

Программно-аппаратный комплекс МультиХром

**ПО МультиХром версия 1.8
АЦП А-24/1**

Краткая инструкция по установке и началу работы

АМПЕРСЕНД

2022

КОНТАКТЫ

E-mail: support@ampersand.ru ("горячая линия")

Интернет: www.multichrom.ru

Телефон: (499) 322 99 61, (916) 675 25 92

Почтовый адрес: 117437, Москва, а/я 14

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ И ТОРГОВЫЕ МАРКИ АВТОРСКИЕ ПРАВА

МультиХром, АМПЕРСЕНД - ООО "АМПЕРСЕНД"

MS WINDOWS - *Microsoft, Corp.*

© ООО "АМПЕРСЕНД"

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

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
СБОР ДАННЫХ	4
Аналого-цифровое преобразование	4
Единицы измерения	5
ОБЩЕЕ ЗНАКОМСТВО С ПРОГРАММОЙ	5
ОБЩИЙ ВИД И ГЛАВНОЕ МЕНЮ	5
Окно хроматограммы	6
Диалоговые окна	7
Хроматограммы и методы	7
Обработка данных	8
ЗАПУСК И НАСТРОЙКА	8
Требования к компьютеру	8
Установка АЦП	9
Установка программы	10
Запуск программы	10
Настройка конфигурации системы	11
Проверка правильности подключения	11
Дополнительные настройки	11
Внесение изменений в файлы методов	12
РУКОВОДСТВО ДЛЯ НАЧИНАЮЩИХ	12
ЭТАП 1. ЗАПУСК ПРОГРАММЫ	12
ЭТАП 2. ЗАПУСК ХРОМАТОГРАММЫ	13
Запуск метода	13
Задание параметров на листе Общие	14
Настройка параметров обработки	14
Настройка режима измерения	15
Запуск анализа	16
Сохранение метода	16
ЭТАП 3. ПРОЦЕДУРЫ, ВЫПОЛНЯЕМЫЕ ВО ВРЕМЯ ПРИЕМА ХРОМАТОГРАММЫ	16
Заполнение Паспорта хроматограммы	16
Операции с изображением хроматограммы	17
ЭТАП 4. ОКОНЧАНИЕ ХРОМАТОГРАММЫ	18
ЭТАП 5. НАСТРОЙКА АЛГОРИТМА ИНТЕГРИРОВАНИЯ	18
ЭТАП 6. РЕДАКТОР ПИКОВ	20
ЭТАП 7. НАСТРОЙКА ЧАСТОТЫ СБОРА ДАННЫХ И ФИЛЬТРАЦИЯ ШУМОВ	21
ЭТАП 8. ОБРАБОТКА ДАННЫХ, НЕ ТРЕБУЮЩАЯ ГРАДУИРОВКИ	22
ЭТАП 9. ПЕРЕЗАПУСК МЕТОДА	22
ВВЕДЕНИЕ В ПРОЦЕДУРУ ГРАДУИРОВКИ	22
ЭТАП 10. ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВОЙ ГРАДУИРОВОЧНОЙ ХРОМАТОГРАММЫ	23
ЭТАП 11. СОЗДАНИЕ ТАБЛИЦЫ КОМПОНЕНТОВ	23
ЭТАП 12. СОЗДАНИЕ ТАБЛИЦЫ КОНЦЕНТРАЦИЙ	25
ЭТАП 13. ПОЛУЧЕНИЕ ГРАДУИРОВОЧНОЙ ЗАВИСИМОСТИ	27
Получение всех градуировочных хроматограмм	28
Проверка и корректировка идентификации пиков	28
ЭТАП 14. ПРОСМОТР И РЕДАКТИРОВАНИЕ ГРАДУИРОВОЧНЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ	32
ЭТАП 15. АНАЛИЗ НЕИЗВЕСТНОГО ОБРАЗЦА	33
ЭТАП 16. ВЫВОД ОТЧЕТА	34
Изменение метода расчета	35
ПРИЛОЖЕНИЯ	37
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 АНАЛОГО-ЦИФРОВОЙ ПРЕОБРАЗОВАТЕЛЬ А-24/1	37
Спецификация	37
Подключение АЦП к хроматографу и компьютеру	37
Особенности работы при использовании нескольких АЦП	39
ПРИЛОЖЕНИЕ 2 ВОЗМОЖНЫЕ НЕИСПРАВНОСТИ И ИХ УСТРАНЕНИЕ	40

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 отличается высоким научным уровнем решения проблем сбора, обработки и хранения хроматографических данных в сочетании с простым и интуитивно понятным интерфейсом пользователя и доступными ценами.



Краткая инструкция поможет выполнить установку ПО и АЦП, получить первые хроматограммы и познакомиться с обработкой данных, градуировкой и выполнением первых анализов, а также получением отчетов. Более подробную информацию, в том числе, по ссылкам из данной инструкции, можно найти в Руководстве пользователя, раздел Справочник по основным операциям на поставочном диске Manuals/Manual 18.pdf

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 хроматографической 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. 24-битные АЦП полностью перекрывают весь диапазон сигналов для любых типов детекторов.

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. Не рекомендуется поднимать частоту измерений выше частоты электрической сети (50 Гц).

Основным АЦП, рекомендуемым в настоящее время для использования в системе *МультиХром*, являются прецизионные АЦП А-24/1 и А-24, выполненные в виде выносного модуля. Если требуется больше 1-2 каналов, возможно подключить одновременно несколько АЦП. Могут использоваться также более ранние модели - двух- или четырехканальный АЦП Е-24 (англоязычное название 24-bit AD Converter) и двухканальный АЦП Е-18. Все перечисленные АЦП пригодны для решения как рутинных, так и сложных исследовательских задач.



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 СОМ-порт.

Единицы измерения

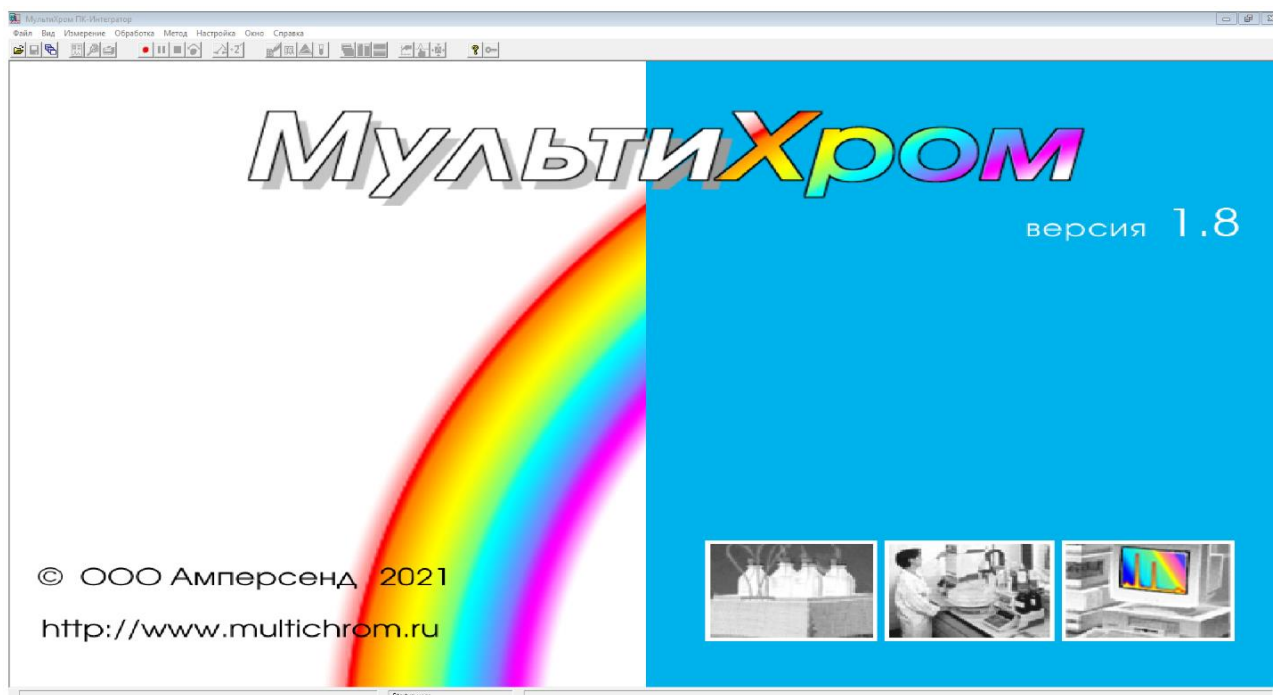
Измерение сигнала при использовании АЦП производится путем передачи на вход компьютера числа, равного отношению напряжения на входе АЦП к минимальному изменению напряжения (*дискрету* АЦП), который соответствует изменению значения на выходе на одну единицу. Таким образом, исходной величиной измеряемого 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 А-24/1 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 функцией 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.

Общее знакомство с программой

Общий вид и главное меню

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



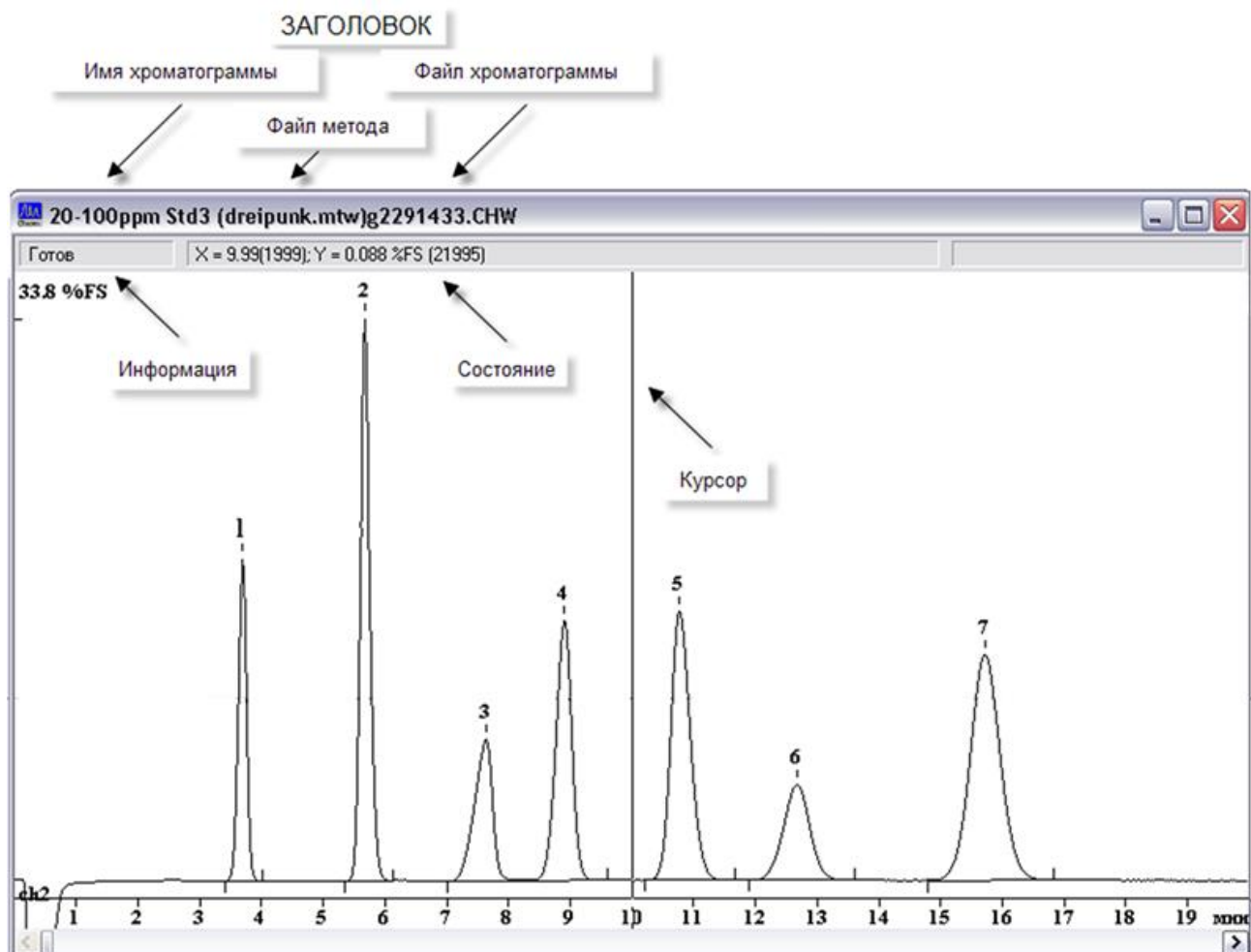
Вверху расположено *главное меню* программы *МультиХром*. *Главное меню* дает доступ ко всем функциям системы. Для вызова меню щелкните мышкой по нужному пункту. Описание пунктов *главного меню* можно найти, воспользовавшись *подсказкой* (для вызова контекстно-чувствительной *подсказки* по выбранному 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.

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 мыши¹. Можно также “листать” окна, нажимая клавиатурную комбинацию [Ctrl]+[F6].

Окно хроматограммы



Окно хроматограммы содержит следующие элементы.

Заголовок первая строка, в которой указывается *имя хроматограммы* *имя файла метода* (в скобках), *имя файла хроматограммы* (для хроматограмм, записанных на диск) или **[номер].run*** (для незаписанных хроматограмм)².

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

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 – **Закрывать**, **Развернуть** и **Свернуть**.

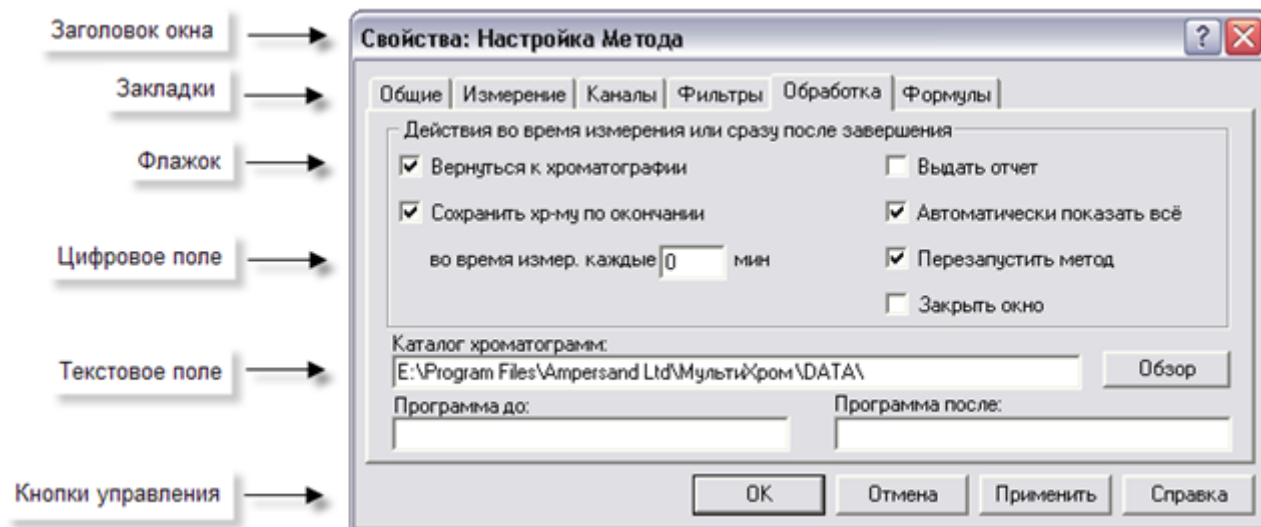
¹ Далее для краткости эта операция будет именоваться просто “щелкнуть мышью”.

² Номер – порядковый номер окна, открывающегося при запуске хроматограммы, а также выполнении некоторых процедур в течение текущего сеанса работы с программой.

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.



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 Ⓞ.

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 сделано 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 комментария.
- 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 односточечных, 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.

Запуск и настройка

Требования к компьютеру


Для работы ПАК *МультиХром* необходим 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 XP, Server 2003, Vista, 7, 8, 8.1, 10 (32 или 64 бит)*;
- процессор и оперативная память, соответствующие требованиям установленной ОС;
- монитор с разрешением не ниже 1280x720 с соответствующей графической картой;


- привод CD-ROM/DVD-ROM³;
- свободный COM-порт или USB-порт с USB/COM-конвертером (поставка с АЦП Е-24 или Е-18);
- свободные USB-порты (в соответствии с числом устройств, подключаемых через USB-порт);
- 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*.

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 подробная информация об АЦП содержится в Приложении 1.


- 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 (предпочтительно 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.

Для установки АЦП А-24⁴ необходим драйвер, который автоматически копируется в компьютер с поставочного диска в процессе установки АЦП.

- 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.

 Потребляемый ток АЦП А-24 может достигать 0.5А, поэтому его следует подключать непосредственно к USB-порту ПК или использовать активный USB-концентратор (HUB).

 ПО *МультиХром* может одновременно обрабатывать сигналы, поступающие от нескольких АЦП. Прежде чем приступить к установке такой системы (например, 4-канальной системы с двумя 2-канальными АЦП), необходимо ознакомиться с разделом ***Особенности работы при использовании нескольких АЦП*** (см. ***Приложение 1***).

- 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;
- не следует выбирать автоматическую установку ПО;
- при ручной установке 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.

³ По желанию заказчика ПО может поставляться на USB флэш-накопителе, в этом случае привод CD-ROM/DVD-ROM не требуется. Далее независимо от вида носителя будет использоваться общее наименование «поставочный диск».

⁴ Об установке АЦП Е-24 или Е-18 см. в Руководстве пользователя (поставочный диск Manuals/Manual18.pdf)

При подключении А-24 создается виртуальный СОМ-порт, номер которого зависит от набора СОМ-портов, уже имеющихся на компьютере. Этот порт связывается именно с данным АЦП и сохраняется при подключении АЦП к любому USB-порту того же компьютера.

- 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 инъекцией. Таким же образом, если требуется, подключите *Вход 2*.

Установка программы

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

Для установки программы выполните следующее.

- Запустите с поставочного диска файл *setup.exe*. При этом запустится программа-установщик и откроется окно **МультиХром1.8х**.
- Следуйте указаниям установщика. При выборе папки для установки программы *МультиХром* рекомендуется принять предлагаемый вариант *C:\MLCW18*.



- По окончании установки на рабочем столе будет создан ярлык

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»

Информация о пользователе

Данная программа лицензирована:

Организация:

Отдел:

Фамилия ответственного:

Ключ активации
Введите_ключ_из_файла_readme.txt

OK Отмена

- 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 **ОК**. 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**).

Если с системой работают несколько пользователей или существует опасность несанкционированного вмешательства в ее работу, а также если в отчетах требуется указывать фамилию автора, можно настроить систему защиты, создав *список пользователей* (команда **Настройка/Защита**).

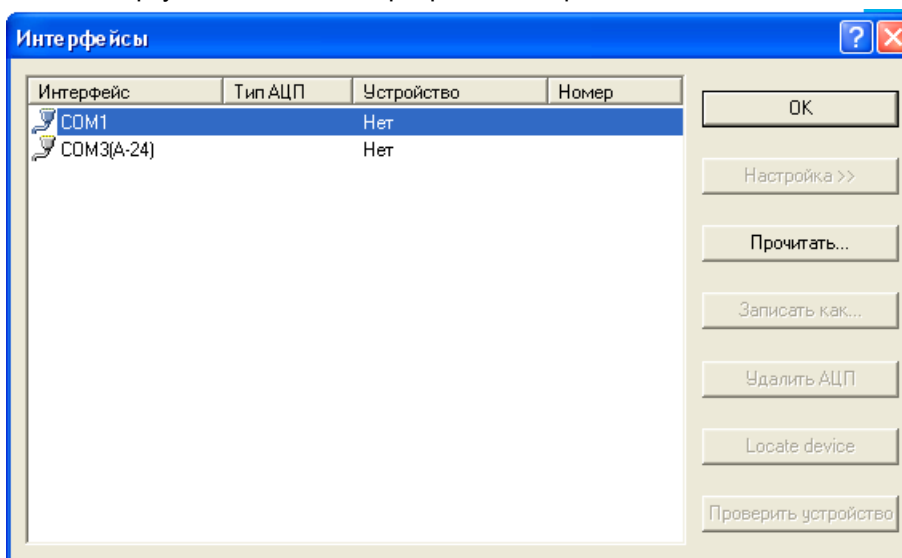
Настройка конфигурации системы

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.

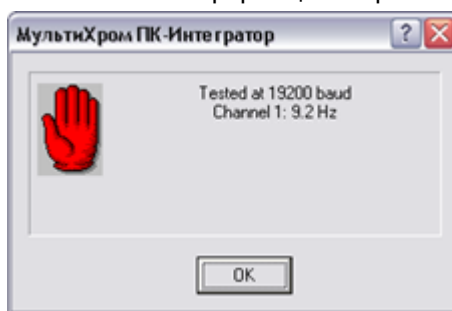
- Выберите пункт меню **Настройка/Интерфейсы**. Откроется окно **Интерфейсы**, в котором будет представлен список всех COM-портов, найденных программой, в том числе, созданных при подключении к USB-порту USB/COM конверторов или АЦП А-24.



- Для подключения АЦП А-24 выделите COM-порт с добавлением (А-24), а при отсутствии такового - последний в списке COM-порт и далее, нажав кнопку **Прочитать...**, выберите файл *A24.dew*. При этом в строке появится информация *Тип АЦП, Устройство и Номер*⁵.

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 **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 *mV*, с максимальным значением *5000 mV*. Если какое-либо из этих условий не

⁵ Если номер при выборе последнего в списке COM-порта номер не появился, это означает, что АЦП подключен к другому COM-порту: вновь созданный COM-порт обычно получает последний номер, но это правило иногда нарушается. В этом случае следует найти используемый COM-порт - применяя описанную к другим к другим COM-портам, двигаясь по списку снизу вверх.

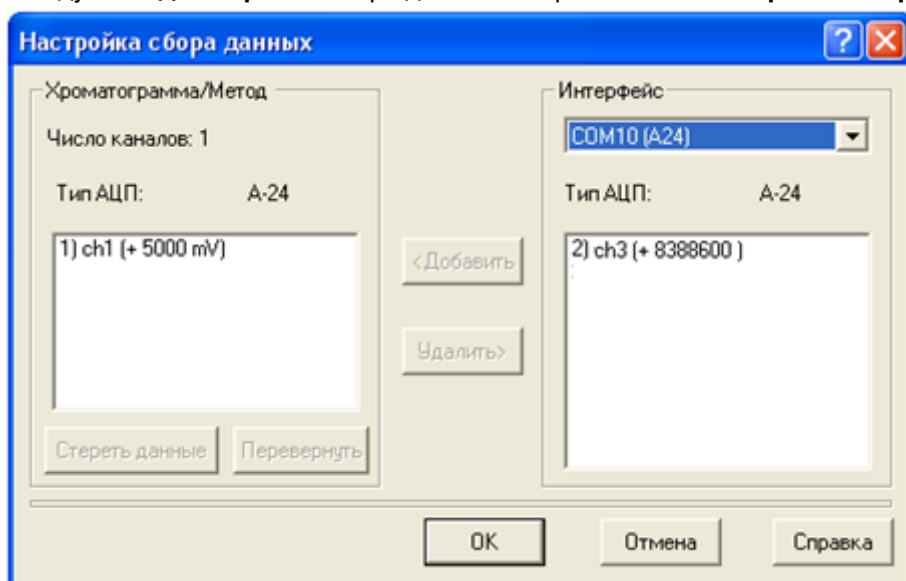
выполняется, а также для изменения имени канала (оно служит меткой канала на хроматограмме), следует произвести настройку параметров каналов (см. **Приложение 1**, раздел **Настройка параметров каналов**).

Внесение изменений в файлы методов

В файлах методов содержится информация об используемом интерфейсе, необходимая для обработки поступающих сигналов. При подключении АЦП к иному СОМ-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 СОМ-порта, к которому подключен этот АЦП, никаких настроек файлов методов не требуется. При запуске приема данных будет найден единственный используемый СОМ-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 СОМ-портов, программа выдает сообщение об ошибке. В этом случае нужно либо удалить лишние драйверы, либо отредактировать файл метода, указав, с какого именно СОМ-порта должен приниматься сигнал. Для выбора СОМ-порта выполните следующее.


- Выберите команду **Файл/Открыть/Метод** и откройте один из предлагаемых одноканальных методов, соответствующий используемому АЦП, например, *A24-1.mtw* для АЦП А-24, канал 1.
- Выберите команду **Метод/Настройка** сбора данных. Откроется окно **Настройка сбора данных**.



- В списочном поле **Интерфейс** выберите СОМ-порт, к которому подключен АЦП.
- Если требуется использовать несколько каналов, переместите их в левый список кнопкой **Добавить**, затем закройте окно, нажав кнопку **ОК**.
- Закройте окно метода, подтвердив сделанные изменения, и сохраните файл метода.

Руководство для начинающих

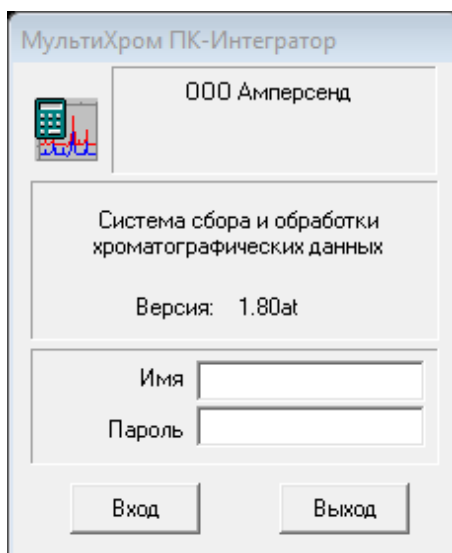
Эта глава предназначена для тех, кто впервые осваивает программное обеспечение *МультиХром*. Она включает только наиболее существенные вопросы, необходимые для работы с программой: как создать *метод* и запустить *хроматограмму*, как оптимизировать процедуру *интегрирования* (разметки) хроматограммы, 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 1.8”** 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 .




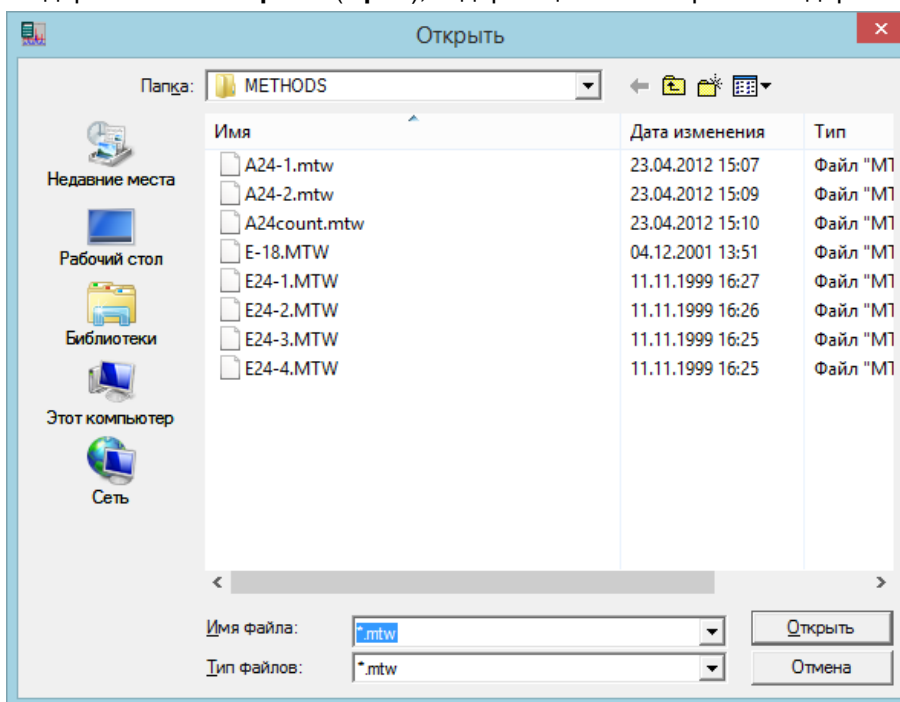
- Введите свое имя и пароль (с учетом регистра).
- Нажмите кнопку **Вход** или клавишу [Enter].

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 для АЦП А-24 включены 3 метода для одноканального приема данных: для 2 аналоговых входов (*A24-1.mtw*, *A24-2.mtw*) и для счетного канала *A24-count.mtw*

- Выберите файл метода, соответствующий каналу, к которому подключен хроматограф. При этом откроется пустое окно хроматограммы и диалоговое окно **Запуск анализа**.

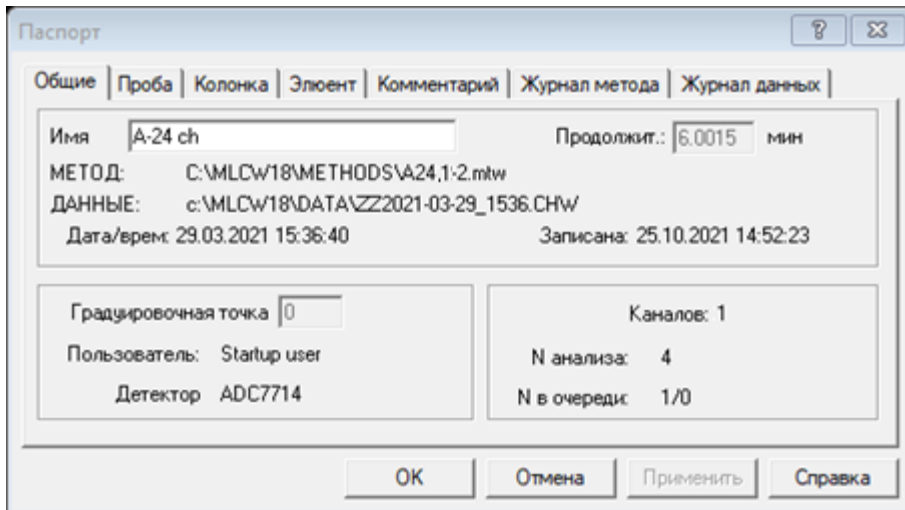
- 🔔 Если при первом запуске метода появится сообщение об ошибке, выполните действия, указанные в разделе **Внесение изменений в файлы методов**.
- 🔔 Если требуется одновременно принимать сигналы от 2 детекторов в одно окно (2-канальная хроматограмма), также следует обратиться к разделу **Внесение изменений в файлы методов**, добавить второй канал в одноканальном методе и сохранить файл метода под новым именем.

Окно **Запуск анализа** содержит сокращенный набор диалоговых листов, входящих в окна **Паспорт** и **Настройка метода**, 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.

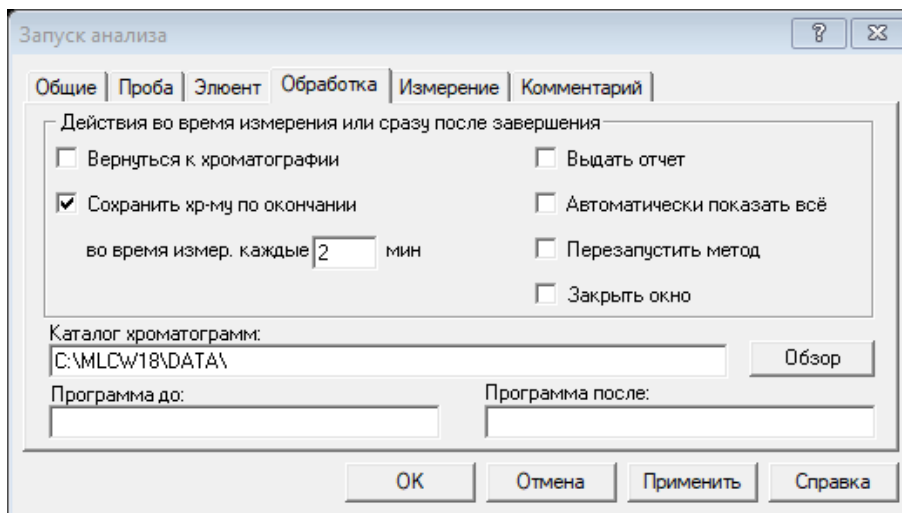
- 🔔 В процессе сбора данных продолжительность хроматограммы, заданную на листе **Общие**, всегда можно изменить как в сторону увеличения, так и уменьшения. Кроме того, можно оперативно добавлять по 2 минуты с помощью команды **Измерение/Продлить (+2 мин)** или кнопки **+2**. В любой момент хроматограмму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

Диалоговый лист **Общие** входит также в диалоговые окна **Паспорт** и **Настройка метода**, 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

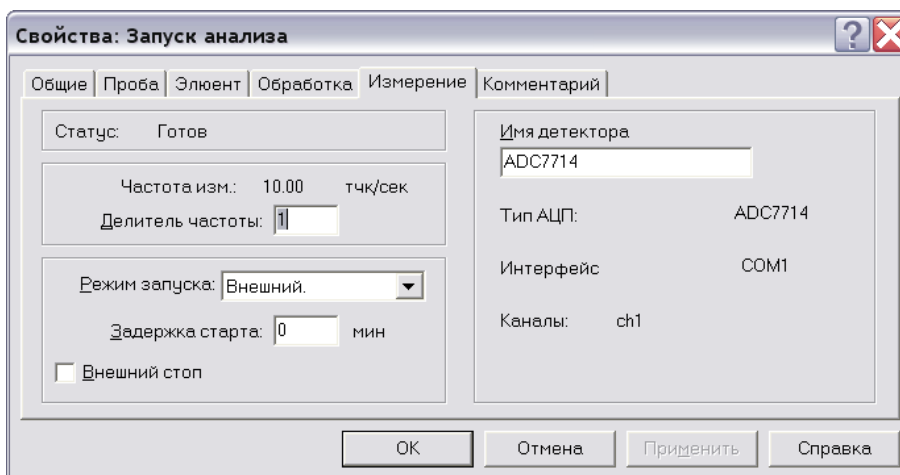
Диалоговый лист **Обработка** позволяет определить набор операций, выполняемых программой автоматически по окончании каждой хроматограммы.




- 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 новый каталог.
- Флажки **Выдать отчет**, **Перезапустить метод**, **Закреть 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**.

Запуск анализа

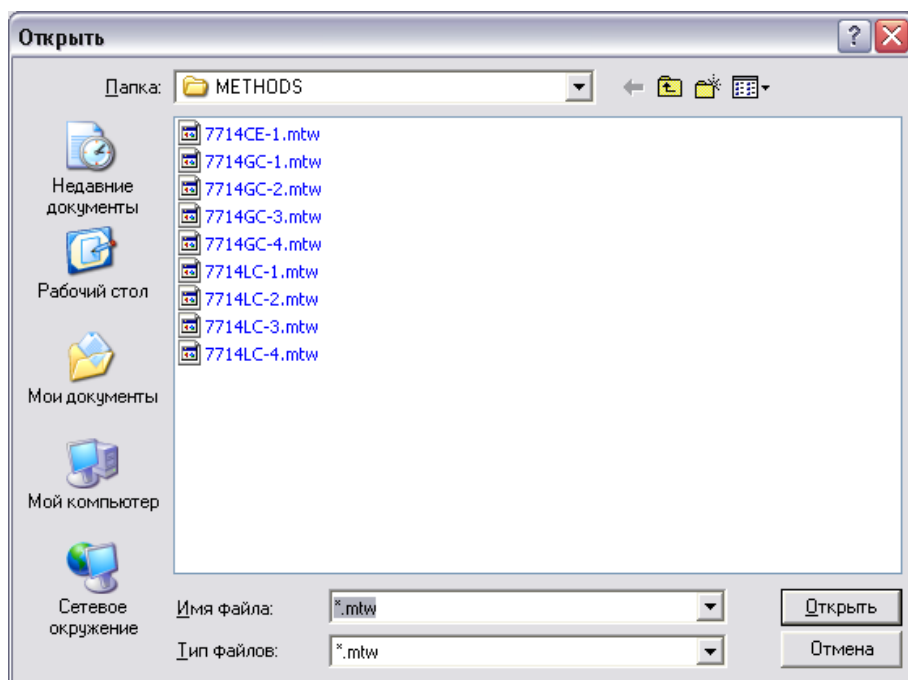
Окно **Запуск анализа** содержит также лист **Проба** и **Элюент**, на которые вводится информация, относящаяся к текущему анализу и используемая при обработке хроматограммы. При рутинных измерениях эти данные удобно вводить перед началом анализа, однако при первом знакомстве с работой программы рекомендуется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

- Закройте окно **Запуск анализа** щелчком по кнопке **ОК** 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 *mlcw18\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** 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**.

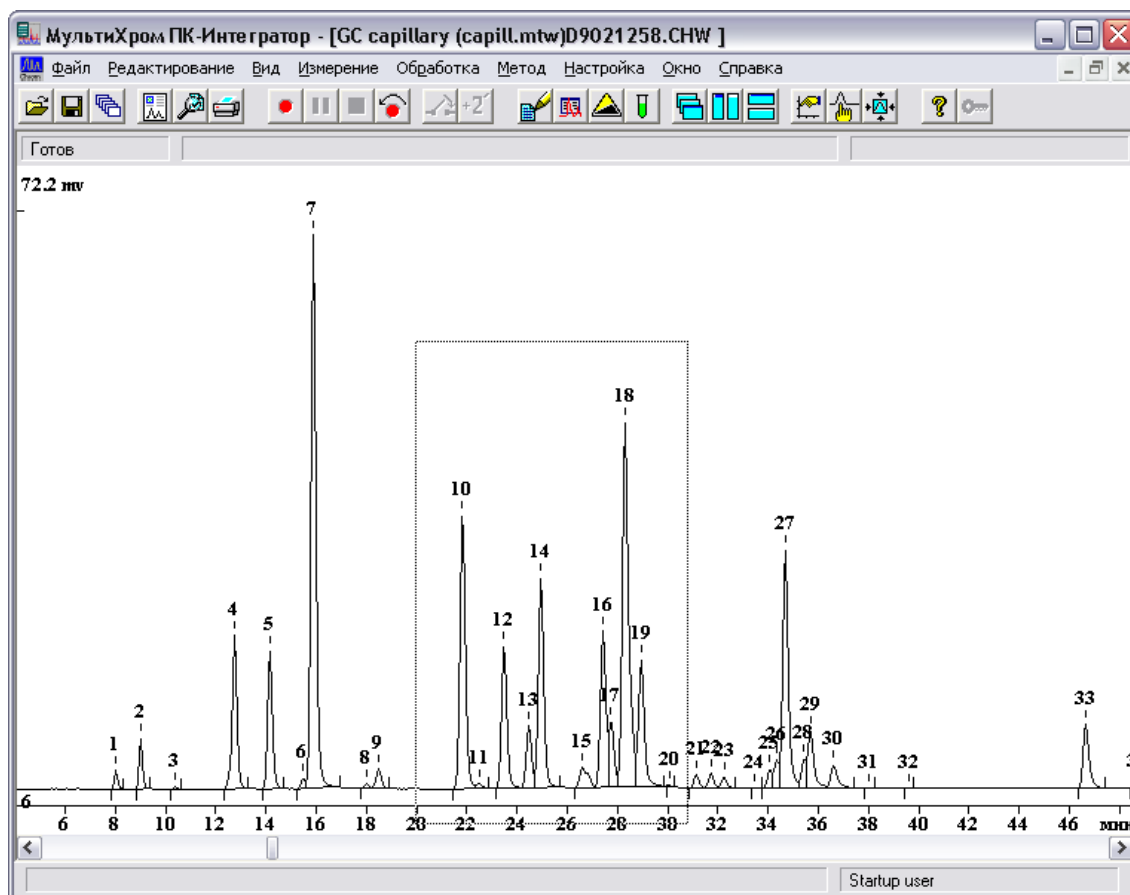
Операции с изображением хроматограммы

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 **Справочнике 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].
- Для сжатия/растяжения графика вдоль оси Y используйте клавиши [↓] и [↑]. Для восстановления полного 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 .

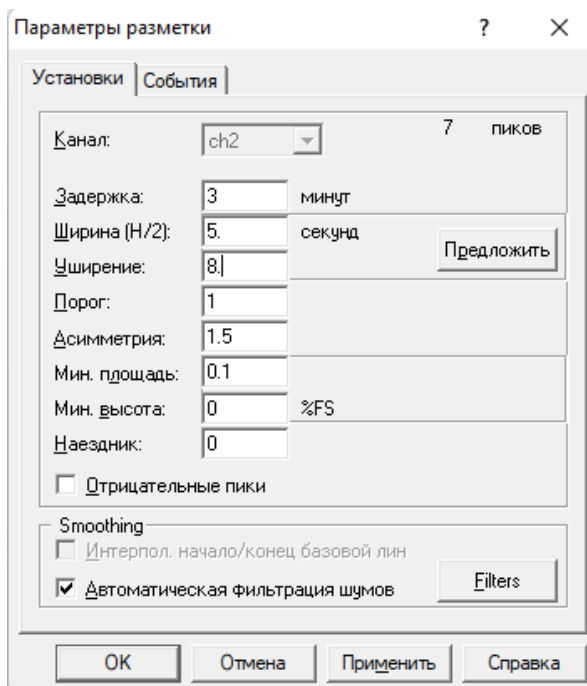
Вам не нужно ломать голову, придумывая новое имя для файла каждой хроматограммы: оно будет составлено автоматически на базе даты и времени начала анализа. Файл хроматограммы будет записан в каталоге, предназначенном в текущем *методе* для записи хроматограмм (**Метод /Настройка метода/Обработка**).

 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**.



- Если хроматограмма записана с большим уровнем шума, установите флажок **Автоматическая фильтрация шумов**, при этом снимется флажок **Интерпол. начало/конец базовой лин.** (см. **Справочник по основным операциям/Настройка метода/Фильтры**).
- Введите величину задержки, которая исключит начальный участок хроматограммы, на котором нет пиков определяемых компонентов, и нажмите кнопку **Применить (Apply)**.
- Нажмите 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 хроматограммы⁶. 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.

⁶ Если величина задержки не задана, программа устанавливает среднее по всем пикам значение полуширины и уширение, равное 1.

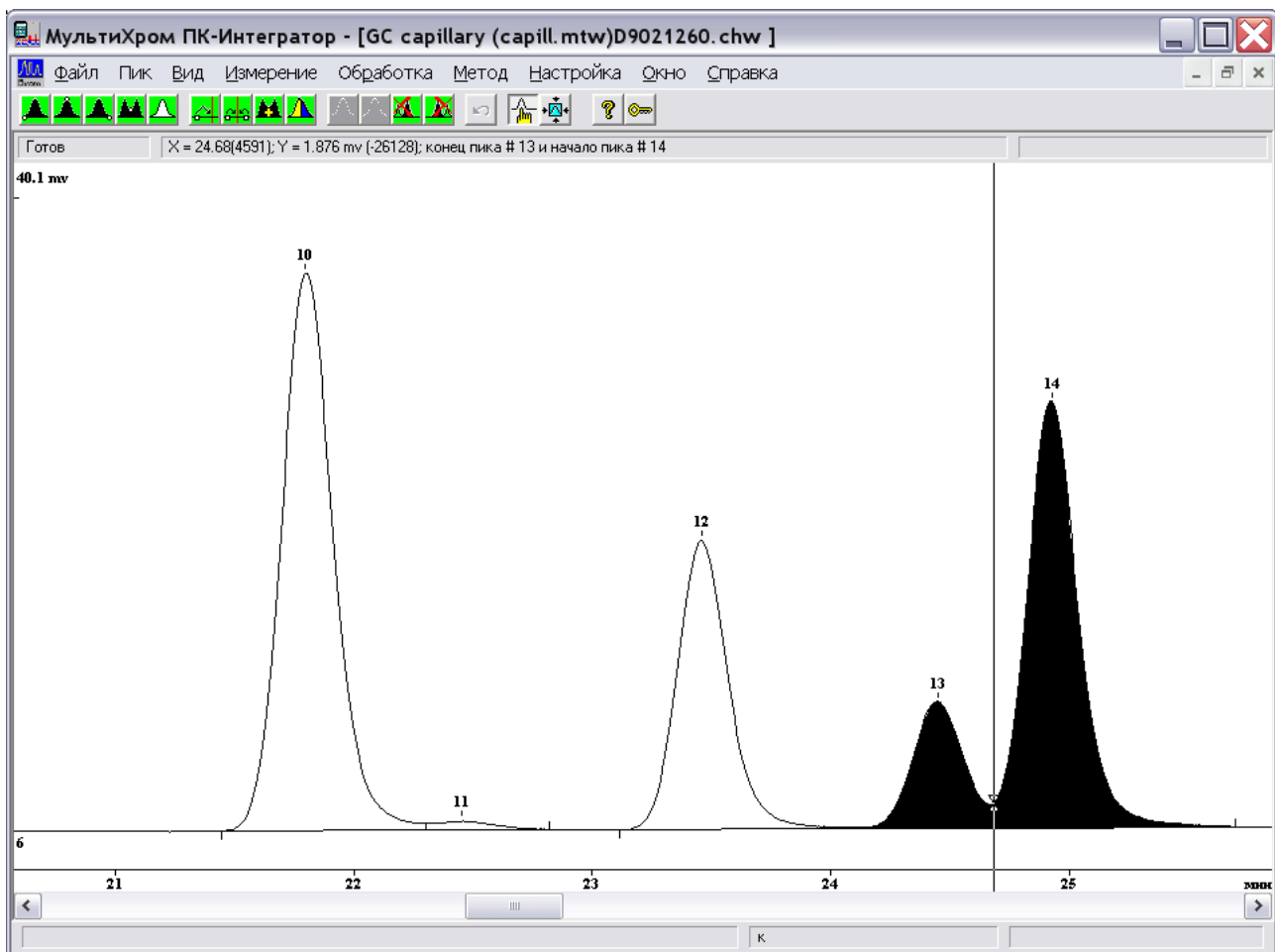







Следует иметь в виду, что никакой алгоритм не может в ряде случаев (сложная форма базовой линии, плохое разделение хроматографических пиков, малые пики-наездники, высокий уровень шумов, и т.д.) гарантировать корректную разметку на пики, поскольку само понятие "пик" во многом субъективно и зависит от 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**.
- Для сохранения полученной разметки перепишите хроматограмму, выбрав команду **Файл/Сохранить/Хроматограмма** или щелкнув по пиктограмме .

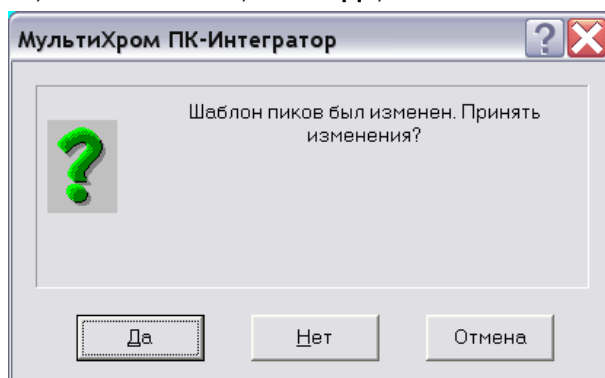
Этап 6. Редактор пиков

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.

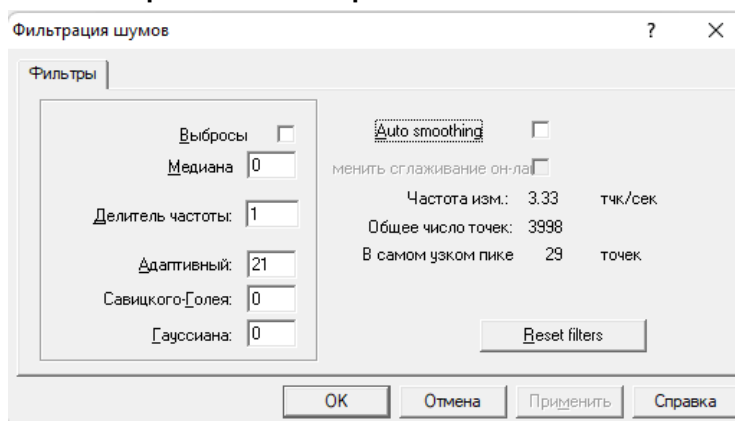
- ♦ Поместите курсор на место, в которое будет перенесена выбранная особая точка. Щелкните по пиктограмме  (перенести выбранную точку).
- Если необходимо уничтожить выделенный (закрашенный черным) пик, щелкните по пиктограмме  (удалить пик) или нажмите клавишу [Del].
- Для создания нового пика установите 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**.




Этап 7. Настройка частоты сбора данных и фильтрация шумов

Как правило, АЦП обеспечивает сбор данных с частотой не менее 10 Гц (10 точек в секунду)⁷. 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. Сжатые данные далее будут обработаны одним или несколькими алгоритмами сглаживания.

Выберите опцию меню **Обработка /Фильтры**.



Если в выбрана опция “Auto smoothing” (автоматическое сглаживание), величина в поле **Рекомендуемый делитель** будет настроена автоматически. Если результат Вас не устраивает, сбросьте фильтры кнопкой “Reset filters”, сжатие и фильтрация шумов будут отменены. Если результаты устраивают, нажмите кнопку **ОК** и затем перепишите метод, выбрав команду **Файл/Сохранить/Метод**, а также хроматограмму, выбрав команду **Файл/Сохранить/Хроматограмма** или пиктограмма ).

Обратите внимание, что фильтр **Адаптивный** использует оригинальный алгоритм предельного подавления шумов, разработанный в ООО «Амперсэнд». При этом обеспечивается:

- минимальный доверительный интервал для каждой точки;
- максимальное подавление шума, без повреждения формы пика;
- правильная обработка резких изменений сигнала;

⁷ При необходимости ее можно увеличить до 50 Гц.


- правильные оценки ошибок измерения высоты и площади пика.



Адаптивный фильтр доступен при включении соответствующей опции в лицензию.


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.

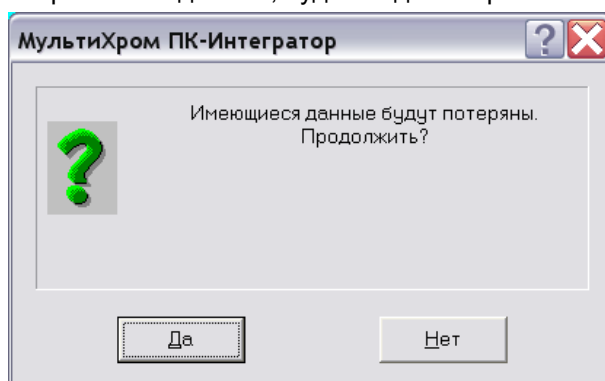
- Если требуется определить относительные величины пиков, удалите все посторонние пики.
 - ♦ Для удаления мелких пиков подберите значения параметров **Мин. Высота** и **Мин. Площадь** в окне **Параметры разметки** (см. раздел **Этап 5**).
 - ♦ Для пиков, которые невозможно удалить подбором параметров 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 изменения⁸, как описано в разделе **Этап 2**, введите пробу и запустите хроматограмму.

Введение в процедуру градуировки

*Градуировка*⁹ — 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).

⁸ 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.

⁹ Иногда вместо термина “градуировка” в литературе, больше зарубежной или переводной, используется эквивалентный термин “калибровка”.

- 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:

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

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.

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

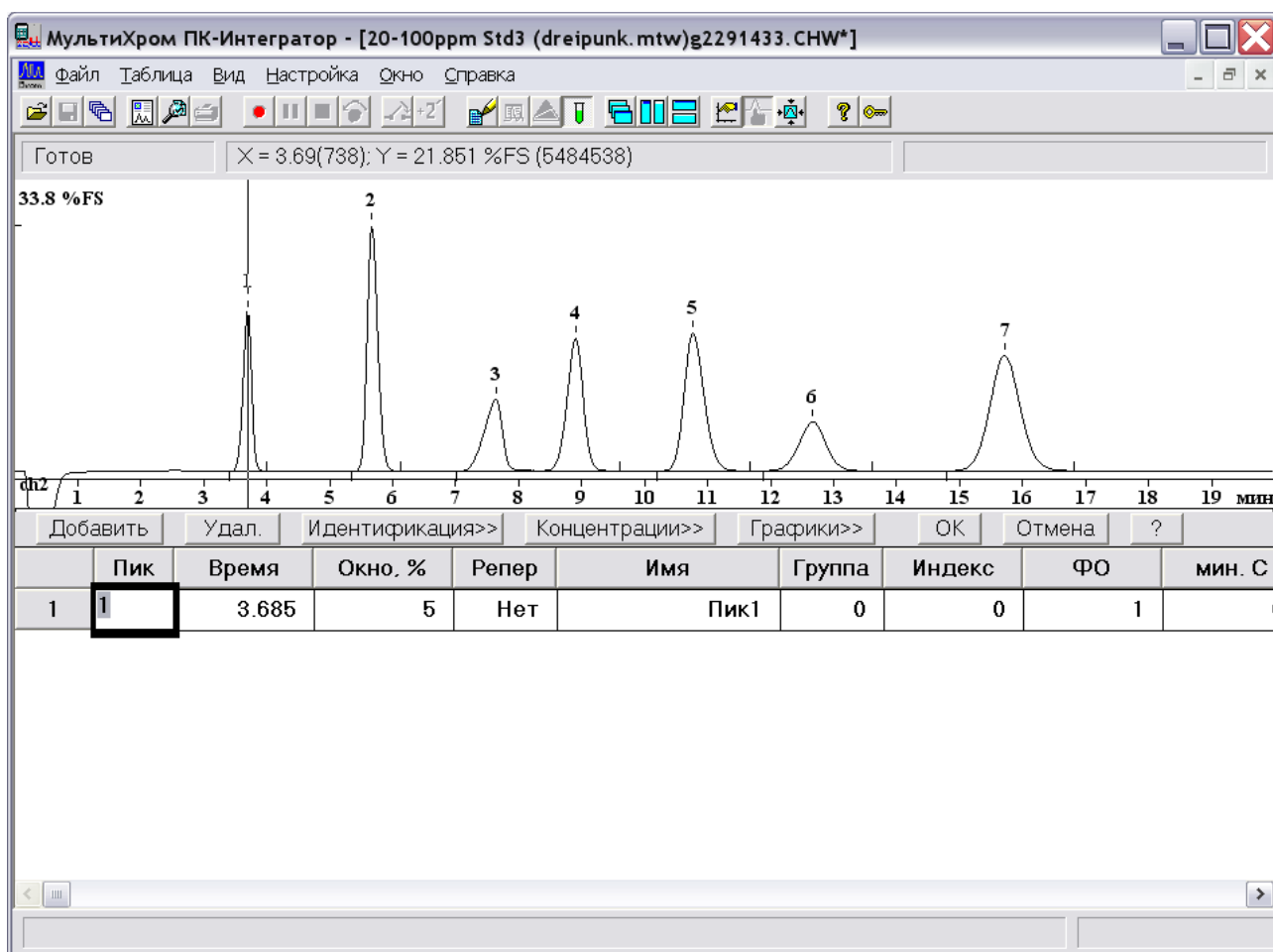
Таблица компонентов содержит данные по анализируемым компонентам: имена, ожидаемые времена удерживания, индексы удерживания, градуировочные коэффициенты, а также другую информацию, необходимую для идентификации компонентов и количественных расчетов.

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 компонентов¹⁰).


- В окне полученной ранее хроматограммы щелкните по пиктограмме  или выберите пункт **Метод/Градуировка/Компоненты**. В нижней половине окна появится пустая **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.



- 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**.

¹⁰ Таблицу концентраций можно создать, зная только качественный состав смеси, что достаточно для проведения качественного анализа.

 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 ΦO для всех компонентов. В этом случае их необходимо ввести в столбец ΦO **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.


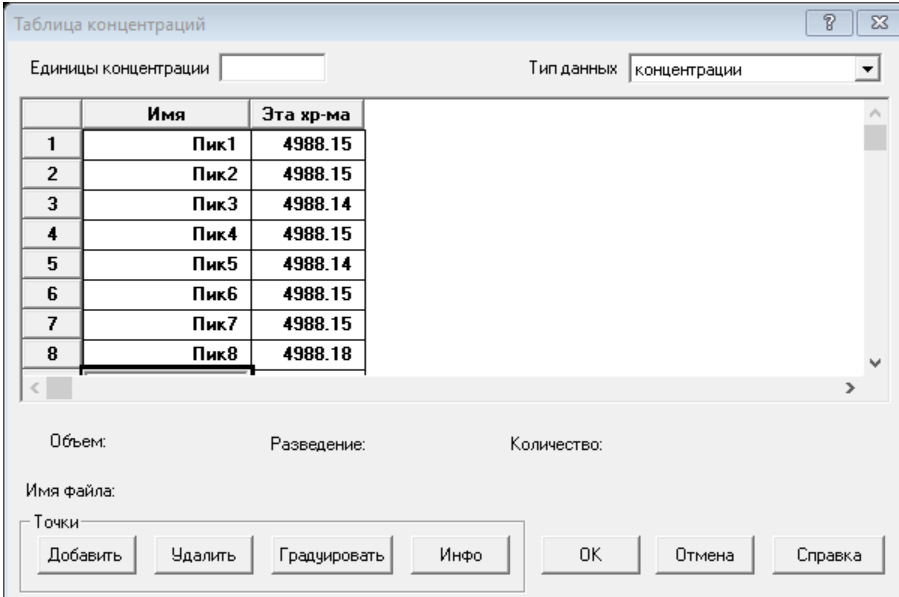
 **Таблица концентраций** может создаваться только на основе ранее созданной **Таблицы компонентов**!

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**.



	Имя	Эта хр-ма
1	Пик1	4988.15
2	Пик2	4988.15
3	Пик3	4988.14
4	Пик4	4988.15
5	Пик5	4988.14
6	Пик6	4988.15
7	Пик7	4988.15
8	Пик8	4988.18

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 концентрация¹¹. Не редактируется.

🔔 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**.

Добавить точку

Создание градуировочной точки: 11

Одинаковые конц. для всех комп-тов 0

Копировать концентрации точки

Градуировать сразу по рабочей хр-ме

OK Отмена Справка

- 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 **OK**. 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.

Таблица концентраций

Единицы концентрации mg/L Тип данных концентрации

	Имя	Эта хр-ма	Точка 1
1	Fluorid	10.1907	10
2	Chlorid	10.2292	10
3	Nitrit	10.0233	10
4	bromid	10.1465	10
5	Nitrat	10.1983	10
6	Phosphat	10.1245	10

Объем: 1 Разведение: 1 Количество: 1


Имя файла:

Точки

Добавить Удалить Градуировать Инфо OK Отмена

¹¹ В зависимости от выбранного *метода расчета* может быть другая величина (подробнее см. раздел *Справочнике по основным операциям/Количественный и качественный анализ/Таблица концентраций*).




- 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**.

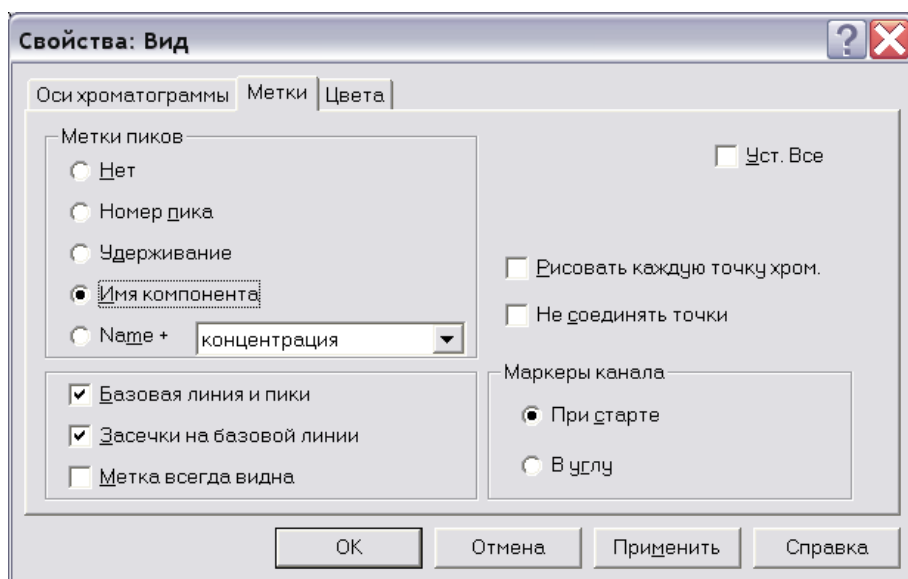
Этап 13. Получение градуировочной зависимости

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

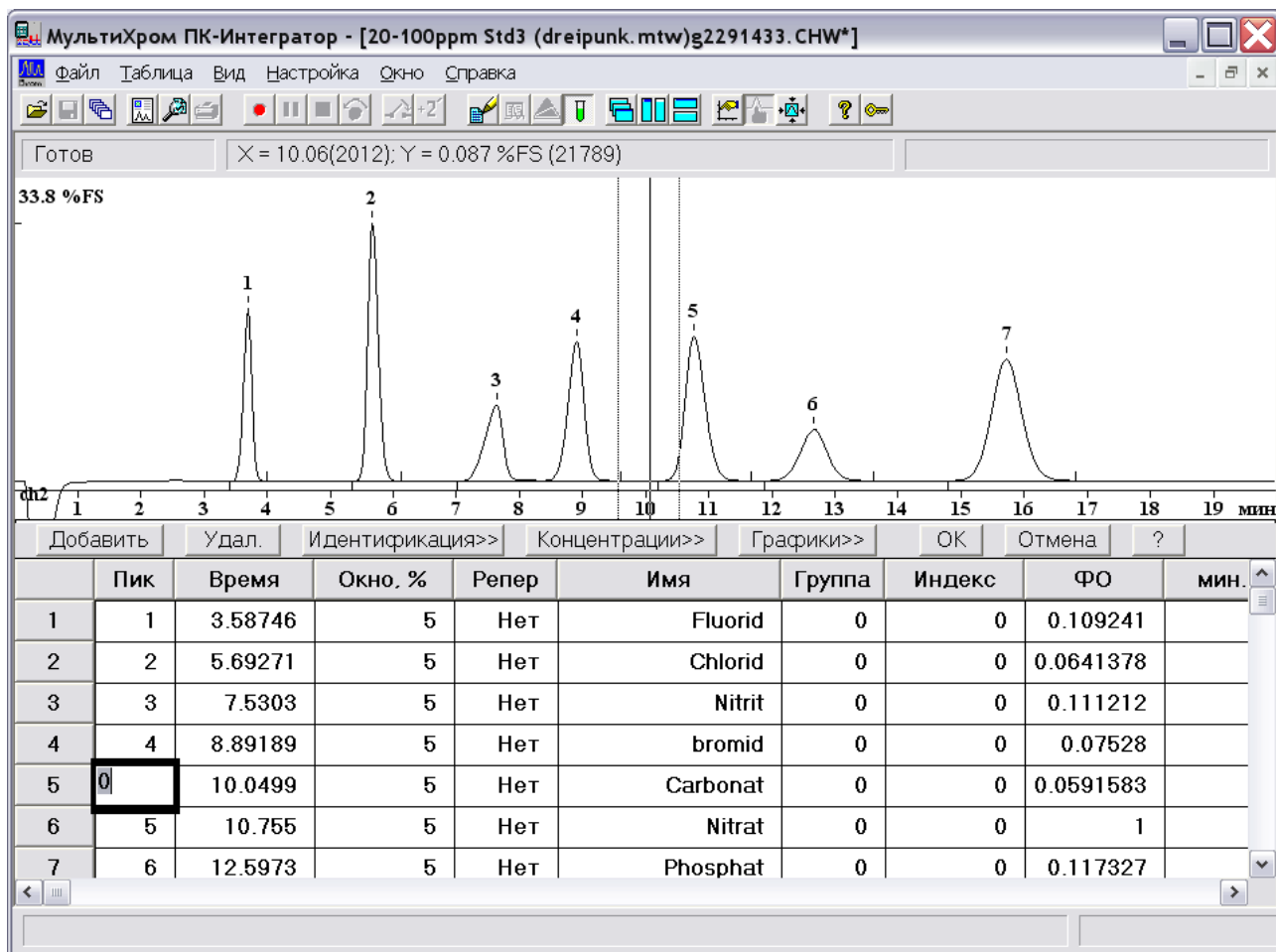
По окончании приема данных убедитесь, что все ожидаемые пики на хроматограмме присутствуют и идентифицированы правильно. Неправильная идентификация может выражаться в следующем:

- 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.



- 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.

- 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 **ОК**.

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**.

Идентификация пиков

Число компонентов: 7

Схема

Стандартная

Нестандартная

Параметры распознавания

Реперные пики: Высота

Другие пики: Время

Единицы удерживания: мин

Удерживание Обновить


Худший случай Fluorid 34% окна.

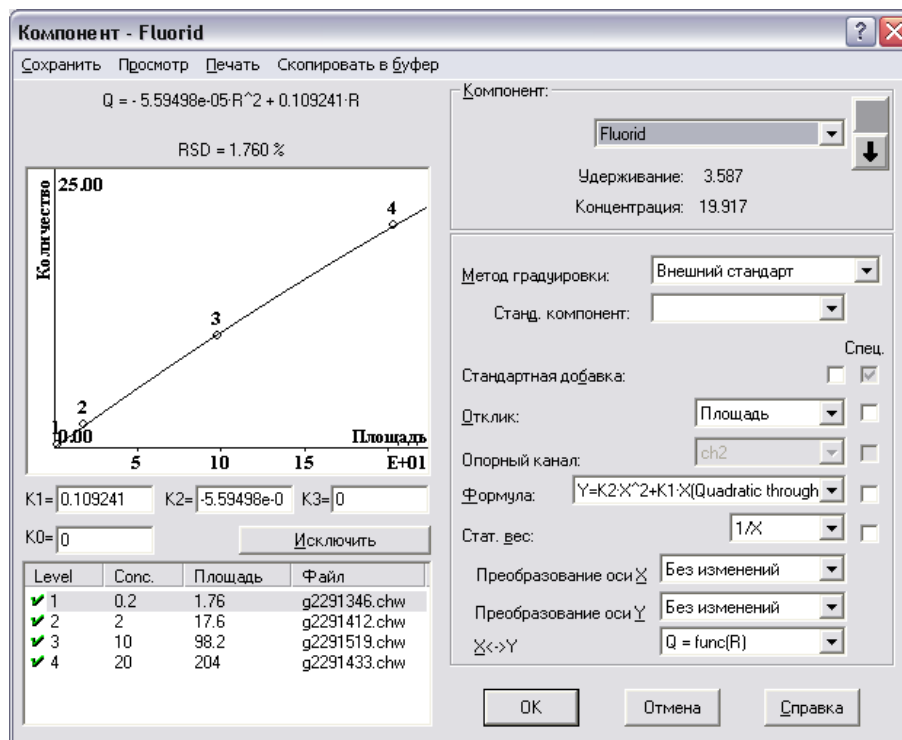
Среднее относительное отклонение: 0.72%

ОК Отмена Применить Справка

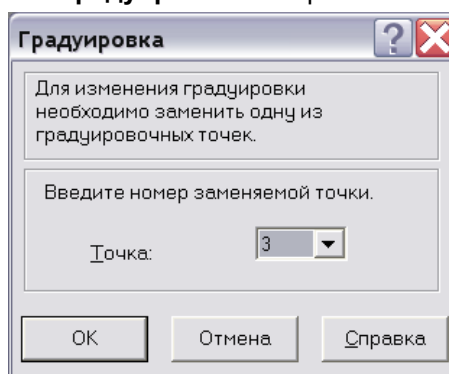
- ♦ В области **Схема** установите флажок **Нестандартная**, а в области **Параметры распознавания** в списочном поле **Другие пики** выберите значение **Высота**.
- ♦ Закройте окно, нажав кнопку **ОК**. Произведенные изменения приведут к тому, что в пределах окна идентификации будет выбираться не ближайший, 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 **Справочнике по основным операциям**, раздел **Количественный и качественный анализ/Посторонние градуировочные зависимости/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, 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**.




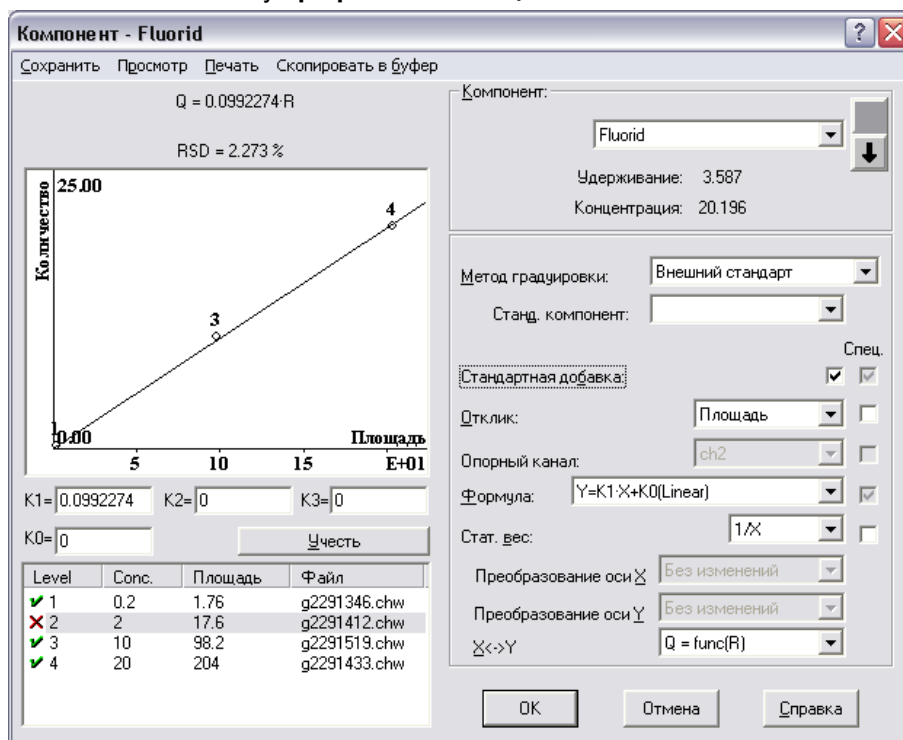
- ♦ В списочном поле **Точка** выберите номер градуировочной точки, которая соответствует текущей хроматограмме.
- ♦ Закройте окно **Градуировка**, нажав кнопку **ОК**. При этом данные текущей хроматограммы будут занесены в **Таблицу концентраций** в качестве параметров указанной точки и использованы 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 **Учеть**. 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

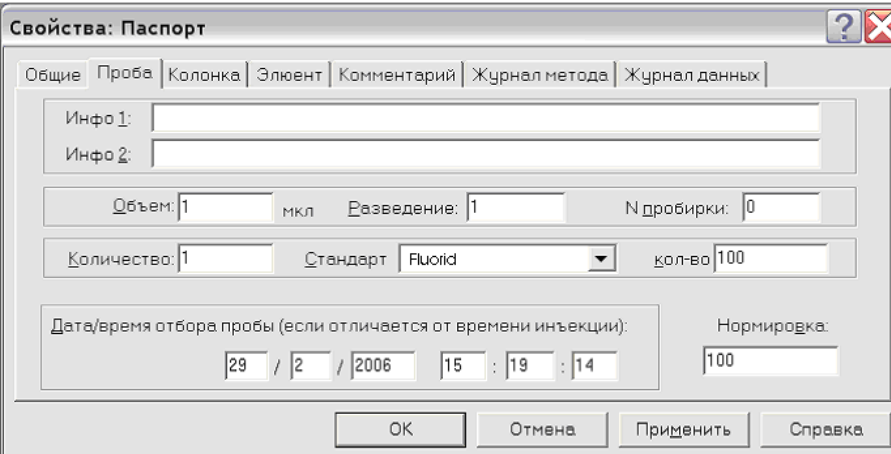
СКО, следует предпочесть ту, в которой число подбираемых коэффициентов меньше. Подбор формулы не рекомендуется производить, не ознакомившись с подробным описанием этой процедуры.


- 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

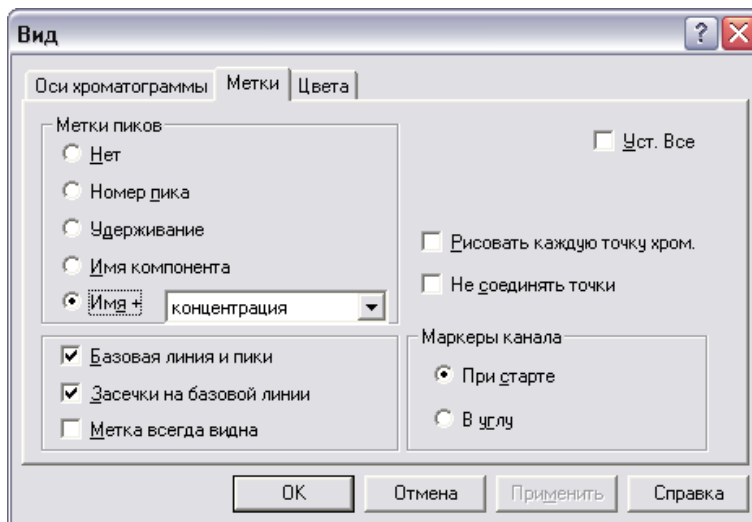
Приготовьте смесь для анализа, содержащую компоненты, для которых была проведена градуировка.

- 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**.

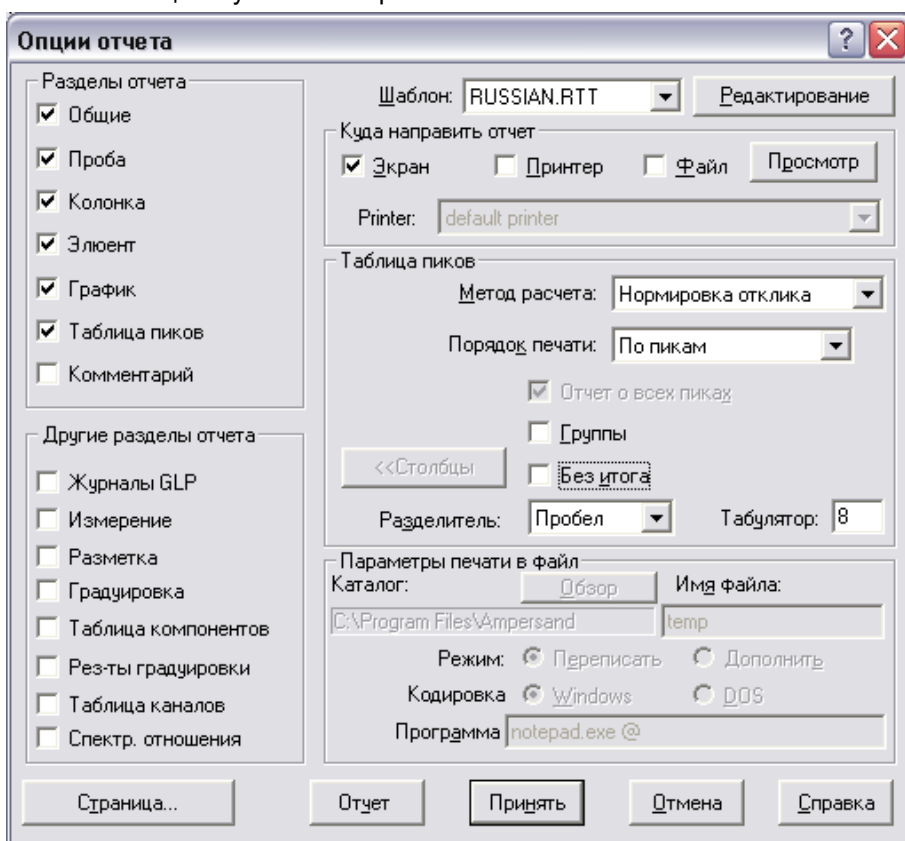


- Щелкните мышкой по переключателю **Имя +концентрация**. Установленное по умолчанию в списочном поле значение *Концентрация* соответствует определению абсолютной концентрации компонентов, что и требуется для выполняемого анализа. В других случаях в этом поле можно выбрать любую величину из списка столбцов **Таблицы пиков** (см. *Руководство пользователя, Справочник по основным операциям*, раздел *Отчет/Таблица пиков/Столбцы Таблицы пиков*).
- Закройте окно **Вид**, нажав кнопку **ОК**. 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.



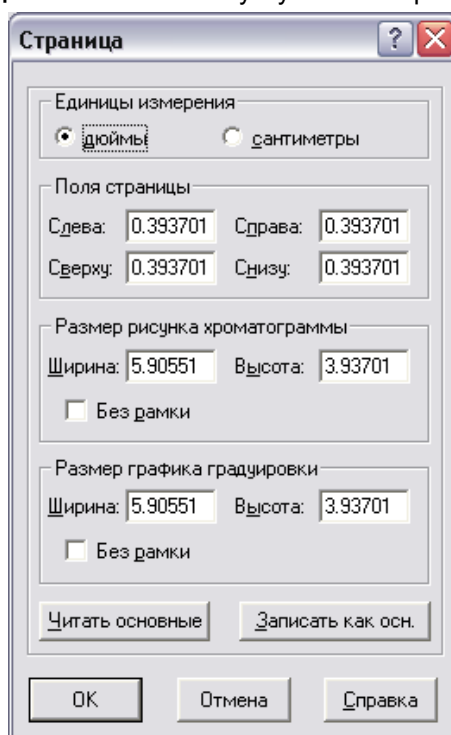
- Отметьте в левой части экрана все разделы, которые необходимо включить в отчет.

 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. Примите изменения, щелкнув по кнопке **ОК**.
- ♦ 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

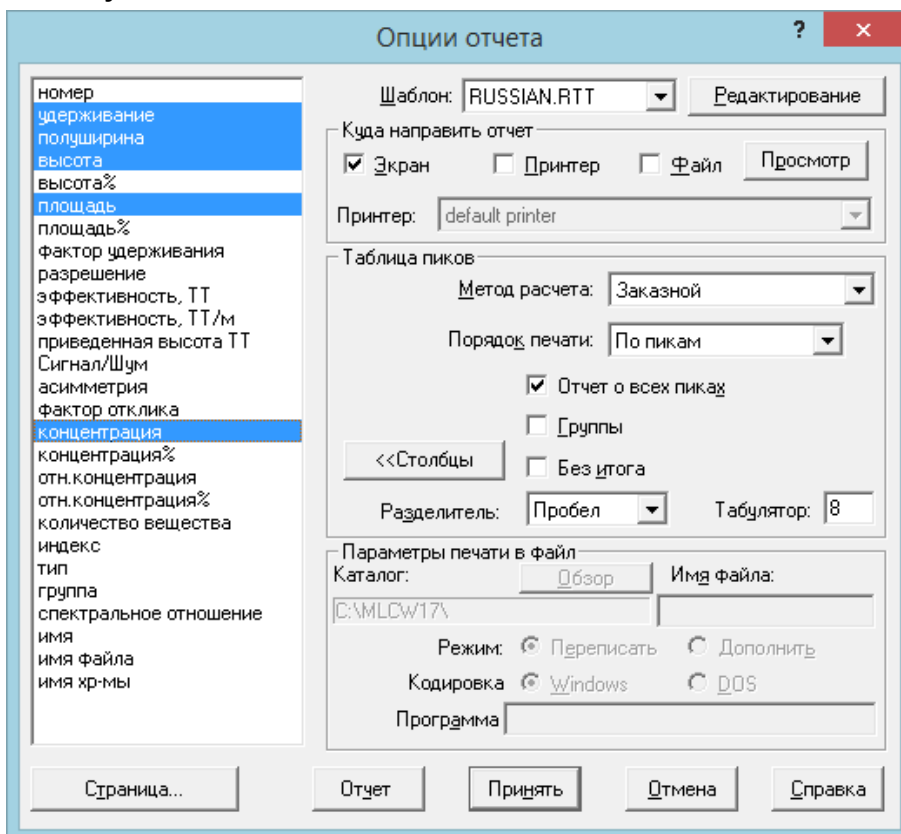
Для использования этого метода в пробу необходимо добавить известное количество вещества, которое будет использоваться в качестве стандартного компонента.

- 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.

Приложение 1 Аналого-цифровой преобразователь А-24/1 Спецификация

Аналого-цифровой преобразователь (АЦП) А-24/1 – это 24-битный АЦП.

- Соединение с компьютером по USB шине (RS-232 соединение – как вариант при удаленном расположении модуля).
- Один гальванически развязанный аналоговый вход от -2,5 В до +2,5 В с частотой оцифровки от 10 до 1000 Гц с коэффициентом усиления входного сигнала от 1 до 64.

Тип	24-битный Дельта-Сигма преобразователь.				
Количество аналоговых входов	1				
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 ¹² , бит	23,0	22,0	21,8	20,5	20,0
Рабочий диапазон напряжений (вход дифференциальный), В	+/- 2,5				
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	30	40		
	непрерывно	1 мин	3 сек		
Питание	по шине USB				
Потребляемый ток, А, не более	0,3				
Рабочий температурный диапазон, °С	+10 до +40				
Размеры, мм, не более	40(45)x97x125				
Вес (без кабелей), кг, не более	0,4				
Гарантия, мес.	12				
Срок полезного использования, лет	6				
Интерфейс связи с компьютером	USB 1.x+				
Разъемы на задней панели:	Стандартный USB тип В Female – интерфейс USB.				

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 трехполюсные вилки с заземляющим контактом и были подключены к одному щитку.

¹² Величины эффективной разрядности преобразования приведены при коэффициенте усиления 1 методом цифрового усреднения выходных данных с учетом эквивалентного входного шума.

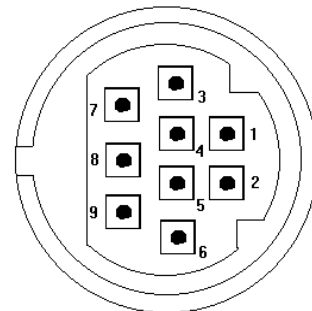


Помните, что неправильное заземление оборудования может привести к выходу из строя любого из соединяемых приборов, а также ведет к увеличению уровня шумов АЦП!

Подключение аналоговых каналов к хроматографу

Кабель для подключения аналогового входа АЦП к хроматографу на одном конце имеет разъем для подключения к Mini-DIN9F, на другом свободные концы проводов для подключения к хроматографу. 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 типа «сухой контакт» (двойной провод)
2. Не задействован
3. Второй контакт сигнала синхронизации запуска сбора данных типа «сухой контакт» (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)

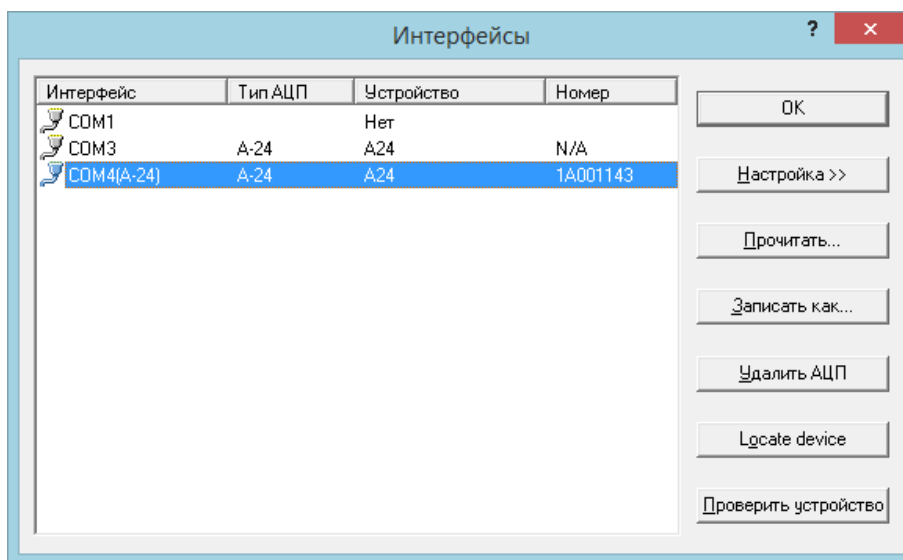


Замыкание контактов синхронизации запуска сбора данных сигнализирует о вводе пробы. Сигнальные провода работают при подключении к релейному выходу инжектора или автосамплера и не предназначены для чтения выходов типа TTL.

Настройка параметров каналов

Настройка наиболее часто изменяемых параметров каналов производится следующим образом.

- Выберите команду **Настройка/Интерфейсы** и в открывшемся окне выделите строку, соответствующую подключению АЦП.



- Нажмите кнопку **Настройка** и в открывшемся окне перейдите на закладку **Настройка каналов**.
- 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 графика 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 (5000 мВ), например, 100, если выбраны единицы %FS. При этом в столбце *Кэф.* появится значение, вычисленное по формуле: $Кэф. = \text{Диапазон}/(\text{Максимум} - \text{Нуль})$
- Повторите описанную процедуру для всех каналов.

Особенности работы при использовании нескольких АЦП

При использовании нескольких АЦП с одним ПО один АЦП является *основным* – по его номеру создается *ключ активации*. Номер основного АЦП указан в файле README.txt на поставочном диске.



Основной АЦП должен быть всегда подключен к компьютеру, на котором установлено ПО, независимо от использования его для приема хроматограмм.

- Подключите основной АЦП к компьютеру и выполните все процедуры, описанные в разделе **Запуск и Настройка**. При сохранении метода рекомендуется изменить его название, включив в него номер СОМ-порта или АЦП, а также номера используемых каналов.
- Подключите следующий АЦП и выполните процедуры, входящие в раздел **Настройка конфигурации системы**.



Многоканальные методы могут включать в себя только каналы *одного* АЦП. Для методов, относящихся к разным АЦП, рекомендуется создать отдельные папки в общей папке *Methods*.

- Для удобства одновременной работы с хроматограммами, получаемыми от разных хроматографов, измените цвет фона хроматограммы для каждого хроматографа (канала АЦП).
 - ♦ Дважды щелкните *правой* кнопкой мыши по белому полю окна метода и выберите в открывшемся меню команду **Вид**. При этом откроется окно **Вид**, настроенное для изменения фона хроматограммы.
 - ♦ Нажмите кнопку **Выбор** и выберите желаемый цвет.
 - ♦ Закройте последовательно окна настройки вида, нажимая кнопку **ОК**, и сохраните файл метода.
 - ♦ В дальнейшем для сохранения выбранного фона для других методов, относящихся к этому хроматографу, создавайте их под новыми именами путем модификации первоначального метода.

Приложение 2 Возможные неисправности и их устранение

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