можно избежать артефактов, присущих методу Савицкого-Голея. Артефакты вызваны неадекватностью модели аппроксимации (полиномиальной с определенным окном) и реального характера изменения сигнала. Заметим, что "плохая" интерполяция возникает при наличии хотя бы одного из экстремумов аппроксимирующего полинома в окне интерполяции. Если начало пика аппроксимируется полиномом, обладающим таким свойством, следует проверить качество аппроксимации. Для проверки можно, к примеру, найти максимальное отклонение аппроксимирующего полинома от исходных точек и сравнить его с величиной шума. Если модель неадекватна, можно уменьшить ширину окна интерполяции или вовсе отказаться от нее.

Полуширина. В программе "*МультиХром*" полуширина вычисляется путем аппроксимации склона пика вблизи нужной точки кубическим полиномом с адаптивным окном, и выигрыша применение предварительного сглаживания данных не дает. То же касается и ширины, вычисленной по базовой линии.

3. ***Улучшение визуального представления данных.***

а) На экране и принтере гораздо лучше иметь реальную картину процесса, а не "приглаженный" вариант.
б) Данные, представленные на экране, так или иначе отличаются от исходных данных. По горизонтали число точек на экране обычно в десятки - сотни раз меньше числа точек в хроматограмме, разрешение же экрана по вертикали более чем в тысячу раз меньше разрешения современных АЦП. Если мы рисуем заведомо не совсем то, нам приходится регулировать процесс формирования изображения по исходным данным, и элементы сглаживания в него бывают внесены.

4. ***Исправление сбоев измерения.***

С современными АЦП одиночные сбои измерения крайне редки.

Недостатки сглаживания:

Изменение исходных ("сырых") данных. Это противоречит ряду законов о Хорошей Лабораторной Практике (Good Laboratory Practice, GLP). Это действительно огромный недостаток, сводящий на нет все достоинства.

Вывод. Лучше пользоваться несглаженными данными и алгоритмами, приспособленными для работы с ними. Отключайте фильтры шумов!

Использование алгоритма интерполяции базовой линии для уменьшения погрешности измерения низких концентраций

Существенный вклад в погрешность измерения параметров хроматографических пиков малой высоты вносит погрешность проведения базовой линии - это относится как к высоте пика так и, в особенности, к его площади. Значение абсциссы начала и конца пика определяется с помощью описанной выше процедуры. В качестве ординаты в простейшем случае берутся ординаты соответствующих точек хроматограммы, однако, при высоком уровне шумов (то есть, при небольшом соотношении сигнал/шум для вершины пика), сдвиг начала или конца пика всего на одну точку может привести к заметному изменению результата измерения площади (Рис. 2).

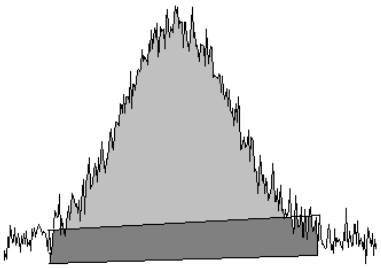


Рис. 2 Влияние проведения базовой линии на площадь пика

В программе "*МультиХром*" предусмотрена возможность интерполяции участка базовой линии в окрестности точек начала и конца пика, обеспечивающая вычисление усредненных значений ординаты этих точек. Эффективность этой процедуры продемонстрирована с помощью вычислительного эксперимента, в котором для одних и тех же пиков рассчитывалась величина площади при разных значениях отношения сигнал/шум без интерполяции базовой линии и с ее использованием (Рис. 3, Рис. 4).

Расчеты проводились для трех серий хроматограмм с высоким (I), средним (II) и низким (III) значением отношения сигнал/шум (S/N). Каждая серия состояла из 9 хроматограмм, полученных путем сложения одной и той же хроматограммы с пренебрежимо низким уровнем шумов (0) с хроматограммами, содержащими записи шумовых процессов. Для каждой серии рассчитывалось среднее значение и СКО площади для каждого из 4 пиков (B, A, D, C), а также разность между средним и истинным значением площади пика, рассчитанным для пиков без шумов. Расчеты выполнялись при разметке хроматограммы без интерполяции базовой линии и с использованием этой процедуры.

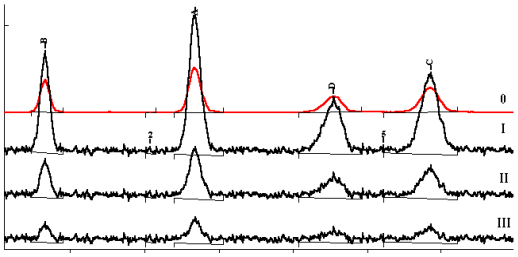


Рис. 3 Разметка хроматограмм без интерполяции базовой линии

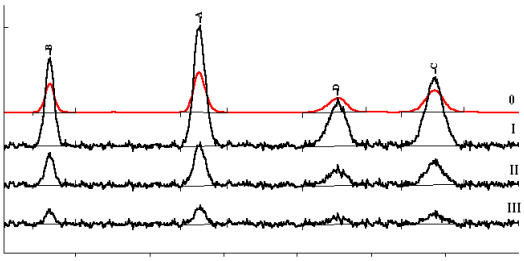


Рис. 4 Разметка хроматограмм с интерполяцией базовой линии

Результаты расчетов представлены в Табл. 1 и на Рис. 5. Используемые обозначения: **S/N** - отношение высоты пика к шуму; **RSD** и **RSD-i** - СКО площади пика; **Delta** и **Delta-i** - разность среднего значения измеренной и истинной площади пика (величины **-i** относятся к измерениям с использованием интерполяции базовой линии).

Как видно из приведенных данных, использование интерполяции базовой линии позволяет производить измерения площади пиков даже при очень низком отношении сигнал/шум (<3 для пика D в серии III) с погрешностью около 20%, тогда как без интерполяции она достигает почти 50%. Кроме того, без интерполяции измеренная площадь пика всегда превышает истинную, и эта систематическая погрешность для всех пиков серии составляет около 50 %.

Табл. 1

Серия	Пик	S/N	RSD	Delta	RSD-i	Delta-i
I	**B**	39	2.62	10	1.38	1.1
	A	49	1.68	8	0.832	0.7
	D	19.5	2.97	16	2.95	0.02
	C	30.8	3.53	11	1.48	-0.2
	B	13	7.43	30	4.01	0.04

II	A	16.4	5.64	20	4.04	1.2
	D	6.5	15.4	33	11.4	-1.4
	C	10.3	8.90	30	5.12	0.4
III	B	5.2	10.1	53	7.24	-1
	A	7.3	6.49	43	6.52	6
	D	2.6	47.5	38	20.4	-10
	C	4.1	20.1	57	13.2	-1

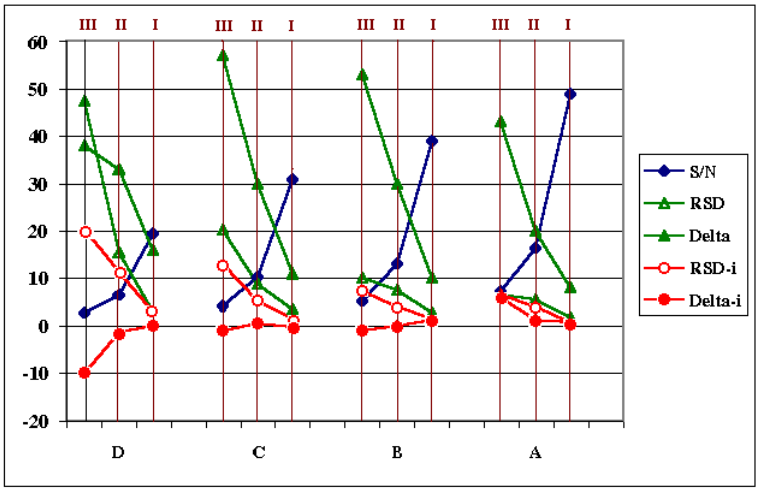


Рис. 5 Погрешности расчета площади пиков без интерполяции базовой линии и с использованием интерполяции (обозначения см. в тексте)

Список литературы

1. IUPAC Chromatography] International Union of Pure and Applied Chemistry, Nomenclature for chromatography, L.S. Ettre, editor, Pure and Applied Chemistry 65: 819-872, 1993. 450+ definitions.
2. *Yu.A.Kalambet, Yu.P.Kozmin, M.P.Perelroyzen* // Computer spectrochromatography. Principles and practice of multi-channel chromatographic data processing. J. Chromatography (1991), v.542, 247-261.
3. *Savitsky, A. and Golay, M.J.E.,* "Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures", Analytical Chemistry, v36, no.8, July 1964, pp 1627-1639

Приложение 13. Метод внутреннего стандарта – идея и воплощение

Каламбет Ю.А., *Партнеры и конкуренты (Методы оценки соответствия), № 4, 2004, с.32-36*.

Для построения градуировочной зависимости метод внутреннего стандарта [1, 2] давно и широко применяется в аналитической практике. Основные проблемы, которые он позволяет решать — уменьшение систематических погрешностей, возникающих после использования метода внешнего стандарта при вариациях объема анализируемой пробы, потерях вещества при пробоподготовке и вследствие нестабильности характеристик детектора. Суть его заключается в добавлении в анализируемую смесь чистого вещества (стандартного компонента), отсутствующего в пробе, известной концентрации, и последующий учет исходной информации (концентрация стандартного компонента) и результатов измерения (отклик детектора, соответствующий стандартному компоненту) при расчете концентраций остальных компонентов пробы.

“Традиционный” вариант реализации метода внутреннего стандарта

“Традиционная” градуировочная зависимость внутреннего стандарта строится в координатах “отношение концентраций/отношение площадей”. Под термином “внутренний стандарт” зачастую, к сожалению, понимается построение именно такого вида зависимости. В то же время градуировочная зависимость, построенная в таких координатах, не позволяет полноценно учитывать дополнительную информацию при нелинейных градуировочных зависимостях. Приведем два примера, иллюстрирующих указанную проблему.

Рассмотрим два гипотетических компонента: компонент *A* (аналит) и компонент *S* (стандарт). Градуировочные зависимости обоих компонентов, полученные методом внешнего стандарта (рис. 1), выходят на насыщение на одном и том же уровне, начальный наклон отличается вдвое.

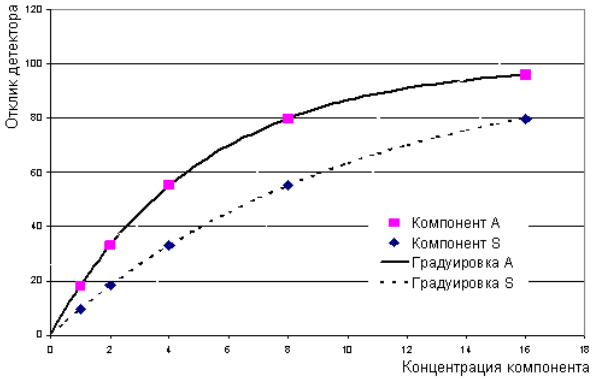


*Рис. 1. Градуировочные зависимости двух гипотетических компонентов, имеющие формулу R = (100 — exp(-Q/(k*C)), где k = 5 (компонент A) и k = 10 (компонент S). Ось концентраций при строго фиксированном объеме вводимой пробы используется вместо оси количеств. Точки для каждого компонента получены при значениях C = 1, 2, 4, 8, 16.*

Пример 1. Пусть имеется раствор, содержащий два компонента в равной концентрации. Градуировочные растворы получены разведением этого раствора в 2, 4, 8, 16 раз.

Построим график в координатах “отношение концентраций/отношение откликов детектора” (см. рис. 2).

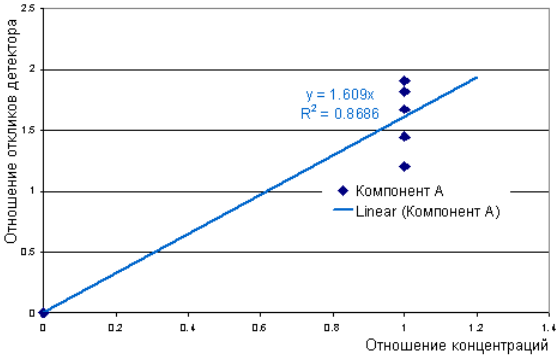


Рис. 2. “Традиционный” график градуировочной зависимости, построенный в координатах “отношение концентраций/отношение площадей”. Поскольку концентрации компонента A и стандарта для всех 5 градуировочных точек равны, их отношение дает всегда 1.0, а отношение площадей принимает разные значения.

Опытные хроматографисты наверняка возразят, что пример не жизненный, и так никто не делает. Возражение не принимается, поскольку не делает так никто, в частности, потому, что вычислительная схема (построение зависимости в указанных координатах) к такому “экстремальному” случаю не приспособлена. В самом деле, приведенный на рис. 2 график градуировочной зависимостью называться недостоин, и пытаться им воспользоваться для решения аналитической задачи, демонстрирующей его ошибочность, мы не будем.

Пример 2. Второй пример наглядно демонстрирует, что проблемы остаются и при соблюдении предположения о постоянстве концентрации внутреннего стандарта в градуировочных и тестовых анализах, к чему обычно стремятся при реализации этого метода.

Пусть при построении градуировочной зависимости компонента *A* удалось точно поддержать концентрацию компонента *S* равной 8,0. Тогда вид градуировочной зависимости компонента *A* можно получить из градуировочной зависимости, изображенной на рис. 1, перемаркированием осей.

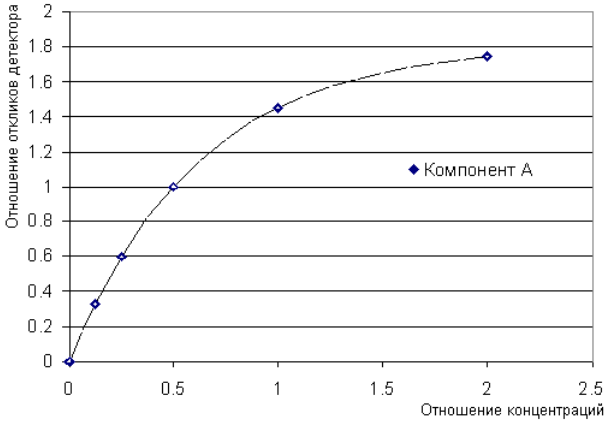


Рис. 3. Градуировочная кривая, полученная для компонента А методом внутреннего стандарта. Концентрация (количество) стандарта соответствует точке кривой S (рис. 1) с абсциссой, равной 8.0.

Предположим, что при тестовом анализе концентрация компонента *А* равна 1,0 (ее предстоит определить), концентрация компонента *S* равна 8,0, как и при градуировке, но при вводе пробы произошла ошибка, уменьшившая объем пробы на 3%. При этом отклик стандартного компонента *S* по градуировочной зависимости, приведенной на рис. 1, уменьшится на 1,98%, а отклик компонента *А* — на 2,72%. Отношение откликов будет равно 0,3267 (вместо величины 0,3292, имеющей место для соответствующей градуировочной точки на рис. 3). Найденная по градуировочной зависимости, изображенной на рис. 3, концентрация компонента *А* окажется равной 0,9917, что отличается от искомой единицы почти на 1%. Таким образом, оказывается, что цель использования метода внутреннего стандарта достигнута не в полном объеме: ошибка дозирования была компенсирована не полностью, хотя и уменьшилась.

Реализация метода внутреннего стандарта в программе “МультиХром”

В программе “*МультиХром*” [3] уже более 10 лет применяется иная схема расчета [4] в методе внутреннего стандарта, лишенная указанных недостатков.

Схема основана на том, что если градуировочная зависимость внутреннего стандарта нелинейна, то эту нелинейность следует измерить, поэтому ситуация “традиционного” подхода, где градуировочная зависимость стандарта отсутствует, неприемлема.

Введем следующие понятия и обозначения:

R — аналитический сигнал (отклик детектора) (в хроматографии — площадь или высота хроматографического пика, по выбору пользователя);

Q — масса аналита, введенная в аналитический прибор.

Обратим внимание, что использование концентрации (**C**) аналита вместо количества (**Q**) нежелательно, поскольку при этом игнорируются вариации объема дозирования.

Градуировочная функция зависимости отклика **R** от количества введенного вещества **Q** имеет вид:

$$\mathbf{R = F(Q)} \qquad (1)$$

Предсказывающая функция оценивает неизвестное воздействие $\mathbf{Q_x}$ по известному отклику $\mathbf{R_x}$:

$$\mathbf{Qx = W(R_x)} \qquad (2)$$

Предсказывающая функция (2) является обратной по отношению к градуировочной зависимости (1). Существование обратной функции налагает определенные ограничения на саму градуировочную функцию: появляется требование монотонности. К примеру, градуировка не может быть квадратичной с максимумом внутри рабочего диапазона.

Перевод количества вещества (**Q**) в концентрацию (**C**) в исходной пробе производится на основе формулы:

$$\mathbf{Cx = Q_x/V = W(R_x)/V} \qquad (3)$$

где **V** — объем введенной пробы.

Перейдем к используемым способам учета дополнительной информации о концентрации и отклике стандартного компонента.

Способы реализации метода внутреннего стандарта:

— добавление компонента известной концентрации в пробу;

— добавление компонента известной концентрации в растворы стандартных образцов.

В “традиционном” варианте используют оба способа, но можно учесть дополнительную информацию для каждого способа индивидуально.

Добавление стандартного компонента в пробу — относительная концентрация

При известных градуировочных зависимостях (внешний стандарт) всех компонентов и известной концентрации стандартного компонента очень просто вычислить объем введенной пробы, используя соответствующий градуировочный график и значение концентрации:

$$V_x = Q_{x,\,is}/C_{x,\,is} = Wis(R_{x,\,is})/C_{x,\,is} \qquad (4)$$

где **V** — объем пробы; нижний индекс **x** относится ко всем величинам, полученным при анализе пробы неизвестного состава; индекс **is** приписан величинам, относящимся к внутреннему стандарту.

Зная количество вещества, достигшего детектора, для **i**-го компонента $Q_{x,\,i} = W_i(R_{x,\,i})$ и объем введенной пробы (4), несложно получить значение относительной концентрации компонента в исходном растворе:

$$C_{x,\,i} = Q_{x,\,i} / Vx = C_{x,\,is} \times W_i(R_{x,\,i}) / W_{is}(R_{x,\,is}) \qquad (5)$$

Таким образом, знание величины относительной концентрации позволяет рассчитывать концентрацию неизвестного компонента при условии известной концентрации стандарта. Эта концентрация может существовать наряду с концентрацией, рассчитанной обычным образом (абсолютная концентрация) по формуле (3).

“Универсальная” градуировка с добавкой стандарта

Если градуировочная зависимость нелинейна, необходимо измерить эту нелинейность, измерив градуировочную зависимость компонента — внутреннего стандарта.

Измерив эту зависимость методом внешнего стандарта, для остальных компонентов пробы применяем тот же прием, как при расчете относительной концентрации, изменяя координаты градуировочных точек по оси **Q**:

$$Q_n = C_n \times V = C_n \times W_{is}(R_{is})/C_{is} \qquad (6)$$

где индекс **n** относится к номеру градуировочной точки, а C_{is} — концентрация стандарта в градуировочной пробе, соответствующей этой точке.

Таким образом, для стандартного компонента используется заранее измеренная градуировка, все остальные компоненты получают “условные” градуировки, в качестве условия выступает известная градуировка внутреннего стандарта.

В приведенном выше модельном примере 2, где “дает осечку” “традиционный” подход, “универсальная” градуировка будет совпадать с градуировкой, полученной методом внешнего стандарта, и применение метода внутреннего стандарта сведется к расчету относительной концентрации по формуле (5). Восстановленное таким образом значение концентрации компонента А оказывается в точности равным 1,0.

В программе “*МультиХром*” предусмотрена также упрощенная схема построения “универсальной” градуировки, при которой зависимость стандартного компонента предполагается линейной и проходящей через ноль. При этом внутренний стандарт получает градуировочный коэффициент 1,0, а все остальные компоненты — относительные градуировочные коэффициенты. При использовании упрощенной схемы можно использовать только относительные концентрации, поскольку использование абсолютных концентраций не имеет смысла.

В самом деле, умножение предсказывающей функции градуировки стандарта на какой-либо коэффициент **K** приводит к тому, что координата **Q** всех градуировочных точек других компонентов умножится на то же число, и соответствующие предсказывающие зависимости получаются из прежних (существовавших до умножения градуировки стандартного компонента на **K**) умножением на тот же коэффициент **K**. Если перед исследователем не стоит задача определения абсолютных концентраций, и есть основания полагать, что градуировка стандартного компонента линейна и проходит через ноль, то несложно выбрать коэффициент **K** так, чтобы результирующий коэффициент предсказывающей функции стандарта оказался равен 1,0, при этом коэффициенты всех остальных градуировочных зависимостей будут относительными. Даже внешне такая ситуация напоминает “традиционный” подход: градуировка стандарта тривиальна, остальные компоненты получают градуировки с коэффициентами, отражающими относительный отклик детектора в сравнении со стандартом.

Учет приборного дрейфа

Представленная схема вычислений подразумевает, что основная систематическая погрешность (ввод пробы, потери при пробоподготовке) приводит к изменению положения градуировочных точек по оси количества, и эта ошибка практически полностью устраняется при использовании метода внутреннего стандарта.

Существует также иной потенциальный источник погрешностей: нестабильность характеристик прибора. Эта составляющая может приводить к изменению отклика детектора (площади или высоты) при неизменном количестве. Примененная методика может частично или полностью компенсировать и этот эффект — в той мере, в какой в диапазоне градуировки стандартного компонента зависимость **kF(Q)** может быть аппроксимирована зависимостью **F(KQ)**. Это, к примеру, всегда имеет место при степенной зависимости $R=KQ^a$, в частности при линейной зависимости.

Преимущества и недостатки описанной схемы расчетов

Преимущества. Метод внутреннего стандарта доступен и адекватен при работе с нелинейными градуировочными зависимостями и при широком диапазоне концентраций стандартного компонента.

Недостатки. При нелинейных зависимостях требуется градуировка стандартного компонента методом внешнего стандарта. Недостатком схемы расчета это не является. Это недостаток методики анализа.

Повторная градуировка

Одно из достоинств метода внутреннего стандарта состоит в его “традиционной” схеме — необходимость в более редкой по сравнению с методом внешнего стандарта процедуре повторного построения градуировочной зависимости. Проверим необходимость повторной градуировки в представленной схеме.

Упрощенная процедура “универсальной” градуировки с единичным коэффициентом для стандартного компонента и расчетом относительных коэффициентов для остальных компонентов в целом эквивалентна “традиционной” схеме, и все соображения и наблюдения относительно “традиционной” схемы будут применимы и здесь — относительные коэффициенты более постоянны, чем абсолютные, и разница в деталях вычислительной процедуры их расчета на результат не влияет (более того, выбором схемы взвешивания точек при расчете градуировочных коэффициентов разница процедур может быть полностью ликвидирована). Использовать в таких условиях можно лишь относительную концентрацию.

При нелинейной градуировке стандартного компонента измерение этой градуировочной характеристики производится в определенных условиях (температура, состояние детектора и т.д.), а измерение характеристик остальных компонентов может происходить в других условиях. За счет использования в формулах построения “универсальных” зависимостей остальных компонентов градуировки стандарта происходит как бы приведение условий измерения остальных компонентов к условиям измерения градуировки стандарта. При этом использование относительных концентраций позволит получить адекватный результат, а использование абсолютных концентраций будет зависеть от качества градуировки внутреннего стандарта. Особенно привлекательным вариантом работы с “универсальной” градуировкой может стать применение схем с более частой повторной градуировкой стандарта и заметно более редкой остальных компонентов.

Если все градуировочные характеристики измеряются одновременно, то большой разницы между значениями относительной концентрации, рассчитанными по градуировке внешнего стандарта или “универсальной”, не возникает. При использовании только относительной концентрации частота переградуировок должна определяться в каждом конкретном случае. По нашему мнению, она ближе к частоте, характерной для метода внутреннего стандарта. Значения абсолютной концентрации соответствуют методу внешнего стандарта, и при ее использовании возникает необходимость в более частой повторной градуировке.

Выводы

1. Метод внутреннего стандарта “расщепляется” на две вычислительные части: расчет относительной концентрации и “универсальную” градуировку.

2. Относительная концентрация учитывает информацию о концентрации и отклике стандартного компонента в пробе, и может быть рассчитана по градуировочным зависимостям как внешнего стандарта, так и “универсальной”.

3. “Универсальная” градуировка учитывает информацию о концентрации и отклике стандартного компонента в градуировочных образцах и строится в предположении известной градуировочной зависимости компонента — внутреннего стандарта (построенной методом внешнего стандарта).

4. Существует упрощенная схема, в которой градуировка внутреннего стандарта принимается линейной, проходящей через начало координат, с коэффициентом, равным единице. При этом остальные компоненты получают относительные градуировочные коэффициенты. “Универсальная” градуировка, построенная по упрощенной схеме, совместно с расчетом относительной концентрации, может использоваться при линейной проходящей через начало координат зависимости стандарта вместо “традиционной” градуировки методом внутреннего стандарта.

5. “Универсальная” градуировка, построенная по полной схеме, может использоваться для вычисления как абсолютной, так и относительной концентраций.

6. Представленная схема расчетов методом внутреннего стандарта продолжает “работать” там, где “традиционная” “дает осечку”, т.е. позволяет адекватно учесть значение концентрации и отклика детектора внутреннего стандарта при нелинейных градуировочных зависимостях в широком диапазоне концентраций.

Использованная литература

1. Ray N.H. // J. Appl. Chem. — 1954. — V. 4. — P. 21.

2. Yost R.W., Ettre L.S., Conlon R.D. Practical Liquid Chromatography. An Introduction. — Perkin-Elmer, 1980.

3. Программно-аппаратный комплекс “МультиХром для Windows”. — © ЗАО “Амперсенд”, 1993—2004.

4. Каламбет Ю.А., Козьмин Ю.П. Калибровка методом внутреннего стандарта при нелинейных калибровочных зависимостях // Руководство по современной тонкослойной хроматографии / Под ред. О.Г. Ларионова. — М.: Научный Совет Российской Академии Наук по хроматографии, 1994. — С. 180—184.

Приложение 14. Дополнительные сведения по используемым формулам и выполняемым процедурам

Экспоненциально-модифицированная функция Гаусса

Обычно экспоненциально-модифицированная функция Гаусса (ЭМГ) представляется в следующем виде:

$$F(t)=\frac{h\cdot\sigma}{\tau}\sqrt{\frac{\pi}{2}}\cdot e^{\left(\frac{\sigma^2}{2\tau^2}-\frac{t-\mu}{\tau}\right)}\cdot\left(1-\operatorname{erf}\left(\left(\frac{\mu-t}{\sigma}+\frac{\sigma}{\tau}\right)\Big/\sqrt{2}\right)\right)=\frac{h\cdot\sigma}{\tau}\sqrt{\frac{\pi}{2}}\cdot e^{\left(\frac{\mu-t}{\tau}+\frac{\sigma^2}{2\tau^2}\right)}\cdot\operatorname{erfc}\left(\left(\frac{\mu-t}{\sigma}+\frac{\sigma}{\tau}\right)\Big/\sqrt{2}\right)\quad(1)$$

Недостатком такого представления является тот факт, что в представляющих практический интерес случаях можно легко попасть в ситуацию, когда экспонента окажется числом, слишком большим для вычисления в компьютере, а erfc – слишком маленьким, т.е. мы получим неопределенность в виде произведения нуля на бесконечность.

Формула (1) может быть преобразована к иному виду:

$$F(t)=\frac{h\cdot\sigma}{\tau}\sqrt{\frac{\pi}{2}}\cdot e^{\frac{-(\mu-t)^2}{2\sigma^2}}\cdot \mathrm{erfcx}\left(\left(\frac{\mu-t}{\sigma}+\frac{\sigma}{\tau}\right)\Big/\sqrt{2}\right) \qquad (2)$$

Тем самым получается очень удобное выражение функции ЭМГ, которое представляет собой произведение исходной «немодифицированной» гауссианы и статистической функции erfcx, вычисляемой теми же математическими библиотеками, что и erf и erfc. Это представление дает возможность вычислять ЭМГ в некоторых из тех случаях, когда не работает формула (1). В то же время (2) не может полностью заменить (1), поскольку и у нее есть своя область неопределенности, то есть, обе формулы могут оказаться неприменимыми при большой величине отношения σ/τ. Однако можно показать, что выражение (2) при малых величинах τ стремится к обычной гауссиане:

$$\lim_{\tau\to+0}F(t,\tau)=h\cdot e^{\frac{-(\mu-t)^2}{2\sigma^2}}\cdot\lim_{\tau\to+0}\left(\frac{\sigma}{\tau}\sqrt{\frac{\pi}{2}}\cdot\mathrm{erfcx}\left(\left(\frac{\mu-t}{\sigma}+\frac{\sigma}{\tau}\right)\Big/\sqrt{2}\right)\right)=h\cdot e^{\frac{-(\mu-t)^2}{2\sigma^2}} \qquad (3)$$

и начиная с некоторых значений этого параметра различия в результатах вычислений по формулам (2) и (3) не выходят за пределы допустимой погрешности.

При выполнении расчетов программой *МультиХром* разделение областей применения формул (1), (2) и (3) производится по величине параметра $z=\frac{\tau}{|\tau|}\left(\frac{\mu-t}{\sigma}+\frac{\sigma}{\tau}\right)$:

при $z>6.71\cdot10^7$ используется формула (3), $6.71\cdot10^7\geq z\geq0$ формула (2), $z<0$ формула (1).

Используемые функции:

$$\mathrm{erf}(x)=\frac{2}{\sqrt{\pi}}\int_0^x e^{-t^2}dt$$

$$\mathrm{erfc}(x)=1-\mathrm{erf}(x)=1-\frac{2}{\sqrt{\pi}}\int_0^x e^{-t^2}dt=\frac{2}{\sqrt{\pi}}\int_x^\infty e^{-t^2}dt$$

$$\mathrm{erfcx}(x)=e^{x^2}\,\mathrm{erfc}(x)=e^{x^2}\left(1-\frac{2}{\sqrt{\pi}}\int_0^x e^{-t^2}dt\right)=\frac{2}{\sqrt{\pi}}e^{x^2}\int_x^\infty e^{-t^2}dt$$

$$erfcx(0)=1$$

$$\lim_{x\to-\infty}erfcx(x)=+\infty$$

$$\lim_{x\to+\infty}erfcx(x)=\lim_{x\to+\infty}\left(\frac{1}{x\sqrt{\pi}}\right)=0$$

Построение градуировочной зависимости методом наименьших квадратов

Для выбранного типа кривой программа производит оптимизацию коэффициентов таким образом, чтобы минимизировать величину суммы по всем градуировочным точкам:

$$\sum C_i\cdot(Y_i-Y_{0i})^2/(n-f),$$

где $\boldsymbol{i}$ – номер градуировочной точки, $\boldsymbol{Y_i}$ и $\boldsymbol{Y_{0i}}$ – значение концентрации, рассчитанное по формуле, и заданное в **Таблице концентраций** соответственно, $\boldsymbol{C_i}$ – весовые коэффициенты, $\boldsymbol{n}$ – число точек, $\boldsymbol{f}$ – число степеней свободы (коэффициентов полинома).

Величины $\boldsymbol{C_i}$ могут выбираться в списочном поле **Стат.вес**:

1	суммирование абсолютных погрешностей
1/X², *1/Y²*	суммирование относительных погрешностей
1/X, *1/Y*	суммирование погрешностей, независящих от величины сигнала (используется в случае дробового шума)

Список цитируемой литературы

1. S.D.Brown, T.Q.Barker, R.J.Larivee, S.L.Monfre, and H.R.Wilk. Anal.Chem., 1988, v.60, p252R-273R.

2. Каламбет Ю.А., Партнеры и конкуренты (Методы оценки соответствия), № 4, 2004, с.32-36 (см. ***Приложение 13***)

3. N.H.Ray. J.Appl.Chem., 1954, v.4, p.21

4. Yu.A.Kalambet, Yu.P.Kozmin, M.P.Perelroyzen // Computer spectrochromatography. Principles and practice of multi-channel chromatographic data processing. J. Chromatography (1991), v.542, 247-261.

Предметный указатель

COM-порт, 5-6, 5-13, 5-34–5-36
GALP, 1-4
GLP, 1-4, 1-16, 5-12, 5-26
  журналы, раздел отчета, 4-44, 4-84, 5-18
Good Automated Laboratory Practice. *См.* GALP
Good Laboratory Practice. *См.* GLP
USB/COM конвертор, 2-3, 2-4, 2-7, 5-7, 5-34
USB-порт, 2-3, 2-4, 2-7, 2-8, 5-34–5-36
Абсолютная градуировка, 4-46
Абсолютная концентрация, 3-28, 4-71, 4-88, 4-92
Автомасштабирование, 3-9, 4-10
Автоматическая градуировка, 4-55
Автоматическая переградуировка, 4-57
Анализ неизвестного образца, 3-26, 4-68
Аналого-цифровой преобразователь, 1-8
Асимметрия, 3-10, 4-31, 4-88
АЦП, 1-8, 2-3, 2-6, 5-7
  выносной модуль Е-18, 5-11
  выносной модуль Е-24, 5-7
  динамический диапазон, 1-8
  дискрет, 1-9
  настройка, 5-3
Базовая линия, 4-28
  выбор цвета, 4-13
  измерение до начала анализа, 3-6
Безопасность, 4-3
  замкнуть программу, 4-5
  пароль, 4-4, 4-5
  список пользователей, 4-3
  уровень доступа, 4-4
Векторы спектров, 4-119
Вершина пика, 4-28, 4-38
Вид, диалоговое окно, 4-10
Внутренняя нормализация, 3-17, 4-91
Выбрать канал, диалоговый лист, 4-113
Вычесть хроматограмму, диалоговое окно, 4-79
Вычисляемый канал, 4-25, 4-116
  Сигнал/Время. *См.* Сигнал/Время
  Средний отклик. *См.* Средний отклик
  Сумма s/n. *См.* Сумма s/n
Газовая хроматография
  Газ, лист Паспорта, 4-17
  настройка интерфейса, 4-27
Гаусс-аппроксимация хроматографических пиков, 4-40
Главное меню, 1-10
Главное окно, 1-10
Глобальные параметры, 4-67
Гомогенность пика, 4-119
Градуировка, 1-16, 4-45
  абсолютная, 4-45, 4-46
  автоматический режим, 4-55
  Внешний стандарт, метод, 4-45, 4-46, 4-63
  Внутренний стандарт, метод, 4-45, 4-46, 4-63
  использование очереди, 4-55
  историческая, 3-36, 4-57, 4-59, 4-60
  методы, 4-63
  многоточечная, 4-45
  окно, 3-24, 4-61
  параметры, раздел отчета, 4-84
  результаты, раздел отчета, 4-84
  результаты, хранение и обновление, 4-67
  ручная, 4-61
  Табличный метод, 4-46, 4-47, 4-64
Градуировочная зависимость, 3-20, 3-24, 4-62
Градуировочная смесь, 3-21
Градуировочная точка, 4-51
Градуировочная хроматограмма, 3-15, 3-36, 4-58
Градуировочные коэффициенты, *4-65*
Градуировочные кривые, 4-64
  выбор типа, 4-65
  отбраковка точек, 4-66
Группа, 4-50, 4-91, 4-124
Делитель частоты, 3-13
Детектор пиков, 4-29
Диалоговые листы, 1-14
Диалоговые окна, 1-14
Дискрет АЦП, 1-9
Добавить точку, окно, 3-18
Долина между пиками, 4-28, 4-38
Дрейф базовой линии, 4-30, 5-24
  данные в отчете, 4-84, 5-23
  компенсация, 4-10
Дрейф времени удерживания, 4-61, 4-69, 4-71
Другие пики, 4-70
Единицы концентрации, 4-52
Жидкостная хроматография
  настройка интерфейса, 4-27
Журнал
  GLP, раздел отчета, 4-84
  данных, диалоговый лист, 4-18
  метода, диалоговый лист, 4-17
Заголовок окна, 1-14
Задержка, 4-30
Заказной метод расчета, 3-29, 4-92
Замкнуть программу, 4-5
Защитный ключ, 2-4
Значимые факторы, 4-120
Идентификация пиков, 1-17, 3-21, 4-68
  другие пики, 4-70
  настройка параметров, 4-69
  окно, 3-22, 4-69
  реперные пики, 4-70
Измерение
  диалоговый лист, 4-19
  малых пиков, 4-33
  раздел отчета, 4-84
Импорт хроматограмм, 4-125
  формат, 4-125, 4-127
Индексы удерживания, 4-72, 4-90
  внешняя шкала, 4-73
  внутренняя шкала, 4-73
  расчет, 4-73, 4-92
Интегрирование, 1-16, 4-28
  базовая линия, 4-28
Интерполировать начало и конец базовой линии, 4-33
Интерфейсы, 2-6, 5-3
Канал
  вычисляемый, 4-116
  опорный, 4-66, 4-118, 4-122
  разметки, 4-119
  текущий, 4-114
Каналы
  диалоговый лист, 4-20
  перемещение, 4-117
  сдвиг, 4-117, 5-5
  синхронизация, 4-117
  удаление, 4-117
Капиллярный электрофорез, 4-104
  настройка интерфейса, 4-27
Каталоги, 1-16
Клавиатура
  использование в режиме редактора пиков, 3-12, 5-15
  полезные комбинации клавиш, 5-15
  управление изображением хроматограммы, 5-14

Ключ активации, 2-5, 2-8
Количество, 4-16, 5-17
Колонка, диалоговый лист, 4-16
Комментарий, диалоговый лист, 4-17
Компонент
  окно, 3-23, 3-24, 4-62
  реперный, 4-70, 4-90
  стандартный, 4-64
  универсальный, 3-17, 4-50
Конец пика, 4-28, 4-38
Конфигурация системы, 2-6
Концентрация
  абсолютная, 3-28, 4-71, 4-88, 4-92
  относительная, 3-28, 4-72, 4-89, 4-92
Коэффициенты градуировочные, *4-65*
Курсор, 4-37
Лицензионное соглашение, 1-6
Локальные параметры, 4-67
Малые пики, измерение, 4-33
Метки, диалоговый лист, 4-12
Метод, 1-16
Метод внутреннего стандарта, 4-46, 5-28
Метод расчета, 3-28
  абсолютная концентрация, 4-71, 4-92
  внутренняя нормализация, 3-17, 3-28, 4-71, 4-91
  заказной, 3-29, 4-92
  индекс, 4-92
  нормировка отклика, 3-13, 3-17, 4-71, 4-91
  относительная концентрация, 3-29, 4-72, 4-92
  тест колонки, 4-92
Мин. высота, 3-11, 4-31
Мин. площадь, 3-11, 4-31
Многоканальные хроматограммы, 4-112
  градуировка, 4-66
  интервал между графиками, 4-114
  настройка интерфейса, 4-114
  настройка метода, 4-115
  перемещение каналов, 4-117
  разметка на пики, 4-30, 4-118
  расчет концентраций, 4-122
  удаление каналов, 4-117
  факторный анализ, 4-119
  формирование из одноканальных, 4-36, 4-123
Мышь
  использование для масштабирования изображения, 3-8
Наездник, 4-28, 4-32
Настройка АЦП, 5-3
  параметры каналов, 5-4
Настройка метода, диалоговое окно, 4-19
Настройка отчета, 1-16
Настройка принтера, 4-97
Настройка шрифтов, 5-20
  работа на русском языке, 5-20
Начало пика, 4-28, 4-38
Нормировка, 3-26, 4-16
Нормировка отклика, 3-13, 4-91
Обозначения, 5-16
Обработка хроматограмм, 4-78
Обработка, диалоговый лист, 3-5, 4-22
Общие настройки, окно, 5-12
Общие, диалоговый лист, 4-14
Обычная хроматограмма, 3-36, 4-58
Однородность, 4-119
Окна
  каскадное расположение, 1-11
  размеры и положение, 1-12
Окно%, 4-50, 4-68
Опорный канал, 4-66, 4-118, 4-122
Оси, диалоговый лист, 4-11
Особые точки
  вершина пика, 4-28, 4-38
  долина между пиками, 4-28, 4-38
  конец пика, 4-28, 4-38
  начало пика, 4-28, 4-38
Отклик, 4-63, 4-64, 4-67, 4-71, 4-91
Отклик детектора, 3-14, 3-20, 3-23, 4-45, 4-46
Открытие хроматограммы, диалоговое окно, 4-6
Относительная концентрация, 3-28, 4-72, 4-89, 4-92
Отрицательные пики, 4-32
Отчет, 1-17, 3-27, 3-38, 4-82
  вывод в файл, 4-98
  вывод на принтер, 4-95
  вывод на экран, 4-95
  разделы отчета, 4-83, 4-84
  формат файла, 5-18
Очередь, 3-29
  автоматическая градуировка, 4-55
  редактирование таблицы, 4-75
  режим исполнения, 3-31, 4-77
  создание, 3-30, 4-73
Пакет, 3-29
  редактирование таблицы, 3-34
  создание, 3-32
Пакетный пересчет, 3-33, 3-34
  изменение в файле метода, 3-38
  изменение вида хроматограммы, 3-37
  изменение опций отчета, 3-38
  изменение паспорта, 3-37
  объединение в многоканальную хроматограмму, 4-36, 4-123
  переградуировка, 3-35, 4-57
  переразметка, 3-36
  пересчет концентраций, 3-37
  схемы переградуировки, 3-36
Параметры градуировки
  глобальные, 4-67
  локальные, 4-67
Параметры разметки
  асимметрия, 3-10, 4-31
  диалоговое окно, 4-29
  задержка, 4-30
  интрепол. начало/конец базовой линии, 4-33
  мин. высота, 3-11, 4-31
  мин. площадь, 3-11, 4-31
  наездник, 4-32
  отрицательные пики, 4-32
  полуширина, 4-30
  порог, 3-10, 4-31
  предложить, 3-10
  раздел отчета, 4-84
  уширение, 4-30
Параметры страницы, 4-96
Пароль, 3-3, 4-4
  настройка, 4-5
Паспорт, 1-16
ПВЭТТ, 4-87
Переградуировка, 3-35
  автоматический режим, 4-57
  ручной режим, 4-61
Переразметка, 3-36
  по результатам Гаусс-аппроксимации пиков, 4-43
  по результатам факторного анализа, 4-122
  ручная, 4-37
Пик, 4-28
  вершина, 4-28
  гомогенность, 4-119
  конец, 4-28
  -наездник, 4-28
  начало, 4-28
Пики, смежные (неразделенные, слившиеся), 4-28, 4-29, 4-40, 4-87

Пиктографическое меню, 1-10
Подвижность электрофоретическая, 4-107
калибровочные значения, 4-107
компонент-маркер, 4-107
реперные пики, 4-108
Подсказка, 1-10
Полуширина, 4-30, 4-85
Пользователь
имя, 3-3, 4-4
пароль, 4-4
смена, 4-5
список, 4-3
Помощь, 1-10
Порог, 3-10, 4-31
Порт компьютерный
COM, 2-3–2-8, 5-13, 5-34–5-36
USB, 2-3, 2-4, 2-7, 2-8, 5-34–5-36
Предложить, 3-10
Проба, диалоговый лист, 4-15
Продолжительность хроматограммы, 3-5
Разделитель, 4-93
Разметка, 1-16
автоматическая, 4-29
выбор канала, 4-119
ручная коррекция, 3-11, 4-37
события интегрирования, 4-33
Разрешение, 4-86
Ранг, 4-120
Редактор очередей, 3-31, 4-73
поля таблицы очереди, 4-74
правила работы с таблицей, 4-74
Редактор пакетов, 3-34, 4-77
поля таблицы пакета, 4-78
Редактор пиков, 3-11, 4-37
особые точки, 4-38
Реперные пики, 3-22, 4-50, 4-69, 4-70, 4-108
Сбор данных, 1-16
Сдвиг, 4-117, 5-5
Сжатие хроматограммы, 3-13
диалоговое окно, 4-79
Сиганл/Время, 4-25, 4-105, 4-113, 4-116, 4-117
Сигнал/Время, 4-105
Синхронизация каналов
автоматическая, 4-118
сдвиг, 4-117
СКО (среднеквадратичное отклонение)
аппроксимация градуирововчной зависимости, 3-25, 4-63, 4-65
статистическая обработка результатов анализов, 4-101
шум, 4-84, 5-22, 5-24
Смежные пики, 4-28, 4-29, 4-40, 4-87
События интегрирования, 4-33
база долина-к-долине, 4-35
базовая линия, 4-36
запрет интегрирования, 4-34
наездник, 4-37
начало / конец пика, 4-37
отбраковка пиков, 4-35
отрицательные пики, 4-34
расщепить пик, 4-37
режим одного пика, 4-36
сквозная базовая линия, 4-37
точка базовой линии, 4-37
установить горизонтальную базу назад, 4-37
установить минимальную высоту, 4-37
установить полуширину, 4-37
установить порог, 4-37
форсировать/отменить горизонтальную базу, 4-37
форсировать/отменить горизонтальную базу назад, 4-37
Спектральные отношения, 4-91
раздел отчета, 4-84
Спектры, 4-119
векторы, 4-119
изменение угла, 4-119, 4-122
Средний отклик, 4-25, 4-28, 4-30, 4-113, 4-116, 4-122
Стандарт, 3-26, 4-16, 4-89, 4-90
Стандартная добавка, 4-65, 4-67
Стандартный компонент, 4-45, 4-47, 4-63, 4-64, 4-67
Статус процесса, 1-13, 5-20
Сумма s/n, 4-25, 4-28, 4-30, 4-113, 4-116, 4-122
Таблица каналов
интерфейсы, 5-4
многоканальные хроматограммы, 4-117
раздел отчета, 4-84
Таблица компонентов, 3-15, 4-48, 4-54
группа, 4-50
индекс, 4-50
окно%, 4-50
раздел отчета, 4-84
репер, 4-50
фактор отклика, 4-50
Таблица концентраций, 3-17, 3-18, 4-51, 4-54
Таблица очереди
поля, 4-74
редактирование, 4-74, 4-75
Таблица пакета
поля, 4-78
редактирование, 4-74
Таблица пиков
индекс, 4-90
номер группы, 4-91
Табличный метод градуировки, 4-47
Табулятор, 4-93
Тангента, 4-28
Текущий канал, 4-114
Тест колонки, 4-92
Тип компонента, 4-90
Угол между векторами спектров, 4-119, 4-122
Удерживание
выбор единиц для графика, 4-11
обновление, 4-70
ожидаемое время, 4-49
определение для для асимметричных пиков, 4-94
Универсальный компонент, 4-50
Урезать данные хроматограммы, диалоговое окно, 4-80
Уровень нуля, 3-8, 4-9
Установка программы, 2-4
Уширение, 4-30
Файлы
импорта, 4-125, 4-127
методов, 1-16, 2-7, 3-38
отчетов, 5-18
очередей, 3-29, 4-73
пакетов, 3-29, 3-33, 4-58
устройств, 5-3
формат
_RD, 4-125
AIA, 4-125, 5-21
bar, 3-29, 4-58
cdf, 4-125
chm, 4-125
chr, 4-125
chw, 1-16, 4-6
dew, 5-3
mtw, 1-16
que, 3-29, 4-73
rtt, 3-27, 4-82, 4-83, 4-93, 4-107, 5-18
txt, 4-126
хроматограмм, 1-16
экспорта, 4-126, 4-127

Фактор отклика, 3-25, 4-50, *4-65*
Фактор удерживания, 4-85
Факторный анализ, 4-119
значимые факторы, 4-120
процедура, 4-119
результаты переразметки, 4-122
Фильтры, 1-16
диалоговый лист, 4-21
Формулы, диалоговый лист, 4-24
Хроматограмма, 1-16
градуировочная, 3-15, 3-36, 4-58
имя файла, 3-9, 4-6
копировать, 4-7
масштабирование, 4-8
многоканальная, 4-112
обычная, 3-36, 4-58
окно, 1-10, 1-13
открытие, 4-6
перевернуть, 4-80
переместить, 4-8
-пример, 3-35, 4-59
продолжительность, 3-5
сжать, 4-79
удалить, 4-8
урезать, 4-80
Хроматограммы
вычитание и сложение, 4-79
объединение в многоканальную, 4-36, 4-123
Хроматографический процесс, выбор типа, 4-27
Цвета, диалоговый лист, 4-12
Шрифты
для графиков, 5-21
для диалогов, 5-21
для отчетов, 5-21
для таблиц, 5-21
Шум, 5-22
данные в отчете, 4-84
пик-к-пику, 4-84, 5-23, 5-24
СКО, 4-84, 5-22, 5-24
Экспорт хроматограмм, 4-126
в текстовом формате, 4-127
в формате AIA, 4-127
через буфер обмена, 4-126
через файлы отчета, 4-126
Электроосмотический поток, 4-107
Элюент, диалоговый лист, 4-17
Эффективность, 4-86

Man_r17-book-7d(A-24).doc 6/30/2014 3:51:00 PM