

LabChrom-2 Kromatográfias adatgyűjtő és vezérlő szoftver

Chemotron Inc.

2006. október 20.

Tartalomjegyzék

I. Alapok	1
1. Bevezető	3
2. A mérés folyamata	5
3. A Beállítások	7
4. A központi ablak	11
4.1. A felső eszközsor, Beállítások (Preferences)	12
4.1.1. Az Új gomb	12
4.1.2. A Névjegy	12
4.1.3. A Kilépés	12
4.1.4. A Beállítások	12
4.2. A baloldali eszközsor, Készülék tulajdonságok	15
4.2.1. Műszer	16
4.2.2. Detektorok	16
4.2.3. Interface	17
4.2.4. Vezérlőjelek	17
4.3. A jobboldali eszközsor, Program indítása és leállítása	17
4.4. Kilépés	18
II. A szoftver	19
5. A fő ablak	21
5.1. Workstation	21
5.2. Datastation	22
5.3. TR-541a	23
5.4. TR-930	23
5.5. Kilépés	23
6. A Method	25
6.1. Data processing	25
6.2. Measure parameters	27
6.2.1. Workstation, Datastation	27
6.3. Data acquisition	29
6.3.1. Workstation, Datastation	30
6.4. Control	31
6.4.1. Workstation, Datastation	31

6.5.	Instrument parameters	31
6.5.1.	TR-541a	31
7.	A mintasor kezelése	35
7.1.	Munkaállomás verzió	35
7.2.	Denzitometriás verzió	35
8.	A mérés	39
9.	Az integrálás	41
10.	A kalibráció	45
10.1.	Csúcsazonosítás	45
10.2.	Területnormalizáció	45
10.3.	Belső standard	45
10.4.	Külső standard	45
11.	A mennyiségi analízis	51
12.	A nyomtatás	53
III.	Kiegészítések	55
13.	Az integrálás alapjai	57
14.	A detektor jelátvitele	61
IV.	Gyakorlati példák	63
15.	Biológiai minták sorozatmérése (VMA)	67
15.1.	A feladat	67
15.2.	Az állományok a munkához	67
15.2.1.	A Method beállítása	68
15.2.2.	A Mintasor beállítása	71
15.2.3.	A Kalibráció beállítása	72
15.2.4.	A beállítások rögzítése	74
15.3.	A napi munka, a mérési folyamat	75

I. rész

Alapok

1. fejezet

Bevezető

A LabChrom-2 kromatográfias adatgyűjtő és feldolgozó szoftver egy sokoldalú, széles tartományban skálázható eszköz különféle kromatográfias berendezések mérési adatgyűjtési feladatainak elvégzésére.

A szoftvernek többféle műszertípushoz kifejlesztett üzemmódja van, a legfontosabbak:

- 1 darab műszert (általános kromatográfot, azaz GC-t, HPLC-t) kezelő grafikus munkaállomás, **Workstation** üzemmód
- több (legfeljebb 4) műszert párhuzamosan kezelő mód, **Datastation**
- **TR-541a** denzitométer üzemmód ez a Chemotron cég automata vékonyréteg-kromatográfias denzitométere

A szoftver egy időben legfeljebb négy tetszőlege üzemmódban indítható el, például egyszerre dolgozhatunk egy denzitométeren és egy HPLC-n. Ezt a napi gyakorlatban nem használjuk ki, azonban ha több műszert is egy számítógépről kívánunk ellátni, úgy abban az esetben jó szolgálatot tehet, ha ezeket külön műszerként definiáljuk és a központi ablakból így egyenként külön-külön tudjuk indítani.

A **Workstation** és a **Datastation** üzemmódok annyiban különböznek, hogy a **Datastation** használata esetén párhuzamosan legfeljebb négy műszerről folyhat az adatgyűjtés akár úgy is, hogy egy darab négycsatornás A/D konvertert használunk a célra.

A szoftver egyes üzemmódjai nagyon sok közös részt használnak, néhány helyen kis különbségek vannak az egyes funkcióknál, illetve a **Mérés** (Measure) és a **Fő** (Main) ablak tartalma az, ami teljesen eltér az egyes üzemmódoknál. Ezeket a különbségeket a vonatkozó fejezeteknél külön tárgyaljuk.

2. fejezet

A mérés folyamata

A szoftver működésének kulcsa a mérési folyamat. Ennek megértése az egész szoftver használatának az alapja.

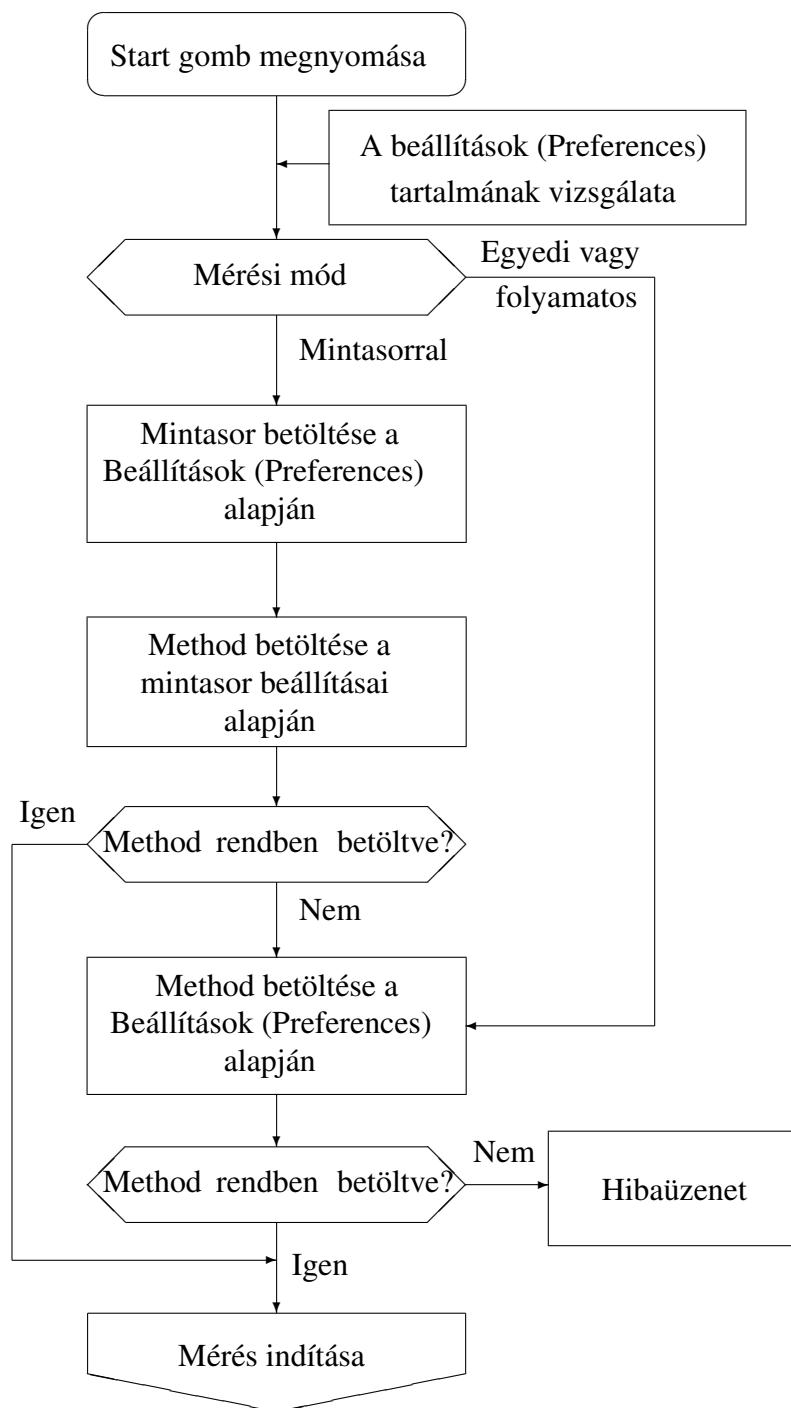
A program egy mérési folyamat lefuttatásához mindenképpen igényel egy **Method** állományt. Ennek a **Method** állománynak a mérés megkezdése előtt rendelkezésre kell állnia a merevlemezen. Ilyen **Method** filet a fő ablak `Method` gombjának megnyomásával tudunk készíteni. A **Method** fileba – amelyet a merevlemezen tárolunk – természetesen nem kell minden adatot előre beírni, a mérés indításakor ezek módosítására még lehetőségünk van. Ilyen paraméterek például a mennyiségi paraméterek, melyek a napi rutin során is általában csak a mérés megkezdésének pillanatában válnak ismertté. A mérés indításához a **Method** file önmagában csak akkor elegendő, ha Workstation jellegű üzemmódban vagyunk és egyúttal a mérési mód kiválasztása egyedi vagy folyamatos. Amennyiben mintasor használatával kívánunk mérni illetve denzitométer jellegű a szoftver üzemmódja, úgy a mérés megkezdésekor egy mintasornak is rendelkezésre célszerű állnia, bár ez nem kötelező de könnyebbé teszi a munkát.

Amennyiben mintasort használunk, úgy célszerű a mintasor paramétereit közt megadnunk a mérési **Method** filet, melyet a mérés indítása pillanatában szintén módosíthatunk még.

A mérés megkezdésének folyamatábráját alább láthatjuk, megjegyezzük, hogy a denzitometriás üzemmód itt nem különül el, hanem a mintasor alapján történő mérés vonatkozik erre az esetre is.

Amennyiben Workstation módban az Új (New) gombbal indítunk el egy mérést, úgy egy üres mintasort kapunk, melybe ott helyben célszerű betölteni a mérési **Method** állományt. Amennyiben ezt nem tesszük, úgy a szoftver a **Beállítások (Preferences)** ablakban megadott **Method** állományt fogja keresni, amennyiben az nem létezik, úgy hibaüzenet mellett nem indul el a mérés.

Denzitometriás módban az Új (New) gomb megnyomása a **Beállítások (Preferences)** ablakban megadott mintasort próbálja betölteni s amennyiben ez nem sikerül, csak akkor ad egy üres mintasort.



2.1. ábra. A mérési folyamat

3. fejezet

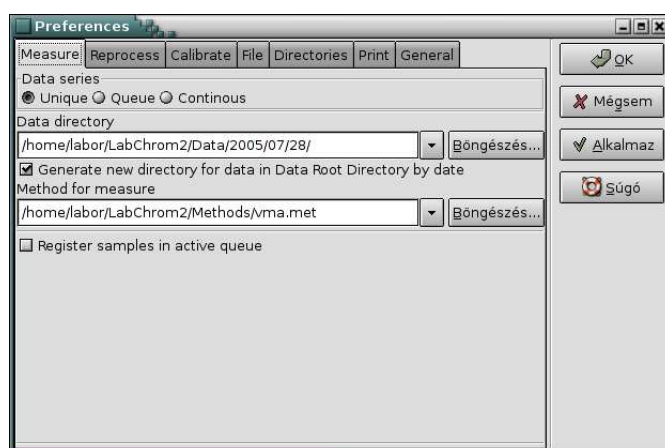
A Beállítások

Az előző fejezetben (*A mérés folyamata*) hivatkoztunk a **Beállítások (Preferences)** ablakra, melyben a méréshez szükséges paraméterek állíthatók be.

Ennek az ablaknak a részletezését itt tesszük meg, hogy rögtön meg tudjuk mutatni a szükséges beállításokat.

A **Beállítások (Preferences)** ablakot a fő ablak Szerkesztés (Edit) menüpontjából hívhatjuk meg.

Rögtön az első fülön találjuk a mérés módjának a beállítását. Az egyedi mérés kiválasztása esetén az alábbi beállításokat tehetjük meg. Megadhatjuk az adat-

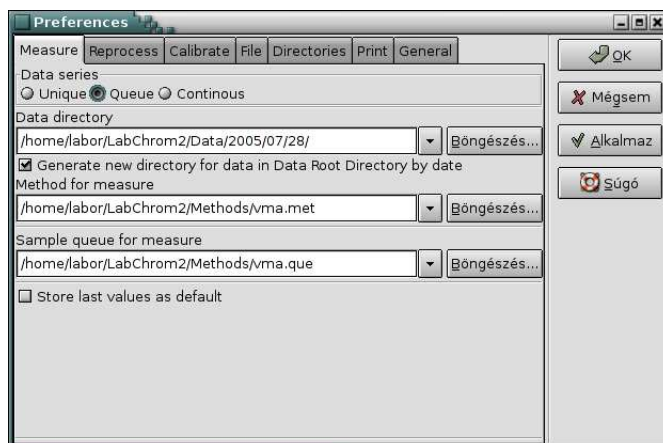


3.1. ábra. Beállítások - egyedi mérés

könyvtárat, melybe a mérés végeztével a mért kromatogram kerül. Amennyiben az alatta lévő kijelölő négyzet *Generate new directory for data in Data Root Directory by date* bejelölésre kerül, úgy ezen mező tartalma érdektelen, ugyanis a könyvtár automatikusan létrehozásra kerül dátum alapján. Ilyenkor az adatkönyvtár mezőben az utoljára generált könyvtár látható. Az alatta lévő *Method for measure* mezőben kell kiválasztanunk azt a **Method** fület, melyet a mérés során használni kívánunk. Ez az a bizonyos **Method** file melynek mindenképp léteznie kell, ugyanis enélkül nem indul el a mérés.

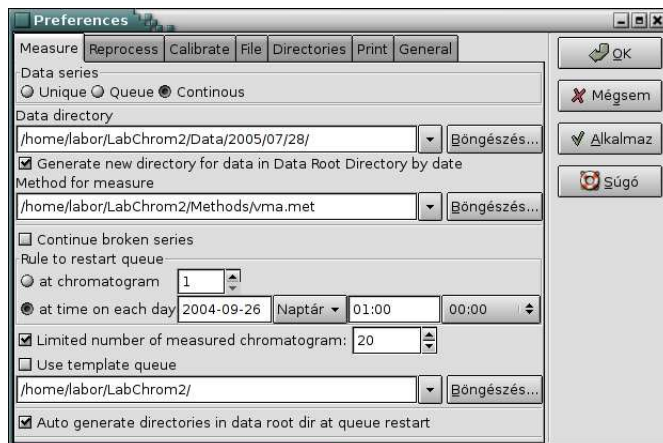
Amennyiben a mérést regisztrálni szeretnénk egy általános mintasorban, úgy jelöljük be a `Register samples in active queue` jelölőnégyzetet.

A mintasorral történő mérés kiválasztása esetén a beállítások egy része megegyezik az előbbivel, a különbség a mintasor nevének megadásánál van.



3.2. ábra. Beállítások - mérés mintasorral

A legösszetettebb beállításokat a folyamatos mérések kiválasztásánál lehet megejteni, ugyanis itt be kell állítanunk, hogy milyen szabályok alapján kezdődjön újra a mérési ciklus.



3.3. ábra. Beállítások - folyamatos mérés

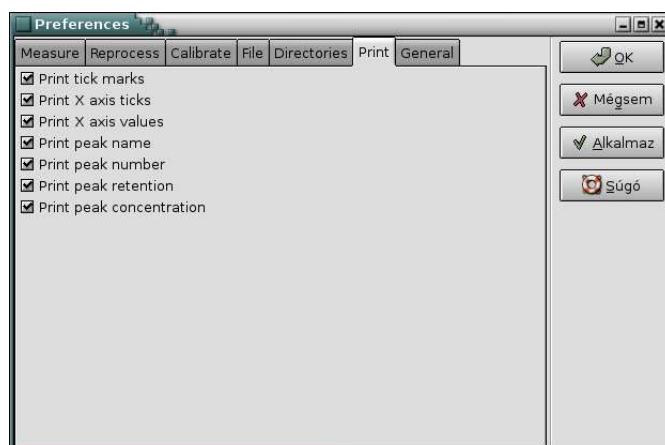
A `Continue broken series` jelölőnégyzet azt teszi lehetővé, hogy a mérési folyamat leállításánál az adattárolást ott folytassa a rendszer ahol abbahagyta és ne kezdjen új sorozatot.

A `Rule to restart queue` beállításoknál azt választhatjuk ki, hogy megadott számú mérés után vagy egy adott naptári időpontban kezdődjen újra egy sorozat. A naptárból csak az óra-perc beállítás kerül figyelembe vételre.

A megmért kromatogramok maximális számát is beállíthatjuk, ez esetben ha ezt eléri a mérések száma, leáll a mérési folyamat. Ezt a Limited number of measured chromatogram: mezőben tehetjük meg.

Fejlesztés alatt van az a funkció, hogy mérési sorban tárolhatjuk a folyamatos üzemmódban megmért kromatogramokat. Ennek beállító eszközeit egyelőre ne használjuk. A Directories lapon állíthatjuk be a szoftver által használt főbb könyvtárak elérési útját. A Bug Trace directory műszerenként teszi lehetővé a szoftver nyomkövetésének elvégzését. A Data root directory a kiindulási pontja az adatok tárolásának, automatikus könyvtárgenerálás esetén ebbe a könyvtárba készül el a dátum szerinti struktúra. A Method directory tartalmazza a **Method** és a **Queue** azaz mintasor állományokat. A Calibration directory a kalibrációs táblázatok tárolóhelye. A Import data directoryban keresi a program az importálandó, más szoftverből származó adatokat. A Export data directory Az adatok más formában történő mentése esetén ezt a könyvtárat kínálja fel alapértelmezettnek a program.

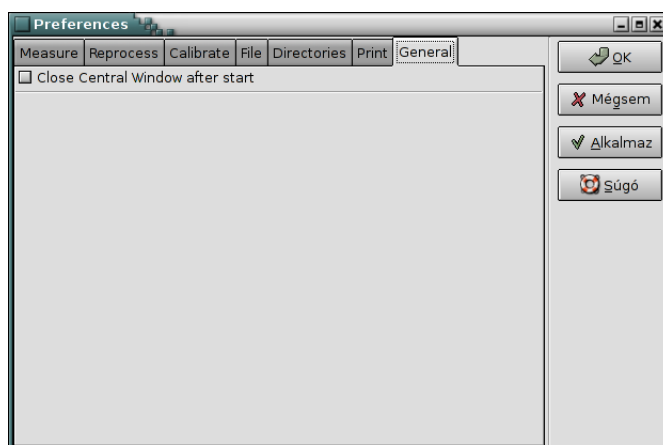
Amennyiben a Reprocess ablakban nyomtatunk, úgy egy rövid, "brief" reportot kapunk, melynek a beállításait az alábbi lapon tehetjük meg.



3.4. ábra. Beállítások - nyomtatás

Elsősorban a csúcsok "dekorálását" azaz különféle információkkal való ellátását állíthatjuk itt be.

Ebben az ablakban egy paraméter van, a **Központi ablak** ismertetésekor említett kapcsoló, mellyel vissza tudjuk állítani az ablak megjelenítését.

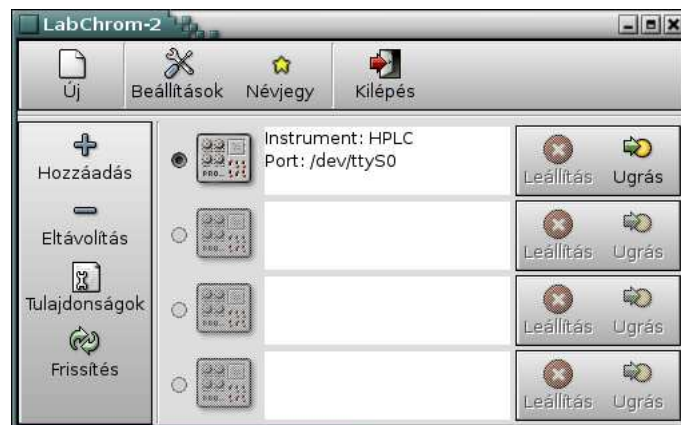


3.5. ábra. Beállítások - általános

4. fejezet

A központi ablak

A szoftver első indításakor a központi ablak jelenik meg, melyben a LabChrom-2 program futásához szükséges beállításokat tudjuk megejteni. Itt jegyezzük meg, hogy ez az ablak nem feltétlenül jelenik meg minden programindításkor, ennek szabályozását később tárgyaljuk a beállítási lehetőségeknél.



4.1. ábra. A központi ablak

Az ablakban három fő funkció érhető el:

- A programhoz tartozó általános beállítások, felső eszközsor
- A műszer(ek)hez tartozó beállítások, baloldali eszközsor
- Az egyes műszervezérlő szoftverek indítása illetve leállítása, jobboldali eszközsor

4.1. A felső eszközsor, Beállítások (Preferences)

4.1.1. Az Új gomb

Az Új gomb megnyomására az össze beállítás törlődik és egy teljesen üres központi ablakban tudunk minden beállítást az alapoktól elkezdve megejteni.

4.1.2. A Névjegy

A Névjegy gomb megnyomására egy ablakot kapunk, melyben a program készítői, együttműködői nevei vannak felsorolva illetve a szükséges webes elérhetőségek.

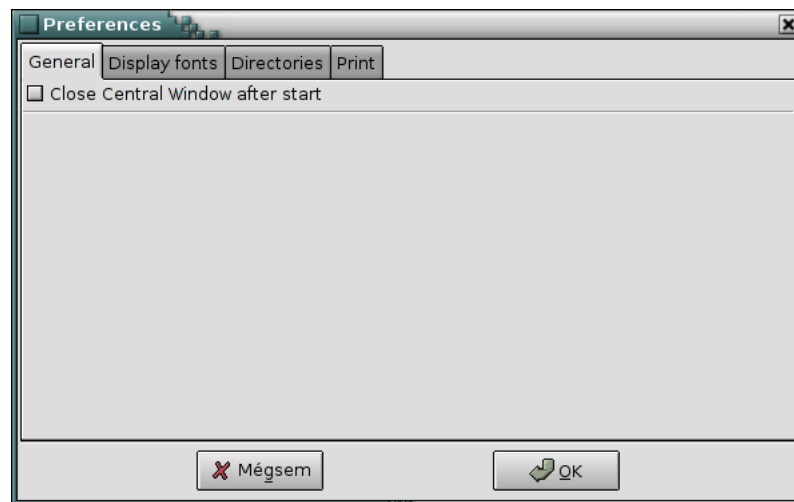
4.1.3. A Kilépés

A Kilépés gomb részletesebben a Kilépés fejezetben kerül kitérgyalásra.

4.1.4. A Beállítások

A Beállítások gomb megnyomására egy ablakot kapunk, melyben a szoftver általános beállításait tudjuk megejteni. Ezek a beállítások a szoftver funkcionalitásától függetlenek, azaz nem a szoftver kormatográfias jellegével kapcsolatosak, hanem például a különféle betűkészleteket tudjuk itt beállítani illetve a nyomtatással kapcsolatos alapvető paramétereket.

Általános

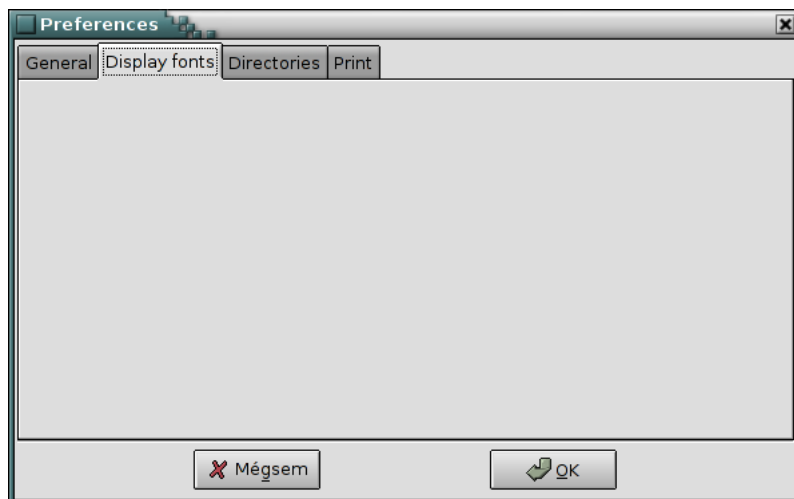


4.2. ábra. Az általános beállítások

A General fülön jelen pillanatban egy beállítási lehetőség van, amellyel azt tudjuk elérni, hogy a központi ablak automatikusan bezáródjon - azaz ne jelenjen meg - a program futása során. Értelmszerűen ez problémát jelenthet akkor, ha ezt később szeretnénk visszaállítani, azonban ugye nincs központi ablak ahol megtehetnénk. Ezért a

LabChrom-2 program fő ablakának Beállítások menüpontjában ezt megejthetjük, s a következő programindításkor már ismét van központi ablakunk.

Display fonts



4.3. ábra. A betűkészlet beállításai

Ez a fül jelen pillanatban nem ad beállítási lehetőségeket, a program további fejlesztése során ide fognak kerülni azok a betűkészlet beállítási lehetőségek, melyek a képernyőn történő megjelenítéshez tartoznak.

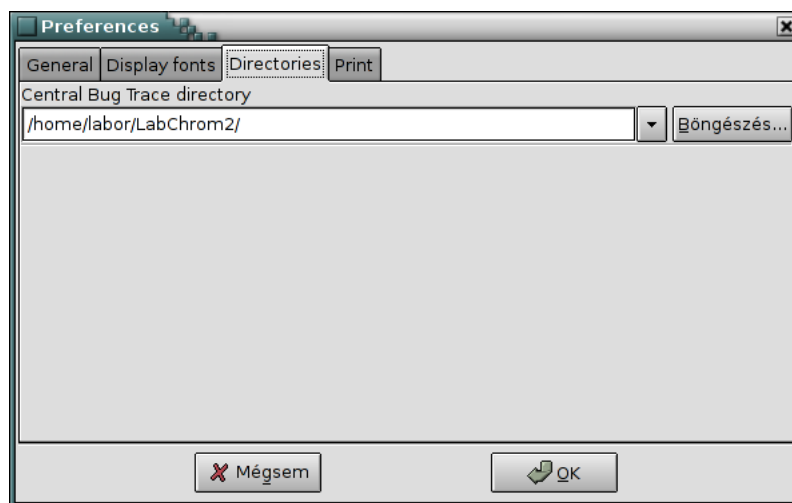
Könyvtárak

Ezen a beállítási lapon a központi file befogadó könyvtárát adhatjuk meg, ide egy olyan file kerül folyamatosan beírásra és tárolásra, amely egy esetleges szoftverhiba okának felderítésekor adhat hasznos támpontokat a fejlesztőknek. Hibamentes működés esetén ez a file időnként törölhető is, neve BugTrace.

Nyomtatás

Betűtípusok. Ezen a lapon a nyomtatás során használt betűkészleteket állíthatjuk be. Amennyiben ez feltétlenül szükséges, úgy figyeljünk arra, hogy a táblázatos jellegű nyomtatásoknál – mint például csúcslista – monospace jellegű betűtípust, azaz állandó karakterszélességű betűt használjunk, különben szétesik a táblázat értékeinek tabulációja.

Margók. Miután a nyomtatók nem képesek műszakilag egy papír teljes felületére nyomtatni, ezért margókat kell megadnunk, hogy minden nyomtatnivaló anyag kiférjen az oldalra. Amennyiben olyasmit látunk a nyomtatásnál, hogy lemaradt a lapról valamilyen nyomtatnivaló, akkor a papírtípus ellenőrzése után állítsunk margót. Gyakori ugyanis, hogy az amerikai szabványú Letter papírtípus az alapbeállítás és nem az európai szabványú A4-es. Amennyiben A4-es, úgy állítsunk margót.



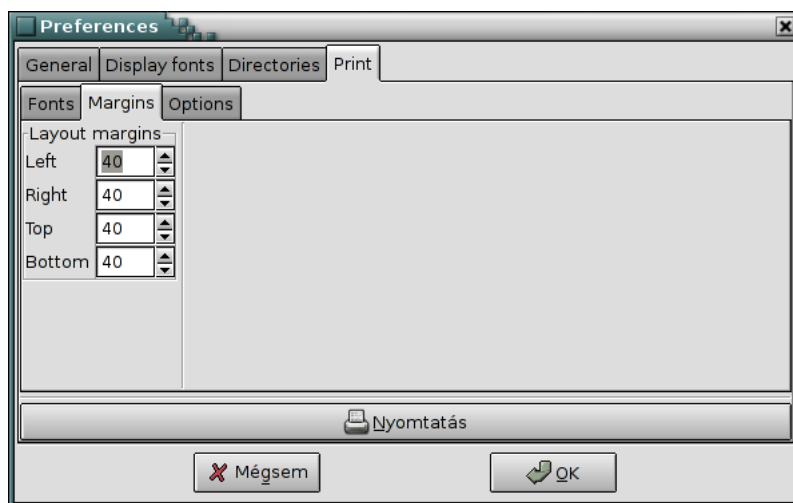
4.4. ábra. A könyvtárak beállításai



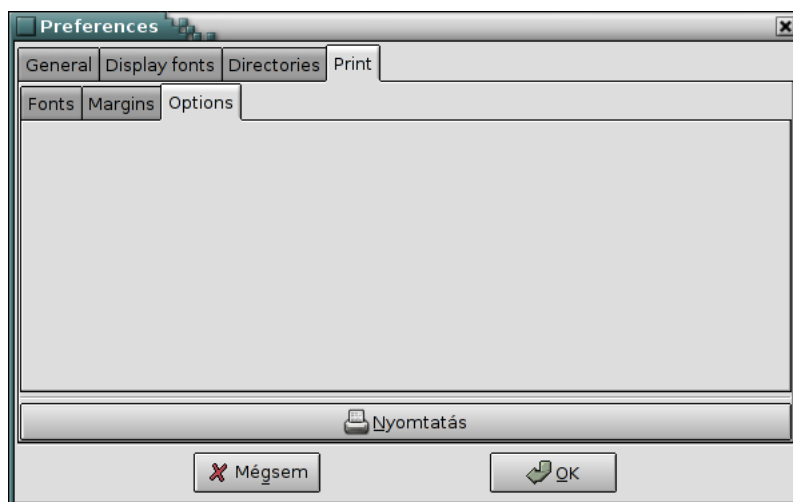
4.5. ábra. A nyomtatási betűkészlet beállításai

Egyéb opciók. Ez a lap jelenleg fenntartva későbbi fejlesztésekhez, a tervek szerint a színes nyomtatással kapcsolatban kerülnek ide a beállítások.

Tesztoldal nyomtatás. Az ablak alsó részén a *Nyomtatás* gombra kattintva azonnal ellenőrizhetjük pl. a margóbeállítások hatását egy tesztoldal nyomtatása segítségével.



4.6. ábra. A nyomtatási margók beállítása

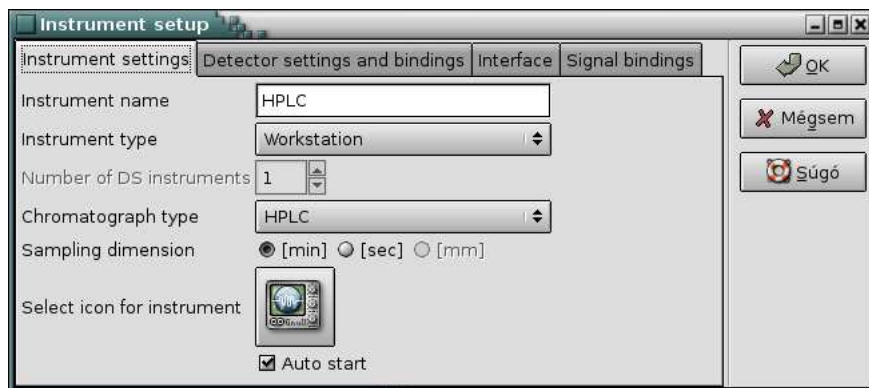


4.7. ábra. A nyomtatási opciók beállítása

4.2. A baloldali eszközsor, Készülék tulajdonságok

Amint a bevezetőben említettük, egyszerre akár négy független példányt is üzemeltethetünk a szoftverből. Ezeket a példányokat – mondhatjuk azt is, hogy műszereket – ezzel az eszközsorral tudjuk kezelni. Hozzáadhatunk egy újat, elvehetünk belőlük illetve módosíthatjuk a meglévő beállításokat. Amennyiben a Hozzáadás illetve a Módosítás gombokat nyomjuk meg, úgy megjelenik egy beállító ablak, ahol az adott műszer részletes beállításait végezhetjük el.

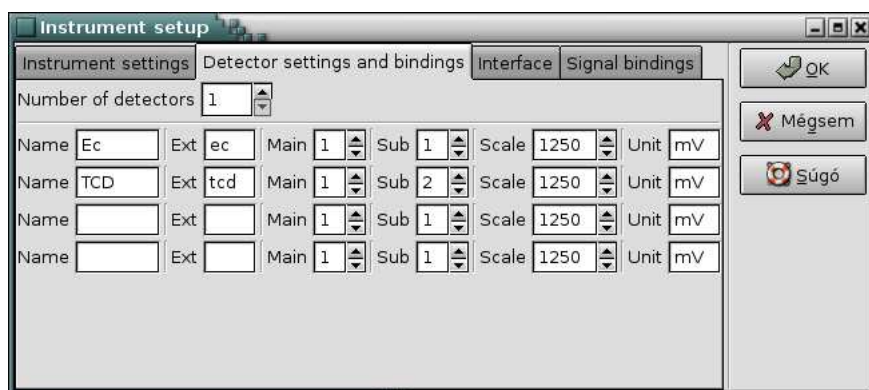
4.2.1. Műszer



4.8. ábra. A műszer beállítása

Amennyiben **Workstation** illetve egyedi műszert akarunk beállítani, adjunk neki egy nevet. Ez általában a műszer gyári neve szokott lenni. Válasszuk ki a szoftver üzemmódját. Amennyiben többcsatornás **Datastation** módot választunk, adjuk meg a becsatolt egyedi műszerek darabszámát. Válasszuk ki a műszer típusát. Ez lehet GC, HPLC illetve általános denzitométer. Állítsuk be az idő formátumát. Itt rendelhetünk hozzá egy ikont a műszerhez, s ami a legfontosabbak egyike, az automatikus programindítást is itt állíthatjuk be.

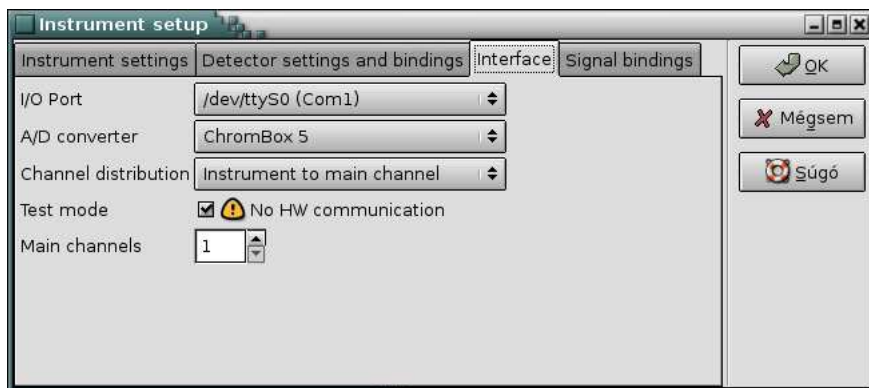
4.2.2. Detektorok



4.9. ábra. A detektorok beállítása

Egy kromatográfnek több detektorja is lehet, a szoftver legfeljebb négyet tud kezelni azaz fogadni a jelüket párhuzamosan. Itt állíthatjuk be a detektorokat és azt, hogy mely A/D konverter mely csatornához kötjük őket.

4.2.3. Interface



4.10. ábra. Az interface beállítása

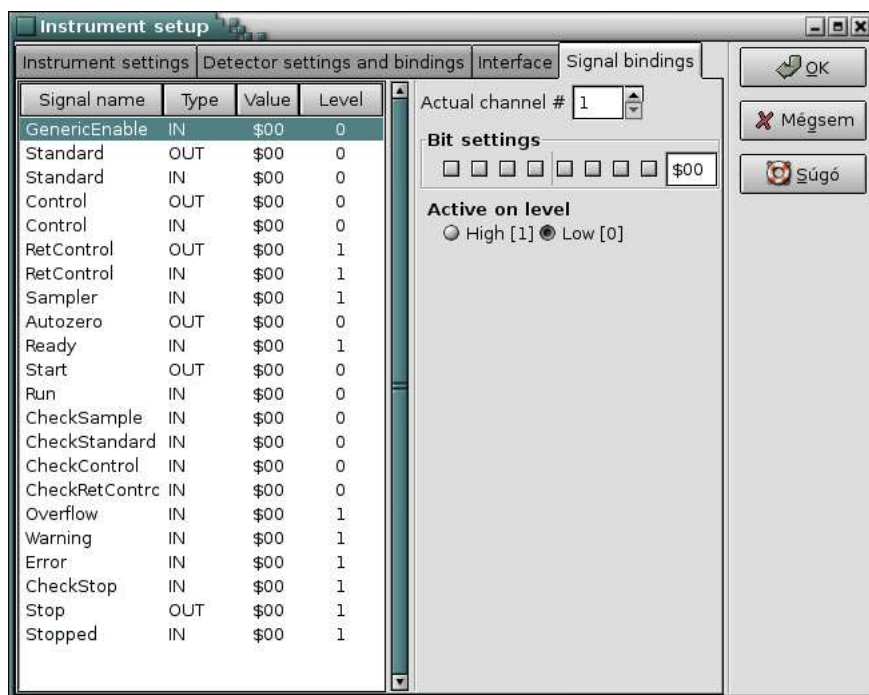
Amennyiben **Workstation** illetve **Datastation** üzemmódban vagyunk, ki kell választanunk az A/D konverter típusát. Célműszer esetében a **None** opciót választjuk. Meg kell adnunk a csatlakozó felületet is, ami jelen pillanatban valamely soros (RS232) port lehet, a Com1 felel meg a /dev/ttyS0-nak illetve a Com2 felel meg a /dev/ttyS1-nek. A **No HW communication** kapcsoló tesztelési célokat szolgál, ne használjuk. Amennyiben A/D konverterünk képes több bemeneti jelet fogadni és ezt **Datastation** üzemmódban több műszer közt óhajtjuk megosztani, ez esetben a csatornaszámot itt állítjuk be.

4.2.4. Vezérlőjelek

Az A/D konverterek képesek digitális jelekkel kommunikálni a műszerekkel. Az egyes vezérlőfunkciókhoz itt rendelhetjük hozzá a fizikai biteket melyek az A/D konverteren bekötésre kerülnek. Ezeket a vezérlőfunkciókat majd a **Method** állomány **Control** paramétereit közt fogjuk megtalálni.

4.3. A jobboldali eszközsor, Program indítása és leállítása

Ezeknek a gomboknak a használatára a napi gyakorlatban ritkán kerül sor. Általában a szoftverben egy üzemmódot állítunk be s olyankor automata indítást is kérünk hozzá központi ablak bezárással, ritkán szokás több műszer-üzemmódot egyszerre felhasználhatóan beállítani. Amennyiben mégis több üzemmódot használunk párhuzamosan, akkor ezekkel a gombokkal indíthatjuk az egyes szoftver példányokat (instance). Egy műszeres üzemmódban is van azonban jelentősége ezeknek a gomboknak, ugyanis az egyes beállítások gyors tesztelését így tudjuk a leghatékonyabban megejteni, azaz a központi ablakban elvégzünk egy beállítást, majd elindítjuk az adott üzemmódot és ellenőrizzük azt.



4.11. ábra. A digitális jelek kötéseinek beállítása

4.4. Kilépés

A központi ablakban a Kilépés gomb megnyomására egy biztonsági ellenőrző ablakot kapunk, melyben az ottani Kilépés gombra kattintva ténylegesen kilépünk a központi ablakból.



4.12. ábra. A kilépési ablak

II. rész

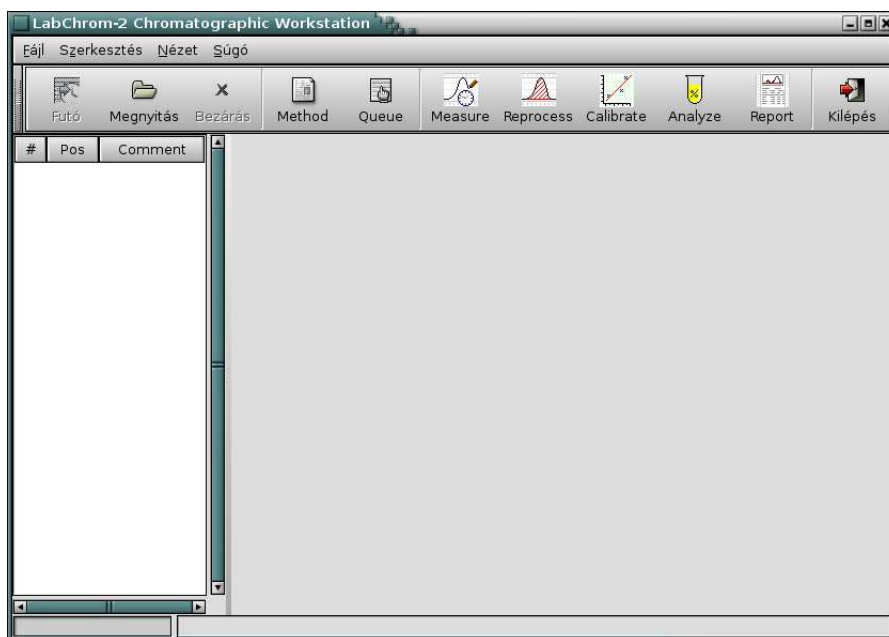
A szoftver

5. fejezet

A fő ablak

A szoftver elindításakor a fő ablakot látjuk. Ennek az ablaknak az eszközsora és a mintasor listája közös mindegyik verzió esetén, ezért a funkcionalitást a **Workstation** verzió ablakán mutatjuk be, a további változatoknál csak a különbségeket részletezzük.

5.1. Workstation



5.1. ábra. A fő ablak

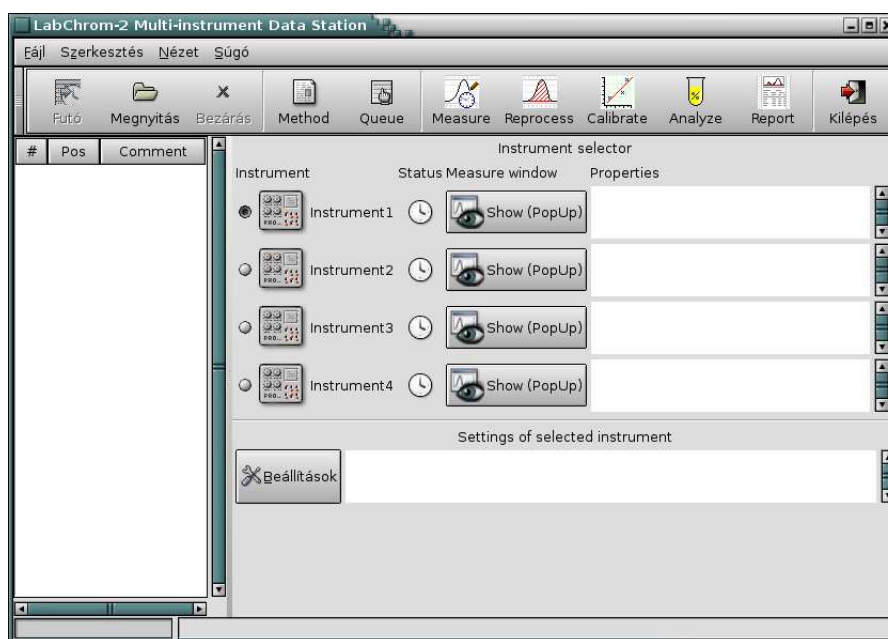
Az eszközsor első három gombja a mintasor kezeléséhez tartozik. Egy régebbi mérési sorozat mintasorát be tudjuk tölteni a munkaterületre, a mintasor a bal oldali listában jelenik meg, ezek után újra lehet számoltatni, nyomtatni a kromatogramokat. A **Futó** gomb az éppen mérés alatt lévő mintasor eddig megmért részét hozza át a

munkaterületre, így az addig elkészült adatokat a szokott módon tudjuk feldolgozni. A **Megnyitás** gombbal egy eltárolt mintasort tudunk behívni a munkaterületre. A **Bezárás** gombbal a mintasort töröljük a munkaterületről, értelemszerűen ez a tárolt adatokat nem törli.

A következő két gomb a **Method** és a **Queue**. Ezen gombok megnyomásával új illetve régebbi mérési módszert illetve mintasort tudunk szerkeszteni. Az ezen úton szerkesztett módszer illetve mintasor állományok nem az éppen futó méréshez tartoznak, itt kizárólag a betöltésük, a szerkesztésük illetve az elmentésük lehetséges.

Az ezt követő gombokkal magát a kromatográfiás munkát tudjuk végezni. A **Measure** gombbal a mérési ablakot nyithatjuk meg, ahol a méréssel kapcsolatos összes tennivalót intézhetjük. A **Reprocess** gombbal a kromatogram megjelenítő ablakot nyithatjuk meg, ahol a kromatogram integrálását végezhetjük el. A **Calibrate** gombbal a kalibrációs táblát kezelhetjük. Az **Analyze** gombbal a kromatogram vagy az egész mérési sor mennyiségi értékelését hajthatjuk végre. A **Report** gombbal egy flexibilis reportnyomtató funkciót kapunk.

5.2. Datastation



5.2. ábra. A Datastation

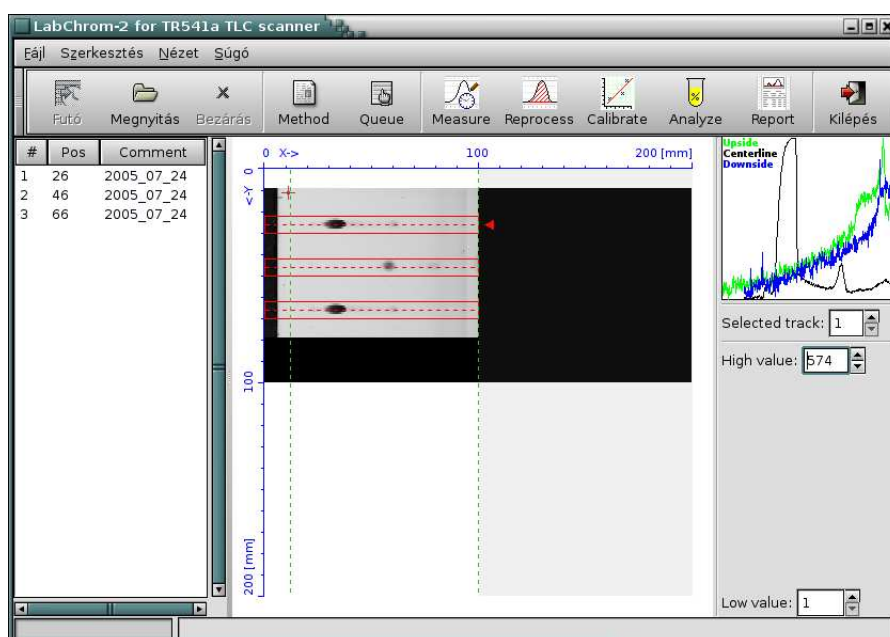
Mint említettük, **Datastation** üzemmódban egy szoftverpéldányon belül egy A/D konverterrel több műszert is kezelhetünk egyidejűleg. A fő ablakban az egyes műszerek beállító és kiválasztópaneljeit találjuk. Balról jobbra az egyes műszerekhez tartozó grafikus eszközök:

- Kiválasztógomb
- Készülék ikon

- Készülék név
- Futási állapot
- Mérési ablak előhívó gomb
- Paraméter mező

A kiválasztógombbal választhatjuk ki azt a műszert, amelyhez a munkaterület (a fő ablak a funkcióival mint **Reprocess**, **Calibrate**, **Analyze**, **Report**) hozzá van rendelve.

5.3. TR-541a



5.3. ábra. TR-541a

A TR-541a denzitóméter vezérlőszoftver mód esetén a fő ablakban egy behívott réteg (azaz mintasor) esetén a réteg képét, a kiválasztott sáv sematikus rajzát illetve a színezés eszközeit láthatjuk. A kiválasztott kromatogramot megnyithatjuk a Reprocess ablakban.

5.4. TR-930

Fejlesztés alatt.

5.5. Kilépés

A Kilépés gomb megnyomásával egy biztonsági ablakot kapunk, melyben nyugtázzhatjuk a kilépési szándékunkat.



5.4. ábra. Kilépés

A további műszerüzemmódok jelen pillanatban implementálás alatt vannak.

6. fejezet

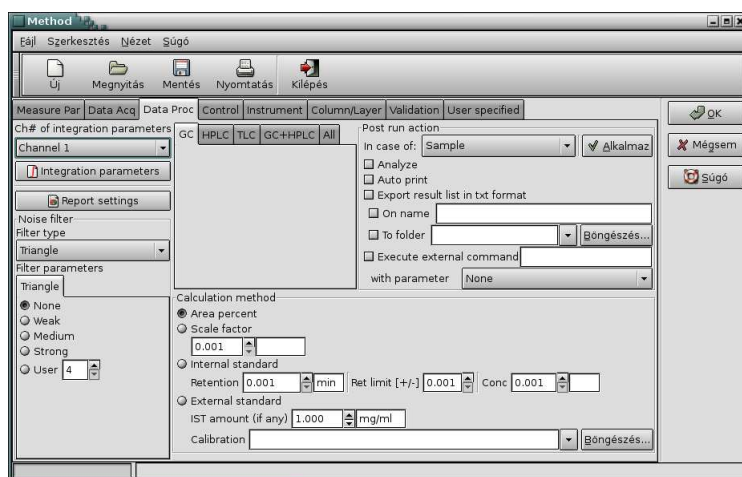
A Method

A **Method** egy összetett adatállomány, ez tartalmazza, hogy milyen kondíciókkal történjen meg a mérés, milyen paraméterekkel a kiértékelés, valamint egyéb adatokat tartalmaz.

A különféle szoftvermódokhoz a **Method** állomány egy-egy része különböző. Először a közös részeket tárgyaljuk, majd műszerenként a különbözőket.

6.1. Data processing

A DataProc füllel megnyitható lapon a kromatogram feldolgozásával kapcsolatos paramétereket állíthatjuk be, elsősorban az integrálási paraméterekkel találkozik a felhasználó ezek közül.



6.1. ábra. Az adatfeldolgozási paraméterek

Amikor a szoftver - bármely üzemmódjában - egy kromatogram mérés-adatgyűjtését befejezte, elvégzi az adatfeldolgozási műveleteket, az integrálást, a mennyiségi analízist, majd eltávolítja a kromatogramot. Már említettük, hogy a rendszer műszerenként 4 detektor jelét képes fogadni. Értelemszerűen mindegyik detek-

tor jeléhez külön lehet beállítani az integrálási paramétereit. A Channel lehulló menüvel válasszuk ki a kívánt detektort. Ez után nyomjuk meg az Integration parameters gombot, mely hatására megjelenik egy ablak, melyben a később részletezett módon beállíthatjuk a kívánt paramétereit. A Report settings gomb megnyomásával állíthatjuk be a report (lásd fő ablak) nyomtatásához szükséges paramétereit. Ez már értelemszerűen detektorfüggetlen beállítás. Egy zajszűrő függvényt is beállíthatunk, mely a kromatogramot kisimítja szükség esetén. Jelen pillanatban egy háromszög-függvény típusú simításra van lehetőség, a kiválasztó gombok a háromszög szélességét adják meg adatpont mennyiségben. A több füles GC/HPLC/TLC lapon mérés-specifikus paramétereit lehet beállítani, jelenleg fejlesztés alatt. A Post run action területen lehet beállítani azt, hogy a futás végén milyen események történjenek a kromatogrammal. Először is tisztáznunk kell, hogy a kromatogram többféle típusú lehet:

1. Sample - azaz minta
2. Standard - azaz kalibrációs minta
3. Control - azaz mennyiségi ellenőrző minta
4. Retention control - retenciós idő ellenőrző minta

Általában egy mérési folyamat során mérés megkezdésekor dől el, hogy a minta milyen típusú lesz. A **Method** állomány azonban közös, mivel egy adott sorozatban csak a post-run folyamatban különböznek az egyes kromatogrammal a tennivalók, így egy **Method** állományban mindegyik típusra meg tudjuk adni a teendőket. A lehulló menüvel válasszuk ki, hogy mely mintatípust akarjuk beállítani, majd a beállítások végzetével nyomjuk meg az Alkalmaz gombot. Az egyes funkciók, melyeket állítani tudunk:

- Analyze - a megadott kalibrációs tábla vagy a belső (lásd alább) beállításoknak megfelelően elvégzi a szoftver a mennyiségi analízist
- Auto print - automatikusan riportot nyomtat a kromatogramról
- Export result list in txt format az eredménylistát szöveges file formájában lemezre menti.
- On name Exportálás esetén az alapértelmezett név a kromatogram neve, azonban ezzel a beállítással ezt felül lehet bírálni és ezen a néven fog elmentésre kerülni az eredménylista
- To folder Exportálás esetén ebbe a könyvtárba fog kerülni az adat ha megadjuk, egyébként az alapértelmezett hely a kromatogram eredeti helye
- Execute external command - egy külső parancsot, programot hív meg a rendszer, mellyel például az eredménylistát azonnal fel lehet dolgoztatni és tetszőleges műveleteket lehet végrehajtani
- with parameter a külső parancs ezzel a paraméterrel fog elindulni

Amennyiben Auto analyze beállítást használunk, a szoftver az alábbi lehetőségekből tud választani:

- Area percent - egyszerű területszázalék

- `Scale factor` - a megadott skálafaktorról szorozza a csúcsterületet
- `Internal standard` - a beállított paramétereknek megfelelően megkeresi a belső standardot és annak területével és a megadott koncentrációval számítja ki az összes többi csúcs koncentrációját
- `External calibration` a megadott kalibrációs táblával számol

6.2. Measure parameters

Ez a lap a **Method** beállításoknál kizárólag a Workstation jellegű változatokban működik.

6.2.1. Workstation, Datastation

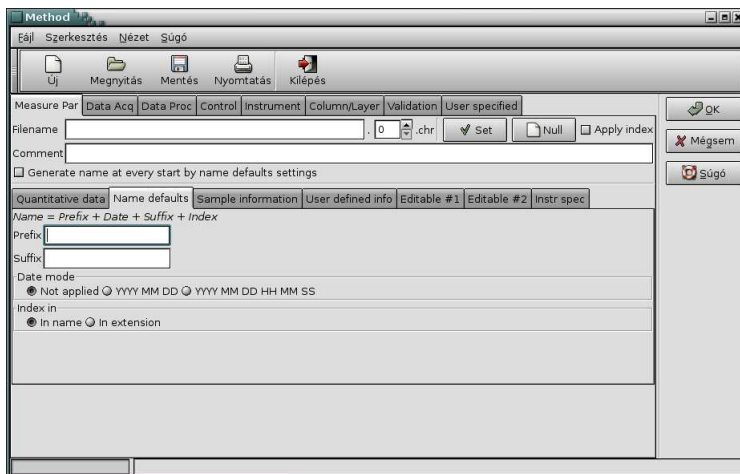
Név megadása

Az általános jellegű munkaállomásos méréseknél jellemző az, hogy a file-ok nevét a felhasználó adja meg nagy szabadsággal.

A szoftver itt két lehetőséget ad a felhasználónak:

- Eseti névadás
- Automatikus névgenerálás

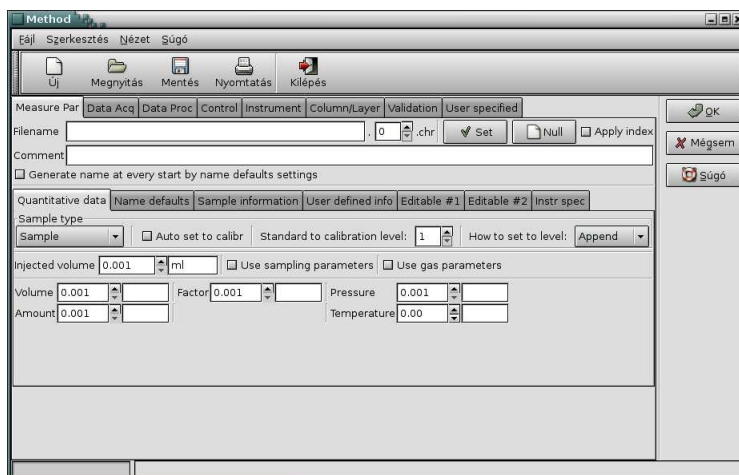
A két lehetőség között a `Generate name at every start by name defaults settings` jelölőnégyzettel választhatunk, bejelölve automatikus névgenerálást kapunk. Ez esetben a `Name defaults` lapon beállított paraméterek alapján kerül generálásra a név. Látható, hogy a név a dátumból kerül előállításra, ám elé a



6.2. ábra. Workstation név paraméterek

`Prefix` tagot, mögé a `Suffix` tagot illeszti. A dátumot több formátumban is megadhatjuk, illetve a futóindexet kérhetjük kiterjesztésbe vagy magába a névbe beilleszteni.

Mennyiségi adatok



6.3. ábra. Workstation mennyiségi paraméterek

A mérések során sok esetben számolnunk kell mennyiségi paraméterekkel, melyeket a `Quantitative data` lapon adhatunk meg. Itt állíthatjuk be egyúttal az aktuális kromatogram mintatípusát is.

Itt jegyezzük meg, hogy a név illetve mennyiségi adatokkal kapcsolatos beállítások az egyedi illetve folyamatos méréseknél játszanak szerepet, ugyanis a minta-sor használatával történő mérések esetén a mintasor táblából állítja be a szoftver ezeket az adatokat!

A következőkben az információs lapok kitöltése kerül részletezésre, melyhez két megjegyzést fűznénk.

1. Ezek az adatok nem íródnak felül ha mintasoron keresztül mérünk
2. Ezeket az adatokat a **Report** funkció során a report nyomtatásakor láthatjuk viszont ha beállítjuk ezek nyomtatását.

Mintavételi információk

A mintavételezéssel kapcsolatos információkat a `Sample information` lapon állíthatjuk be. Itt a mintavételezéssel kapcsolatos összes adatot megadhatjuk, mind a hely, a dolgozó és az időpontok tekintetében.

Szabad definíciós adatok

A felhasználó definiálhat mezőket az egyéb olyan adatokhoz, melyek nem tipizálhatóak. Ezeket a `User defined info` lapon teheti meg.

Szabad leíró részek

A szoftver két szabad felhasználású leíró mezőt bocsát rendelkezésre abból a célból, ha hosszabb lélegzetű mondanivalót szeretnénk a kromatogramhoz mellékelni. Ezek az `Editable 1-2` lapon találhatóak.

6.4. ábra. Workstation mintainformációk

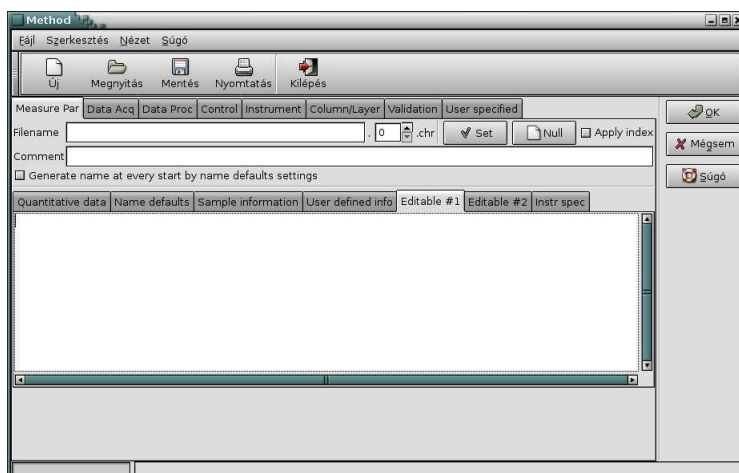
6.5. ábra. Workstation felhasználói mezők

Műzerspecifikus adatok

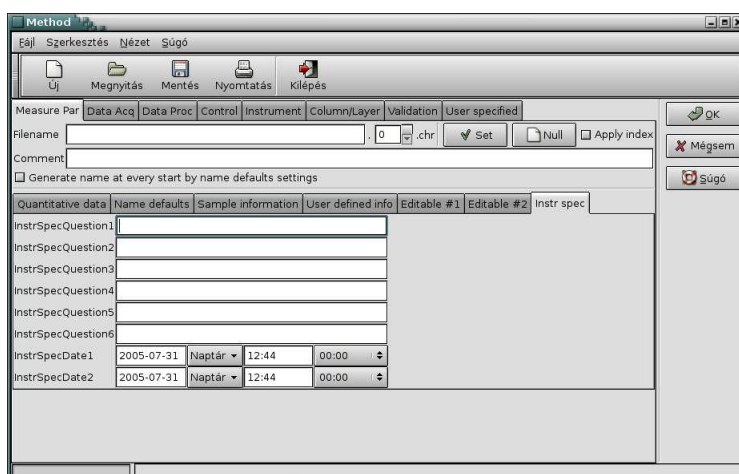
Amennyiben a mérőrendszer - például mintaelőkészítő egység - beállításával kapcsolatban szeretnénk adatokat megőrkíteni, úgy azokat az `Instr spec` lapon tehetjük meg.

6.3. Data acquisition

Ez a lap a **Method** beállításoknál kizárólag a Workstation jellegű változatokban működik.



6.6. ábra. Workstation szabad leíró mezők

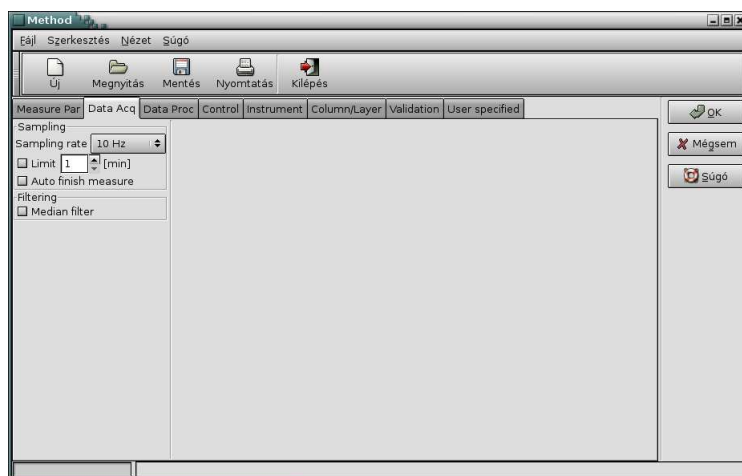


6.7. ábra. Workstation műszer specifikus adatok

6.3.1. Workstation, Datastation

A workstation jellegű üzemmódok A/D konverterrel történő adatgyűjtéssel működnek. A mintavétel gyakoriságát, a mérési idő hosszát és egyéb opciókat lehet itt beállítani.

A lehulló menüből kiválaszthatjuk a mintavételi gyakoriságot, melyet Hz mértékegységben állíthatunk be, azaz a mintavétel gyakoriságát másodpercenként. Ennek beállításához olvassuk el az elvi alapvetést a 57. oldalon kezdődő kiegészítésben. Amennyiben a mérés biztosan lefut egy adott időintervallumon belül, úgy a Limit paramétert állítsuk be, hogy felesleges üres alapvonalat ne rögzítsünk a mérés végétével. Az Auto finish measure paraméter bekapcsolása esetén a mérés végétével a szoftver azonnal kiértékeli a kromatogramot és eltárolja. Ha ez nincs bekapcsolva, akkor az a Finish gomb megnyomására, azaz kézi beavatkozással történik csak meg.



6.8. ábra. Workstation adatgyűjtési paraméterek

Ritkán de előfordulhat, hogy valami oknál fogva tüske jellegű zavarok tarkítják a mérést. Amennyiben ezek ritkák, úgy a Median filter segítségével tudjuk ezeket kiszűrni.

6.4. Control

Ez a lap a **Method** beállításoknál kizárólag a Workstation jellegű változatokban működik.

6.4.1. Workstation, Datastation

A mérés kezdete, futás illetve befejezése során egy előre megadott rend szerint digitális kommunikáció végezhető a műszer és a számítógép közt. Ezeket lehet paraméterezni a Control lapon.

A napi gyakorlatban a kimeneti jelek közül az Autozero/prepare run jelet illetve a bemeneti jelek közül a Wait for run signal-t használjuk.

Start

Run

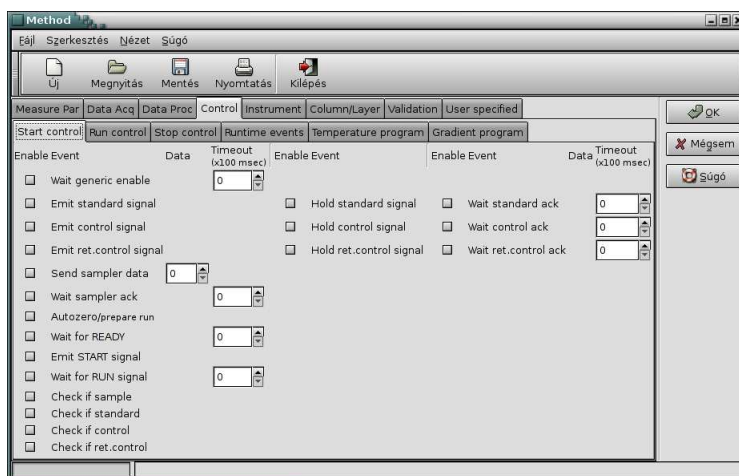
Stop

6.5. Instrument parameters

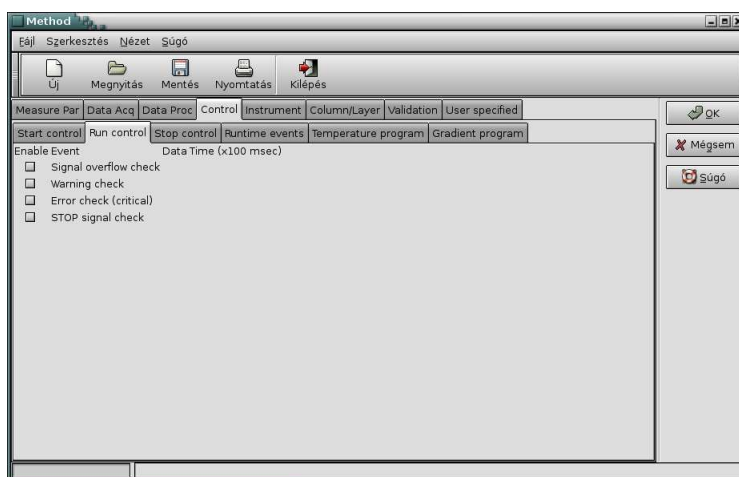
Ezek a paraméterek a denzitométer jellegű műszerek esetében kerülnek beállításra.

6.5.1. TR-541a

Amennyiben 10cm-es réteglapot használunk a felvételhez, úgy javallott a Short scan jelölőnégyzet használata, jelentősen rövidebb időbe telik így a mérés. A NormX

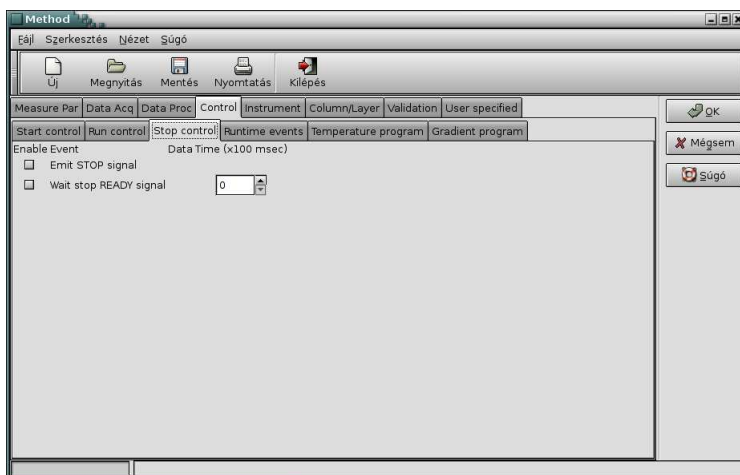


6.9. ábra. Workstation START vezérlőjelek

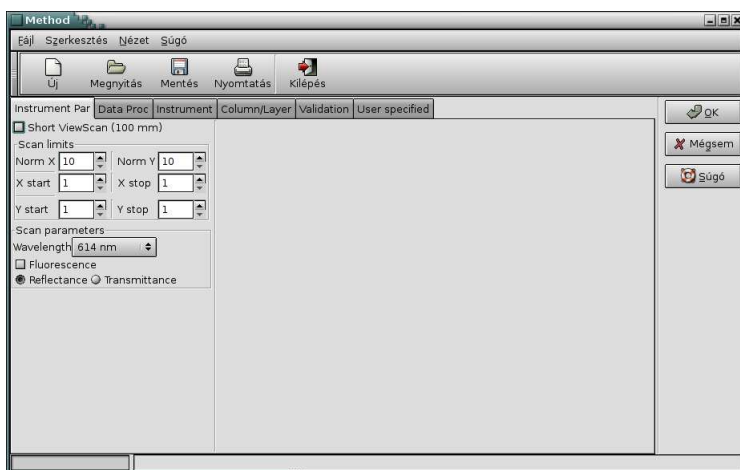


6.10. ábra. Workstation RUN vezérlőjelek

és a Y_{start} koordinátákkal a normálási pont helyét adjuk meg. Az X_{start} és X_{stop} értékek a kromatogram kezdetét és végét határozzák meg, ugyanis a réteg lefoglalásának és a rétegnek a szélét nem célszerű kromatogram gyanánt felvenni. Az Y_{start} és Y_{stop} értékek az előnézeti kép kezdetét és végét határozzák meg. A **Wavelength** lehulló menüben a kívánt szűrőt választhatjuk ki. Amennyiben fluoreszcenciás mérést végzünk, jelöljük be a jelölőnégyzetet. Transzmissziós mérésre a készülék jelen pillanatban nem alkalmas.



6.11. ábra. Workstation STOP vezérlőjelek

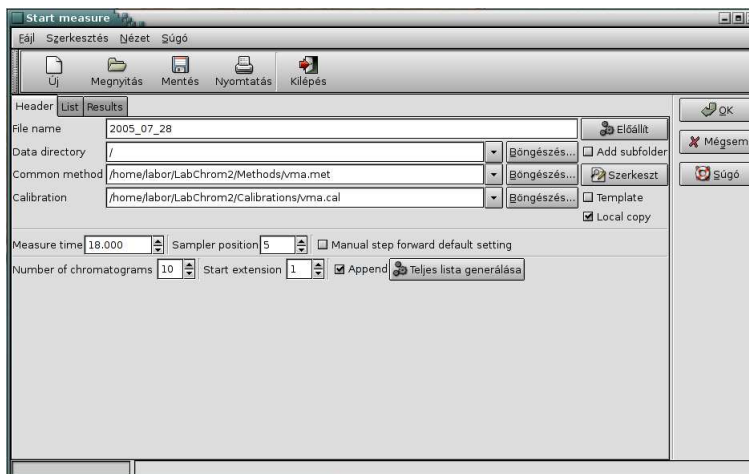


6.12. ábra. TR-541a műszerbeállítások

7. fejezet

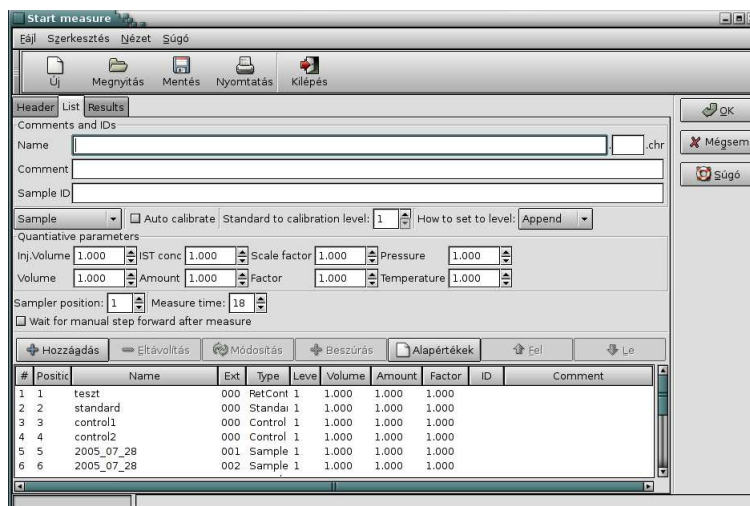
A mintasor kezelése

7.1. Munkaállomás verzió

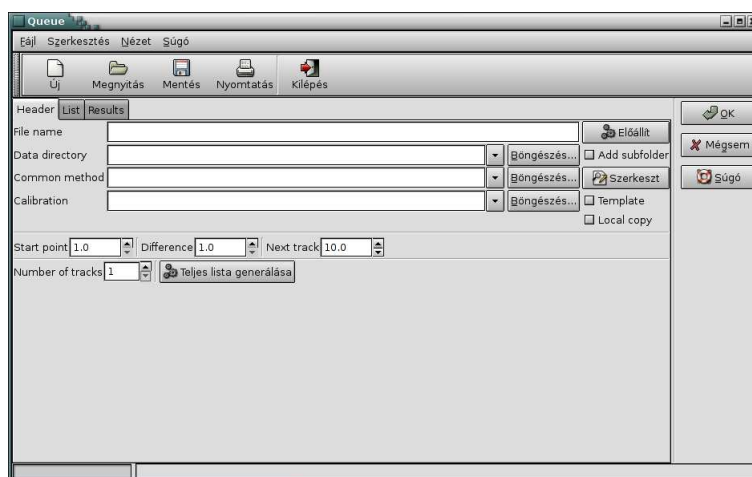


7.1. ábra. Mintasor közös adatok munkaállomás módban

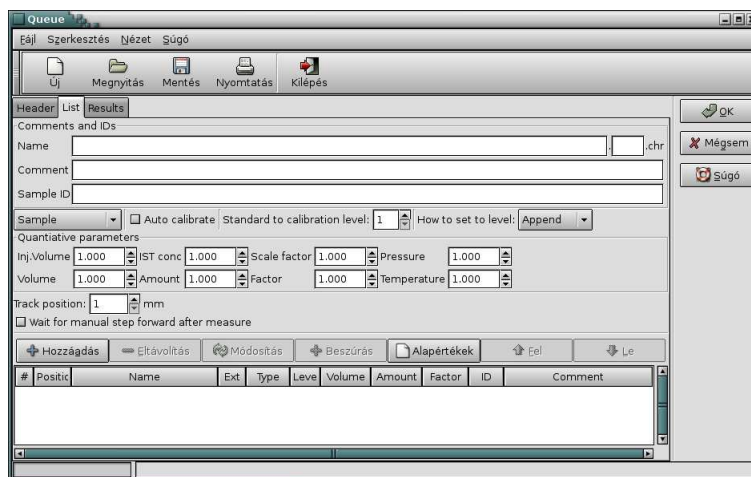
7.2. Denzitometriás verzió



7.2. ábra. Mintasor lista adatok munkaállomás módban



7.3. ábra. Mintasor közös adatok denzitometriás módban



7.4. ábra. Mintasor lista adatok denzitometriás módban



8. fejezet

A mérés

A mérési funkciók részleteiben jelentősen különböznek az egyes szoftver üzemmódo-knál, azonban van néhány közös vonás köztük.

A Workstation üzemmód eszköztára a következőképpen néz ki.

8.1. ábra. A mérési ablak fő eszköztára

A New, Open, Close gombok a mintasor kezelésre szolgálnak, a denzitometriás verziók esetében mindig aktívak, a munkaállomás verziók esetében csak akkor ha a mintasorral történő mérési beállítás az aktív a Beállítások ablakban.

A mérési folyamatot, sorozatot minden esetben a Start, Break illetve Finish gombokkal vezéreljük, ez érvényes mind az egyedi mind pedig a sorozatmérésekre. A Break és a Finish közt a lényegi különbség az, hogy a Break használata esetén a mérési adatok nem kerülnek tárolásra, míg a Finish gomb megnyomására igen. A mérési folyamat mindkét esetben befejeződik.

A Service funkció minden mérési üzemmódhoz megnyitja az odatartozó szervíz ablakot, ahol a rendszer hardver elemeit közvetlenül lehet kezelni. A napi gyakorlatban nincs szükség a használatára.

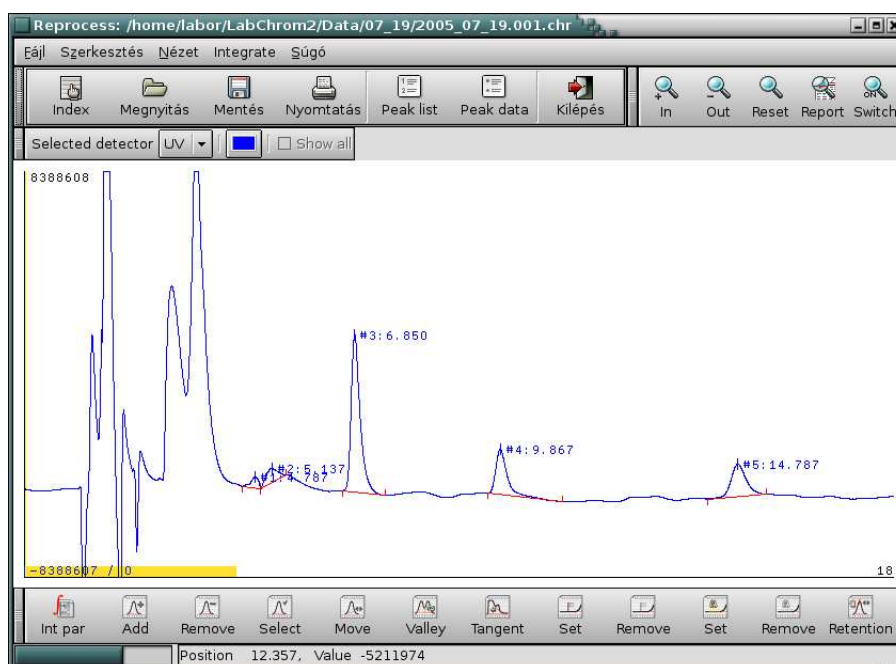
A Beállítások gomb megnyomására felugrik a Preferences ablak, ahol a mérési folyamat alapbeállításait végezhetjük el.

A Hiba gomb az esetben aktív, ha a hardverrel való kapcsolat során hibát észlelt a rendszer, ilyenkor nyomjuk meg, jegyezzük fel a kapott információt és indítsuk újra a szoftvert.

9. fejezet

Az integrálás

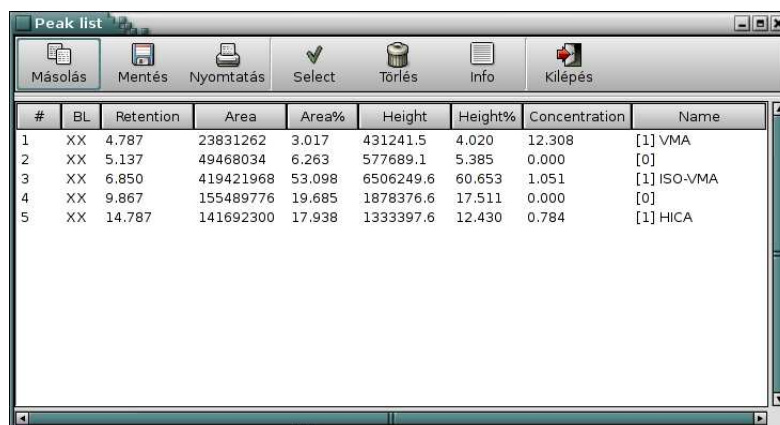
A kromatogramok integrálása két módon végezhető el a programban, a beállított paraméterek alapján az integráló programmal illetve az alapvonalak kézi korrekciójával. Ezeket a funkciókat a Reprocess ablakban érhetjük el. Az ablak felső eszközsorában találhatóak az általános jellegű funkciógombok illetve a zoomolás gombjai, az alsó eszközsorban pedig az alapvonal módosítás eszközei.



9.1. ábra. A Reprocess ablak

Az ablak láblécében (footer) láthatjuk, hogy az egérkurzor éppen milyen pozícióban van, leolvashatjuk a retenció értékét, a jel értékét illetve azt, hogy melyik csúcson belül tartózkodik éppen. Gombnyomásra a kurzorvonalat lerakja a szoftver az ablakban, így lehetőség nyílik egyes csúcsok kiválasztására.

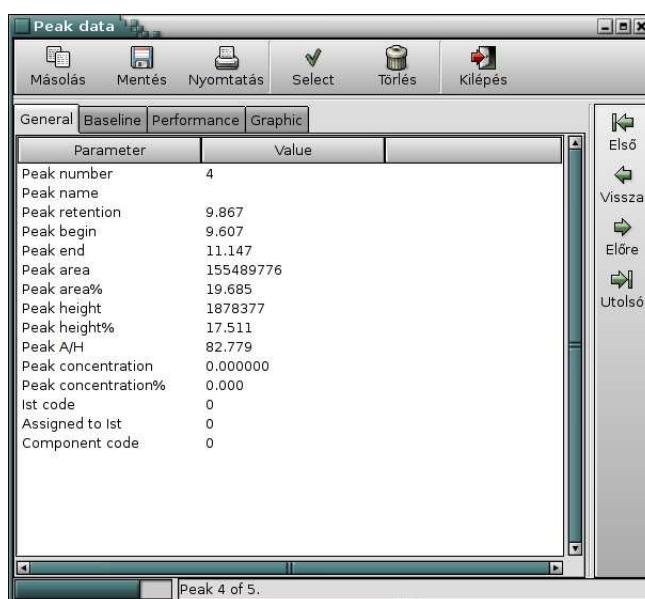
A Peak list gombbal egy előugró ablakban listát kapunk a csúcsokról.



#	BL	Retention	Area	Area%	Height	Height%	Concentration	Name
1	XX	4.787	23831262	3.017	431241.5	4.020	12.308	[1] VMA
2	XX	5.137	49468034	6.263	577689.1	5.385	0.000	[0]
3	XX	6.850	419421968	53.098	6506249.6	60.653	1.051	[1] ISO-VMA
4	XX	9.867	155489776	19.685	1878376.6	17.511	0.000	[0]
5	XX	14.787	141692300	17.938	1333397.6	12.430	0.784	[1] HICA

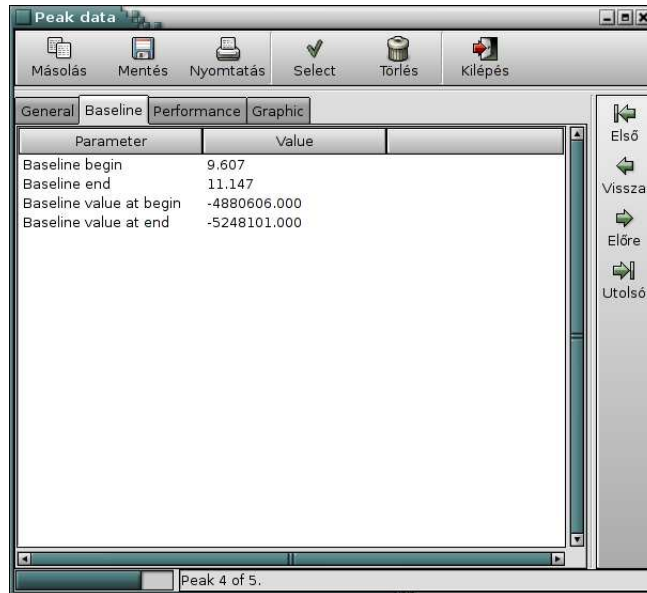
9.2. ábra. A csúcslista ablak

A Peak data gomb megnyomására az aktuális csúcs (ahol a kurzorvonal áll) adatait kapjuk meg a felugró ablakban. Ebben az ablakban több belső lapra (fülekkel választhatóan) van rendezve a csúcsinformáció, úgy mint általános adatok, alapvonal adatok éhatékonysági paraméterek.



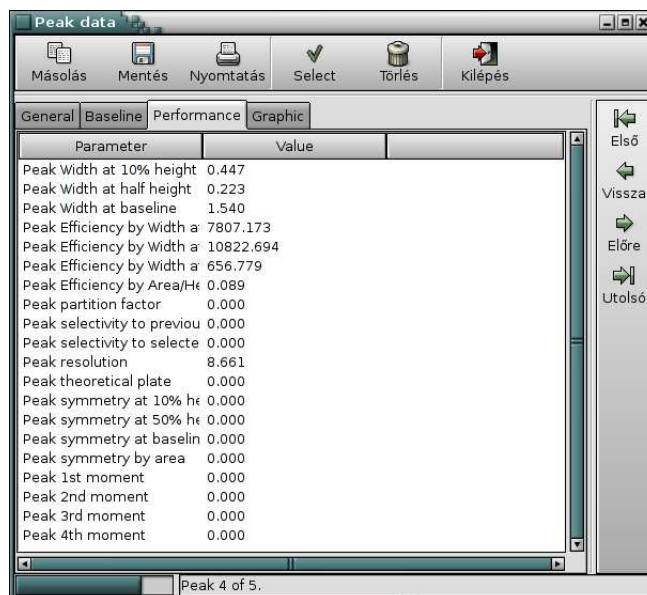
Parameter	Value
Peak number	4
Peak name	
Peak retention	9.867
Peak begin	9.607
Peak end	11.147
Peak area	155489776
Peak area%	19.685
Peak height	1878377
Peak height%	17.511
Peak A/H	82.779
Peak concentration	0.000000
Peak concentration%	0.000
Ist code	0
Assigned to Ist	0
Component code	0

9.3. ábra. A csúcs adatlap - általános rész



Parameter	Value
Baseline begin	9.607
Baseline end	11.147
Baseline value at begin	-4880606.000
Baseline value at end	-5248101.000

9.4. ábra. A csúcs adatlap - alapvonal rész



Parameter	Value
Peak width at 10% height	0.447
Peak width at half height	0.223
Peak width at baseline	1.540
Peak Efficiency by Width a	7807.173
Peak Efficiency by Width a	10822.694
Peak Efficiency by Width a	656.779
Peak Efficiency by Area/Ht	0.089
Peak partition factor	0.000
Peak selectivity to previou	0.000
Peak selectivity to selecte	0.000
Peak resolution	8.661
Peak theoretical plate	0.000
Peak symmetry at 10% h	0.000
Peak symmetry at 50% h	0.000
Peak symmetry at baselin	0.000
Peak symmetry by area	0.000
Peak 1st moment	0.000
Peak 2nd moment	0.000
Peak 3rd moment	0.000
Peak 4th moment	0.000

9.5. ábra. A csúcs adatlap - csúcsparaméter rész

10. fejezet

A kalibráció

A kromatográfias munka célja a legtöbb esetben a mennyiségi analízis. A legegyszerűbb, csúcsazonosítás nélküli módszereket a **Method** állomány beállításainál ismertettük a `Data processing` részben. Amennyiben csúcsazonosítással egybekötött, komponensenkénti számolásra van szükségünk, úgy a kalibrációs táblázat használata válik szükségessé. A LabChrom-2 szoftver kalibrációs rendszerével az alábbi módszereket használhatjuk:

- **Csúcsazonosítás** - mennyiségi számolás nélkül
- **Területnormalizáció** - általában FID detektorral történő szénhidrogén összetétel mérésnél
- **Belső standard** - valamely speciális összetevő mérésénél, pl. kéntartalom meghatározása lángfotometriás detektorral
- **Külső standard** - ezt ismerjük a szó klasszikus értelmében kalibrációnak

Az alábbiakban részletezzük ezen technikákat és bemutatjuk a szoftverben történő használatukat.

10.1. Csúcsazonosítás

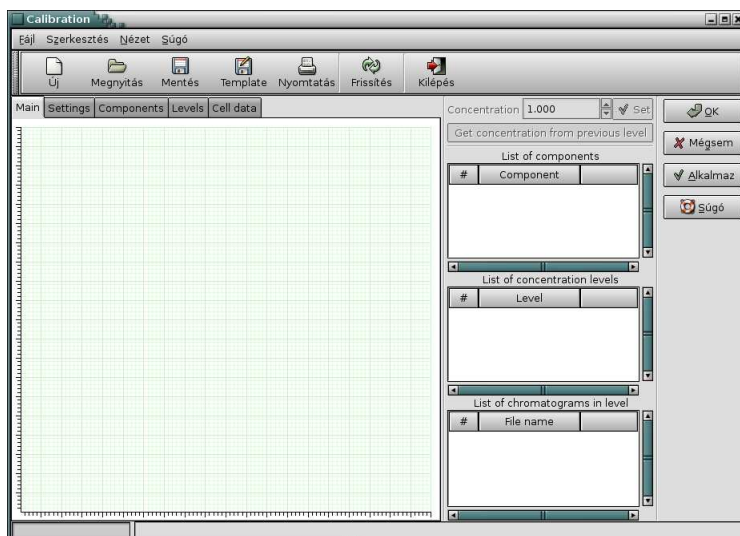
10.2. Területnormalizáció

10.3. Belső standard

10.4. Külső standard

A külső standarddal történő kalibráció során azt használjuk fel, hogy a beadott kalibrációs anyag koncentrációja és a kapott csúcs valamelyik jellemzője (terület vagy magasság) valamilyen függvénykapcsolatban van egymással. Általában lineáris (vagy jó közelítéssel lineáris) ez a kapcsolat, de számolhatunk valamilyen hatványfüggvényvel is. Az anyagmennyiség és a detektorjel kapcsolatával a 61 oldalon található **A detektor jelátvitele** fejezetben foglalkozunk részletesebben.

A kalibrációs ablak első lapján a kalibrációs görbénket (egyenesünket) nézhetjük meg.



10.1. ábra. A kalibrációs görbe

A Settings/Beállítások lapon állíthatjuk be a kalibrációs táblázat közös illetve alapértelmezett paramétereit.

A kalibráció típusa ez esetben External standard.

A Single level calibration jelölőnégyzetet a következő bekezdésben tárgyaljuk.

A Main component method jelölőnégyzettel azt a funkciót kapcsolhatjuk be, hogy a nem azonosított komponensek mennyiségét a külön kijelölt fő komponens alapján számítja ki. Ennek kijelölése a Components lapon történik.

Az Identify by lehulló menüből a csúcsazonosítás módját választhatjuk ki, azaz hogy

- Abszolút retenció (Retention)
- Relatív retenció (Relative retention)
- Retenciófaktor (Retention factor)
- Elúciós sorrend (Elution order)

alapján történjen. A relatív retenció illetve a retenciófaktor számításához szükséges paraméterek megadását a Reprocess ablakban végezhetjük el.

Mind egyik komponensre külön-külön megadható az, hogy milyen görbével, milyen egyéb paraméterekkel történjen a számolás és az azonosítás.

A Defaults keretben megadhatjuk azokat a beállításokat, melyeket szeretnénk minden új komponens esetén alapértelmezettként látni.

Lehet választani, hogy csúcsterület Area vagy csúcsmagasság Height alapján történjen a kalibráció.

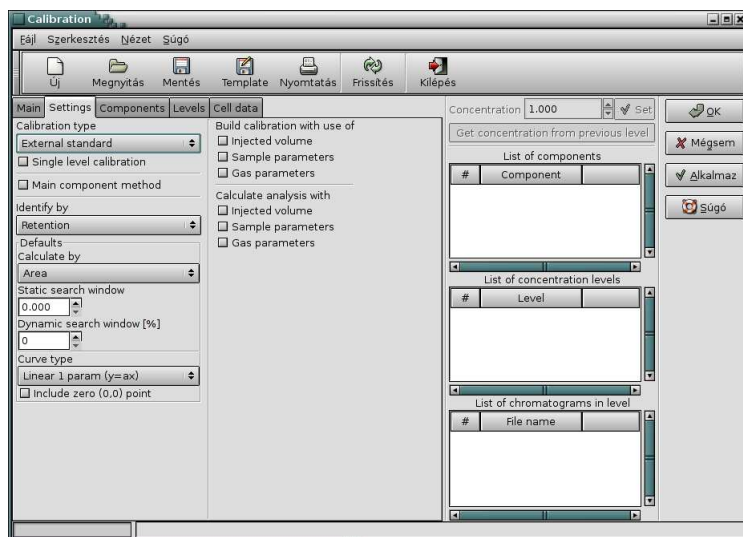
Megadhatjuk az azonosító ablak (search window) méretét abszolút (Static

search window) és százalékos (Dynamic search window) értékben, a végső értéket a kettő összege adja.

Beállíthatjuk a kalibrációs görbe típusát, mely lehet

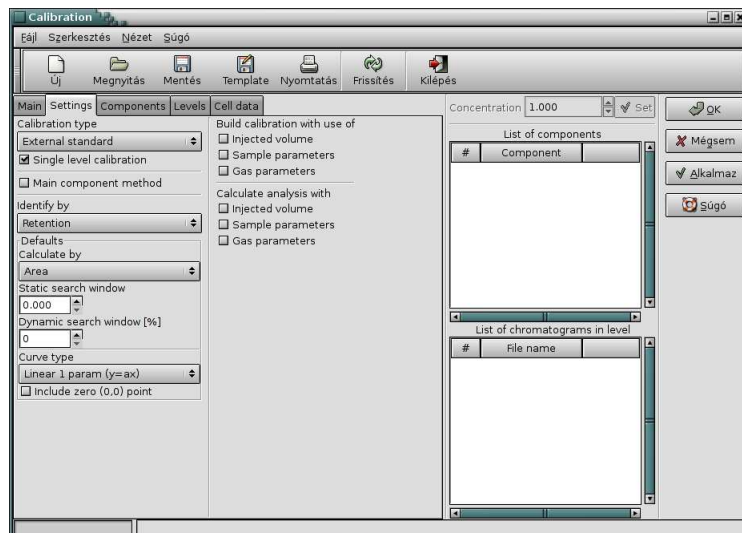
- Lineáris egy paraméteres Linear 1 param ($y=ax$)
- Lineáris kétparaméteres Linear 2 params ($y=ax+b$)
- Nemlineáris görbe Nonlinear ($y=ax^n$)
- Nemlineáris négyzetes görbe Nonlinear ($y=ax^2$)

illetve azt, hogy a 0, 0 pont mesterségesen beleszámolódjon-e az egyenes vagy görbe illesztésekor az adatpontok közé. Ezt az Include zero (0,0) point jelölőnégyzettel kapcsolhatjuk be.

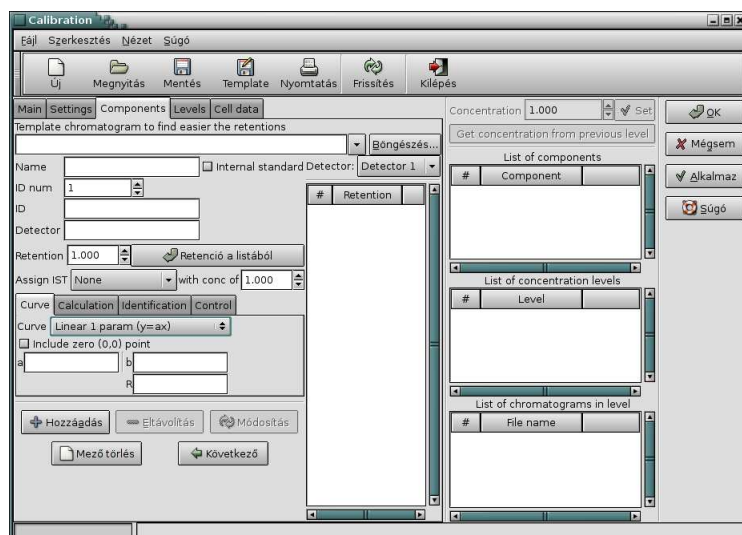


10.2. ábra. A kalibrációs beállítások

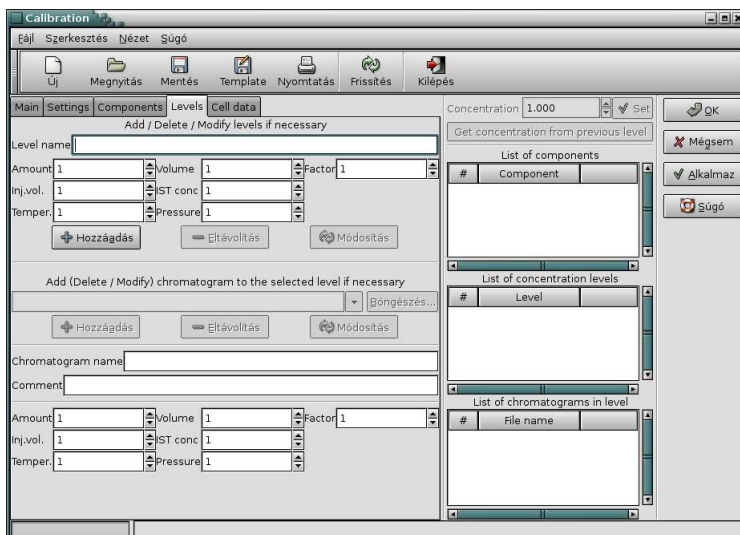
Amennyiben egy szintű kalibrációt csinálunk, úgy javasolt a Single level calibration jelölőnégyzet kijelölése, ugyanis ebben az esetben a kalibrációs szintek beállításával nem kell külön törődnünk, a szoftver megcsinálja helyettünk. Bekapcsolás esetén látható, hogy a Levels lista és a hozzá tartozó kezelőeszközök nem jelennek meg, ezzel könnyebbé, egyszerűbbé válik munkánk.



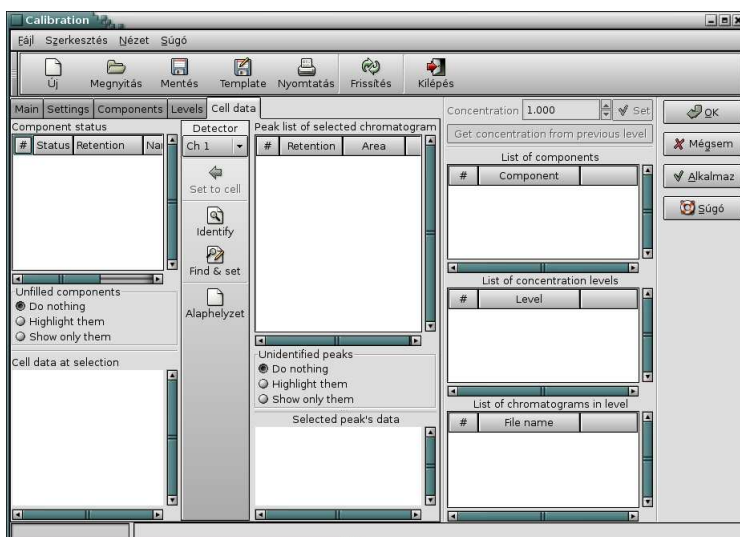
10.3. ábra. A kalibrációs beállítások egyszintű kalibrációhoz



10.4. ábra. A komponens beállítások



10.5. ábra. A kalibrációs szint és kromatogram beállítások



10.6. ábra. A cella adat beállítások

11. fejezet

A mennyiségi analízis

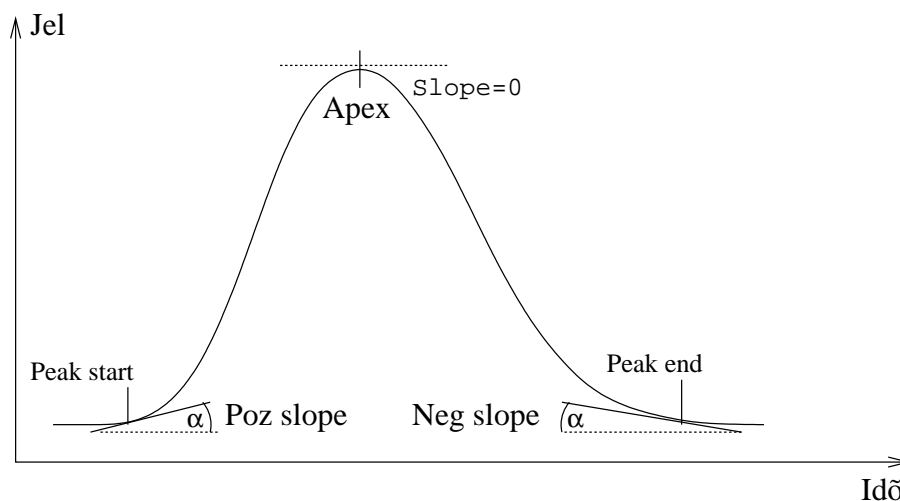
12. fejezet

A nyomtatás

III. rész
Kiegészítések

13. fejezet

Az integrálás alapjai



13.1. ábra. A csúcs fő integrálási paraméterei

Egy csúcs kvantitatív leírásához három fő paraméterre van szükségünk:

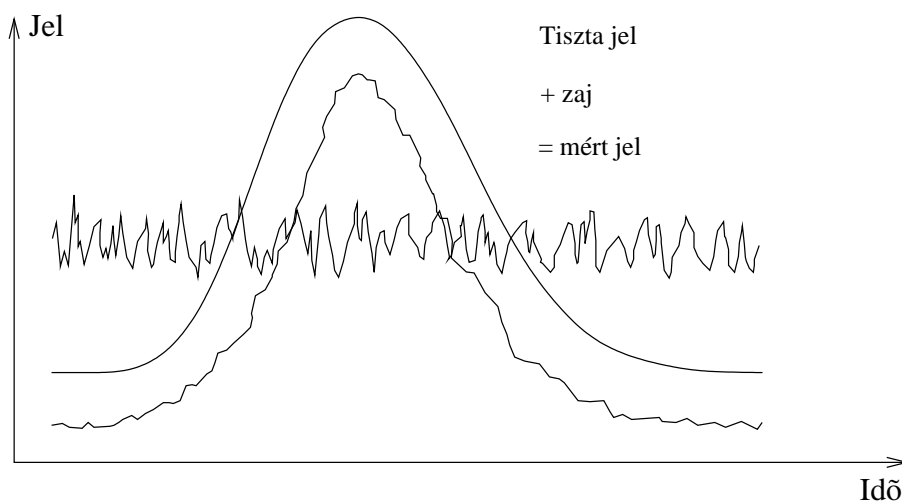
1. A kezdőpontjára (Peak start)
2. A csúcspontjára (Apex)
3. A végpontjára (Peak end)

Elsődlegesen a retenciós időkről/távolságokról van szó, ugyanis a jel értéke az adódik az adatsorból az adott retenciós értékhez. Az integrálás alapkérdése, hogy milyen módon határozzuk meg ezeket a pontokat. A megoldás egyszerű és régóta ismert, a derivált – más néven meredekség – értékek alapján. A jelfolyam minden pontján képezzük a derivált (miután diszkrét jelsorozatról van szó valójában a differencia) értékeket, s ahol ez a derivált érték közismertebb nevén a $\text{tg } \alpha$ meghalad egy adott küszöbértéket, ott csúcskezdetet észlelünk. A csúcspontot célszerűen a derivált előjelváltásából észleljük a végpontot szintén a küszöbérték átlépésével. Ezek a pontok/paraméterek a 13.1 ábrán jól láthatóak. A csúcs kezdeténél a $\text{tg } \alpha$ értéknek azaz

a deriváltak meg kell haladnia a Pozitív slope küszöbértéket, a csúcsponton át kell lépnie a nullát azaz pozitívból negatívba kell előjelet váltania, majd a csúcs végénél (figyelem, itt negatív értékek a deriváltak a leszálló ág miatt!) nagyobbak, – abszolút értékben kisebbnek – kell lennie mint a Negatív slope küszöbérték.

Ez így önmagában elméletileg nagyszerű, azonban a gyakorlati életben ennél egy árnyalattal bonyolultabb a probléma. A gondot a mindig jelenlévő mérési zaj jelenti. A mért jel a 13.2 ábrán látható módon egy zajmentes ideális jelből és a mérési zajból tevődik össze. A kromatogram integrálása ezen a ponton kapcsolódik a mérés *mintavételi frekvenciájának* helyes megválasztásához.

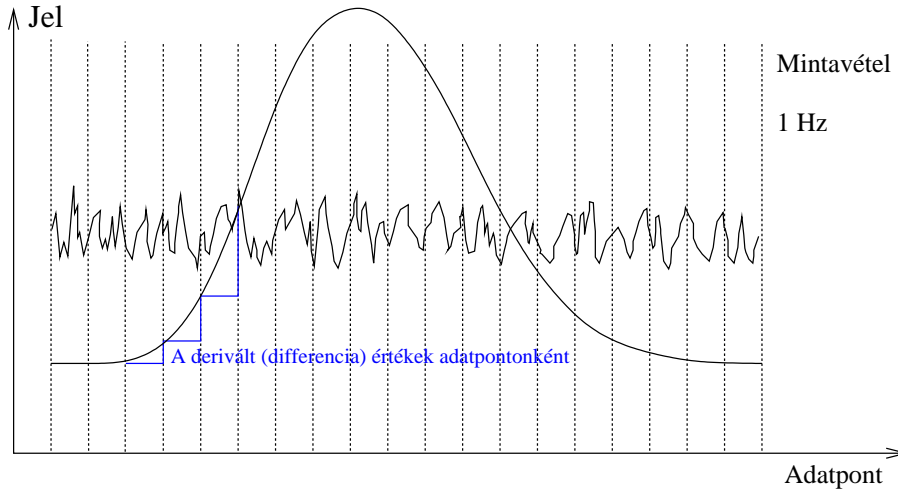
A probléma gyökere az, hogy míg az emberi látásmód egy folytonos időtengelyt képzel el az adatgyűjtés és jelfeldolgozás során, a valós helyzet eközben az, hogy diszkrét értékekkel dolgozunk mind az időtengely mind pedig a jel tengely mentén. Ez a jelfeldolgozás során azt jelenti, hogy a szoftver adatpontokkal és nem időértékekkel dolgozik, azaz az algoritmus $1. \ 2. \ 3. \ \dots \ n-1 \ n \ n+1$ adatpontokkal dolgozik, nem pedig időértékekkel. Amikor egy adott pontban a derivált (pontosabban a differencia) értéket kiszámítja a szoftver, olyankor az $i-1, i, i+1$ -ik adatponttal számol és nem pedig az ember által becsült, ránézésre kézenfekvő időértékekkel. Ennek komoly következményei vannak akkor, amikor két adatpont közt sok vagy kevés idő telik el, ahol a sok illetve kevés az a szükségeshez képest értendő. Azt, hogy mennyi az a bizonyos szükséges, azt a csúcs félértékszélessége határozza meg, a kromatográfias gyakorlatban az ökölszabály az, hogy a félértékszélességre 5-15 adatpont essen. Az ennél sűrűbb mintavételezést – hibásan – azért szokták választani, hogy az integrálás pontosabb legyen, hiszen az integrálás során – a diszkrét mintavételezésből adódóan – egy görbét közelítünk egyenes szakaszokkal. Azonban mint látni fogjuk, az így felerősített csúcsetektálási hiba jelentősen meghaladja az integrálás közelítési hibáját.



13.2. ábra. A mért jel mint az ideális jel és a zaj összege

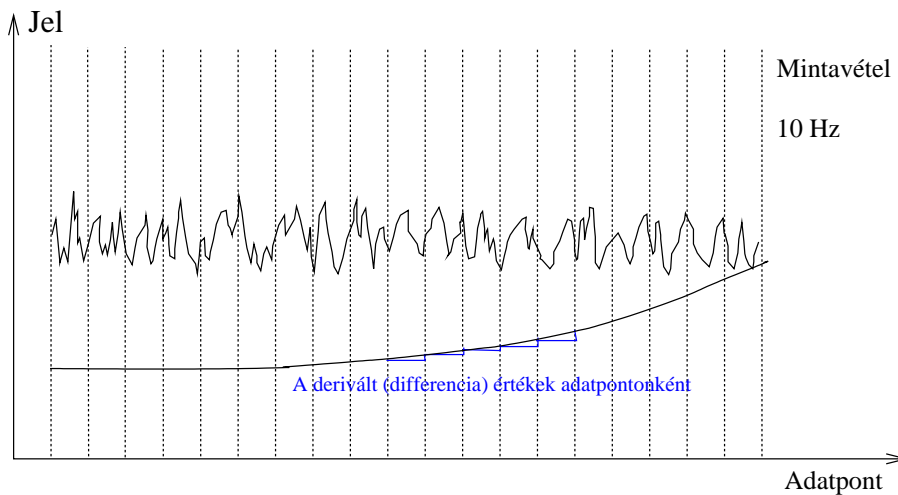
Nézzük azt az esetet a 13.3 ábrán, amikor helyes mintavételi frekvenciával mérjük a jelet. Látható, hogy markáns differenciaértékeket kapunk két egymást követő adatpont

közt, ezt elsősorban a zaj mértékéhez kell viszonyítani.



13.3. ábra. A jel különbségi értékei alacsony mintavételezési frekvenciával

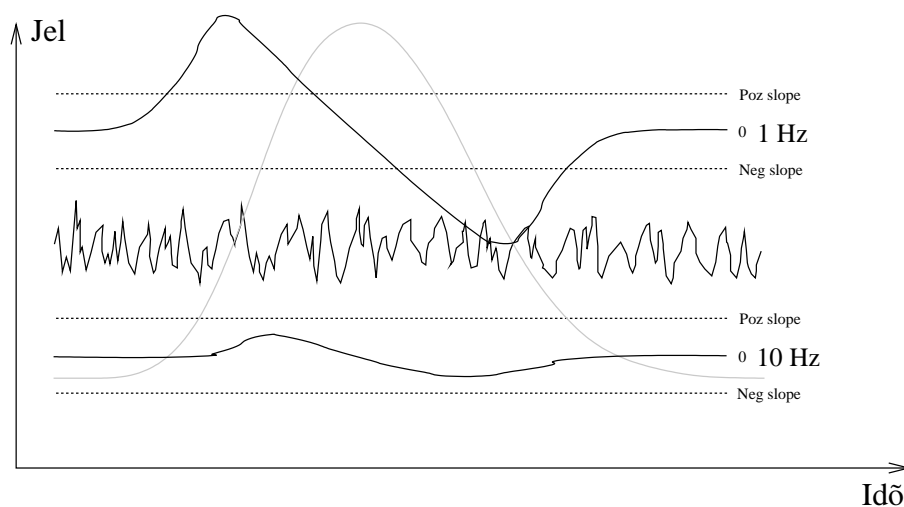
Ha a mintavételezési frekvenciát szükségtelenül megemljük, mint ahogy az a 13.4 ábrán látható, úgy a különbségi értékek (azaz differencia értékek) kicsik lesznek. Értelemszerűen a kicsi itt is relatív, a zaj az ami behatárolja a differenciaértékek használhatóságát.



13.4. ábra. A jel különbségi értékei magas mintavételezési frekvenciával

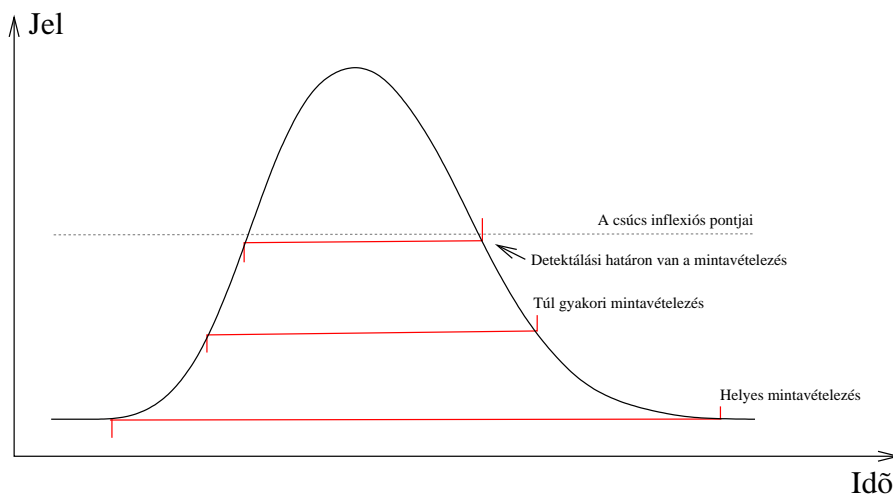
Szélsőséges esetben – amint a 13.5 ábrán látható – akár teljes csúcsvesztés is előfordulhat, holott kirajzolva markánsan megjelenik a csúcs a képernyőn illetve a nyomtatón.

A gyakorlatban a 13.6 ábrán látható eredménye van a túlzott mintavételezési frek-



13.5. ábra. A csúcs észlelhetősége a kétféle mintavételezés esetén

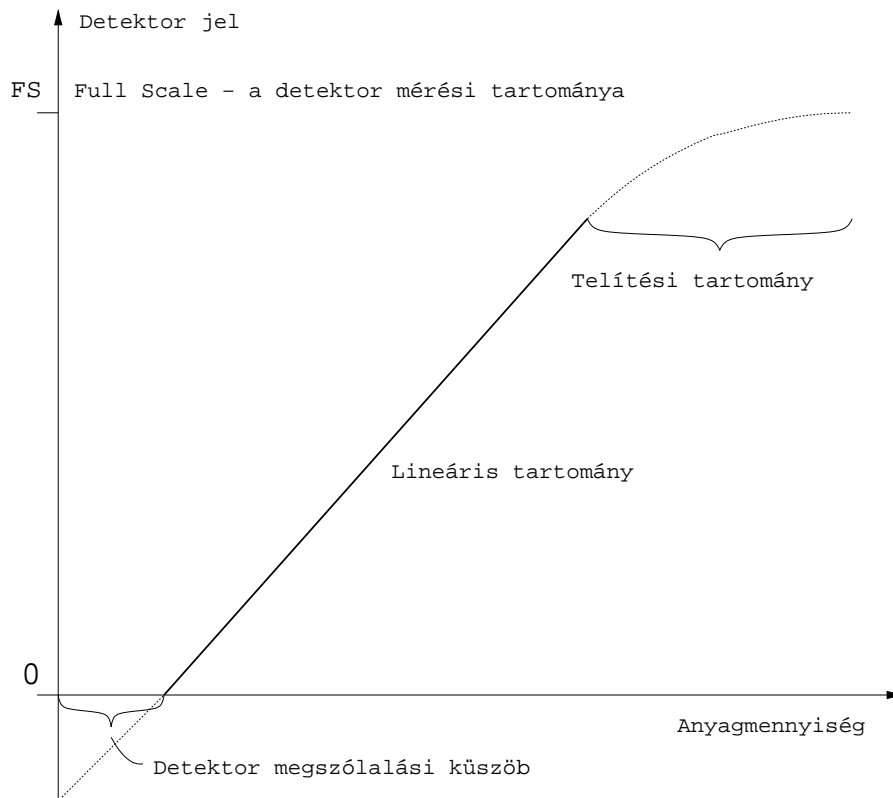
venciának. Az alapvonal egyre feljebb kúszik a csúcs oldalain, melynek felső határa az inflexiós pont, melyet *elvileg nem* haladhat meg az alapvonal, ugyanis a derivált érték itt tetőzik, azaz ha a küszöbérték (slope threshold) ezt meghaladja, akkor egyáltalán nem lesz alapvonalunk! A napi gyakorlatban van egy *látzólagos* kivétel ez alól, azonban olyankor az effektust nem a mintavételezési gyakoriság hibás beállítása okozza hanem olyan durva, tüske jellegű zavarok melyek az algoritmust megtévesztve csúcs kezdet illetve csúcs vég jelzést adnak a szoftvernek és amiatt kerül az inflexiós határ fölé az alapvonal.



13.6. ábra. Az alapvonal mozgása a mintavételi frekvencia függvényében

14. fejezet

A detektor jelátvitele



14.1. ábra. A detektor jelátvitele

IV. rész

Gyakorlati példák

A következő fejezetekben gyakorlati példákkal illusztráljuk a szoftver használatát.

15. fejezet

Biológiai minták sorozatmérése napi kalibrációval és kontrollal

15.1. A feladat

10-20 darabos mintasorozat mérése, mennyiségi analízissel. A mérés ionkromatográfiás, elektrokémiai detektorral történik. Autosamplert használunk. A mérés problémás pontjai és megoldásuk:

- A minta és a mérés jellegéből adódóan két mérési sorozat között lehetnek eltérések a retenciós idők közt (egy mérési sorozaton belül ez nem jellemző), ezért egy kontroll keverékkel a mérési sorozat elején az aktuális retenciós időket rögzíteni kell.
- Szintén a minta és a mérés jellegéből adódóan minden mintasorozatot friss kalibrációval kell mérni. Maga a számítási feladat ugyanaz, tehát kalibrációs sablont használunk az analízishez
- Ellenőrző mintákkal (ismert összetételű keverékek) a kalibrációt vissza kell mérni, a mérési folyamat megállításával a felhasználói beavatkozás lehetőségét biztosítani ha az eredmények eltérnek a kívánatostól.
- A mérési folyamat során a számolást és a nyomtatást automatikusan el kell végeznie a rendszernek.

15.2. Az állományok a munkához

A mérés elvégzéséhez három állományt kell előre beállítani a szoftverben:

- A *Method* file, melyben a mérési paramétereket, az integrálási paramétereket illetve a futtatás után (post-run) végrehajtandó műveleteket rögzítjük.
- A *Queue* file, azaz a mérési szekvencia, mely a mérés jellegéből adódóan részben előre kitölthető. Minden mérési sorozat egy retenciós ellenőrző keverékkel kezdődik, majd a standard oldat illetve az alacsony és magas koncentrációjú ellenőrző keverékek, majd ez után a vizsgálandó minták.

- A *Kalibrációs táblázat*, mivel minden mérés során ugyanazokat a komponenseket mérjük, a standardok koncentrációi ugyanazok (hosszú ideig használjuk a standardot), ami változó adat az a retenciós idők illetve az aktuális standard csúcsmagasságai.

Ezeket az állományokat értelemszerűen eltároljuk a számítógépen és a későbbiekben a mérés során a szoftver ezeket automatikusan fogja használni. Újra behívni őket csak akkor kell, ha valamilyen módosítást szükséges bennük végrehajtani.

Figyelem!

Ezt a folyamatot normál nem kell elvégezni, a szoftver ezekkel a paraméterekkel beállítva üzemel, csak egy törlés vagy újratelepítés miatt lehet erre szükség. A napi munkához a következő fejezetben leírtakra lesz szükség.

15.2.1. A Method beállítása

A *Method* file összeállításához a fő ablakbannomjuk meg a *Method* gombot, amire egy szerkesztőablakot kapunk, melyben egy üres, tiszta *method* összeállítás van. A *Measure par* lapon ez esetben nincs tennivalónk, mivel mérési sor alapján fog lezajlani a mérési sorozat. Adatgyűjtési és feldolgozási paramétereket a

- *Data Acq*
- *Data Proc*
- *Control*

lapokon fogunk megejteni, illetve ha a műszerrel, méréssel kapcsolatos adatokat szeretnénk dokumentálási jelleggel rögzíteni, azokat az

- *Instrument*
- *Column/Layer*
- *Validation*
- *User specified*

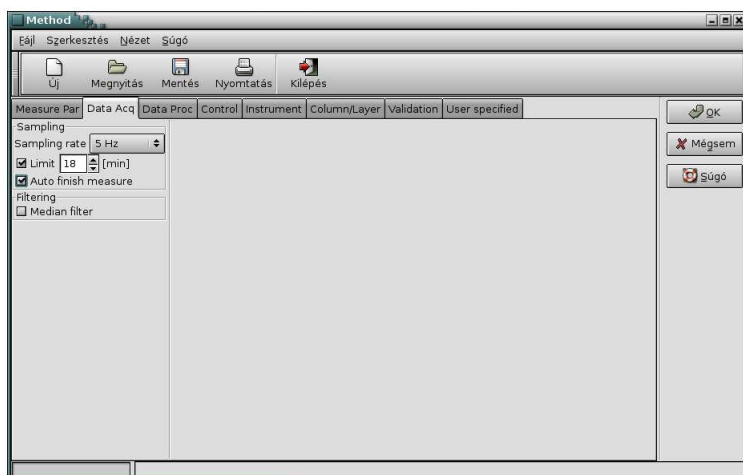
lapokon tehetjük meg, de ez opcionális.

A *Data Acq* lapon az adatgyűjtési paramétereket állítjuk be. Ezek jelen esetben

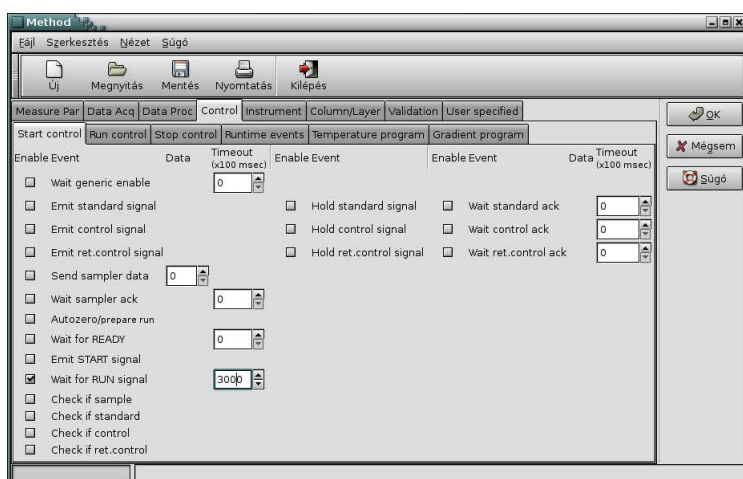
- 5 Hz mintavételi frekvencia
- 18 perc mérési idő, a *Limit* kapcsolót kijelöljük
- A mérést fejezze be automatikusan a rendszer
- A *Median filter* kapcsoló az elektromos jellegű tüskék kiszűrésére alkalmas adott esetben, itt nem használjuk.

A *Control* lapon egy fontos beállítani való van, az injektálási jel fogadásának engedélyezése. Ez a *Wait for RUN signal* kijelölő négyzet, bekapcsolásával a mérés csak akkor indul el, amikor a mintaadagoló beinjektálta a mintát. Meg kell hozzá adni egy időtúllépési korlátot – melyet 100msec felbontással adhatunk be – mivel hiba esetén nem célszerű egy várakozó állapotban hagyni a szoftvert. Ennek értéke jelen esetben 3000, azaz 300 másodperc.

A *Data Proc* lapon állítjuk be azokat a paramétereket, melyek a kromatogram megmérése után szükségesek az adatfeldolgozáshoz. Miután egy detektorral mérünk, a *Channel 1* menüelem legyen kiválasztva a detektor választóból.



15.1. ábra. Az adatgyűjtési paraméterek

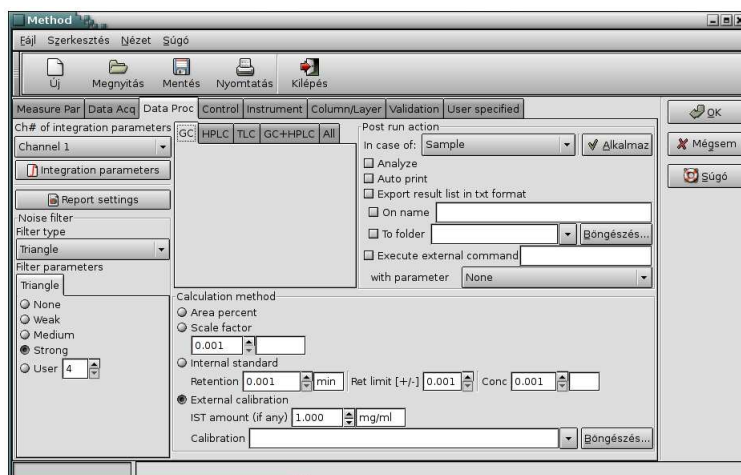


15.2. ábra. A vezérlőjelek

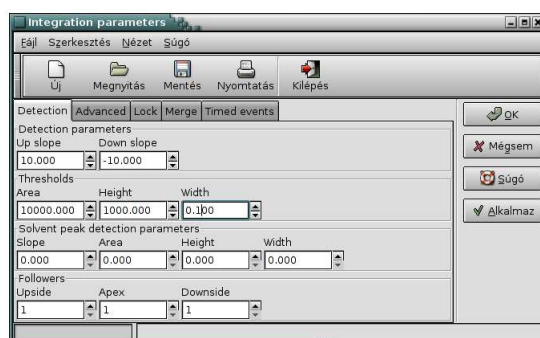
Az integrálási paraméterek. Az Integration parameters gomb megnyomására az integrálási paramétereket tartalmazó ablak nyílik meg.

A csúcsetektálás paramétere. A Detection lapon a csúcsetektálási küszöbértékeket állítjuk be az ábra szerint.

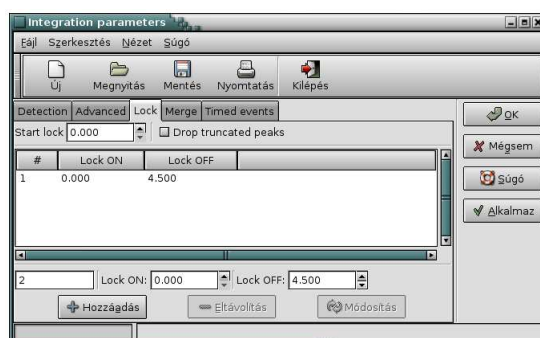
A kizárási ablakok beállítása. A Lock lapon pedig az első 4,5 percben lejövő zavaró matrix jeleket zárjuk ki az integrálásból.



15.3. ábra. Az adatfeldolgozási paraméterek



15.4. ábra. A csúcsdetektálási paraméterek



15.5. ábra. A kizárási ablakok paramétere

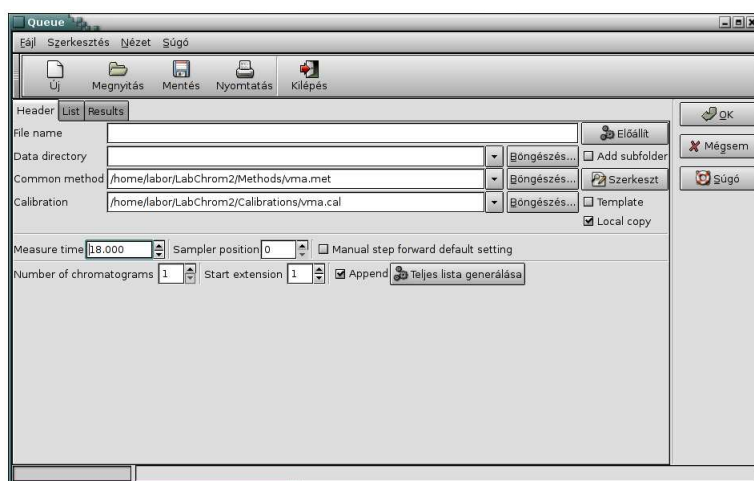
Az egyéb paraméterek. Jelöljük be egy `Strong` simítást illetve a `Calibration` kiválasztó gombot, hogy külső kalibrációval szeretnénk az analízist megcsinálni. A kalibráció nevét nem kell beírni, azt a mintasor kezelő modul teszi majd meg. A `Post run` keretben a `Sample` mintatípushoz jelöljük be az `Auto analyze` jelölőnégyzetet, majd az `Apply` (Alkalmaz) gombbal fogadtassuk el. Ezt azt jelenti, hogy a mérés végeztével a szoftver automatikusan elvégzi az analízist, amit utána természetesen felülbíráhatunk.

Az `OK` gomb megnyomására egy mentési filekezelő ablakot kapunk, majd célszerűen `vma.met` néven elmentjük a **Methods** könyvtárba – ezt kínálja fel alapból a szoftver – a fájlt.

15.2.2. A Mintasor beállítása

A fő ablakban nyomjuk meg `Queue` gombot és megnyílik a mintasor beállító ablak. Az adatokat amiket kitöltünk ebben a táblázatban tekintsük egy sablonnak, ami alapján a mérés indításakor a végleges mintasor paraméterek beállításra kerülnek.

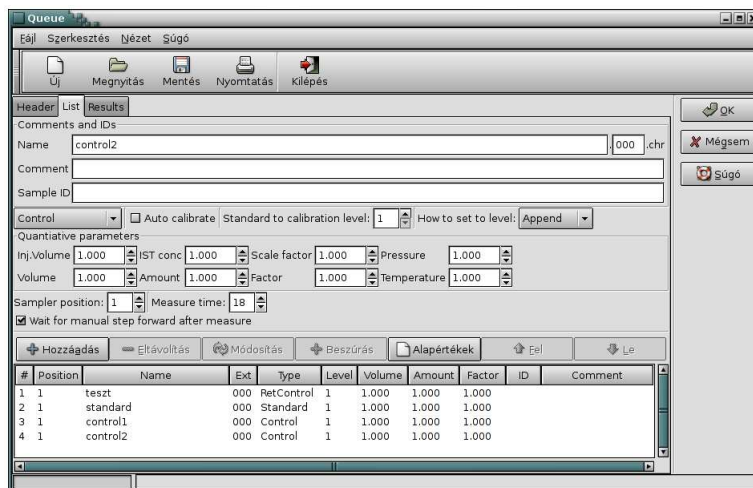
A Header lap



15.6. ábra. A mintasor közös paraméterei

A `Header` lapon állítjuk be a mintasorra vonatkozó közös adatokat. A `File name` és a `Data directory` mezőket hagyjuk üresen. tartalmuk a mérés indításakor fog aktualizálódni. A `Common method` mezőt a `Böngészés` gomb segítségével tölthetjük ki, azaz megadjuk az előbbieken összeállított **Method** file nevét. A `Calibration` mezőbe a következő fejezetben ismertetett módon elkészített kalibráció nevét visszük be a `Böngészés` gomb segítségével. A `Local copy` kijelölő négyzetet jelöljük be, így a mintasorhoz képződik egy saját kalibrációs táblázat a mérés során. A `Measure time` értéke 18 perc, a mérés indításakor a generált mérési listánál ezt fogja beállítani a szoftver. A kiterjesztés kezdeti értéke (`Start extension`) legyen 1 és miután lesznek egyéb mérendők is (pl. standard) a mintasorban, az `Append` kijelölő négyzetet jelöljük meg.

A List lap



15.7. ábra. A mintasor listája

A List lapon fogjuk majd kitölteni a teljes mintasort, egyelőre azonban csak azt a négy mintát, melyek minden sorozatban megvannak. Ezek egy retenciós teszt, egy standard és két kontroll minta lesznek. A mérési időt állítsuk 18 percre, a Wait for manual step forward after measure jelölőnégyzettel jelöljük be azt, hogy minden kromatogram lemérése után felhasználói beavatkozásra fog várni a szoftver a továbbindításhoz. A minta típusának kijelölését mindegyik minta esetén tegyük meg. A RetControl és a Standard minták esetén az Auto calibrate jelölőnégyzetet is jelöljük be.

15.2.3. A Kalibráció beállítása

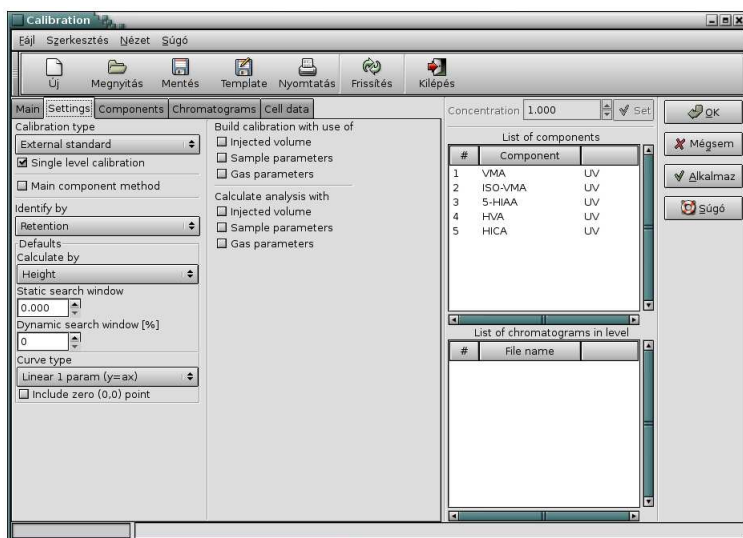
A fő ablak Calibration gombjának megnyomásával megkapjuk a kalibrációs ablakot.

A Settings lap

A kalibráció amit használunk *külső standard* típusú, úgyhogy az External standard menüpontot válasszuk ki a kalibráció típusa menüből. jelöljük be a Single level jelölőnégyzetet, melynek hatására csak egyszintű kalibrációt végez a rendszer, kevesebb eszköz lesz a képernyőn, egyszerűbbek a beállítások. A többi beviteli mezővel az alapértelmezett értékeket adhatjuk meg, melyek

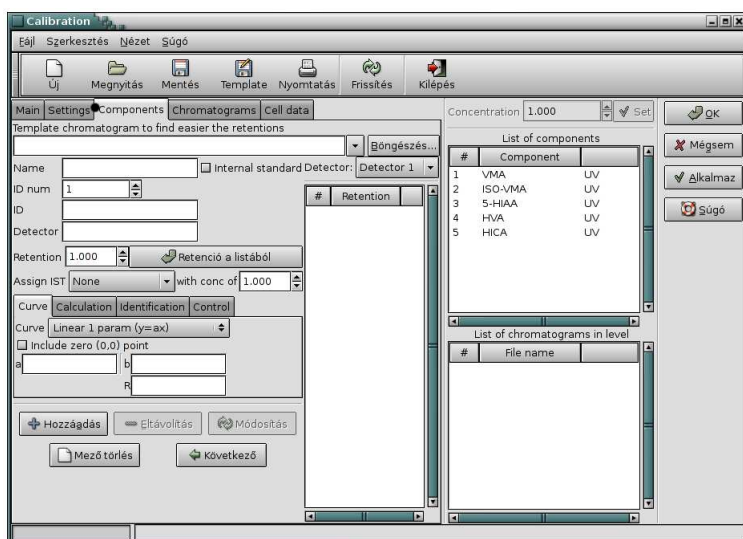
- Azonosítás *retenció* alapján (Retention)
- Számolás *csúcsmagassággal* (Height)
- Csúcskeresési tartomány *Static 0.3*

Ezeket a beállításokat minden komponensre külön-külön is meg lehet adni, a kalibrációs tábla elkészültével ellenőrizzük le őket, ugyanis pl. a **tartomány limit** 0 (zérus) értéke mellett rejtélyes beazonosítási problémák léphetnek fel.



15.8. ábra. A kalibráció beállításai

A Components lap



15.9. ábra. A komponensek

A mérés során öt komponensünk van, ebből kettő belső standard:

- VMA
- ISO-VMA belső standard a VMA-hoz

- 5-HIAA
- HVA
- HICA belső standard az 5-HIAA-hoz és a HVA-hoz

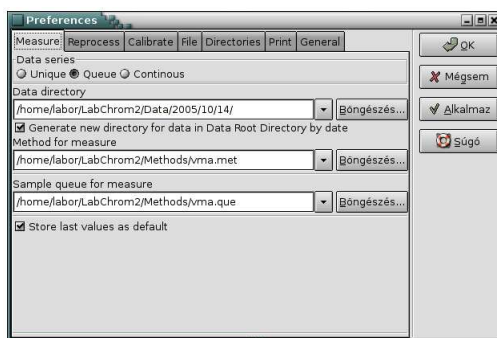
Vigyünk be az 5 komponens nevét a táblába. Beírjuk a Name mezőbe a komponens nevét, beírjuk a retencióját (ezen adatot az egyes mérési sorozatokban frissíteni fogjuk), a belső standardoknál kijelöljük az Internal standard jelölőnégyzetet, beállítjuk a magasság szerinti számolást (Calculation lap) majd a Static limit értékét 0.3-ra (Identification lap). Megnyomjuk a Hozzáadás gombot.

Ha bevittük mind az öt anyagot, akkor láthatjuk, hogy a belső standardokhoz történő hozzárendelés még nincs meg, ugyanis menet közben épült fel a belső standardok listája. Kijelöljük egyenként a komponenseket és kiválasztjuk a hozzájuk tartozó belső standardot majd a Módosít gombot. Ezek után beírjuk az adott komponens koncentrációját (belső standard esetében 1.000), megnyomjuk a Set gombot a koncentráció mező mellett. A kalibrációs sablon elkészítésével végeztünk is.

15.2.4. A beállítások rögzítése

Azt, hogy a mérési folyamat milyen beállítások mellett folyjon le, azaz mely **Method** és **Queue** fájlok kerüljenek betöltésre a mérés indításakor, két helyen is beállíthatjuk. Általában a mérési ablak Beállítások gombja megnyomásával tesszük ezt, azonban itt csak a mérési beállítások lapját kapjuk meg az ablakban. Ha a fő ablak Szerkesztés menüjének Beállítások (Preferences) menüpontját használjuk, akkor további lehetőségeink is vannak.

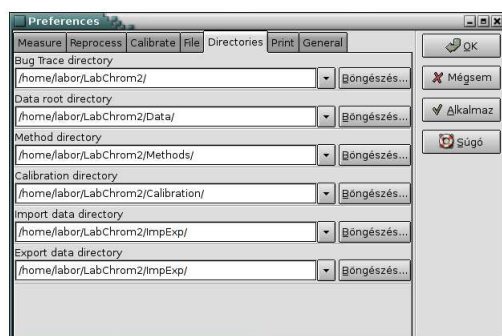
A Measure lap



15.10. ábra. A mérési beállítások

A Data series kiválasztó gombok közül a Queue legyen bekapcsolva. A Data directory tartalma jelen esetben érdektelen, bármi lehet benne, ugyanis az alatta lévő Generate new directory for data in Data Root Directory by date jelölőnégyzetet bejelöljük, ezáltal az adatkönyvtár dátum szerint automatikusan jön létre. A Method for measure illetve a Sample queue for measure mezőket értelemszerűen töltjük ki a Böngészés gomb segítségével, azokkal a fájlnevekkel melyeket az előbb hoztunk létre.

A Directories lap



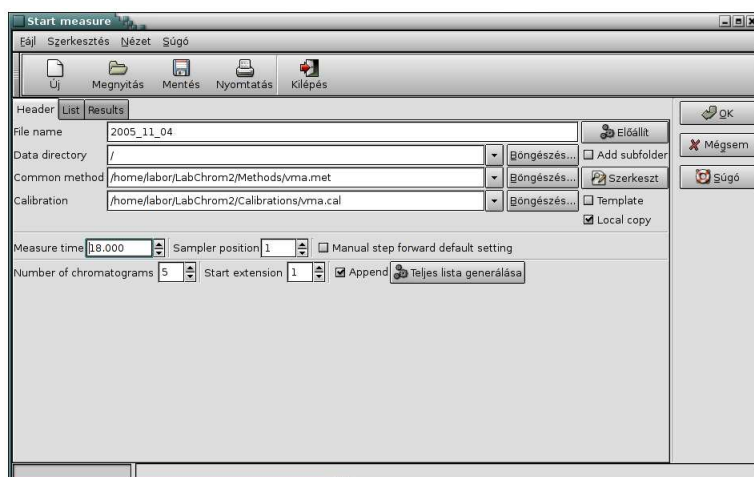
15.11. ábra. A mérési gyökér könyvtár beállítása

Ezen a lapon a mérés szempontjából a Data root directory az érdekes, ezen belül fogja létrehozni dátum szerint struktúráltva az adatkönyvtárakat a rendszer.

15.3. A napi munka, a mérési folyamat

Egy komplett mérési sorozatot a következőképpen tudunk megmérni. A fő ablakban nyomjuk meg a Measure (Mérés) gombot. Megnyílik a mérési ablak, ahol a Start gombot tudjuk megnyomni.

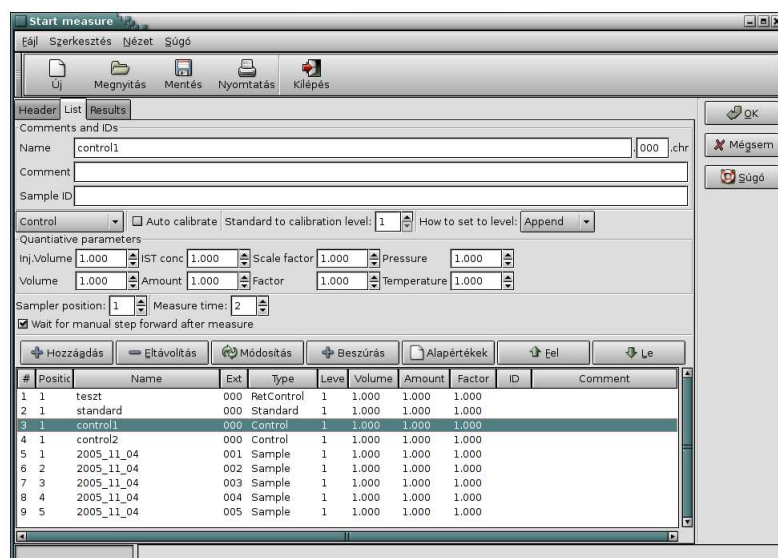
Amennyiben az eddig részletezett beállításokat megcsináltuk, úgy rögtön a minta-szervező ablak nyílik meg a Header fülrel legfelül.



15.12. ábra. Mérés indítás - Queue header

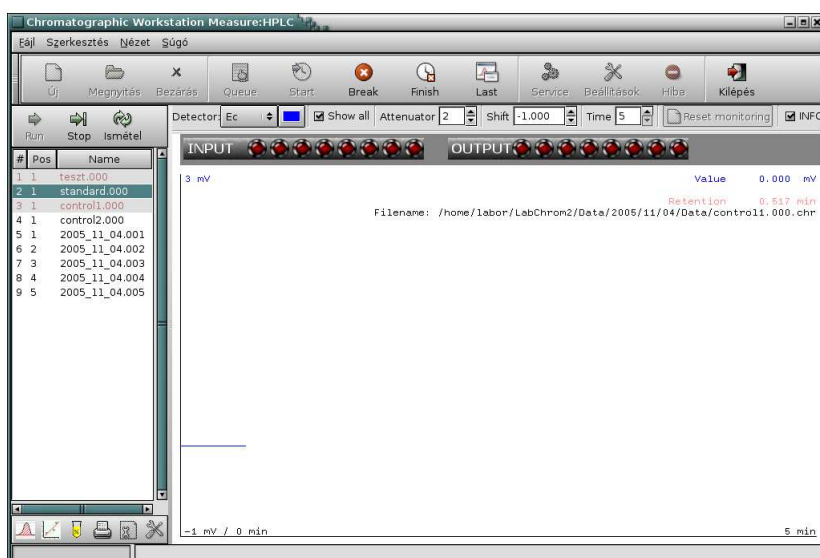
Ezen a helyen sok beállítanivaló már nincsen, a közös filenevet kitölti a szoftver automatikusan a dátumból generálva, a **Method** és a **Kalibráció** névbeállításokat csak el-

ellenőrizzük, egyedül a mérendő minták számát kell a Number of chromatograms mezőben beállítani, majd a mérési időt ellenőrizzük. Ezek után nyomjuk meg a Teljes lista generálása gombot, amelynek hatására az ablak átvált a List fülre, ahol rögtön láthatjuk a teljes listát a kromatogramokról. Amennyiben minden paraméter, beállítás megfelel, úgy az OK gomb megnyomásával elindul a mérés.



15.13. ábra. Mérés indítás - Queue list

A mérés elindítása után a mérési ablak bal oldalán láthatjuk az aktuális mérési sort, melyben szürkével van jelölve a már lefutott illetve az éppen futó mérés. Amennyiben egy már *lefutott* mérést kijelölünk, úgy a gombok kivilágosodásával lehetőség nyílik ezen kromatogram feldolgozására.



15.14. ábra. Mérési folyamat - mintasor

Ábrák jegyzéke

2.1.	A mérési folyamat	6
3.1.	Beállítások - egyedi mérés	7
3.2.	Beállítások - mérés mintasorral	8
3.3.	Beállítások - folyamatos mérés	8
3.4.	Beállítások - nyomtatás	9
3.5.	Beállítások - általános	10
4.1.	A központi ablak	11
4.2.	Az általános beállítások	12
4.3.	A betűkészlet beállításai	13
4.4.	A könyvtárak beállításai	14
4.5.	A nyomtatási betűkészlet beállításai	14
4.6.	A nyomtatási margók beállítása	15
4.7.	A nyomtatási opciók beállítása	15
4.8.	A műszer beállítása	16
4.9.	A detektorok beállítása	16
4.10.	Az interface beállítása	17
4.11.	A digitális jelek kötéseinek beállítása	18
4.12.	A kilépési ablak	18
5.1.	A fő ablak	21
5.2.	A Datastation	22
5.3.	TR-541a	23
5.4.	Kilépés	24
6.1.	Az adatfeldolgozási paraméterek	25
6.2.	Workstation név paraméterek	27
6.3.	Workstation mennyiségi paraméterek	28
6.4.	Workstation mintainformációk	29
6.5.	Workstation felhasználói mezők	29
6.6.	Workstation szabad leíró mezők	30
6.7.	Workstation műszer specifikus adatok	30
6.8.	Workstation adatgyűjtési paraméterek	31
6.9.	Workstation START vezérlőjelek	32
6.10.	Workstation RUN vezérlőjelek	32
6.11.	Workstation STOP vezérlőjelek	33
6.12.	TR-541a műszerbeállítások	33

7.1.	Mintasor közös adatok munkaállomás módban	35
7.2.	Mintasor lista adatok munkaállomás módban	36
7.3.	Mintasor közös adatok denzitometriás módban	36
7.4.	Mintasor lista adatok denzitometriás módban	37
8.1.	A mérési ablak fő eszköztára	39
9.1.	A Reprocess ablak	41
9.2.	A csúcslista ablak	42
9.3.	A csúcs adatlap - általános rész	42
9.4.	A csúcs adatlap - alapvonal rész	43
9.5.	A csúcs adatlap - csúcsparaméter rész	43
10.1.	A kalibrációs görbe	46
10.2.	A kalibrációs beállítások	47
10.3.	A kalibrációs beállítások egyszintű kalibrációhoz	48
10.4.	A komponens beállítások	48
10.5.	A kalibrációs szint és kromatogram beállítások	49
10.6.	A cella adat beállítások	49
13.1.	A csúcs fő integrálási paraméterei	57
13.2.	A mért jel mint az ideális jel és a zaj összege	58
13.3.	A jel különbségi értékei alacsony mintavételezési frekvenciával	59
13.4.	A jel különbségi értékei magas mintavételezési frekvenciával	59
13.5.	A csúcs észlelhetősége a kétféle mintavételezés esetén	60
13.6.	Az alapvonal mozgása a mintavételi frekvencia függvényében	60
14.1.	A detektor jelátvittele	61
15.1.	Az adatgyűjtési paraméterek	69
15.2.	A vezérlőjelek	69
15.3.	Az adatfeldolgozási paraméterek	70
15.4.	A csúcsetektálási paraméterek	70
15.5.	A kizárási ablakok paraméterei	70
15.6.	A mintasor közös paraméterei	71
15.7.	A mintasor listája	72
15.8.	A kalibráció beállításai	73
15.9.	A komponensek	73
15.10.	A mérési beállítások	74
15.11.	A mérési gyökér könyvtár beállítása	75
15.12.	Mérés indítás - Queue header	75
15.13.	Mérés indítás - Queue list	76
15.14.	Mérési folyamat - mintasor	77

Táblázatok jegyzéke

Tárgymutató

- /dev/ttyS0, 17
- /dev/ttyS1, 17
- Új, 5

- A/D konverter, 16
- Area, 46
- Auto finish measure, 30
- automatikus programindítás, 16
- Autozero/prepare run, 31
- azonosító ablak, 46

- Beállítások, 7
- Beállítások (kalibráció), 46
- Bug Trace directory, 9
- BugTrace, 13

- Calibration directory, 9
- Com1, 17
- Com2, 17
- Continue broken series, 8
- Control, 17, 31
- csúcsazonosítás, 46
- csúcsmagasság, 46
- csúcsterület, 46
- csatorna, 16

- Data Root Directory, 7
- Data root directory, 9
- Datastation, 3
- Defaults (kalibráció), 46
- detektor, 16
- Directories, 9
- Dynamic search window, 47

- Editable, 28
- egy szintű kalibráció, 47
- Export data directory, 9

- Finish, 30
- fluoreszcenciás mérés, 32
- olyamatos mérések, 8

- General, 12
- Generate name at every start by name defaults settings, 27
- Generate new directory, 7

- Height, 46

- Identify by, 46
- Import data directory, 9
- Include zero (0,0) point, 47
- Instr spec, 29
- interface, 17

- külső standard, 45

- Limited number of measured chromatogram:, 9
- lineáris egy paraméteres kalibrációs görbe, 47
- lineáris két paraméteres kalibrációs görbe, 47

- Linear 1 param ($y=ax$), 47
- Linear 2 params ($y=ax+b$), 47

- mérési folyamat, 5
- Main component method, 46
- margók, 13
- Median filter, 31
- Method, 5
- Method directory, 9
- Method for measure, 7
- mintasor, 5

- Name defaults, 27
- nemlineáris kalibrációs görbe, 47
- nemlineáris négyzetes kalibrációs görbe, 47

- New, 5
- No HW communication, 17
- Nonlinear ($y=ax^2$), 47
- NormX, 31

NormY, 32
nyomtatás, 13

Prefix, 27

Register samples in active queue, 8
Rule to restart queue, 8

Sample information, 28
search window, 46
Settings (kalibráció), 46
Short scan, 31
Single level calibration, 47
Static search window, 47
Suffix, 27

tesztoldal, 14

User defined info, 28

Wait for run signal, 31
Wavelength, 32
Workstation, 3

XStart, 32
XStop, 32

YStart, 32
Ystop, 32