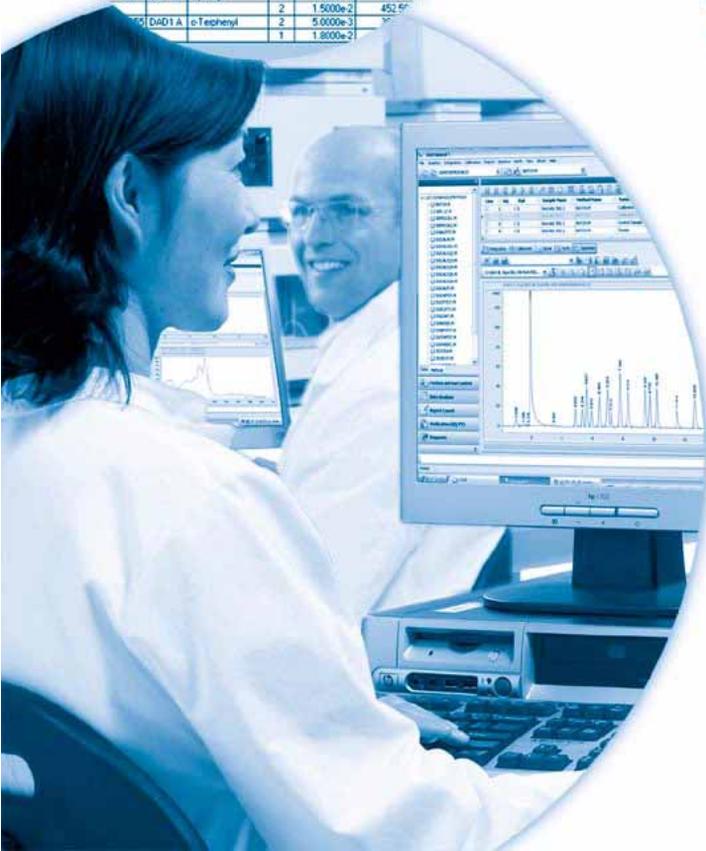
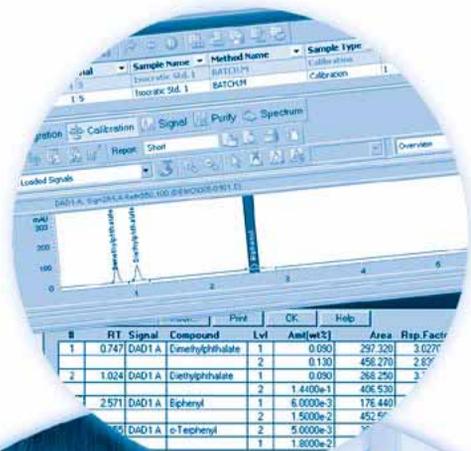


Agilent ChemStation



ChemStation の理解

注意

© Agilent Technologies, Inc. 2004, 2005-2008

本マニュアルは米国著作権法および国際著作権法によって保護されており、Agilent Technologies, Inc.の書面による事前の許可なく、本書の一部または全部を複製することはいかなる形式や方法（電子媒体による保存や読み出し、外国語への翻訳なども含む）においても、禁止されています。

マニュアル番号

G2070-96125

エディション

07/08

Printed in Germany

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

ソフトウェアリビジョン

本ガイドは、Agilent ChemStation ソフトウェアの B0.04.xx 版に対して有効です。この xx はソフトウェアの軽微な修正に言及するもので、本ガイドの技術的正確さに影響を及ぼしません。

保証

このマニュアルに含まれる内容は「現状のまま」提供されるもので、将来のエディションにおいて予告なく変更されることがあります。また、Agilent は、適用される法律によって最大限に許可される範囲において、このマニュアルおよびそれに含まれる情報に関して、商品性および特定の目的に対する適合性の暗黙の保証を含みそれに限定されないすべての保証を明示的か暗黙的かを問わず一切いたしません。Agilent は、このマニュアルまたはそれに含まれる情報の所有、使用、または実行に付随する過誤、または偶然的または間接的な損害に対する責任を一切負わないものとしします。Agilent とお客様の間で書面による別の契約があり、このマニュアルの内容に対する保証条項がこの文書の条項と矛盾する場合は、別の契約の保証条項が適用されます。

技術ライセンス

このマニュアルで説明されているハードウェアおよびソフトウェアはライセンスに基づいて提供され、そのライセンスの条項に従って使用またはコピーできます。

安全に関する注意

注意

注意は、危険を表します。これは、正しく実行しなかったり、指示を順守しないと、製品の損害または重要なデータの損失にいたるおそれがある操作手順や行為に対する注意を喚起します。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、**注意**を無視して先に進んではなりません。

警告

警告は、危険を表します。これは、正しく実行しなかったり、指示を順守しないと、人身への傷害または死亡にいたるおそれがある操作手順や行為に対する注意を喚起します。指示された条件を十分に理解し、条件が満たされるまで、**警告**を無視して先に進んではなりません。

このガイドの内容

このガイドでは、**Agilent ChemStation** の様々な概念を説明します。**ChemStation** がどのように動作するかを理解を高めることを目的としています。

ChemStation の使用に関する情報は、一般的なヘルプシステムやオンラインヘルプ「チュートリアル」を参照してください。

1 **Agilent ChemStation** の機能

本章では、**ChemStation** の主要コンポーネントと機能について説明します。

2 **メソッド**

本章では、メソッドのコンセプトと扱い方について説明します。

3 **データ取り込み**

本章では、データ取り込み、データファイル、ログブックなどのコンセプトについて説明します。

4 **積分**

本章では、**ChemStation** のインテグレートアルゴリズムの積分のコンセプトについて説明します。積分アルゴリズム、積分、およびマニュアル積分について説明します。

5 **定量**

この章では、**ChemStation** が定量を行う方法について説明します。面積%および高さ%の計算、外部標準 (**ESTD**) 計算、補正%計算、内部標準 (**ISTD**) 計算、および同定されていないピークの定量に関する詳細を説明します。

6 **ピーク同定**

本章では、ピーク同定のコンセプトについて説明します。

7 キャリブレーション

本章では、ChemStation で行われるキャリブレーションについて説明します。

8 自動化

本章では、自動化の概念について説明します。具体的には、ChemStation 内でシーケンスを使用する方法、シーケンスの実行時に起こること、およびシーケンスのカスタマイズ方法を説明します。

9 データレビュー、再解析、バッチレビュー

本章では、データをレビューする可能性とシーケンスデータの再解析方法について説明します。さらに、バッチレビュー、バッチコンフィグレーション、レビュー機能、バッチレポートのコンセプトを説明します。

10 ChemStation レポートの使用

本章では、レポートの概念について説明します。内容は、レポート結果、定量結果、レポートスタイル、レポート出力先、およびシーケンスサマリレポートについての詳細になります。

11 システムスータビリティの解析

本章では、分析機器がサンプル分析に使用される前と分析メソッドが定期的に使用される前の両方の時点で事前解析を行うために、および分析システムが定期的な分析に使用される前および分析の実行中にパフォーマンスをチェックするために、ChemStation では何ができるかについて説明します。

12 システムベリフィケーション

本章では、ベリフィケーション機能および ChemStation の GLP ベリフィケーションの特徴について説明します。

目次

1	Agilent ChemStation の機能	9
	一般的な説明	11
	ChemStation ハードウェア	14
	ChemStation ソフトウェアについて	15
	機器コントロール	32
	マニュアル	33
	ChemStation のディレクトリ構造	35
	ナビゲーションペイン	39
2	メソッド	41
	メソッドの詳細	42
	メソッドの各部分	43
	メソッドのステータス	46
	メソッドの作成	48
	メソッドの編集	49
	メソッドのディレクトリ構造	51
	メソッドの実行時に行われる事柄	52
	メソッド操作のまとめ	57
3	データ取り込み	59
	データ取り込みとは	60
	データファイル	61
	オンラインモニタ	63
	ログブック	64
	ステータス情報	65
4	積分	67
	積分とは	69
	インテグレータの働き	70
	ChemStation のインテグレータアルゴリズム	71
	概要	73
	用語の定義	77

操作の原則	79
ピーク認識	80
ベースライン割り当て	89
ピーク面積の測定	101
積分イベント	104
マニュアル積分	109

5 定量 113

定量とは	114
定量計算	115
補正係数	116
キャリブレーションされていない計算の手順	118
キャリブレーションされた計算の手順	119
ESTD 計算	120
補正 % 計算	122
ISTD 計算	123

6 ピーク同定 127

ピーク同定とは	128
ピークマッチングルール	129
ピーク同定のタイプ	130
絶対リテンション/マイグレーションタイム	132
補正済みリテンション/マイグレーションタイム	134
ピーククオリファイア	136
同定プロセス	139

7 キャリブレーション 141

用語の定義	142
キャリブレーションテーブル	143
検量線	144
未知サンプル	146
キャリブレーションの種類	147
グループキャリブレーション	154
ピーク和	155
リキャリブレーション	156

8 自動化 161

自動化とは 163

シーケンス / シーケンステンプレートとは 164

プレファレンス - シーケンスタブ 165

シーケンスパラメータ 167

シーケンステーブル 169

シーケンスの作成 (シーケンスとシーケンステンプレート) 170

シーケンスを用いた作業 (シーケンスとシーケンステンプレート) 172

シーケンスログファイル 175

シーケンスが実行されると何が起こるか? 176

シーケンスデータファイル構造 (ユニークなフォルダ作成オン) 178

シーケンス内のデータファイルの命名 179

ポストシーケンス処理 181

自動リキャリブレーション 182

リキャリブレーションの指定 183

シーケンスの種類 186

明示的キャリブレーションシーケンス 187

周期的シングルレベルキャリブレーションシーケンス 188

周期的マルチレベルキャリブレーションシーケンス 189

明示的および周期的キャリブレーション両方 193

ブラケットを含む周期的キャリブレーションシーケンス 195

標準の同じ希釈率を含むマルチバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス 199

9 データレビュー、再解析、バッチレビュー 203

データ解析でのナビゲーションテーブル 204

バッチレビューとは 209

インストール済みの ChemStation OpenLAB Option でバッチレビュー機能を有効にする 210

バッチ設定 211

レビュー機能 214

バッチレポート 215

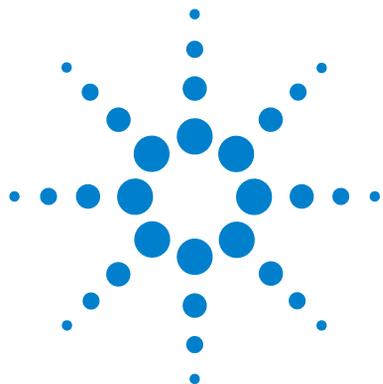
10 ChemStation レポートの使用 217

レポートとは 218

結果のレポート 219

定量結果 221

カスタムフィールド値のレポート	222
レポートスタイル	223
他のレポートスタイルパラメータ	226
レポート出力先	227
シーケンスサマリレポート	229
11 システムスータビリティの解析	233
ノイズ測定	237
ピーク対称性の計算	242
システムスータビリティの式および計算	244
一般定義	245
パフォーマンステスト定義	246
再現性に関する定義	252
内部保持されている倍精度数へのアクセス	256
12 システムベリフィケーション	259
ベリフィケーションおよび診断ビュー	260
GLP セーブレジスタ	263
DAD テスト機能	265



1

Agilent ChemStation の機能

一般的な説明	11
追加機器モジュール	12
追加のデータ解析モジュール	12
データ解析専用の製品	13
ChemStation ハードウェア	14
ChemStation ソフトウェアについて	15
オペレーティングシステム	15
メソッドとシーケンス	15
システムコンフィグレーション	15
データモデル	16
ファイルの命名規則	16
ソフトウェアユーザーインターフェイス	18
データ取り込み	20
データ解析 — 表示	21
データ解析 — 積分	22
データ解析 — 定量	22
データ解析 — データレビュー、データ再解析およびバッチレビュー	22
データ解析 — 標準的なレポート	23
データ解析 — 特殊レポート作成	24
ユーティリティと互換性	26
カスタマイズ	27
自動化	27
GLP	29
機器コントロール	32
ネットワーク	32
マニュアル	33
ChemStation のディレクトリ構造	35



1 Agilent ChemStation の機能

このガイドの内容

ナビゲーションペイン 39

ナビゲーションボタン 39

ChemStation エクスプローラ 39

本章では、ChemStation の主要コンポーネントと機能について説明します。

一般的な説明

GC、LC、LC/MSD、CE、CE/MSD および A/D システム用の ChemStation には、以下の機器に対応した、コントロール、データ取り込みおよびデータ解析システムが装備されています。

- Agilent 7890A ガスクロマトグラフ、
- Agilent 6890N、6890Plus および 6890A ガスクロマトグラフ、
- Agilent 6850 ガスクロマトグラフ、
- 5890 シリーズ II ガスクロマトグラフ
- Agilent 1100/1200 シリーズの LC モジュールおよびシステム、
- Agilent 1100 シリーズ LC/MSD、
Agilent 6100 シリーズシングル四重極 LC/MSD、
- 1090 シリーズ液体クロマトグラフ、
- 1046 FLD および 1049 ECD 検出器
- Agilent キャピラリー電気泳動システム (CE)
- Agilent CE/MS システムおよび
- Agilent 35900E デュアルチャンネルアナログ / デジタルインタフェース。

ソフトウェアは、IBM 互換のパーソナルコンピュータで、Microsoft® Windows XP Professional オペレーティング環境下で動作するように設計されています。

ソフトウェアは、5 種類のシングル仕様の ChemStation として販売されています。これらには、1 台の分析機器用の、データ取り込み、機器コントロール、データ解析 (積分、定量およびレポート)、自動化、およびカスタマイズ機能が含まれています。1 台の機器は、固有の基本時間で動作しながら、複数の検出器から同時にデータを取り込むことができます。5 種類は以下のとおりです：

- ガスクロマトグラフ (GC) システムのシングル仕様 ChemStation、製品番号 G2070BA、
- 液体クロマトグラフ (LC) システムのシングル仕様 ChemStation、製品番号 G2170BA、
- キャピラリー電気泳動 (CE) システムのシングル仕様 ChemStation、製品番号 G1601BA、

1 Agilent ChemStation の機能

一般的な説明

- 液体クロマトグラフ / 質量選択検出器 (LC/MSD) システムのシングル仕様 ChemStation、製品番号 G2710BA、
- 外部イベントコントロール機能を持つ、アナログデータ取り込みのシングル仕様アナログ / デジタル (A/D) ChemStation、製品番号 G2072BA。

ChemStation ソフトウェアの機器コントロール機能は、追加機器データ取り込みおよびコントロールモジュールをご購入いただくと、複数の機器、混合した技術的な構成に対応するように拡張できます。

追加機器モジュール

追加機器モジュールは以下のとおりです：

- 追加 GC 機器コントロールおよびデータ取り込みモジュール、製品番号 G2071BA、
- 追加 LC 機器コントロールおよびデータ取り込みモジュール、製品番号 G2171BA、
- 追加 CE 機器コントロールおよびデータ取り込みモジュール、製品番号 G2172BA、
- 追加 LC/MSD 機器コントロール、データ取り込みモジュール、および追加データ解析モジュール、製品番号 G2715BA
- 追加アナログデータ取り込みモジュール、製品番号 G2073BA

追加のデータ解析モジュール

下記の追加データ処理モジュールをご購入いただくと、ChemStations のデータ処理機能をさらに拡張できます。

- 追加ダイオードアレイ検出器 (DAD) スペクトル解析モジュール、製品番号 G2180BA
- 追加 ChemStore サンプル管理および結果データベースモジュール、製品番号 G2181BA
- LC/MSD デコンボリューションおよび生物分析データ解析モジュール、製品番号 G2720BA (LC/MSD ChemStation のみ使用可能)

各 ChemStation には、最大 4 台のクロマトグラフ機器を構成できます。分光検出器 (液体クロマトグラフまたはキャピラリ電気泳動用のダイオードアレイ検出器) を持つ機器を構成した場合、1 台の ChemStation で 2 台より多くのダイオードアレイ検出器はサポートされず、サポートされる機器の数は 3 台に制限されます。LC/MS 用の ChemStation を Agilent 1100/1200 シリーズ LC/MS モジュール (オプションとして 1 台の Agilent 1100/1200 シリーズ LC または 1090 シリーズ II LC と一緒に) をコントロールするために使用する場合には、PC 上で他の機器はサポートされません。

データ解析専用の製品

機器を構成できない、データ解析専用の製品は、3 種類用意されています。これらは、オフィス環境でのデータ解析で使用するよう設計されています。

- LC 3D データ解析用 ChemStation 製品番号 G2190BA には、ダイオードアレイスペクトルデータ解析機能と基本データ解析用 ChemStation の機能が含まれています。
- LC/MSD データ解析用 ChemStation 製品番号 G2730BA には、ダイオードアレイスペクトルデータ解析機能、質量スペクトルデータ解析機能、および基本データ解析用 ChemStation の機能が含まれています。

ChemStation ハードウェア

ChemStation ハードウェアの詳細は、『*ChemStation のインストール*』マニュアルを参照してください。

ChemStation ソフトウェアについて

オペレーティングシステム

ChemStation は、Microsoft Windows XP Professional SP3 または Windows Vista Business SP1 オペレーティングシステムを必要とします。

ChemStation のコントロールチャート機能は Microsoft Excel を必要とします。

メソッドとシーケンス

分析メソッドは、特定の分離をどのように実行されるかを記述するものです。これには、積分、定量およびレポートを含む、機器コントロール、データ取り込みおよび解析に関するすべてのパラメータが含まれています。システムは、多数のサンプルから異なるメソッドでデータを取り込むように設定できます。この種の操作のためのコントロールファイルはシーケンスと呼ばれ、個別のサンプル情報、適切なメソッドの参照、および自動的なリキャリブレーションの条件が収められています。メソッドおよびシーケンスについての詳細は、「自動化」27 ページ  とオンラインヘルプシステムを参照してください。

システムコンフィグレーション

機器システムのコンフィグレーションは、コンフィグレーションエディタプログラムによって行います。これを使えば、使用している機器、その GPIB または LAN アドレス、データのディレクトリ、シーケンスとメソッドおよび ChemStation ソフトウェアの画面で使用する色を定義することができます。詳細は、追加 ChemStation モジュールに付属しているハンドブックを参照してください。

データモデル

ChemStation ソフトウェアは、レジスタと呼ばれるメモリ構造体に基づくデータモデルに従って設計されています。レジスタは、多目的の構造体で、分析データと、2次元の情報(時間/強度など)および3次元の情報(時間/強度/波長など)の両方の情報を格納できます。

ChemStation は、レジスタの構築、拡張、抽出、および主要なデータを変更しない場合には編集を行うためのコマンドと機能を提供します。詳細は、オンラインヘルプとして利用できる『マクロプログラミングガイド』を参照してください。

ファイルの命名規則

命名規則

次の規則によって、ChemStation ではファイルとディレクトリで有効な名前の作成と処理ができます。

以下の文字はファイルまたはディレクトリ名には含めません。

- <>:"/\ | @ % * ? 空白 (スペース) など。

インストールフォルダにこれらの文字が含まれていた場合には、解析画面は起動しません。また、インストールフォルダに「%」文字が含まれていた場合には、「Agilent Chemstation B0.04.01」の一部のショートカットは正しく動作しません。

次の規則も適用されます。

表 1 制限された文字

ChemStation パラメータ	文字
メソッドファイル名:	% アンド.(小数点) は使用できません
データファイル名(プレフィックス/カウンタ)	空白は許可されない
データサブディレクトリおよびシーケンスサブディレクトリ:	[] += ; . (小数点) 空白 (スペース) は使用できません

次の予約済みデバイス名は、ファイル名としては使用できません。

- CON、PRN、AUX、NUL
- COMx (ここで x は 1 ~ 9 の数字)
- LPTx (ここで x は 1 ~ 9 の数字)

また、この名前を拡張子の前に付けることも避けてください (Nul.txt など)。

ノート

英語、日本語、中国語のオペレーティングシステムは、命名規則をテストするのに使用されます。Agilent では、英語以外のオペレーティングシステムとその特殊文字をサポートしません。

ChemStation のファイル名およびサブディレクトリの最大長

ファイル名およびサブディレクトリの Agilent ChemStation 仕様は、以下に記載されています。

表 2 ChemStation のファイル名およびサブディレクトリの最大長

データファイル / サブディレクトリ / パス	最大入力長	自動付加	例
データファイル名	38	.D	Demodad.d
プレフィックス / カウンタを使用するデータファイル名	15	.D	longname000001.d
メソッドシーケンス ハイパーシーケンス ライブラリ カスタマイズされたレポートテンプレート	40	.M .S .HYP .UVL .FRP	def_lc.m def_lc.s def_lc.hyp demodad.uvl areapct.frp
データファイルサブディレクトリ	40		demo (サンプル情報で)
データシーケンスサブディレクトリ	40		demo (シーケンスパラメータで)

表 2 ChemStation のファイル名およびサブディレクトリの最大長

データファイル / サブディレクトリ / パス	最大入力長	自動付加	例
シーケンスデータテナ名	40		test_date_time (シーケンス設定を使用して作成)
データパス	100	100	c:\chem32\1\data
メソッドパス			c:\chem32\1\methods
シーケンスパス			c:\chem32\1\sequence
ハイパーシーケンスパス			c:\chem32\1\hyper
ライブラリパス			c:\chem32\speclib
カスタマイズされたレポートテンプレートパス			c:\chem32\repstyle

ノート

データファイル / シーケンス / メソッド名を表示するツールバーは、18 文字まで表示できるようにリサイズされています。

ChemStation のすべてのログブックはシステムメッセージを拡張されたフォーマットでレポートし、情報文字列は複数行に渡って印刷されます。シーケンスレポートなどの特定のレポートは、すべての情報がレポートテンプレートに収まるように、ファイル名を切り詰めることがあります。

ソフトウェアユーザーインターフェイス

ChemStation のユーザーインターフェイスは、ビューに分けてデザインされており、ソフトウェアの機能を典型的な分析タスクに従ってグループ化します。以下の 3 つ標準的なビューは、すべてのソフトウェアコンフィグレーションに存在します。

- [メソッド&ランコントロール]: コントロールと機器からのデータ取り込み、
- [データ解析]: 取り込んだデータの確認と再解析、
- [レポートレイアウト]: 特定のレポートレイアウトの設計

追加データ解析モジュールを注文した場合、または機器診断およびベリフィケーション手順をサポートする特定の機器コンフィグレーションの場合には、追加のビューが存在します。機器オペレータが、使いやすい、構成済みのテーブルからサンプルを分析するのが望ましい場合には、[ChemStation コンパニオン]ビューが利用可能です。

ナビゲーションパネルにはナビゲーションボタンがあり、ChemStation のビュー、およびツリーベースの ChemStation エクスプローラの間を素早く切り替えることができます。ChemStation エクスプローラの内容はビューに応じて変わり、異なる ChemStation のエレメントにアクセスできます。

それぞれのビューは、メニューとツールバーを含む、標準的なユーザーエレメントのセットから構成されます。標準的なツールバーを使えば、メソッドやシーケンスなど、共通のシステム仕様情報に素早くアクセスすることができます。[メソッド&ランコントロール]ビューには、システムステータスバー、シングルの分析または自動化された分析に合わせて構成できるサンプル情報エリア、および GC、CE および LC コンフィグレーション用の図表的な機器インタフェースダイアグラムが付加的に組み込まれています。図表的な機器インタフェースダイアグラムはホットスポットを使用しており、機器パラメータや、各分析の進行に伴いステータスをアニメーション化したグラフィカルな概要に素早くアクセスすることができます。図表的な機器インタフェースダイアグラムは必要でないときにはオフにすることができ、メモリや Windows の他のリソースを節約できます。

[データ解析]ビューでは、特定のデータ奇跡モードに応じて標準的なツールバーが拡張されています。これらのデータ分析モードには、積分、キャリブレーション、レポート、注釈、シグナル比較、およびモジュールがインストールされている場合には他の特別なモードが含まれます。これら個別のデータ解析モジュールはそれぞれ、モード固有のツールセットによってサポートされます。

[レポートテンプレート]ビューを使えば、ユーザーは、特定のレポートスタイルのレイアウトを、グラフィカルオブジェクト指向の方法で、グラフィカルに定義することができます。また、このタスクに固有のツールバーのセットも使います。

データ取り込み

機器のステータスは、ソフトウェアがウィンドウとして表示されているときでも、アイコン化されたときでも継続してモニタされ、分析の経過時間とともにディスプレイ上で更新されます。エラーおよび分析の開始および終了時の機器の状態を含む、分析中に生じたトランザクションは、システムのログブックに記録されます。その摘要が、すべてのデータファイルに保存されます。

液体クロマトグラフの流量、温度、圧力および溶媒の組成など、機器の状態は、記録されて各データファイルに保存されます。これらの機器パラメータは、表示、プロットして、各分析の品質を確認することができます。実際にどのようなパラメータが記録されるかは、テクニックと構成された機器の性能の両方に応じて決まります。

機器が取り込んでいるデータをリアルタイムにモニタするために、1つまたは複数の表示ウィンドウを使用することができます。データは、mAU、ボルト、°Cまたはbarなど、実際の測定単位で表示されます。ウィンドウはそれぞれ、複数のクロマトグラフ/電気泳動シグナル、または圧力などの機器パラメータを、重ね書きで表示することができます。表示のデフォルト設定は、調整し、システムに記憶させることができます。それでユーザーは、自分の設定を機器のデフォルトとして設定することができます。ウィンドウにはズーム機能があり、カーソルは、任意の時点での特定のシグナルのレスポンスを表示するために使用することができます。

分析の間も、ChemStation のすべての機能はオフラインコピーを通して使用することができます。取り込みを行っている間、機器のオンラインセッションのデータ解析部分はアクセスできないので、データの確認はオフラインコピーで実行する必要があります。

分析の完了前にデータの処理を開始したいと思うユーザーは、スナップショット機能を利用できます。スナップショットは、機器セッションのオフラインコピーで取る必要があります。これはすぐに確認用として表示されます。

図表的な機器インタフェースダイアグラムを含む、シグナルおよびステータス情報ウィンドウのレイアウトは、自動的に保存されます。

データ取り込みについての詳細は、「データ取り込み」59 ページ  およびオンラインヘルプシステムを参照してください。

データ解析 — 表示

[データ解析]ビューでは、標準的なツールバーが拡張され、積分、キャリブレーション、レポート、注釈、およびシグナル比較ツールセットを含む、タスクグループ化されたデータ解析機能が追加されています。以下のような、主要グラフィカル操作が可能です。

- クロマトグラム / エレクトロフェログラムを読み込んだときには、単一または複数シグナルの表示が選択可能です、
- 異なるサンプルからのクロマトグラム / エレクトロフェログラムを重ね書きできます、
- あるクロマトグラム / エレクトロフェログラムから他のものを減算することができます、
- 視覚的に比較しやすくするために、シグナルを縦または横に並べられます、
- 視覚的に比較しやすくするために、シグナルを上下または左右に反転できます、
- グラフィカルなズームおよびスクロール機能があります、
- チックマーク、ベースライン、軸、リテンション / マイグレーションタイムおよび化合物名を含む、表示属性を調整できます。(ユーザーは、RT および化合物ラベルのフォントの選択、表示のサイズと向き、表示を重ね書きするか別々に表示するかを選択、および倍率の選択を行えます)、
- クロマトグラム / エレクトロフェログラム表示には、構成された機器の性能に応じて、機器パラメータをグラフィカルに重ね書きしたものを含めることができます、
- ユーザー定義の注記を、フォント、サイズ、テキストの回転および色を選択して、表示に対話的に追加することができます(いったん定義した注記は、グラフィカルに移動、編集または削除できます)、
- ディスプレイを **Windows** のクリップボードに、メタファイルとビットマップの両方の形式でコピーできます、
- ピックモート機能を使って、個別のデータポイントの値を検出器の単位で表示できます、そして
- デジタル化された時間 / 強度のポイントを **Microsoft Windows** のクリップボードにエクスポートできます。

データ解析 — 積分

ChemStation のインテグレートアルゴリズムは、耐久性、信頼性および使いやすさに焦点を当てた、新しい世代の 2 番目のバージョンです。

データ解析 — 定量

ChemStation のデータ解析ビューのキャリブレーション モードを使えば、次のものを同時に表示することができます。

- キャリブレーション中のシグナルと、現在の化合物のリテンション / マイグレーションタイムウィンドウの表示、
- キャリブレーションパラメータの包括的な選択によって表示を構成できるキャリブレーションテーブル、および
- キャリブレーション中の化合物のキャリブレーションカーブ。

すべてのキャリブレーションモードウィンドウはリンクしているので、いずれかを変更すれば、自動的に他のものに反映されます。このモードを使えば、キャリブレーションデータをグラフィカルに選択して、修正できます。

定量は、ピーク面積または高さから計算された %、標準化された %、外部標準、外部標準の %、内部標準、および内部標準の % 計算に基づいて行われます。キャリブレーションはマルチレベルで行うことができ、複数の内部標準定義を含めることができます。キャリブレーション履歴は自動的に保存され、リキャリブレーション計算の重み付けに使用されます。

キャリブレーションと定量についての詳細は、「キャリブレーション」 [141 ページ](#)  を参照してください。

データ解析 — データレビュー、データ再解析およびバッチレビュー

データ解析ビューでは、次の 2 つの追加ツールセットを使用できます。

- ナビゲーションテーブル
- バッチレビュー

ナビゲーションテーブルでは、次のような、いくつかの主要なグラフィカル操作が可能です。

- ソート、オプションのドラッグアンドドロップ、カラムの選択、希望するナビゲーションテーブルのコンフィグレーションを指定するための項目のグループ化などの、標準のテーブルコンフィグレーション機能
- シグナルの読み込み、シグナルの重ね書き、データのエクスポート、レポートのプリントを行うための、右マウスクリック機能
- ナビゲーションテーブル内の行を拡張することによる、シグナルの詳細のレビュー
- 読み込まれたメソッドまたは個別のデータファイルメソッド **DA.M** を使用する、シグナルのレビューと **ChemStation** レポートの作成 (マニュアル積分イベントのレビューなど)
- シーケンスデータの再解析 (**ChemStation Rev. B.02.01** 以降から取り込んだシーケンスデータ)

バッチレビューでは、次のような、主要なグラフィカル操作が可能です。

- (キャリブレートされた) データファイルの自動またはマニュアルのレビューと再解析の定義
- キャリブレーションテーブルのリキャリブレーション
- キャリブレートされたメソッドの化合物テーブルのレビュー
- 特有のバッチレポートの作成

データ解析 — 標準的なレポート

サンプルレポート用のユーザー定義可能なレポートスタイルの標準的なセットは、レポートの指定画面から選択できます。それぞれの標準的なレポートタイプは、標準の情報グループと、オプションの情報グループを含んでいます。

使用可能なレポートスタイルについての詳細は、「**ChemStation** レポートの使用」[217 ページ](#)  を参照してください。

データ解析 — 特殊レポート作成

ChemStation は、より特殊化したレポートのセットを必要とするアプリケーション用に、高度なレポート機能も含んでいます。これには、分離の品質についての統計、サンプルとユーザー定義のレポートレイアウトの間での傾向分析を含むレポートが含まれます。

システムスータビリティレポート

システムスータビリティレポートを使えば、個々の分析に対するシステムのパフォーマンスパラメータをレポートすることができます。これらのレポートには 3 つのバリエーション、つまりスタイルがあります。

標準性能レポートは、次の内容を含むキャリブレーションされていないメソッドのパラメータを印刷します。

- リテンション / マイグレーションタイム
- 容量ファクタ (k')、
- ピーク面積
- ピーク高さ
- 対称性
- 真の半値幅、
- プレート数の効率、
- 分離度、および
- 選択性。

キャリブレートされたメソッドの場合には、ピーク面積、ピーク高さ、選択性のカラムの代わりに、化合物名とアmountが表示されます。

レポートのヘッダーには、標準のヘッダーおよびフッター、サンプル情報ブロック、分析カラムパラメータ、およびオプションとしてクロマトグラム / エレクトロフェログラムのプロットが含まれます。

パフォーマンスとノイズスタイルでは、シグナルノイズの解析が、最大 7 つのユーザー定義の解析範囲で、パフォーマンスレポートスタイルのデータに追加されます。ノイズパラメータは、ピークまたはキャリブレートされた化合物ごとの S/N 比、およびシグナルごとのノイズテーブルとしてレポートされます。各ノイズテーブルには、6 倍の標準偏差、ピーク to ピーク、ASTM メソッド、およびうねりやドリフトが含まれます。

拡張パフォーマンススタイルでは、ピークの開始と終了時間、半値幅とベースラインをグラフィカルに示す、個別のピークごとのプロットを追加します。このスタイルには、標準のパフォーマンスレポートでレポートされるものに加えて、次のパラメータが含まれます。

- 面積、高さおよびアマウント、
- 歪み、
- 超過、
- USP テーリングファクター、
- データポイント間の時間間隔およびピーク上のデータポイント数、
- 統計モーメント (M0 ~ M4)、
- 真の、5 シグマ、タンジェントおよびテーリングメソッドで計算された半値幅、および
- 半値幅、5 シグマ、タンジェントおよび統計メソッドで計算されたプレート数 / カラムおよびプレート数 / メートル。

ユーザーは、自分自身のノイズ解析範囲と、これらのパフォーマンス基準の受け入れ可能な限界を定義できます。ユーザー定義による受け入れ可能な限界値は、レポートに表示されます。

システムスタビリティの計算についての詳細は、「システムスタビリティの解析」[233 ページ](#)  を参照してください。

シーケンスサマリレポート

シーケンスサマリレポートは、一連の自動分析の最後に生成されます。そのアプリケーションの範囲は、分析されたサンプルの短いサマリから、同じメソッドで分析された異なるサンプルの間の、ユーザーが選択したパラメータのグラフィカルで詳細な定量性または傾向分析にまで及びます。

シーケンスサマリレポート作成についての詳細は、オンラインヘルプシステムと「シーケンスサマリレポート」[229 ページ](#)  を参照してください。

カスタマイズレポート

カスタマイズレポートデザインビューは、自分独自のレポートの内容を定義することを望むユーザーのために、ChemStation に含まれています。ユーザーは、一般的なサンプル情報、シグナル、積分や定量分析の結果の情報を含むレポートのレイアウトを、グラフィカルに定義できます。ユーザーは、テキスト、テーブル、グラフィックスなどの個々のエレメントを定義し、それらを情

報セクションで整理し、定義された各エレメントの相対位置、サイズ、向きをグラフィカルに調整することができます。個々のセクションは、追加、削除、並べ替え、ネストが行えます。

ユーザーは、各ページに表示されるヘッダーとフッター、レポートのタイムスタンプ、*page x of y* 形式でのページ番号を定義できます。任意の ChemStation またはユーザー定義のパラメータを、レポートの情報として含めることができます。

レポートをデザインしたら、特定のメソッドと関連付けて、特定のタイプの分析のデフォルトのレポートフォーマットにすることができます。

カスタマイズレポートは、画面、プリンタ、およびファイルに出力できます。画面へのレポートにはグラフィックが含まれます。

レポートのレイアウトについての詳細は、オンラインヘルプシステムを参照してください。

コントロールチャートレポート

ChemStation ソフトウェアには、コントロールチャート機能が含まれています。この機能をインストールして選択すると、ユーザーは、メソッドの毎回の実行時に、化合物の選択したパラメータを自動的に追跡することができます。これらのパラメータは次の通りです。アマウント、レスポンスファクタ、リテンションタイム/マイグレーションタイム、面積。

これらのカスタムおよびコントロールチャートレポートについての詳細は、オンラインヘルプシステムを参照してください。

ユーティリティと互換性

一般

ChemStation は、データファイルを Analytical Instrument Association (AIA), revision 1.0, copyright 1992 の andi (Analytical Data Interchange) クロマトグラフフォーマットでインポートおよびエクスポートできます。データのインポートはコンプライアンスレベル 1 (サンプル情報およびシグナルデータ) で、データのエクスポートはコンプライアンスレベル 2 (サンプル情報、シグナルデータおよび積分結果) でサポートされています。

ChemStation には、Microsoft Windows プラットフォームの動的データ交換 (DDE) 規格をサポートするコマンドと機能が、DDE クライアントおよび DDE サーバーの両方として含まれています。コマンドセットには、接続の確立と終了、双方向の転送情報、およびリモート関数の実行のためのコマンドが含まれています。

カスタマイズ

ChemStation は、強力なコマンドセットを使用してカスタマイズすることができます。これらのコマンドはグループ化して、特定の機能を自動的に実行できます。このようなグループはマクロと呼ばれます。マクロを記述するユーザーは、自分独自の変数の定義、条件およびループ構造の作成、ファイル処理およびユーザー対話を含む物理 I/O の実行、マクロのネスト、スケジュール設定、および他の MS-DOS または Microsoft Windows アプリケーションとのデータ交換を行えます。

カスタマイズについての詳細は、オンラインヘルプとして利用できる『マクロプログラムガイド』を参照してください。

自動化

ChemStation はマルチメソッドのシーケンスを実行できます。

シーケンスパラメータは、自動生成されたファイル、または 15 字までのユーザー定義のプレフィックスを持つ連番ファイルを使用するように定義できます。ユーザーは、完全な分析を実行するか、またはデータ再解析だけのシーケンスを実行するかを選択できます。また、エラーが生じた、またはすべての分析が完了した後のシーケンスの終了時に実行するものとして、シャットダウンコマンドに固有の一連のテクニックのいずれか、またはユーザー定義のシャットダウンマクロを選択することができます。

シーケンステーブル、つまり実行する分析のリストは、表計算に似たユーザーインタフェース内で構築することができ、ユーザーは、バイアル番号およびサンプル名、分析メソッド、またサンプルアmount、倍率や希釈率、キャリブレーションの指定、データ交換パラメータ LIMSID および繰り返し注入の回数を含む、サンプル定量パラメータを指定できます。構成された機器及びモジュールによっては、他のフィールドにアクセスできます。たとえば、Agilent 1100/1200 LC システムにフラクションコレクタが含まれている場合には、

1 Agilent ChemStation の機能

ChemStation ソフトウェアについて

シーケンステーブルに [フラクション開始] カラムが表示されます。シーケンステーブルの外見は、ユーザーが構成できます。ユーザーは、テーブル内の個々のセル間をジャンプできます。また、個々のセル、行全体、または一連の行をカットまたはペーストして、シーケンスを効率的または素早く構築することができます。

サンプルは、シーケンステーブル内で不明、キャリブレーション、またはコントロールサンプルタイプとして識別できます。サンプルタイプは、次のように、サンプルの特別な解析処理を決めます。

- 不明なサンプルは、メソッドの指定に従って解析され、レポートされます。
- キャリブレーションサンプルは、後述するように、メソッドの定量化合物をリキャブレートするために使用されます。そして
- コントロールサンプルは、メソッドで定義された各成分の限界に基づいて解析されます。結果が、指定されたパラメータ範囲外になった場合には、シーケンスの実行は停止されます。

キャリブレーションサンプルは、シンプル、反復またはブラケットとして定義されます。シンプルリキャブレーションは、シーケンスでキャリブレーションサンプルが定義されるたびにリキャブレーションが行われることを意味します。反復リキャリブレーションは、一連の不明物の分析中に、定義された間隔で行われることを意味します。一連の不明なサンプルをブラケットすると、2つのキャリブレーションセットが分析されます。それから、不明なサンプルの定量レポートは、2つのキャリブレーションセットを平均したキャリブレーションテーブルを使用して、計算されます。

部分シーケンス機能を使えば、ユーザーは、シーケンスの実行の順序を確認できます。また、個々のサンプルエントリを選択して、再分析または再解析することができます。すでに取り込んだデータの再解析を行う場合、ユーザーは、再解析で元のサンプル定量データを使用するか、それともシーケンスのサンプルテーブルに入力された新しいデータを使用するかを指定できます。

シーケンスは、他のメソッドで単一の注入プライオリティサンプルを分析するように一時停止して、それから、自動化を中断せずに再開することができます。サンプルは、シーケンスの実行中にシーケンステーブルに追加することができます。

シーケンスと部分シーケンステーブルは、両方とも印刷できます。

シーケンスについての詳細は、「自動化」 [161 ページ](#) およびオンラインヘルプシステムを参照してください。

GLP

ChemStation は、国際的に認識されるデザインおよび開発標準で開発され、特に、標準化された環境でユーザーが操作する上で助けとなる多くの機能を持っています。これらの機能は、メソッドが意図した使用に適しているかどうかについての、完全なメソッド指定とバリデーションの分野に関するもので、そのシステムの操作をチェックし、データの追跡可能性、オリジナリティ、品質を確保することができます。

開発プロセス

各ソフトウェアパッケージに付属するバリデーション証明書には、ソフトウェア開発および開発サイクルの一部として実行されたテストステップについて記述されています。開発プロセスは、ISO 9001 品質規格に登録されています。これは、バリデーションバインダー *Agilent ChemStation for LC* に、オンサイトバリデーションプロトコルとともに記述されています。

メソッドの指定と使用

- グローバルなメソッド - 1 箇所に保存されている、機器およびデータ解析の指定全体です。メソッドには、定量の結果がキャリブレートされた範囲外に適用されていないかどうかチェックするための、個別の化合物範囲の指定が含まれています。
- メソッドの変更履歴ログ機能を使えば、検証されたメソッドのユーザーは、メソッドがいつどのように変更されたかを自動的に記録することができます。ユーザーは、オプションとして、変更履歴ログにコメント理由を追加できます。変更履歴ログは、自動的に、メソッドの一部としてバイナリ形式で保存されます。レコードが許可されていない仕方でアクセスされるのを防ぐため、レコードは、後述の方法で、ユーザーアクセススキームによって保護されています。変更履歴ログは表示し、印刷することができます。
- データ解析定量のセクションで説明しているように、クロマトグラフ/エレクトロフェログラムの数およびシステムパフォーマンスパラメータについて、各メソッドの化合物単位で制限を割り当てることができます。これらのパラメータ範囲を超える結果は、自動化のセクションで説明しているように、自動化シーケンスの実行をコントロールするために使用されます。これらは、適切な分析レポートに示されます。
- システムパフォーマンスまたはスタビリティレポート (前述のレポートのセクションを参照) では、分離の品質についての詳細な分析が提供されています。

ChemStation は、オペレータレベルとマネージャレベルという、2つのユーザーアクセスレベルにアクセスを制限するように構成できます。マネージャレベルはパスワードで保護することができ、ChemStation のすべての機能にアクセスできます。オペレータレベルは、ユーザーを、主要な機能と、分析メソッドで定義された実行操作に制限します。オペレータレベルは、研究室での通常の分析で使用するためのものです。特に、ユーザーがメソッドを修正したり、新規作成したりするのを防ぎます。

メソッドの堅固さ

シーケンスサマリレポート (「シーケンスサマリレポート」 [229 ページ](#) [図](#)を参照) には、メソッドの堅牢性をテストするための手段が用意されています。ユーザーが選択した基準に対する拡張フォーマットレポートは、傾向チャートとしてレポートされ、実際的な操作の限界を決定するために使用することができます。その後、これらの限界をメソッドに組み込んで、コントロールサンプルの分析中、メソッドが指定した範囲内で運転するようにすることができます。

システム操作

ChemStation ベリフィケーションキットは、標準ソフトウェアの一部で、テストを実行したときに生成された結果と前もって記録された既知の値とを比較することにより、ソフトウェアのデータ解析部が正しくインストールされて、動作しているかどうかを、自動的にチェックします。ベリフィケーションキットを使えば、ユーザーは、自分独自のデータファイルとメソッドを定義して、テストの基礎とすることができます。

データの追跡可能性、オリジナリティおよび品質

ランタイムログブックには、システム全体のトランザクションログが記録されています。これにはまた、異常なイベント (エラーや分析中のパラメータ変更など) や、分析前後の機器の状態が記録されます。関連するログブックの摘要のコピーは、それぞれのデータファイルに保存されます。

圧力、流量、および温度など、それぞれの分析中に生じた実際の機器の状態は、構成された機器がこの機能をサポートしている場合には記録されます。データはそれからクロマトグラム / エレクトロフェログラムとともに表示して、特定の分析中の機器の実際の状態を示すことができます。またこれは、レポートにも含められます。

データファイルとともに保存されたメソッドは、分析時の実際のメソッドを記録するので、後ほど、レポートされたデータを完全に再構成することができます。メソッドは、すべての分析ステップが完了すると、保存されます。

すべてのレポートには、タイムスタンプと、追跡可能なページ番号 (*page x of y* の番号付けスタイル) が付けられます。ユーザーは、レポートごとに、詳細さのレベルを、簡単なサマリレポートから、完全なシステムの詳細に至るまで選択することができます (前述の「レポート」セクションを参照してください)。

メソッドコンフィグレーションの一部として指定された **GLP Save** レジスタファイルは、サンプル情報、データ解析メソッド、クロマトグラフ/エレクトロフェログラムシグナル、機器の状態、積分と定量の結果、レポートデータおよび分析ログブックを含む、オリジナルのすべてのデータを、1つのチェックサムで保護されたバイナリファイルに保存します。これは編集不可のバイナリ形式で、結果のオリジナリティを確保します。ファイルには、データが再解析されたかどうかを示すリビジョニングスキームが含まれます。

コントロールサンプルタイプは、シーケンステーブルで定義することができ、機器を無人で動作させるときに、機器のパフォーマンスを、品質コントロールサンプルの結果を基にして自動的にチェックするために使用できます。結果が、ユーザーが指定した受け入れ可能な範囲内に入らなかった場合には、機器の自動実行は停止されます。

機器コントロール

ChemStation の機器コントロール機能は、追加機器モジュールをご購入いただくと、複数の機器、複合技術コンフィグレーションに対応するように拡張できます。詳細は、追加 ChemStation モジュールに付属しているハンドブックを参照してください。

ネットワーク

ChemStation は、IEEE 802.3 CSMA/CD 仕様にに基づき、Agilent の LanManager ソフトウェア、Microsoft Windows XP Professional、Microsoft Windows Vista Business 製品でテストおよびサポートされています。これは、Microsoft Windows のプログラム規格と互換なものであれば、どのネットワークソフトウェアとも互換であるはずです。

これらの製品を使えば、ChemStation で、プロッタやプリンタのような物理デバイスを研究室の他のコンピュータと共有し、また、データファイルやメソッドのような情報を共有することができます。

クライアント / サーバー

ChemStation ソフトウェアは、適切なネットワークサーバーにインストールして、必要なときにクライアントの PC にダウンロードすることができます。各クライアントに固有なコンフィグレーションにより、異なるテクニックと個別のユーザーに適した環境を確保することができる一方で、一元化されたソフトウェアインストールにより、1つの作業環境内の同一の ChemStation インストールの複数のコピーを管理するという負担を軽減することができます。

LAN ベースの機器コントロール

ChemStation ソフトウェアは、Agilent 7890 GC、Agilent 6890 GC、Agilent 35900E A/D コントロールモジュールおよび Agilent 1100/1200 シリーズ LC 用に、LAN ベースの機器コントロールおよびデータ取り込み機能を提供しています。これらを、ChemStation PC が存在する LAN に接続すれば、機器を容易にコントロールし、モニタできます。この方法により、ChemStation PC を、コントロールしている機器とは別の場所に配置することができます。

マニュアル

マニュアルのセットには、次のものについての固有のセクションが含まれています。

- ChemStation ソフトウェアのインストールと学習、
- ChemStation ソフトウェアの使用法、
- ソフトウェアの動作の原則の理解、および
- ChemStation のカスタマイズです。

インストールと学習

ChemStation のそれぞれのソフトウェア製品には、インストールマニュアルが付属しています。これには、PC ハードウェアとソフトウェアの要件、機器インタフェースのインストール、ChemStation のインストール、およびインストールの適格性確認の主要なステップの詳細が含まれています。インストールマニュアルは購入したコンフィグレーションに固有のもので、トラブルシューティング、システムの記録、およびシステムメンテナンスのアドバイスが含まれていることもあります。

ソフトウェアの使用法、

一般のユーザー用に、付加的な 2 種類のオンライン情報のカテゴリが用意されています。

ChemStation には、包括的でウィンドウスタイルの、索引の付いた状況依存型のオンラインヘルプが含まれています。このシステムにより、各画面の詳細な説明と、画面上のパラメータの意味を見ることができます。適切な箇所では、詳細な説明にグラフィックスが付いています。これらは、Windows のクリップボードにコピーすることができ、ユーザー自身のドキュメントに組み込んだり、印刷したりすることができます。

オンラインヘルプにはオンラインチュートリアルが含まれており、自分自身のメソッドやデータを扱いながら、ソフトウェアについて学べます。これにより、データ取り込みとデータ解析の最初のステップの概要を知ることができます。

オンラインヘルプの使い方の部分には、システムが正しく設定されていることを確認したいと思う、経験の少ないユーザーの助けとして、より複雑な技術固有のタスクと、クロマトグラフ共通のタスクのチェックリストも含まれています。これらのチェックリストは、詳細なオンラインヘルプの情報に直接リンクされています。

原則の理解

ChemStation の理解 マニュアルでは、ソフトウェアの操作およびデータ操作で使用されるアルゴリズムについての原則が説明されています。

カスタマイズ

ChemStation の操作をカスタマイズしたい、または付加的な機能を追加したいと思う経験を積んだユーザーは、マクロを書くことができます。

オンラインヘルプで利用できる、主要なリファレンスマニュアルである *マクロプログラミングガイド* には、機能例の包括的なセットと、内部データタイプと構造体の完全な説明が含まれています。

ChemStation の [ヘルプ] メニューまたは [コマンド表示] ダイアログボックスから直接アクセスできるコマンドヘルプファイルは、プログラマの機能リファレンスです。これには、構文とパラメータについての説明、および多くのコマンドの使用法を示すマクロ例が含まれています。オンラインなので、ユーザーは例とコマンド構文を、自分自身のマクロソースファイルにコピーすることができます。

ChemStation のディレクトリ構造

次の例は、ChemStation のディレクトリ構造を示しています。これは、構成されたすべての機器で共有されるディレクトリと、機器固有のディレクトリからなっています。ソフトウェアインストールプログラムは、構成された機器ごとに、ChemStation ディレクトリ (デフォルトでは CHEM32) のサブディレクトリを、機器番号を付けて作成します。このサブディレクトリには、デフォルトでこの機器のデータ、メソッド、シーケンスが保存されます。プリファレンスを使えば、データ、メソッド、シーケンス用の付加的なサブディレクトリを追加できます。その後、ChemStation エクスプローラから、新たに追加された場所へ移動して、データ、メソッド、シーケンスを読み込むことができます。新たに追加した場所は、ChemStation のメニュー項目内の各選択ボックスでも利用できます (たとえば、シーケンスパラメータのパス設定など)。

ChemStation のサブディレクトリは次の通りです。

1 Agilent ChemStation の機能

ChemStation のディレクトリ構造

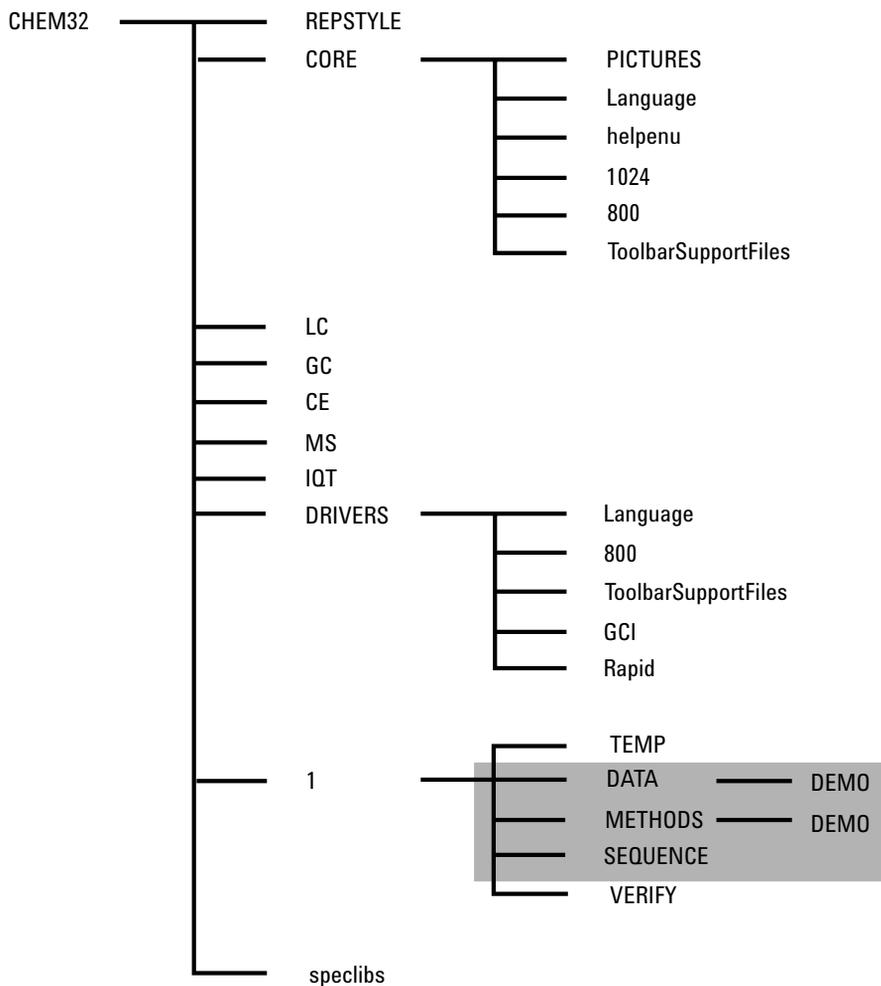


図 1 ChemStation のディレクトリ構造

表 3 ChemStation サブディレクトリ

ディレクトリ	目次
Chem32	このディレクトリは、 ChemStation ソフトウェアを設定および起動するためのプログラムから構成されています。これは、 PATH 変数の一部である必要があります。代わりを指定しない限り、プログラムをインストールすることでこのディレクトリは自動的に追加されます。
REPSTYLE	レポートテンプレートエディタを用いて定義されるレポートテンプレートに使用されます。
CORE	すべてのクロマトグラフ / エレクトロフェログラム機器構成で共有されるソフトウェアの中心コンポーネントに使用されます。これは ChemStation の作業用ディレクトリです。
PICTURES	ChemStation で必要とされるグラフから構成されます。
Language	ソフトウェアのこの部分の言語固有のコードに使用されます。
1024, 800, ToolbarSupport Files	グラフィカルユーザーインターフェース用の初期ファイルから構成されます。変更しないでください。
helpenu	該当するソフトウェア部分のヘルプファイルの英語 (米国) 版に使用されます。
BACKUP	インストール中の古いファイルのバックアップコピーに使用されます。
DRIVERS	機器ドライバーから構成されます。
1	設定された機器 (1 ~ 4) に使用されます。このサブディレクトリは、 DATA 、 METHODS 、 SEQUENCE 、 VERIFY 、 TEMP の 5 つの追加サブディレクトリから構成されます。
DATA	分析のデフォルト結果ディレクトリから構成されます。[サンプル情報] または [シーケンスパラメータ] ダイアログボックスを用いて定義することで、作業に合ったサブディレクトリを持つディスクを作成する場合、より多くのサブディレクトリを構成することもできます。結果ディレクトリは、 .D 拡張子の付いた名前で識別されます。データファイルの構造についての詳細は、「データ取り込み」 59 ページ  を参照してください。[プレファレンス] を用いて、追加データパスを追加できます。

1 Agilent ChemStation の機能

ChemStation のディレクトリ構造

表 3 ChemStation サブディレクトリ

ディレクトリ	目次
METHODS	.M 拡張子の付いたデフォルトマスターメソッドディレクトリから構成されます。目次の詳細は、「メソッドのディレクトリ構造」 51 ページ 図 を参照してください。[プレファレンス]を用いて、追加メソッドパスを追加できます。
SEQUENCE	シーケンステンプレートのデフォルトパスから構成されます。これらのディレクトリのシーケンステンプレートには、.S 拡張子が付いています。[プレファレンス]を用いて、追加シーケンスパスを追加できます（「プレファレンス - シーケンスタブ」 165 ページ 図 と「シーケンスパラメータ」 167 ページ 図 を参照してください）。
VERIFY	データファイル、メソッド、レジスタ (.REG) ファイルで共有されるデータ解析の結果から構成されます。これらのファイルにより、オンラインヘルプで説明された ChemStation ベリフィケーション作業を実行します。各ベリフィケーションテストに、一組のデータ、メソッド、レジスタファイルが使用されます。
TEMP	TEMP サブディレクトリは、一時作業用ファイルとログブックファイルから構成されます。たとえば、機器 1 の場合、オンラインログブックは INSTR1.LOG と呼ばれ、オフラインログブックは INSTR1-2.LOG と呼ばれます。
LC, GC, CE, MS	INI ファイルなどの機器ドライバ固有のコード
IQT	IQT レポート作成に必要なファイルから構成されます。
speclibs	スペクトルライブラリから構成されます。

ナビゲーションペイン

ChemStation ビューの左側にあるナビゲーションパネルは、主要な ChemStation 要素の多くへのアクセスを高速化するためや、ビューを素速く切り替えられるように設計されています。ナビゲーションパネルには、ツリーベースの ChemStation エクスプローラと、構成可能なボタンエリアがあります。これにはまた、ChemStation ワークスペースが妨げられないようにするための自動非表示機能があり、ナビゲーションボタンエリアのサイズ変更、および再配列などの標準的な機能も提供しています。

ナビゲーションボタン

特定のナビゲーションボタンをクリックすれば、ChemStation のビューを切り替えることができます。ナビゲーションボタンのセクションは最小化、拡張、再配置が行えます。

ChemStation エクスプローラ

ナビゲーションパネルの内容は、ビューに応じて変わります。[メソッド & ランコントロール]、[データ解析]および[レポートレイアウト]では、ChemStation エクスプローラを使えば他の ChemStation エlement にナビゲートできます。デフォルトでは、データ、メソッドおよびシーケンスのこれらの Element は、コンフィグレーションエディタの設定に基づいています。これらの項目の場所は拡張できます。また、メソッド、シーケンス、データの場所の新しいノードは、[表示]メニューの[プレファレンス]オプションを使用して指定できます。

表 4 ナビゲーションパネルの項目

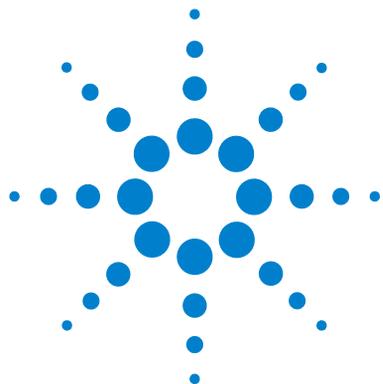
ナビゲーションボタン	ChemStation エクスプローラ要素
メソッド&ランコントロール	シーケンステンプレート/マスターメソッド
データ解析	データ/マスターメソッド
レポートレイアウト	マスターメソッド

1 Agilent ChemStation の機能

ナビゲーションペイン

表 4 ナビゲーションパネルの項目

ナビゲーションボタン	ChemStation エクスプローラ要素
ベリフィケーション (LC および LC/MS)	ベリフィケーションビュー固有のショートカット
診断 (LC および LC/MS)	診断ビュー固有のショートカット
チューン (LC/MS)	チューンビュー固有のショートカット



2

メソッド

メソッドの詳細	42
メソッドの各部分	43
メソッド情報	43
機器コントロール	43
データ解析	43
ランタイムチェックリスト	44
メソッドのステータス	46
保存されたメソッド	46
現在のメソッド	47
メソッドの作成	48
メソッドの編集	49
メソッドの編集可能な部分	49
メソッドのディレクトリ構造	51
メソッドの実行時に行われる事柄	52
メソッド操作	52
プレランコマンドまたはマクロ (ランタイムチェックリスト)	53
データ取り込み (ランタイムチェックリスト)	53
データ解析 (ランタイムチェックリスト)	54
カスタムデータ解析 (ランタイムチェックリスト)	55
GLP データ保存 (ランタイムチェックリスト)	55
ポスランコマンドまたはマクロ (ランタイムチェックリスト)	56
データファイルにメソッドのコピーを保存 (ランタイムチェックリスト)	56
メソッドの実行時に行われる事柄	52
メソッド操作のまとめ	57

本章では、メソッドのコンセプトと扱い方について説明します。



メソッドの詳細

メソッドには、取り込みやデータ解析のためのすべてのパラメータと、特定のサンプルのプレランおよびポストランタスクからなります(必要な場合)。

利用可能なメソッド(*.m)ファイルは、**ChemStation** エクスプローラに表示されます。素早く簡単にナビゲーションできるように、[**プレファレンス**] ダイアログボックスの [**パス**] タブを用いて、追加のメソッドの場所を **ChemStation** エクスプローラの選択ツリーに追加できます。

メソッドの各部分

メソッドは、40 字までの英数字によって識別されます。メソッドであることを示すために、ファイル名には必ず **.M** という拡張子が付けられます。メソッドは、メソッドのコンポーネントに関連した個々のファイルを含むディレクトリとして保存されます。

メソッドは、次の 4 つのコンポーネントから構成されます。

- メソッド情報、
- 機器コントロール、
- データ解析、および
- ランタイムチェックリストです。

メソッド情報

このセクションでは、メソッドについての説明となる情報を定義します。

機器コントロール

機器またはそのコンポーネントをコントロールするパラメータを定義します。LC 機器の場合には、移動相の組成、流率、注入量、検出器の波長などのパラメータが、ポンプ、インジェクタ、検出器をコントロールします。GC 機器の場合には、注入口の温度、注入口の圧力、パックドカラムの流量設定などが、機器をコントロールします。

データ解析

データ処理をコントロールするパラメータを定義します。

2 メソッド

メソッドの各部分

シグナル詳細

データ解析で使用するシグナルとそのプロパティを定義します。

積分イベント

クロマトグラム / エレクトロフェログラムの特定のリテンション / マイグレーションタイムで生じるタイムイベントを定義します。これらのタイムイベントは、シグナルが積分される方法を変更するために使用されます。

ピーク同定

クロマトグラム / エレクトロフェログラムでのピークの識別に関連したデータ処理パラメータを定義します。

ピーク定量

各ピークに対応するサンプル成分のアマウントまたは濃度を定める定量計算に影響する、データ処理パラメータを定義します。

キャリブレーションおよびリキャリブレーション

キャリブレーションとそれが行われる頻度に影響するデータ処理パラメータを定義します。

カスタムフィールド

メソッドに使用できるカスタムフィールドに関連するサンプルまたは化合物のプロパティを定義します。カスタムフィールドにより、サンプル中のサンプルまたは化合物にカスタム情報を追加できます。

レポート

分析後に印刷されるレポートの形式を定義します。

ランタイムチェックリスト

メソッドの実行時に、メソッドのどの部分が実行されるかを定義します。

ランタイムチェックリストは、次の目的で使用できます。

- データを取り込み、保存、処理して、レポートを生成する、
- メソッドの一部だけを実行する、
- データを取り込み、保存して、解析は行わない、
- 既存のデータファイルを再解析する、
- データ解析、プレランおよびポストラン処理のために自分自身のマクロを使用する、
- 解析の結果を、GLP の目的でレジスタに保存する。

メソッドのステータス

メソッドは、保存されたメソッドまたは現在読み込まれているメソッドの2つの状態で存在する可能性があります。

保存されたメソッド

コンピュータのディスクに保存されたメソッドがあります。保存されたメソッドは、40字までの英数字に.Mという拡張子が続く名前を持ちます。

ChemStationでは、メソッドは以下の最大3箇所に保存されます。

- マスターメソッドは **methods** のサブディレクトリに保存され、ChemStation エクスプローラのメソッドのノードで使用できますが、データコンテナとは直接関連はありません。
- シーケンスを実行する場合 (オプション「**ユニークなフォルダ作成オン**」を用いて) (「**プレファレンス - シーケンスタブ**」[165 ページ](#)  を参照)、シーケンスで使用されるすべてのマスターメソッドのコピーを、シーケンスデータファイルとともにシーケンスデータコンテナに保存します。これらのメソッドは直接シーケンスにリンクされ、シーケンスが再解析される場合にも使用されます。これらのメソッドへの変更は、マスターメソッドには影響しません。変更は、シーケンスが再解析される間にシーケンスコンテナメソッドの他、個々のメソッド (DA.M) にも反映されます。データを取り込むために更新されたシーケンスコンテナメソッドを使用する場合、次のいずれかを行う必要があります。
 - このメソッドを、シーケンスデータコンテナから、定義済みのメソッドパスのいずれかにコピーする、または
 - [名前を付けて保存] オプションを用いて、更新されたメソッドをマスターメソッドとして保存します。アップデータされた新しいメソッドは、マスターメソッドとしてメソッドビューの ChemStation エクスプローラで使用できるようになります。
- さらに、サンプルを実行するために使用されたメソッドの2つのコピーは、データファイル (データファイル個別メソッド ACQ.M および DA.M) と一緒に保存されます。ACQ.M は取り込みメソッドで、DA.M はデータ解析メソッドです。DA.M は、[プレファレンス] ダイアログボックスの [シグナルオプション] タブにある「データファイルから DA メソッドを読み込む」

チェックボックスがオンになっている場合は、データファイルとともに読み込まれるメソッドです。このメソッドへの変更(たとえば、タイム積分イベント)は、関連するデータファイルに固有なもので、シーケンスメソッドやマスターメソッドには影響しません。

ナビゲーションテーブルでは、メソッドの行項目を右クリックすることで、個々や一連のメソッドを対応するシーケンスまたはマスターメソッドに更新することができます。[マスターメソッドの更新]/[シーケンスの更新]を実行すると、選択したメソッドのデータ解析パラメータは対応するマスター/シーケンスメソッドに上書きコピーされます。ターゲットメソッドのメソッド履歴はこの自動更新を反映します。

表 5 更新の有効性 ...[メソッドメニュー]の[ナビゲーションテーブル]のメソッド機能

読み込んだメソッド	使用可能な更新オプション
個々のデータ解析メソッド (D.A.M)	マスターメソッドの更新 シーケンスメソッドの更新
シーケンスメソッド	マスターメソッドの更新
マスターメソッド	---

現在のメソッド

保存されたメソッドをディスクから呼び出すと、それは現在のメソッドになります。メモリには常に現在のメソッドがあります。ChemStation を最初に起動したときには、Agilent Technologies によって提供されたデフォルトのメソッドが、スタートアッププロセスの一部として読み込まれます。たとえば、これは次のいずれかになります。

- LC 機器には DEF_LC.M
- GC 機器の場合には DEF_GC.M
- CE 機器には DEF_CE.M

デフォルトのメソッドのコピーがメモリに置かれて、現在のメソッドになります。この時点で、別のメソッドを読み込むことができます。それが現在のメソッドになります。

メソッドの作成

新しいメソッドを作成するには、現在のメソッドを修正して、新しいメソッド名で保存します。現在のメソッドを変更しても、変更を保存しない限り、ディスク上のバージョンは変化しないことに注意してください。

メソッドの作成方法についてはいくつかの選択肢があります。メソッドを作成して、分析の一部またはすべてを実行できます。たとえば、メソッドを作成して、データ取り込みのみを実行できます。データの分析とライブラリサーチレポートの作成の準備ができている場合は、メソッドを修正して、データ処理タスクを実行できます。

ノート

サンプルを分析するメソッドを読み込む場合には、必ず **ChemStation** エクスプローラのメソッドノードから、マスターメソッドをロードしてください。(シーケンスデータコンテナの)シーケンスメソッドや、データファイルと関連付けられた個々のメソッド (**ACQ.M** または **DA.M**) は使用しないでください。

ノート

デフォルトのメソッド (**DEF_LC.M**、**DEF_CE.M** または **DEF_GC.M**) は削除しないでください。これらのメソッドは、メソッドを新規作成するためのテンプレートとして使用されます。

メソッドの編集

既存のメソッドは、[メソッド]メニューの[メソッド全体の編集]項目を使用して編集できます。すべてのメソッドダイアログボックスを設定するようにガイドされ、最後にメソッドを保存できます。このプロセスは次のとおりです。

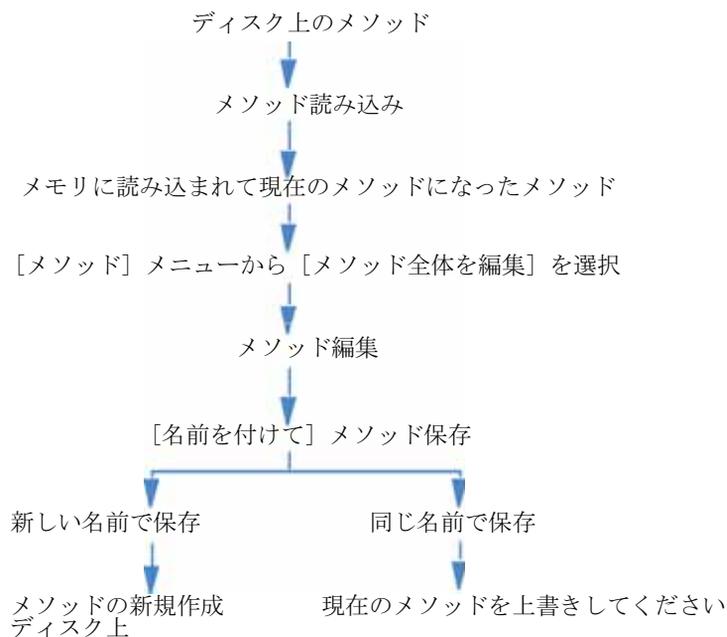


図 2 メソッドの編集

メソッドの編集可能な部分

各メソッドは、個別に編集できる 4 つのコンポーネントからなっています。

以下のサブセクションの一部は特定のダイアログボックスに言及しており、他のものは一般的な説明です。

- **メソッド情報**は次のものから構成されています。:
 - メソッドについてのテキストによる説明。

2 メソッド

メソッドの編集

- **機器**コントロールはコンフィグレーションに依存しており、たとえば次のものから構成されています。:
 - オープンパラメータ、
 - インジェクタパラメータ、および
 - 検出器パラメータです。
- **データ解析**は次のものから構成されています。
 - シグナル詳細、
 - 積分パラメータ、
 - 定量パラメータ、
 - キャリブレーションパラメータ、
 - カスタムフィールドセットアップパラメータ、
 - レポートパラメータです。
- **ランタイムチェックリスト**は次のものから構成されています。:
 - メソッドのうち、実行される部分。

ノート

メソッドは、**ChemStation** の 3 つの場所に保存されている可能性があることに注意してください。正しいメソッドを編集するようにしてください。

メソッドのディレクトリ構造

メソッドは、メソッドディレクトリに保存されたファイルのグループからなっています。

メソッドサブディレクトリは、**.M** という拡張子を持つメソッドサブディレクトリすべてからなっています。追加のメソッドサブディレクトリは、プレファレンス設定を用いて追加できます。

.MTH という拡張子を持つメソッドファイルは、パラメータセットを含んでおり、**UNICODE** 形式です。ファイル **INFO.MTH** は、メソッドコントロールパラメータからなっています。

機器パラメータを含むメソッドファイルには、関連する分析モジュールの名前が付いています。たとえば、次のようになっています。

表 6 メソッドファイルの例

LC1090.MTH	1090 の取り込みメソッドからなる。
GC5890.MTH	5890 の取り込みメソッドからなる。
HPCE1.MTH	キャピラリ電気泳動用の取り込みメソッドからなる。
DAD1.MTH	HP 1090 用の取り込みメソッドからなる。
FLD1.MTH	HP1046 蛍光検出器用の取り込みメソッドからなる。
ECD1.MTH	HP 1049 電気化学検出器用の取り込みメソッドからなる。
ADC1.MTH	Agilent 35900 の取り込みメソッドからなる。同一の機器が 2 台構成されている場合には、メソッドファイルは ADC1.MTH、ADC2.MTH となる。
DAMETHOD.REG	データ解析用。
LALS1.REG	Agilent 1100/1200 シリーズオートサンプラのパラメータからなる。他の Agilent 1100/1200 シリーズモジュール用のメソッドファイルは、lxxx1.reg という命名規則に従う。ここで xxx はモジュールの略号。

2 メソッド

メソッドの実行時に行われる事柄

メソッドの実行時に行われる事柄

[ランタイムチェックリスト]ダイアログボックスでは、分析の開始時にメソッドのどの部分が実行されるかを指定します。

ランタイムチェックリストには、次のような、8つの部分があります。

- プレランコマンドまたはマクロ、
- データ取り込み、
- 標準データ解析、
- セカンドシグナルの分析メソッド (GC のみ)、
- カスタムデータ解析、
- GLP データ保存、
- ポストランコマンドまたはマクロ、および
- データファイルと一緒にメソッドのコピーを保存することです (RUN.M)。

メソッドを実行すると、[ランタイムチェックリスト]ダイアログボックスで定義されたメソッドの、指定された部分が実行されます。

メソッド操作

この図は、メソッド操作中の ChemStation のステータスの概要を示しています。ここでは、ランタイムチェックリストのすべての部分を選択しています。

ノート

「ユニークなフォルダ作成オフ」モードの場合、ACQ.M と DA.M は作成されな
いことに注意してください。詳細は、「プレファレンス - シーケンスタブ」[165](#)
[ページ](#) [図](#)を参照してください。

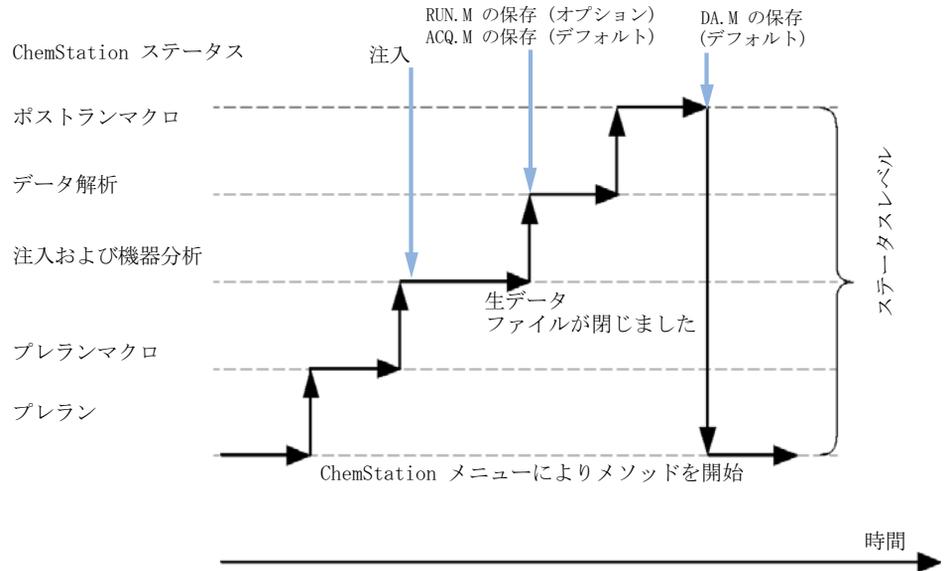


図 3 メソッド操作

プレランコマンドまたはマクロ (ランタイムチェックリスト)

プレランコマンドまたはマクロを指定した場合には、それは分析が始まる前に実行されます。この部分は通常、他のソフトウェアパッケージと組み合わせる、システムカスタマイズのために使用されます。

データ取り込み (ランタイムチェックリスト)

- すべてのパラメータは、現在のメソッドで指定された初期状態に設定されます。
- 指定された場合には、注入プログラムが実行され、注入は現在定義されているバイアルから行われます。
- モニタ表示には、クロマトグラム/エレクトロフェログラムの情報、および利用できる場合にはスペクトルデータを含む、分析の進行状況が表示されます。
- データは取り込まれて、データファイルに保存されます。

2 メソッド

メソッドの実行時に行われる事柄

- データの取り込みが完了すると、現在実行されているメソッドのコピーがデータファイルの **ACQ.M** としてデフォルトで保存されます。

データ解析 (ランタイムチェックリスト)

停止時間が経過すると、分析は完了して、すべての生データはコンピュータのハードディスクに保存されます。すべての生データが保存されると、ソフトウェアのデータ解析の部分が開始します。

積分

- シグナルのクロマトグラム/エレクトロフェログラム オブジェクトは、[積分イベント]ダイアログボックスで指定された仕方で積分されます。
- ピークの開始、ピーク頂点、リテンション/マイグレーションタイムおよびピークの終了が決定されます。
- 各ピークの下のベースラインが定義され、最終的なピーク高さと同面積が決定されます。
- 積分の結果は、積分結果リストとして作成されます。

ピーク同定と定量

- リテンション/マイグレーションタイムと、オプションのピークオリファイアを使い、それらをキャリブレーションテーブルで定義された既知の化合物と参照することによって、ソフトウェアはピークを同定します。
- ピーク高さと同面積を使い、キャリブレーションテーブルで指定されたキャリブレーションパラメータを使用して、ソフトウェアは検出された各化合物のアmountを計算します。

スペクトルライブラリサーチ (ChemStations for LC 3D、CE、CE/MS および LC/MS システムのみ)

利用可能な UV 可視スペクトルを持つすべてのピークの場合、UV 可視スペクトルに基づいてサンプル内の化合物を同定するために、定義済みのスペクトルライブラリの自動検索を行うことができます。詳細は、「スペクトルモジュールの概要」を参照してください。

ピーク純度のチェック (ChemStations for LC 3D、CE、CE/MS および LC/MS システムのみ)

UV 可視スペクトルを持つピークの場合、そのピークの純度ファクタを計算して、レジスタに保存することができます。自動ライブラリサーチを指定したとき、または適切なレポートスタイルを選択したときに、[純度チェック] ボックスをチェックした場合には、メソッドの一部として、各分析の最後にピーク純度を自動的に決定することができます。詳細は、「スペクトルモジュールの概要」を参照してください。

レポートの印刷

分析で検出された化合物の同定結果とアmountを示すレポートが生成されます。

カスタムデータ解析 (ランタイムチェックリスト)

解析データを評価するために、自分独自のカスタマイズしたマクロを実行することができます。

GLP データ保存 (ランタイムチェックリスト)

バイナリレジスタ **GLP セーブ Reg** を、デフォルトのデータファイルサブディレクトリに、データ解析メソッドとともに保存します。この機能は、データのオリジナリティおよび個々の分析の質が保証するために設けられました。

GLP セーブ Reg バイナリファイルは、編集不可の、チェックサムで保護されたレジスタファイルとして、次のような情報を含んでいます。

- 主要な機器の設定値 (グラフィカルにレビュー可能)、
- クロマトグラフまたは電気泳動のシグナル、
- 積分結果、
- 定量結果、
- データ解析メソッド、および
- ログブックです。

2 メソッド

メソッドの実行時に行われる事柄

これらのデータは、ランタイムチェックリストのチェックボックスで [GLP データ保存] 機能を有効にした場合にのみ、保存されます。ChemStation のデータ解析メニューでは、GLP データのレビューは行えます。編集は行えません。

ポストランコマンドまたはマクロ (ランタイムチェックリスト)

ポストランコマンドまたはマクロを指定した場合には、データの解析後に実行されます。たとえば、データをバックアップのためにディスクにコピーするなどです。

データファイルにメソッドのコピーを保存 (ランタイムチェックリスト)

これは、ランタイムチェックリストでデータ取り込みが有効になっている場合に限り、データ取り込み後に行われます。これは、現在のメソッドをデータディレクトリに、RUN.M という名前でコピーします。

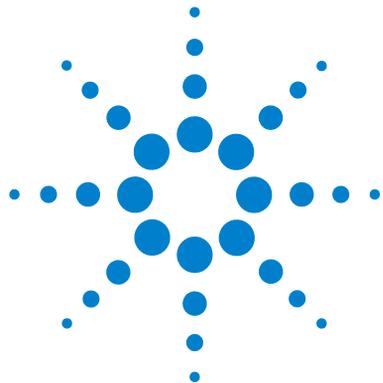
メソッド操作のまとめ

次のリストは、ランタイムチェックリストのすべての部分を選択した場合の、メソッド操作の流れを示しています。

- 1 プレランコマンドマクロ
分析を開始する前のタスクを実行します。
- 2 データ取り込み
インジェクタプログラムを実行します。
サンプルを注入します。
生データを取り込みます。
データを保存します。
- 3 データファイルと一緒にメソッドのコピーを保存(RUN.M) - ランタイム
チェックリストのオプションで
- 4 データと一緒にメソッドのコピーを保存(ACQ.M) - ChemStation デフォルト
- 5 データ解析(データ処理)
データファイルを読み込みます。
データファイルを積分します。
ピークを同定し、定量します。
利用可能であれば、スペクトルライブラリを検索します。
利用可能であれば、ピーク純度をチェックします。
レポートを印刷します。
- 6 カスタムデータ解析
ユーザーのマクロを実行します。
- 7 GLP データ保存
バイナリレジスタ GLP セーブ Reg を保存します。
- 8 ポストランコマンドマクロ
分析完了後のタスクを実行します。たとえば、カスタマイズされたレポート
を生成します。
- 9 データと一緒にメソッドのコピーを保存(DA.M) - ChemStation デフォルト

2 メソッド

メソッド操作のまとめ



3

データ取り込み

データ取り込みとは	60
データファイル	61
オンラインモニタ	63
オンラインシグナルモニタ	63
オンラインスペクトルモニタ	63
ログブック	64
ステータス情報	65
ChemStation ステータス	65
ステータスバー	65
システムダイアグラム	66

本章では、データ取り込み、データファイル、ログブックなどのコンセプトについて説明します。



3 データ取り込み

データ取り込みとは

データ取り込みとは

データ取り込み中、分析機器によって取り込まれたすべてのシグナルは、検出器内でアナログシグナルからデジタルシグナルに変換されます。デジタルシグナルは **ChemStation** に電子的に転送され、シグナルデータファイルに保存されます。

利用可能なデータ (*.d) ファイルは、**ChemStation** エクスプローラに表示されます。素早く簡単にナビゲーションできるように、[プレファレンス] ダイアログボックスの [パス] タブを用いて、追加のデータファイルの場所を **ChemStation** エクスプローラの選択ツリーに追加できます。

データファイル

データファイル是一群のファイルからなっており、デフォルトでは、データファイル名と .D 拡張子を持つサブディレクトリである、データディレクトリに保存されます。データファイル名は、拡張子を含めて 40 文字までで、マニュアルで定義できます。ディレクトリ内の各ファイルは命名規則に従います。追加のデータディレクトリは、[プレファレンス] 設定を用いて追加できます。

表 7 データファイル

名前	説明
*.CH	クロマトグラフ / 電気泳動シグナルデータファイルです。ファイル名は、モジュールまたは検出器のタイプ、モジュール番号およびシグナルまたはチャンネルの識別子から構成されます。たとえば、ADC1A.CH の場合、ADC はモジュールタイプ、1 はモジュール番号、A はシグナル識別子、.CH はクロマトグラフを表す拡張子です。
*.UV	UV スペクトルデータファイルです。ファイル名は、検出器タイプとデバイス番号から構成されます (ダイオードアレイおよび蛍光検出器の場合のみ)。
REPORT.TXT、 REPORT.PDF	等価なシグナルデータファイルのレポートデータファイルです。
SAMPLE.MAC	サンプル情報マクロです。
SAMPLE.MAC.BAC	オリジナルのサンプル情報マクロのバックアップ。再解析中に、オリジナルのサンプルパラメータ (乗数のような) が更新されると、このファイルが作成されます。
RUN.LOG	分析中に生成されたログブックエントリです。ログブックは、分析の記録を保持します。すべてのエラーメッセージと、ChemStation の重要なステータス変更は、ログブックに記録されます。
LCDIAG.REG	LC の場合のみです。機器カーブ (グラジェント、温度、圧力など)、注入量、および溶媒の説明が含まれます。
ACQRES.REG	カラム情報を含みます。GC の場合には、注入量も含みます。

3 データ取り込み データファイル

表 7 データファイル

名前	説明
GLP セーブ REG	[GLP データ保存] を指定した場合、データファイルの一部になります。
M_INTEV.REG	マニュアル積分イベントを含みます。

メソッドは、結果ファイル (**run.m**) に保存することができます。この場合、メソッドディレクトリは、ランタイムチェックリストの [データファイルにメソッドを保存] を使用して、データファイルディレクトリのサブディレクトリとして保存されます。

ChemStation リビジョン B.02.01 以降で取り込まれたデータの場合、各データフォルダ (*D) には以下の 2 つのメソッドフォルダが含まれます。

- 個別のデータファイルごとの取り込みメソッド (**ACQ.M**)
- 個別のデータファイルごとのデータ解析メソッド (**DA.M**)

個別の取り込みメソッド **ACQ.M** は取り込みパラメータを保存するためのものなので、将来のデータレビューの際もこのメソッドは変更しないことを推奨します。**DA.M** は、特定のデータファイル用の個別のデータ解析メソッドです。たとえば、キャリブレーションテーブルの更新の場合、**DA.M** メソッドは、実行ごとに異なります。**ChemStation B.03.01** 以降では、「ユニークなフォルダ作成」を無効にすることで、この動作をオフに切り換えることができます。

オンラインモニタ

2種類のオンラインモニタ、オンラインシグナルモニタとオンラインスペクトルモニタがあります。

オンラインシグナルモニタ

オンラインシグナルモニタを使えば、複数のシグナルを、そして関連機器がサポートしている場合には機器パフォーマンスプロットを、同じウィンドウでモニタできます。表示するシグナルを選択し、時間と吸光度軸を調整できます。この機能をサポートしている検出器の場合には、バランスボタンが使用できません。

ディスプレイ内で十字線のカーソルを移動すれば、メッセージ行に絶対シグナルレスポンスを表示できます。

オンラインスペクトルモニタ

オンラインスペクトルモニタは、スペクトル解析をサポートしている **ChemStation** のみ使用できます。これは、吸光度を波長の関数として表示します。表示された波長範囲と吸光度のスケールは、両方とも調整できます。

3 データ取り込み ログブック

ログブック

ログブックには、分析システムによって作成されたメッセージが表示されます。これらのメッセージは、モジュールからのエラーメッセージ、システムメッセージまたはイベントメッセージになります。ログブックは、これらのメッセージを、表示されるかどうかにはかかわりなく記録します。ログブックのイベントに関する詳しい情報を入手するには、適切な行をダブルクリックして、説明となるヘルプテキストを表示します。

ステータス情報

ChemStation ステータス

[ChemStation ステータス] ウィンドウには、ChemStation ソフトウェアの全体的なステータスが表示されます。

シングル分析の実行中には、次のようになります。

- [ChemStation ステータス] ウィンドウの最初の行には、実行中の分析が表示されます。
- ステータスウィンドウの 2 行目には、現在のメソッドのステータスが表示されます。
- 生データファイル名は、分単位の実分析時間と一緒に 3 行目表示されます (GC 機器の場合、フロントおよびバックインジェクタのファイルも表示されます)。

[機器ステータス] ウィンドウには、機器モジュールと検出器についてのステータス情報が表示されます。これらは、個別のコンポーネントのステータスと、適切な場合には、圧力、グラジェント、流量データなど、現在の状態が表示されます。

ステータスバー

ChemStation のグラフィカルユーザーインターフェースは、ChemStation の [メソッド&ランコントロール] ビューのツールバーとステータスバーから構成されています。ステータスバーは、システムステータスフィールドと、現在読み込まれているメソッドおよびシーケンスに関する情報からなっています。読み込み後に修正された場合には、黄色の歯車でマークされます。LC 用の Agilent 1100/1200 シリーズのモジュールの場合には、黄色い EMF 記号により、消耗品 (ランプなど) に対して設定された使用期限が切れたことをユーザーに知らせます。

システムダイアグラム

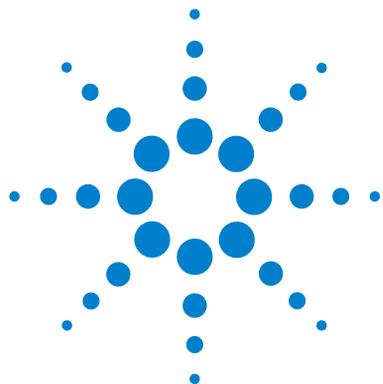
構成された分析機器でサポートされている場合には (LC 用の Agilent 1100/1200 シリーズモジュールまたは Agilent 6890 シリーズ GC など)、ChemStation システムのグラフィカルなシステムダイアグラムを表示できます。これにより、システムのステータスを一目でチェックできます。ダイアグラムを有効にするには、[メソッド&ランコントロール]ビューの[表示]メニューから[システムダイアグラム]を選択します。これは、ChemStation システムをグラフィカルに表現したものです。各コンポーネントはアイコンによって表されます。下に示すカラーコーディングによって、現在のステータスが表示されます。

表 8 システムダイアグラムのカラーコーディング

カラー	ステータス
灰色	非アクティブまたはオフ
黄色	ノットレディー
緑色	レディー
青色	分析
赤色	エラー

加えて、実際のパラメータ設定のリストを表示することができます。ステータスの概要のほかに、ダイアグラムでは、システムコンポーネントごとのパラメータ設定のためのダイアログボックスに素早くアクセスできます。

システムダイアグラムの詳細は、オンラインヘルプシステムの装置の部分を参照してください。



4 積分

- 積分とは 69
- インテグレータの働き 70
- ChemStation のインテグレータアルゴリズム 71
 - インテグレータの機能 71
- 概要 73
 - 初期ベースラインの定義 74
 - ベースラインの追跡 74
 - ベースラインの割り当て 75
 - ピークの主要なポイントの識別 76
- 用語の定義 77
 - 主要なポイント 77
 - 溶媒ピーク 77
 - ショルダー(フロント、リア) 78
 - スロープ 78
- 操作の原則 79
- ピーク認識 80
 - ピーク幅 80
 - ピーク認識フィルタ 81
 - バンチ化 82
 - ピーク認識アルゴリズム 83
 - 非ガウス型の計算 86
- ベースライン割り当て 89
 - デフォルトのベースラインの設定 89
 - ベースラインの開始 90
 - チェックマーク 90
 - ベースラインの終了 90
 - ベースラインの落ち込み 91



4 積分

ステータス情報

ピーク / 谷比	92
タンジェントスキム	94
割り当てられないピーク	99
ピーク分離コード	99
ピーク面積の測定	101
面積の決定	101
単位と変換ファクター	103
積分イベント	104
初期イベント	104
タイムイベント	107
自動積分	107
マニュアル積分	109

本章では、**ChemStation** のインテグレートアルゴリズムの積分のコンセプトについて説明します。積分アルゴリズム、積分、およびマニュアル積分について説明します。

積分とは

積分は、シグナルのピークを同定し、そのサイズを計算するための操作です。

積分は、次のもののために必要なステップです。

- 定量、
- ピーク純度の計算 (ChemStations for LC 3D、CE、CE/MS および LC/MS システムのみ)、および
- スペクトルライブラリサーチ (ChemStations for LC 3D、CE、CE/MS および LC/MS システムのみ) です。

4 積分

インテグレータの働き

インテグレータの働き

シグナルを積分するとき、ソフトウェアは次のことを行います。

- 各ピークの開始および終了時間を識別し、これらのポイントを垂直のチェックマークでマークします。
- 各ピークの頂点を見つけます。これは、リテンション/マイグレーションタイムです。
- ベースラインを確定します。そして
- ピークごとの面積、高さ、ピーク幅を計算します。

このプロセスは、積分イベントと呼ばれるパラメータによってコントロールされます。

ChemStation のインテグレータアルゴリズム

ChemStation のインテグレータアルゴリズムは、耐久性、信頼性および使いやすさに焦点を当てた、新しい世代の 2 番目のバージョンです。

インテグレータの機能

インテグレータアルゴリズムには、以下のような主要な機能が含まれています。

- インテグレータの初期パラメータを設定する、自動積分機能、
- 複数のシグナルまたは複数の検出器を使用している場合に、クロマトグラム / エレクトロフェログラムシグナルごとに個別の積分イベントテーブルを定義する機能、
- ユーザーがイベント時間をグラフィカルに選択できる、積分イベントの対話的な定義、
- 人間による解釈を必要とするクロマトグラム / エレクトロフェログラムのグラフィカルなマニュアルまたはラバーバンド積分 (これらのイベントはメソッドで記録して、自動化された操作の一部として使用することもできます)、
- 積分結果の表示と印刷、および
- クロマトグラム / エレクトロフェログラムごとに少なくとも 1000 ピークの積分を行う能力。
- 基本的なインテグレータ設定を設定または修正するためのインテグレータパラメータの定義。以下の設定が含まれます。面積リジェクト、高さリジェクト、ピーク幅およびスロープの感度、
- ベースラインの強制、ベースラインのホールド、すべての谷でのベースライン、次の谷でのベースライン、現在のピークの終わりから逆方向にベースラインをフィットなどの、ベースラインコントロールパラメータ、
- 面積和のコントロール、
- ネガティブピークの認識、
- 溶媒ピーク定義コマンドを含む、タンジェントスキム処理、および

4 積分

ChemStation のインテグレータアルゴリズム

- すべてのクロマトグラム / エレクトロフェログラムに対して、個別のフロント / テイルタンジェントスキム計算のイベントテーブルを定義する機能、
- ベースライン補正パラメータの機能 (シグナルに関連しないもの)、
- インテグレータ操作に対してリテンション / マイグレーションタイムの範囲を定義するインテグレータコントロールコマンド。
- 2 次の微分係数または曲率計算の度数を用いたピークショルダー割り当て、
- DAD スペクトルから再構成された DAD LC データファイルでより良い性能を得るための、不等間隔のデータポイントでのサンプリングの改善。

概要

インテグレータでクロマトグラム/エレクトロフェログラムを積分するには、次のことを行います。

- 1 初期ベースラインを定義します。
- 2 ベースラインの追跡を継続し、ベースラインを更新します。
- 3 ピークの開始時間を識別し、このポイントを垂直のチェックマークでマークします。
- 4 各ピークの頂点を見つけて、リテンション/マイグレーションタイムを印刷します。
- 5 ピークの終了時間を識別し、このポイントを垂直のチェックマークでマークします。
- 6 ベースラインを確定します。そして
- 7 ピークごとの面積、高さ、ピーク幅を計算します。

このプロセスは、積分イベントによってコントロールされます。最も重要なイベントは初期スロープ感度、ピーク幅、面積リジェクトおよび高さリジェクトです。ソフトウェアでは、これらおよび他のイベントの初期値を設定することができます。初期値は、クロマトグラムの始点で有効になります。加えて、自動積分機能は初期イベントのセットを提供するので、それをさらに最適化することができます。

ほとんどの場合、初期イベントはクロマトグラム全体に対して良好な積分結果を与えますが、積分の進行とともにより詳細なコントロールを行いたい場合があります。

ソフトウェアでは、クロマトグラムの適切な時点での新しい積分イベントをプログラムできるようにすることによって、積分の実行方法をコントロールできるようになっています。

詳細は、「初期イベント」104 ページ  を参照してください。

初期ベースラインの定義

ベースラインの条件は、アプリケーションや検出器のハードウェアに応じて変わるので、インテグレータは、メソッドとデータファイルの両方からのパラメータを使用して、ベースラインを最適化します。

インテグレータがピークを積分するには、まずベースラインポイントを決定する必要があります。分析の初めに、最初のデータポイントを仮のベースラインポイントとすることによって、初期ベースラインレベルを決めます。それから、入力信号の平均に基づいて、この初期ベースラインポイントの再定義を試みます。インテグレータは、再定義された初期ベースラインポイントを取得できない場合には、最初のデータポイントを、初期ベースラインポイントの可能性のあるものとして保持します。

ベースラインの追跡

インテグレータは、分析が進むとともに、初期ピーク幅または計算されたピーク幅で決められた割合で、デジタルデータをサンプリングします。これは、各データポイントをベースラインポイントの可能性のあるものと見なします。

インテグレータは、ベースラインのスロープを基に、ベースライン追跡アルゴリズムを使って、一次微分係数でスロープを、二次微分係数で曲率を決めることにより、ベースラインエンベロープを決定します。ベースラインエンベロープはコーン状のものとして表現できます。その頂点が現在のデータポイントになります。コーンの受け入れ可能な上限および下限レベルは、次のようになります。

- $+ \text{アップスロープ} + \text{曲率} + \text{ベースラインバイアス}$ は、スレッシュホールドレベルより小さい必要があります。
- $- \text{アップスロープ} - \text{曲率} + \text{ベースラインバイアス}$ は、スレッシュホールドレベルより大きい(これらが負の場合には絶対値が小さい)必要があります。

新しいデータポイントが受け入れられると、コーンは前方に移動し、これがブレイクアウトまで続きます。

ベースラインポイントとして受け入れられるためには、データポイントは次の条件を満たす必要があります。

- 定義済みのベースラインエンベロープ内にあること、
- データポイントでのベースラインの曲率(微分係数フィルタで決まる)が、現在のスロープ感度設定で決まる限界値より小さいこと。

こうして、分析の開始時に決められた初期ベースラインポイントは、ピーク幅で決められた期間の間、ピーク幅で決められた割合で、ベースラインエンベロープ内に入ったデータポイントの移動平均値に連続的にリセットされます。インテグレータはベースラインを追跡し、ドリフトを補正するために定期的リセットします。これは、ピークのアップスロープが見つかるまで続きます。

ベースラインの割り当て

インテグレータは、分析中に、ピーク幅の値で決められた頻度で、クロマトグラフ / 電気泳動ベースラインを割り当てます。インテグレータは、特定の数のデータポイントをサンプルすると、ベースラインを、初期ベースラインポイントから現在のベースラインポイントにリセットします。インテグレータは、次のデータポイントのセットの間、再びベースラインの追跡を行い、それからまたベースラインをリセットします。このプロセスは、インテグレータがピークの開始を認識するまで続きます。

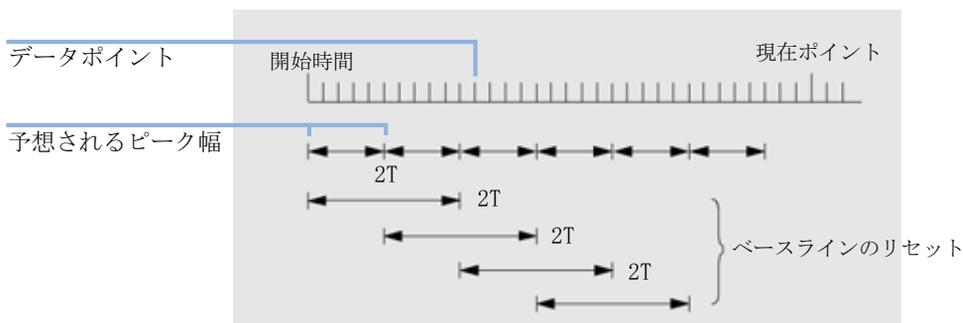


図 4 ベースライン

分析の開始時には、このベースライン設定が最初のベースラインとして使用されます。これが設定されていない場合は、最初のデータポイントが使用されます。その後、ベースラインポイントは、次の公式に従って定期的リセットされます。

面積は、時間 T (ピーク幅の期待値) にわたって加算されます。この時間は、決して 1 データポイントより短くはなりません。これは、ベースライン条件が満たされるまで続きます。スロープと曲率も計算します。スロープと曲率の両方がスレッシュホールドよりも小さい場合には、加算した 2 つの面積の和を取り、それから前のベースラインと比較します。新しい値が前のベースラインよりも小さい場合には、直ちに古い値を新しい値で置き換えます。新しい値が前の値より大きい場合には、それは仮の新しいベースライン値として保存され、さら

に 1 つの値がスロープと曲率の平坦さの基準を満たしたときに確認されます。後者の制限は、ネガティブピークが許されている場合には無効です。ベースライン中には、溶媒の速い上昇を調べるチェックも行う必要があります。これらは、アップスロープを検出するには速すぎる場合があります。(アップスロープが確認されると、溶媒の基準は有効ではなくなります。)最初の段階では、最初のデータポイントを通るのがベースラインです。これは、シグナルがベース上にある場合には、 $2T$ の平均値で置き換えられます。その後、ベースラインは T ごとにリセットされます (75 ページ 図 4 を参照してください)。

ピークの主要なポイントの識別

インテグレータは、ベースラインの可能性のあるポイントがベースラインエンベロープの外に来て、ベースラインの曲率が、インテグレータのスロープ感度パラメータで決められた特定の値を超えた場合には、ピークが開始したと判断します。この条件が継続すれば、インテグレータはそれがピークのアップスロープであり、ピークが処理されていると認識します。

開始

- 1 スロープと曲率が制限範囲内の場合：ベースラインの追跡を継続します。
- 2 スロープと曲率が制限範囲を超えた場合：ピークの可能性があります。
- 3 スロープが制限範囲を超え続けている場合：ピークが認識され、主要なポイントが定義されます。
- 4 曲率が負になった場合：フロント側の変曲点です。

頂点

- 1 スロープが 0 を過ぎて負になった場合：ピークの頂点、主要なポイントが定義されます。
- 2 曲率が正になった場合：リア側の変曲点です。

終了

- 1 スロープと曲率が制限範囲内の場合：ピークの終わりが近づいています。
- 2 スロープと曲率が制限範囲内にとどまった場合：ピークの終了、主要なポイントが定義されます。
- 3 インテグレータはベースライン追跡モードに戻ります。

用語の定義

主要なポイント

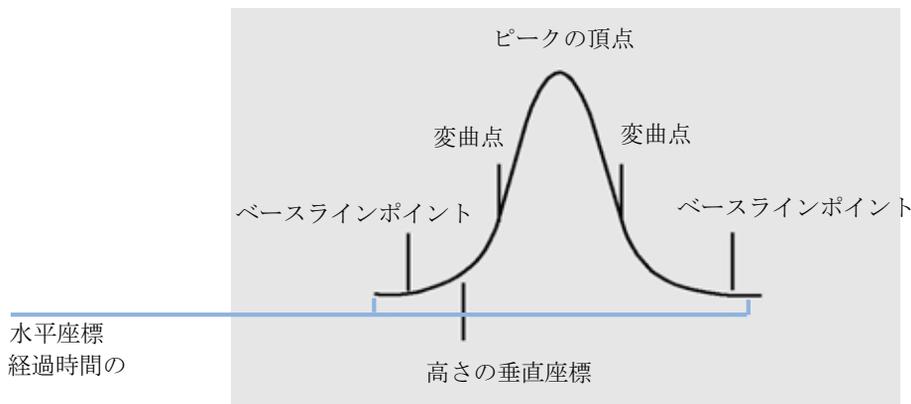


図 5 主要なポイント

主要なポイントとは、インテグレータにより、ピークの定義と定量のために選択されたポイントのことです。ベースラインポイント、谷ポイント、ピーク頂点、および変曲点が、主要なポイントとして指定され、保存されます。それぞれの主要なポイントは、経過時間の水平座標、ベースラインからの高さの垂直座標、およびピークタイプ、分離コード、ピークの可能性のあるものの開始/終了値、および対応する高さ、面積、およびスロープの読取値など、他のパラメータを持ちます。インテグレータは、これらの値を使用してピーク面積を計算します。

溶媒ピーク

溶媒ピークは一般的に分析にとって重要ではない非常に大きなピークで、通常積分されません。しかし、分析対象溶出のピークが小さい場合、たとえば溶媒ピークに近接した、溶媒ピークテーリングにのっている場合、それらの面積を計算するために特別な積分条件を設定できます。

4 積分

用語の定義

ショルダー (フロント、リア)

ショルダーは、2つのピークが非常に近くに溶出するためにピーク間に谷間がなく、ピークが解決されない場合に発生します。ショルダーは、ピークのリーディングエッジ (前面) またはトレーリングエッジ (背面) に発生することもあります。ショルダが検出されると、それらをタンジェントスキムまたはドロップラインのどちらかで積分できます。

スロープ

ピークスロープは、時間に対する成分の濃度の変化を意味し、ピークの開始点、ピーク頂点、およびピークの終了点の決定に使用されます。

操作の原則

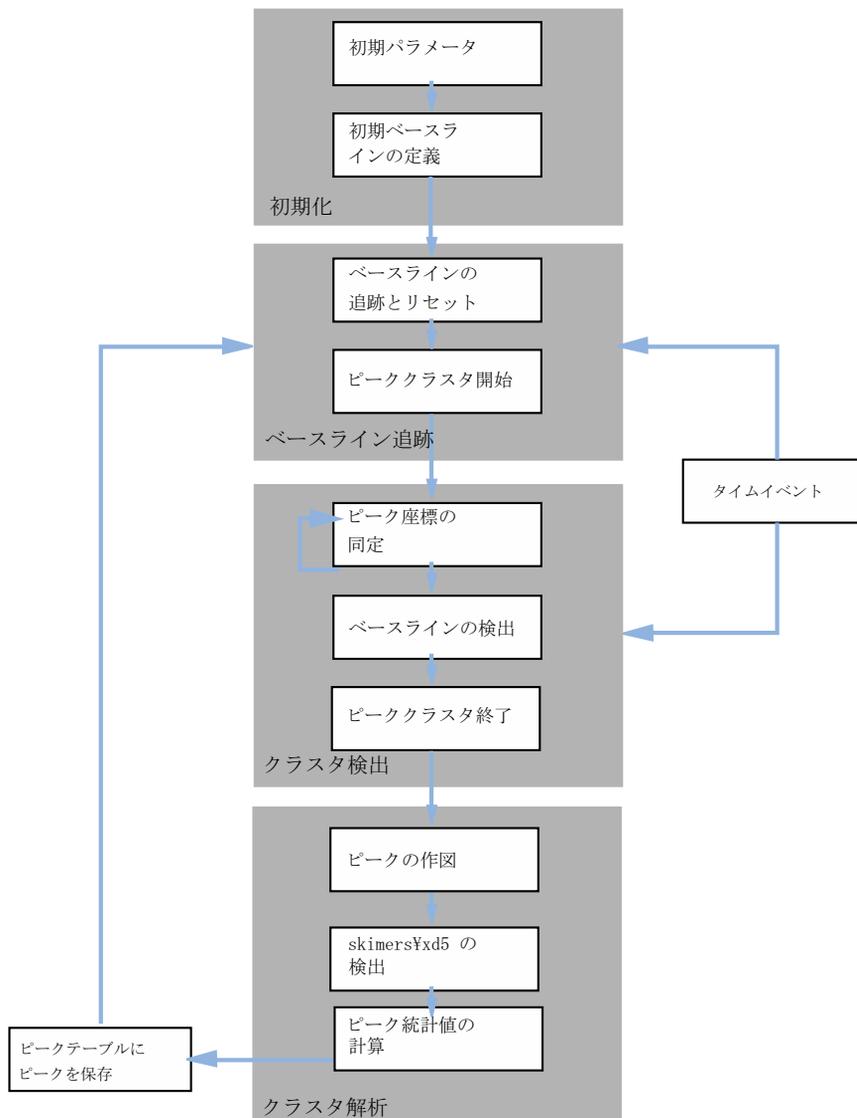


図 6 インテグレータ流量ダイアグラム

ピーク認識

インテグレータは、ピークを認識し、特徴付けるために、次のものを使用します。

- ピーク幅
- ピーク認識フィルタ、
- バンチ化、
- ピーク認識アルゴリズム、
- ピーク頂点アルゴリズム、および
- 非ガウス型の計算 (テーリング、重なったピークなど) です。

ピーク幅

積分中、ピーク幅は、次のようにピーク面積と高さから計算されます。

$$Width = Area/Height$$

または、変曲点が利用可能な場合には、変曲点間の幅になります。

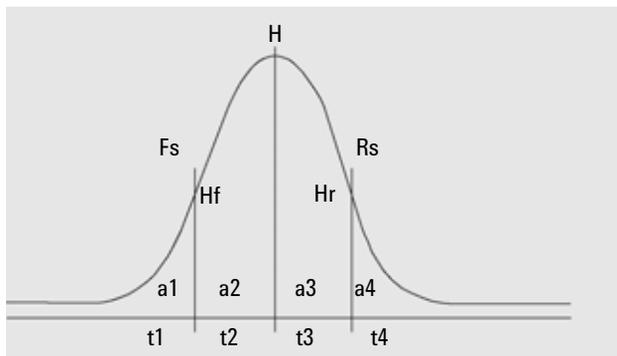


図 7 ピーク幅の計算

ピーク幅計算の図で、総面積 A は、面積 a_1 、 a_2 、 a_3 および a_4 の総和になります。 F_s は変曲点でのフロントスロープで、 R_s は変曲点でのリアスロープです。いずれかの変曲点が見つからなかった場合には、ピーク幅は次のように定義されます。

$$\text{Width} = \text{Adjusted area} / \text{Adjusted height}$$

ピーク幅の設定は、インテグレータがベースラインノイズからピークを識別する能力を決定します。良いパフォーマンスを得るには、ピーク幅は、実際のクロマトグラフ / 電気泳動のピークの幅に近い値に設定する必要があります。

ピーク幅は、3通りの方法で変更されます。

- 分析前に、初期ピーク幅を指定できます。
- 分析中に、インテグレータは、ピーク認識フィルタとの一致を良好に保つため、必要に応じて自動的にピーク幅を更新します。
- 分析中に、タイムプログラミングイベントを使って、ピーク幅をリセットまたは変更することができます。

システムスータビリティの計算に使用されるピーク幅の定義は、「ピーク幅」[80 ページ](#) [図](#)を参照してください。

ピーク認識フィルタ

インテグレータは3つのピーク認識フィルタを持っており、連続するデータポイント内でのスロープと曲率の変化を検出してピークを認識するために使用します。これらのフィルタには、インテグレータが調べているデータポイントの一次微分係数(スロープを測定する)と二次微分係数(曲率を測定する)が含まれています。認識フィルタには次のものがあります。

- フィルタ 1** 連続する 2 つ (3 つ) のデータポイントのスロープ (曲率)
- フィルタ 2** 連続する 4 つのデータポイントのスロープと、連続しない 3 つのデータポイントの曲率
- フィルタ 3** 連続する 8 つのデータポイントのスロープと、連続しない 3 つのデータポイントの曲率

実際に使用されるフィルタは、ピーク幅の設定で決められます。たとえば、分析の開始時には、フィルタ 1 が使用されたとします。分析中にピーク幅が広がった場合には、フィルタはまずフィルタ 2 に、それからフィルタ 3 に変更されます。認識フィルタから良いパフォーマンスを得るには、ピーク幅は、実際

4 積分 ピーク認識

のクロマトグラフ / 電気泳動のピークの幅に近い値に設定する必要があります。分析中、積分を最適化するために、インテグレータは必要に応じてピーク幅を更新します。

インテグレータは、更新されたピーク幅を、機器の構成に応じて次のように異なる方法で計算します。

LC/CE コンフィグレーションの場合、デフォルトのピーク幅の計算には次の複合計算方法を用います。

$$0.3 x (\text{右側の変曲点} - \text{左側の変曲点}) + 0.7 x \text{Area/Height}$$

GC コンフィグレーションの場合、デフォルトのピーク幅の計算には面積 / 高さの計算方法を用います。この計算は、半値幅を超えると重なっている場合には、幅を過大評価しません。

特定のタイプの分析、たとえば等温 GC やアイソクラティック LC 分析では、ピークは分析が進むにつれて顕著に広がります。これを補正するため、インテグレータは、分析中にピークが広がると、ピーク幅を自動的に更新します。これは、更新が無効にされていたり、タイムイベントでピーク幅が特定の値に設定されていたりしない限り、自動的に行われます。

ピーク幅の更新は、次の方法で重み付けされます。

$$0.75 x (\text{既存ピーク幅}) + 0.25 x (\text{現在のピーク幅})$$

積分タイムイベントが無効にした場合、またはピーク幅を特定の値に設定した場合には、自動的なピーク幅の調整は無効になります。

バンチ化

バンチ化は、インテグレータが、選択性を良好に保てるよう、広がるピークをピーク認識フィルタの有効範囲内に収めるために使用する手法です。

インテグレータは、ピークが広がるときでも、ピーク幅を無限に大きくすることはできません。そのため、ピークが広がりすぎて、ピーク認識フィルタが認識できなくなる可能性があります。この制限に対処するため、インテグレータは複数のデータポイントをまとめて (バンチ化)、面積を同じに保ちながら、ピークを実質的に狭くします。

データをバンチ化すると、データポイントは 2 のバンチ回数のべき乗の単位でまとめられます。つまり、バンチ化しない場合 = 1x、1 回バンチ化 = 2x、2 回バンチ化 = 4x などとなります。

バンチ化は、取込速度とピーク幅に基づいて行われます。インテグレータは、これらのパラメータを使用して、データポイントが適切な数になるように、バンチ化係数を設定します (83 ページ 図 表 9 を参照)。

バンチ化は、予想される、または実際のピーク幅に基づき、2 のべき乗の単位で行われます。バンチ化アルゴリズムは、83 ページ 図 表 9 に要約されています。

表 9 バンチ化の基準

予想されるピーク幅	使用されるフィルタ	行われるバンチ化
データポイント 0 ~ 10	フィルタ 1	なし
データポイント 8 ~ 16	フィルタ 2	なし
データポイント 12 ~ 24	フィルタ 3	なし
データポイント 16 ~ 32	フィルタ 2	1 回
データポイント 24 ~ 48	フィルタ 3	1 回
データポイント 32 ~ 96	フィルタ 3、2	2 回
データポイント 64 ~ 192	フィルタ 3、2	3 回

ピーク認識アルゴリズム

インテグレータは、ピーク認識アルゴリズムによって決定されたベースラインポイントを、ピークの開始として識別します。ピーク認識アルゴリズムはまず、ピーク認識フィルタの出力を初期スロープ感度と比較して、アップスロープ積算器の値を増加または減少します。インテグレータは、アップスロープ積算器の値が ≥ 15 になったら、ピークが始まったポイントとします。

ピーク認識アルゴリズムは、84 ページ 図 図 8 に示します。

4 積分 ピーク認識

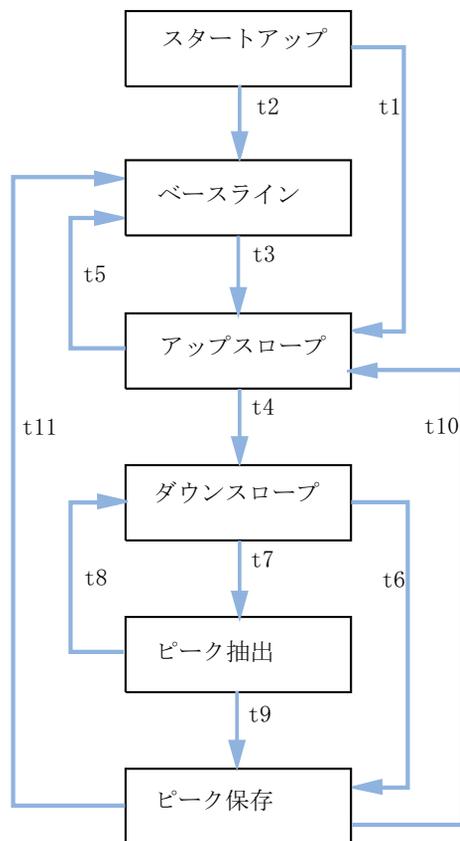


図 8 ピーク認識

基準は次のとおりです。

- t1 アップスロープカウンタは 1 以上
- t2 アップスロープカウンタは 0
- t3 アップスロープカウンタは 2 以上
- t4
 - ピークの頂点が見つかり、ピークの半値幅が見つかった、または
 - ピークの頂点が見つかり、ダウンスロープカウンタは 2 以上
- t5
 - ピークが中断した、または
 - ベースラインはここでリセットされた

- t6
 - ピークの谷が見つかり、アップスロープカウンタは2以上、または
 - ダウンスロープの総和はピーク終了の総和の2倍より大きい、または
 - ベースラインはここでリセットされた、または
 - ベースラインは次の谷でリセットされ、ピークの谷が見つかった
- t7 ダウンスロープの基準をもはや満たしていない
- t8 ダウンスロープの基準を再び満たすようになった
- t9
 - ピークの谷が見つかり、アップスロープカウンタは2以上、または
 - ダウンスロープカウンタは0、または
 - ダウンスロープの総和はピーク終了の総和より大きい、または
 - ベースラインはここでリセットされた、または
 - ベースラインは次の谷でリセット
- t10 アップスロープカウンタは2以上
- t11 アップスロープカウンタは1以下

ピークの開始

85 ページ 図 表 10 には、予期されるピーク幅により、どのフィルタの slope と曲率の値を、slope 感度と比較するかが決まることが示されています。たとえば、予期されるピーク幅が小さい場合には、フィルタ 1 の値がアップスロープ積算器に加算されます。予期されるピーク幅が大きくなると、フィルタ 2 の値が、それからフィルタ 3 の値が使用されます。

アップスロープ積算器の値が ≥ 15 の場合、ピークが開始していることをアルゴリズムが認識します。

表 10 アップスロープ積算器への加算値

微分係数フィルタ 1～3 の出力と slope 感度	フィルタ 1	フィルタ 2	フィルタ 3
slope > slope 感度	+8	+5	+3
曲率 > slope 感度	+0	+2	+1
slope < (-) slope 感度	-8	-5	-3
slope > slope 感度	-4	-2	-1
曲率 < (-) slope 感度	-0	-2	-1

ピークの終了

86 ページ 図 表 11 には、予期されるピーク幅により、どのフィルタのスロープと曲率の値を、スロープ感度と比較するかが決まることが示されています。たとえば、予期されるピーク幅が小さい場合には、フィルタ 1 の値がダウンスロープ積算器に加算されます。予期されるピーク幅が大きくなると、フィルタ 2 の値が、それからフィルタ 3 の値が使用されます。

ダウンスロープ積算器の値が ≥ 15 の場合、ピークが終了していることをアルゴリズムが認識します。

表 11 ダウンスロープ積算器への加算値

微分係数フィルタ 1～3 の出力とスロープ感度	フィルタ 1	フィルタ 2	フィルタ 3
スロープ > スロープ感度	+8	+5	+3
曲率 > スロープ感度	+0	+2	+1
スロープ < (-) スロープ感度	-11	-7	-4
スロープ > スロープ感度	-28	-18	-11
曲率 < (-) スロープ感度	-0	-2	-1

ピーク頂点アルゴリズム

ピークの頂点は、最も高いデータポイントを通る放物線を描いたときの、クロマトグラムのもっと高いポイントとして認識されます。

非ガウス型の計算

重なったピーク

重なったピークは、ピークの終わりが見つかる前に新しいピークが始まると、生じます。図は、重なったピークをインテグレータがどのように扱うかを示しています。

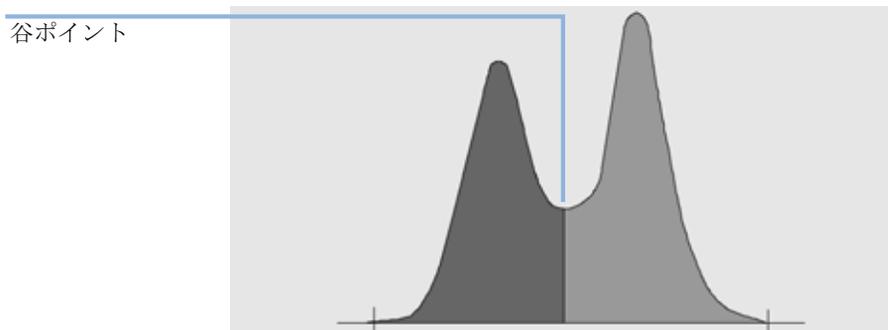


図 9 重なったピーク

インテグレータは、重なったピーク幅を次の方法で処理します。

- 1 最初のピークの面積を谷ポイントまで加算します。
- 2 谷ポイントで、最初のピークに加算は終わり、2 番目のピークに加算が始まります。
- 3 インテグレータが 2 番目のピークの終わりを検出すると、面積の加算は終了します。このプロセスは、重なったピークを、2 つのピークの間谷ポイントで垂直に分割することとして説明できます。

ショルダー

ショルダーは、より大きなピークのリーディングまたはトレーリングエッジにある、分離されていないピークのことです。ショルダーが存在するときには、負のスロープに正のスロープが続くという意味での、真の谷は存在しません。ピーク (のフロントとリア) には、ショルダーはいくつでもあり得ます。

4 積分

ピーク認識

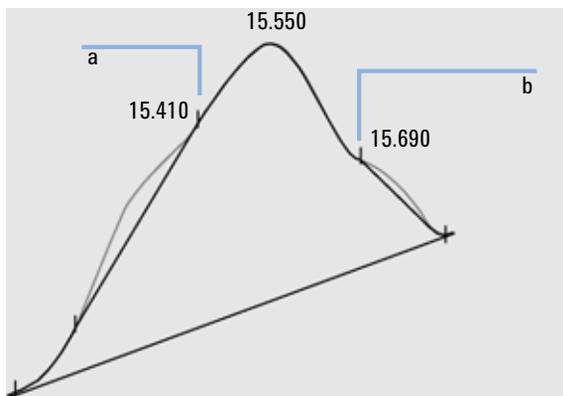


図 10 ピークショルダー

ショルダーは、二次微分係数から与えられる、ピークの曲率から検出されます。曲率がゼロになる場合、インテグレータにより、88 ページ 図 10 のポイント a や b などの変曲点が特定されます。

- ピークの頂点の前に、2 番目の変曲点が見つかった場合には、フロント側のショルダーの可能性がります。ショルダーであることが確認された場合には、ショルダーの開始ポイントは、変曲点の前の正の曲率最大の点に設定されます。
- ピークの終わりまたは谷の前に、2 番目の変曲点が見つかった場合には、リア側のショルダーの可能性がります。ショルダーであることが確認された場合には、ショルダーの開始ポイントは、開始ポイントからカーブまでのターゲットポイントに設定されます。

リテンション/マイグレーションタイムは、ショルダーの負の最大の曲率の点から決定されます。プログラムされた積分イベントでは、インテグレータは、ショルダーの面積も、ショルダーのピークの変曲点から引いた直線で分割することにより、通常のピークの場合のように計算します。

ショルダーの面積は、メインのピークから減算されます。

ピークのショルダーは、インテグレータのタイムイベントを使うことにより、通常のピークのように扱うことができます。

ベースライン割り当て

ピーククラスタが完了し、ベースラインが見つかり、インテグレータはベースライン割り当てアルゴリズムに対して、『釘と糸』のテクニックでベースラインを割り当てるようにリクエストします。これは、台形の領域と、比例による高さ補正を使用して、ベースラインを正規化し、可能な限り下方に来るようにするものです。ベースライン割り当てアルゴリズムへの入力には、検出器とアプリケーションを識別するメソッドおよびデータファイルからのパラメータも含まれており、インテグレータはこれらを利用して、計算を最適化します。

デフォルトのベースラインの設定

最も単純な場合、インテグレータは、ベースラインを次のものを結ぶ線分として設定します。

- ベースラインの開始、
- チェックマーク、
- ピークの終わり

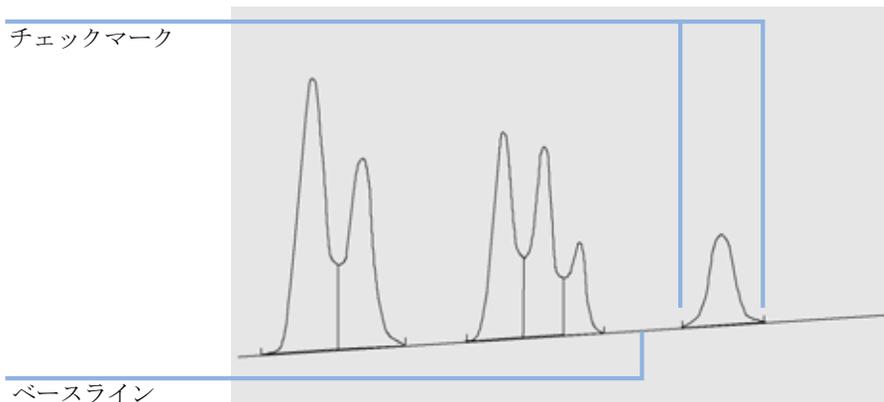


図 11 デフォルトのベースラインの設定

4 積分

ベースライン割り当て

ベースラインの開始

分析の開始時にベースラインが見つからなかった場合には、ベースラインの開始は、次のいずれかの方法で決められます。

- 分析開始のポイントが最初のベースラインポイントより下だった場合には、分析の開始から最初のベースラインポイントまで、
- 分析開始のポイントが最初の谷より下だった場合には、分析の開始から最初の谷ポイントまで、
- 最初の谷が、分析の開始から最初のベースラインポイントまで引いた直線の延長よりも下に出ている場合には、分析の開始から最初の谷ポイントまで、
- 分析の開始から最初のベースラインポイントまで、水平のベースラインを伸ばす。

チェックマーク

チェックマークは、ピークの開始と終了を識別するものです。それらの位置は、ピークテーブルに保存された、ピークの開始時間と終了時間によって決まります。

ベースラインの終了

最後の有効なベースラインポイントは、ベースラインの終了を示すものとして用いられます。分析がベースライン上で終わらなかった場合には、ベースラインの終了は、最後の有効なベースラインポイントから、確定されたベースラインドリフトまでとして計算されます。

ピークが谷で終わっているのに、続くピークが設定した面積リジェクト値よりも低かった場合には、ベースラインは、ピークの始まりから、次の真のベースラインポイントまで引いた直線を延長したものになります。ピークが同様の仕方ではまっている場合には、同じ規則が適用されます。

ベースラインの落ち込み

落ち込みは、構成されたベースラインよりもシグナルが下に来た場合に生じます (91 ページ 図 12 のポイント a)。ベースラインの落ち込みが生じた場合には、ベースラインのその部分は通常、91 ページ 図 12 のポイント b のように、再構成されます。

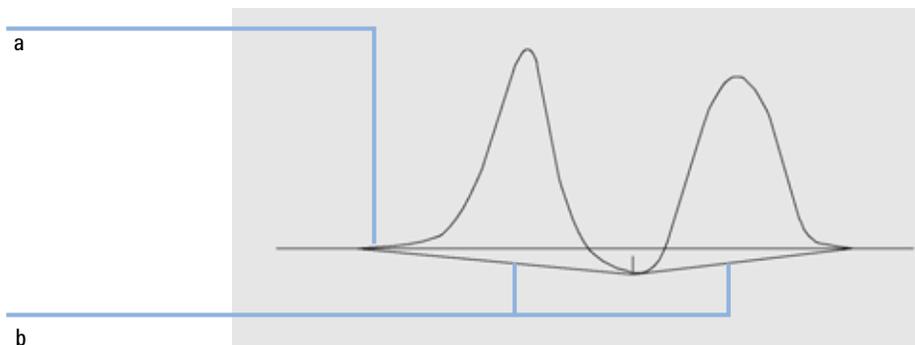


図 12 ベースラインの落ち込み

ベースラインの落ち込みをすべて除去するには、次の追跡オプションを使用できます。

クラシカルベースライン追跡 (落ち込みなし)

このオプションを選択すると、ピーククラスごとに、ベースラインの落ち込みを検索します。落ち込みが見つかったら、ピークの開始または終了ポイントを、落ち込みがなくなるまでシフトします (91 ページ 図 12 と 92 ページ 図 13 のベースラインを比較してください)。

4 積分

ベースライン割り当て

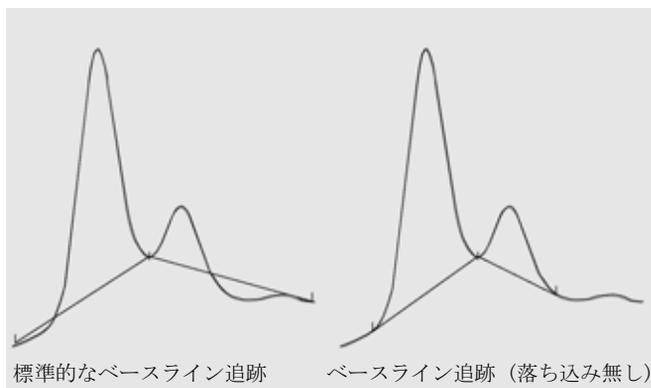


図 13 標準的なベースライン追跡と、ベースライン追跡 (落ち込みなし)

ノート

ベースライン追跡 (落ち込みなし) は、溶媒ピーク、その子ピークやショルダーでは、利用できません。

拡張ベースライン追跡

拡張ベースライン追跡モードでは、インテグレータがピークの開始点および終了点を最適化し、ピーククラスタのベースラインを再構築し、ベースラインの落ち込みをなくします (91 ページ 図 12 を参照)。多くの場合、拡張ベースライン追跡モードを使えば、スロープ感度に影響されにくい、より安定したベースラインを得ることができます。

ピーク / 谷比

このユーザー指定のパラメータは、拡張ベースライン追跡モードの要素の 1 つです。これは、ドロップラインまたは谷ベースラインを使用して、ベースライン分離を示さない 2 つのピークを分離するかどうかを決定するために使用されます。インテグレータは、ベースライン補正された小さなピークの高さと、ベースライン補正された谷の高さの比率を計算します。ピーク / 谷比がユーザー指定値より低い場合は、ドロップラインが使用されます。それ以外の場合は、最初のピークの開始点のベースラインから谷まで、および谷から 2 番目のピークの終了点のベースラインまで、ベースラインが引かれます (92 ページ 図 13 と 93 ページ 図 14 を比較してください)。

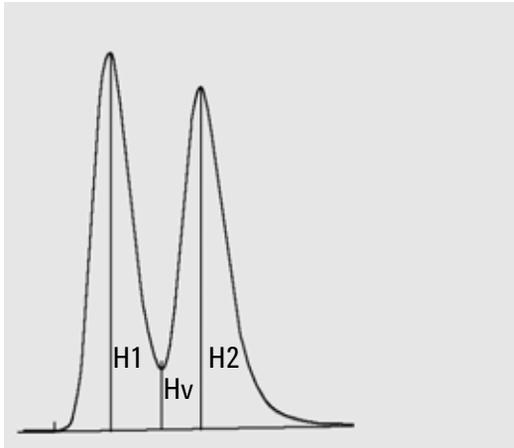


図 14 ピーク / 谷比

ピーク / 谷比は、次の式を使用して計算されます。

$$H1 \geq H2, \text{ Peak valley ratio} = H2/Hv$$

および

$$H1 < H2, \text{ Peak valley ratio} = H1/Hv$$

93 ページ 図 15 に、ピーク / 谷比のユーザー指定値がベースラインにどのような影響を及ぼすかを示します。

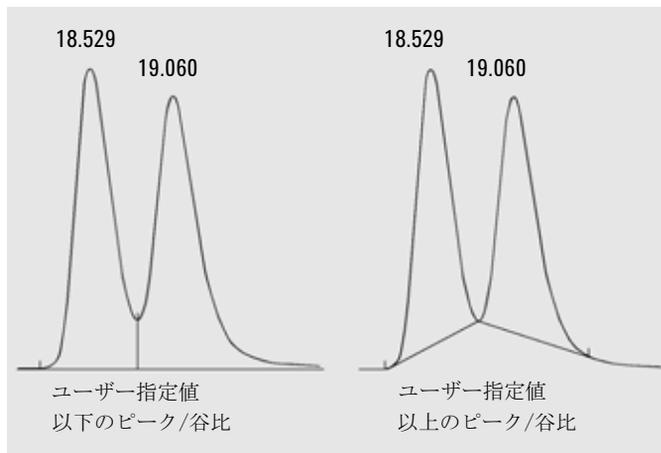


図 15 ベースラインに対するピーク / 谷比の影響

4 積分

ベースライン割り当て

タンジェントスキム

タンジェントスキムは、あるピークのアップスロープまたはダウンスロープで見つかったピークのためにベースラインを設定する方法の1つです。タンジェントスキムを有効にすると、適切なピーク面積を計算するための、次の4つのモデルが利用できるようになります。

- 指数曲線近似、
- 新規指数スキム
- 直線スキム、
- 最適なフィットを算出する、指数と直線の組み合わせ(標準スキム)。

指数曲線近似

このスキムモデルでは、指数関数式を用いて、子ピークの開始と終了の間に曲線を描きます(子ピークの開始の高さは、親ピークのスロープに合わせて補正されます)。この曲線は、親ピークに続く、各子ピークの下を通ります。スキム曲線の下での面積は、子ピークから減算され、親ピークに加算されます(95ページ 図 17 を参照してください)。

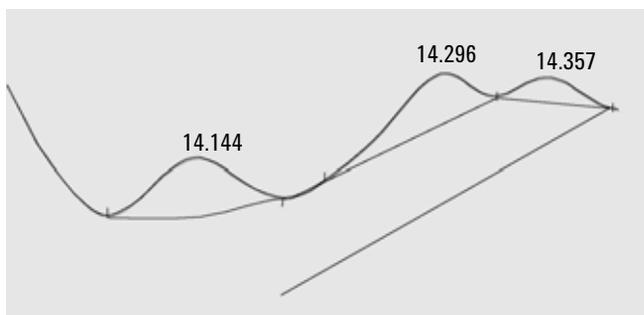


図 16 指数スキム

新モードの指数曲線スキム

このスキムモデルでは、親ピークのリーディング/トレーリングエッジを近似する指数関数を使って曲線が描かれます。曲線は、親ピークに続く1つ以上のピーク(子ピーク)の下を通過します。スキム曲線より下の面積は子ピークから差し引かれ、メインピークに追加されます。複数の子ピークを同じ指数モデルでスキムできます。最初の子ピーク後のすべてのピークは、ドロップラインで区切られます。ドロップラインは、最初の子ピークの終了からスキム直線まで降下します(95ページ 図 17 を参照)。

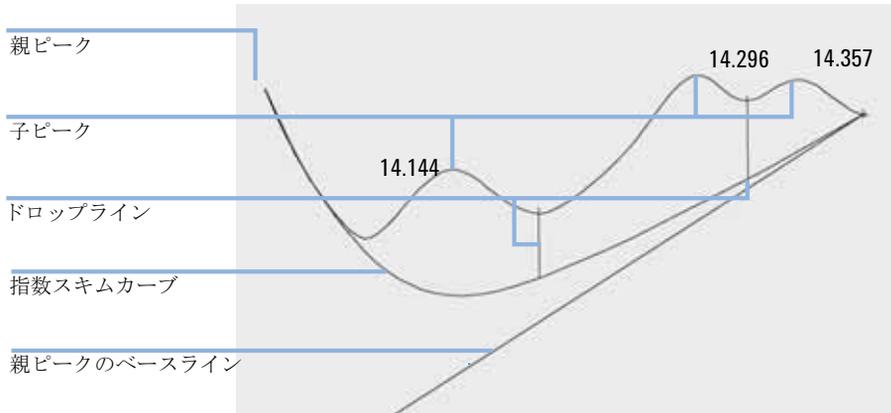


図 17 新規モード指数スキム

直線スキム

このスキムモデルでは、子ピークの開始から終了まで直線を描きます。子ピークの開始の高さは、親ピークのスロープに合わせて補正されます。直線の下での面積は、子ピークから減算され、親ピークに加算されます (95 ページ 図 18 を参照)。

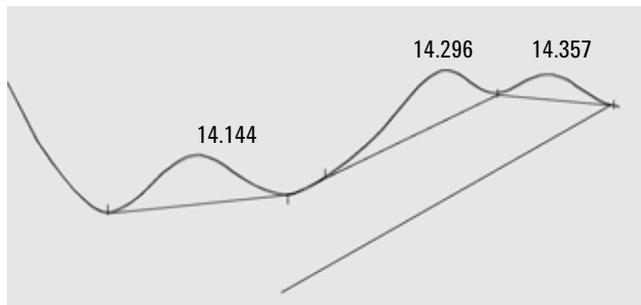


図 18 直線スキム

標準スキム

特定の対象に合わせて、適切な計算方法を選択します。デフォルトでは、指数と直線の計算方法を最もよくフィットするように組み合わせられたものが選択されます。

指数と直線の計算の間の切替は、高さや面積が不連続にならないような仕方で行われます。

4 積分

ベースライン割り当て

- シグナルがベースラインよりも十分高いところでは、テールフィッティング計算は指数方式です。
- シグナルがベースラインエンベロープ内に入るところでは、テールフィッティング計算は直線方式です。

組み合わせた計算方式は、指数またはタンジェントスキムとしてレポートされます。

スキムの基準

親ピークのトレーリングエッジ上に出ている子ピークの面積を計算するのに、スキム直線を使用するかどうかは、次の2つの基準によって決められます。

- テールスキム高さ比
- 谷高さ比

これらの基準は、指数方式のタイムイベントが有効な場合、または親ピークそのものが子ピークの場合には、使用されません。親ピークと子ピーク間の分離コードは、タイプ **Valley** である必要があります。

[テールスキム高さ比] は、ベースライン補正された子ピークの高さ (H_c) に対するベースライン補正された親ピークの高さ (96 ページ 図 19 の H_p) の比率です。この比は、スキムされる子ピークに対して指定された値より大きい必要があります。

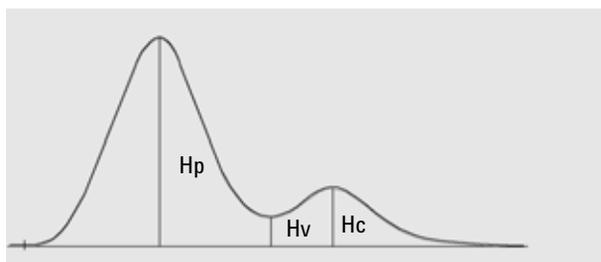


図 19 スキム基準

テールスキム高さ比の値を高さの値、または 0 に設定すれば、分析中の指数スキムを無効にすることができます。

[谷高さ比] は、ベースライン上の谷の高さ (96 ページ 図 19 の H_v) に対するベースライン上の子ピークの高さ (同じ図の H_c) の比率です。この比は、スキムされる子ピークに対して指定された値より小さい必要があります。

スキムの指数曲線近似の計算

以下の式を使用して指数スキムを計算します (98 ページ 図 22 を参照してください)。

$$Hb = Ho \times \exp(-B \times (Tr - To)) + A \times Tr + C$$

変数の意味は次のとおりです。

Hb = 時間 Tr での指数スキムの高さ

Ho = 指数スキムの開始の高さ (ベースラインの上)

B = 指数関数の減衰率

To = 指数スキムの開始に対応する時間

A = 親ピークのベースラインのスロープ

C = 親ピークのベースラインのオフセット

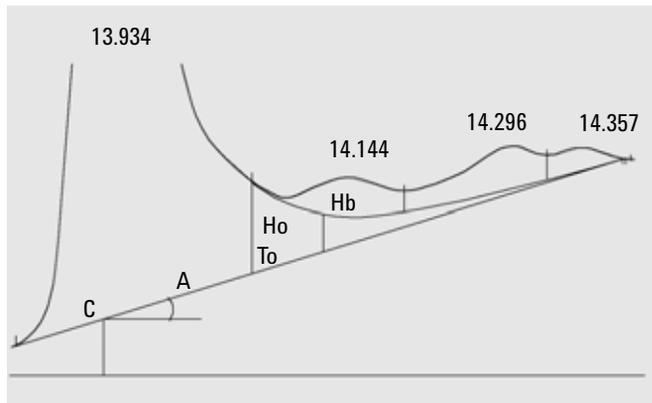


図 20 指数スキムを計算するために使用される値

指数モデルは、最初の子ピークのすぐ前の親ピークのテール部分にフィットされます。98 ページ 図 21 に、タンジェントスキム後の子ピークの補正されたカーブを示します。

4 積分

ベースライン割り当て

補正済み子
ピークカーブ

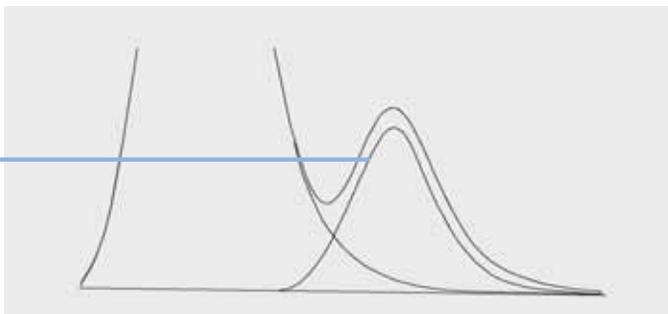


図 21 テール補正された子ピーク

フロントピークスキム

親ピークのテール上の子ピークの場合、ピークのフロント側 / アップスロープ上の特定のピークについては、特別な積分が必要となります (98 ページ 図 22 を参照)。

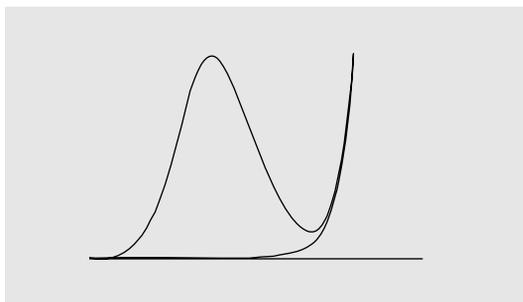


図 22 フロントピークスキム

フロントピークスキムは、テールピークスキムと同じスキムモデルを使い、同じ方法で扱われます。

スキム基準は次の通りです。

- フロントスキム高さ比
- 谷高さ比

谷高さ比は、フロントピークスキムとテールピークスキムで、同じ値を取ります (「谷高さ比」を参照してください)。フロントスキム高さ比は、テールスキム高さ比と同じ方法で計算されますが (「テールスキム高さ比」を参照してください)、異なる値になることがあります。

割り当てられないピーク

ベースライン設定によっては、ベースラインとシグナルの間にあるものの、認識されたとのピークにも属さない小さな領域が存在することがあります。通常、そのような領域は測定されることもレポートされることもありません。[割り当てられないピーク] をオンにすると、これらの領域も測定され、割り当てられないピークとしてレポートされます。そのような領域のリテンション/マイグレーションタイムは、99 ページ 図 23 のように領域の開始と終了の中点になります。

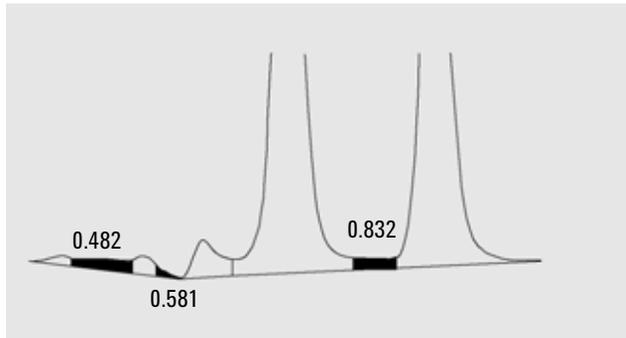


図 23 割り当てられないピーク

ピーク分離コード

レポートでは、各ピークに、シグナルベースラインの引かれ方を説明する 2、3、または 4 文字のコードが割り当てられます。

文字 1 と 2

最初の文字はピークの開始時のベースラインを説明し、2 番目の文字はピークの終了時のベースラインを説明します。

- B** ピークはベースライン上で開始または終了しました。
- V** ピークは谷のドロップラインで開始または終了しました。
- P** ピークはベースラインが落ち込んでいるところで開始または終了しました。
- H** ピークは強制された水平ベースライン上で開始または終了しました。
- F** ピークは強制されたポイント上で開始または終了しました。

4 積分

ベースライン割り当て

- M** ピークはマニュアルで積分されました。
- U:** ピークは割り当てられませんでした。
付加的なフラグが追加されることもあります (優先順位に従います)。

文字 3

- D** ピークは歪んでいました。
- A** 積分は中断されました。
- U:** 範囲より下の条件が発生しました。
- O** 範囲より上の条件が発生しました。

文字 4

4 番目の文字は、ピークタイプを示します。

- S** ピークは溶媒ピークです。
- N** ピークはネガティブピークです。
- +** ピークは面積総和ピークです。
- T** タンジェントスキムされたピークです (標準のスキム)。
- X** タンジェントスキムされたピークです (古いモードの指数スキム)。
- E** タンジェントスキムされたピークです (新しいモードの指数スキム)。
- m** マニュアル ベースラインによって定義されたピークです。
- n** マニュアル ベースラインによって定義されたネガティブピークです。
- t** マニュアル ベースラインによって定義された、タンジェントスキムされたピークです。
- R** ピークは再計算された溶媒ピークです。
- f** フロントショルダータンジェントによって定義されたピークです。
- b** リアショルダータンジェントによって定義されたピークです。
- F** フロントショルダードロップラインによって定義されたピークです。
- B** リアショルダードロップラインによって定義されたピークです。
- U:** ピークは割り当てられていません。

ピーク面積の測定

ピーク積分の最後のステップは、ピークの最終的な面積を決定することです。

ピーク面積は、主要なポイントのファイルの内容から計算されます。主要なポイントとは、インテグレータにより、ピークの定義と定量のために選択されたポイントのことです(「ピークの主要なポイントの識別」76 ページ 図 を参照)。これには、ベースラインポイント、谷ポイント、ピーク頂点、半値幅のポイントが含まれます。主要なポイントは、経過時間の水平座標、ベースラインからの高さの垂直座標、面積、およびインテグレータがピーク面積を計算するために使用する他のパラメータを持っています。

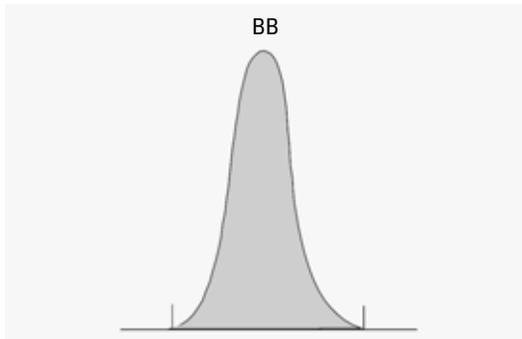


図 24 ベースライン - ベースラインピークの面積測定

単純な孤立したピークの場合、ピーク的面積は、(チックマークにより識別される) ピークの開始と終了の間の、ベースラインより上の面積を積算することによって決定できます。

面積の決定

積分中にインテグレータが計算する面積は、次のように決められます。

- ベースライン - ベースライン (BB) ピークの場合には、101 ページ 図 図 24 のように、チェックマーク間のベースライン上の面積になります。

4 積分

ピーク面積の測定

- 谷 - 谷 (VV) ピークの場合には、102 ページ 図 図 25 のように、チェックマークからの垂直のドロップラインで区切られた、ベースライン上の面積になります。

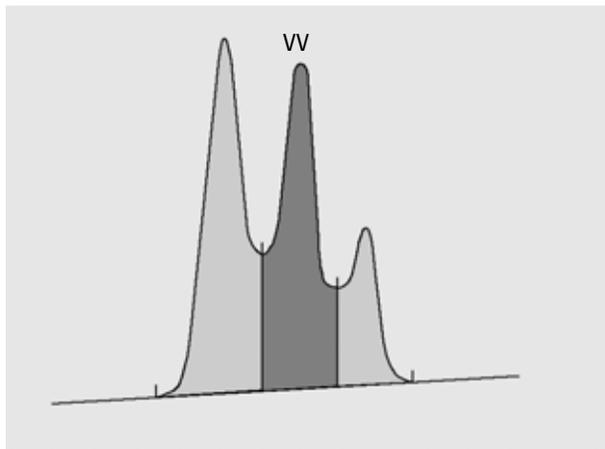


図 25 谷 - 谷ピークの内積測定

- タンジェント (T) ピークの場合、リセットベースラインの上の内積です。
- 溶媒 (S) ピークの場合、最後に見つかったベースラインポイントからの水平延長線の上、タンジェント (T) ピークに与えられたリセットベースラインの下の内積になります。溶媒ピークは遅すぎて認識されないことがあります。または、ライダーのセットにより、溶媒として扱うべきと思われるピークのグループが分析に現れることがあります。これは通常、第一のものが他のものより非常に大きい、重なったピークによって生じます。単純なドロップラインによる扱いは、後者のピークを誇張する結果になります。実際には、それらは第一のもののテールに乗っているからです。第一のピークを強制的に溶媒として認識させることにより、グループの残りはテールからスキムすることができます。
- ベースラインの下に生じたネガティブピークは、103 ページ 図 図 26 のような正の内積を持ちます。

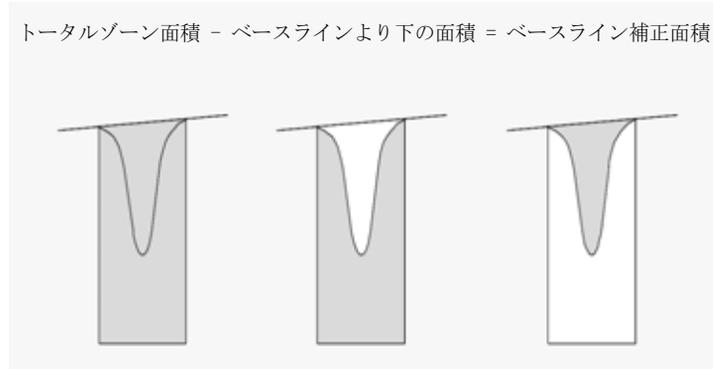


図 26 ネガティブピークの面積測定

単位と変換ファクター

外部的には、データはデータポイントのセットを含んでいます。これらはサンプリングされたデータか、または積分されたデータです。積分されたデータの場合、各データポイントは高さ×時間と表される面積に対応します。サンプリングされたデータの場合、各データポイントは高さに対応します。

そのため、積分されたデータの場合には、高さは計算される実体で、面積を、直前のデータポイントから経過した時間で割ることによって得られます。サンプリングされたデータの場合には、面積は、データに、直前のデータポイントから経過した時間を掛けることによって計算されます。

積分の計算は、両方の実体を使用します。インテグレータの内部で使用される単位は、面積の場合はカウント×ミリ秒で、高さはカウントです。これは、必要に応じて整数に丸めるための、共通の基盤を用意するためです。時間、面積、高さの測定値は、ソフトウェア内でどのように測定、計算、保存されているかにはかかわりなく、実際の物理的な単位でレポートされます。

積分イベント

インテグレータは、多数の初期およびタイムインテグレートイベントを用意しています。多くのイベントは、オン/オフまたは開始/停止のペアになっています。

初期イベント

- 初期ピーク幅** 初期ピーク幅は、インテグレータの内部ピーク幅を、分析の開始のためにこの値に設定します。この初期ピーク幅は、ピークのアップスロープ、ダウンスロープ、およびテーリングを検出する積算器の縮尺調整をするために使用されます。インテグレータは、積分を最適化するために、分析中の必要な時にピーク幅を更新します。ピーク幅は、最初の期待されるピーク（溶媒ピークを除く）の半値幅に対応する時間の単位で、設定します。
- スロープ感度** スロープ感度は、ピーク感度の設定値です。これは、均等目盛で変化する設定です。
- 高さリジェクト** 高さリジェクトは、最終的な高さによるピーク排除を設定します。高さが高さの最小値より小さいピークは、レポートされません。
- 面積リジェクト** 面積リジェクトは、最終的な面積によるピーク排除を設定します。面積が面積の最小値より小さいピークは、レポートされません。
- ショルダー検出** ショルダー検出がオンの場合、インテグレータは、二次微分係数で与えられるピークの曲率を使用して、ショルダーを検出します。曲率がゼロになると、インテグレータはこの変曲点をショルダーの可能性があると認識します。インテグレータがピークの頂点前に別の変曲点を認識すると、ショルダーが検出されたこととなります。

ピーク幅

ピーク幅の設定は、インテグレータがベースラインノイズからピークを識別する選択性を決定します。良いパフォーマンスを得るには、ピーク幅は、実際のクロマトグラフ/エレクトロフェログラムの半値幅に近い値に設定する必要があります。インテグレータは、積分を最適化するために、分析中の必要な時にピーク幅を更新します。

ピーク幅の選択

ノイズがピークとして解釈されるのを十分防ぐことができ、一方で、シグナルの情報を歪めないような、適切な設定を選択してください。

- 対象とする単一のピークに適した初期ピーク幅を選択するには、ピークの時間幅を基にしてください。
- 対称とするピークが複数ある場合に、適切な初期ピーク幅を選択するには、最適なピーク選択性が得られるように、初期ピーク幅は、最も狭いピーク幅以下の値に設定してください。

選択したピーク幅が狭すぎる場合には、ノイズがピークとして解釈されることがあります。広いピークと狭いピークが混ざっている場合には、ランタイムプログラムイベントを使用して、特定のピークに合わせてピーク幅を調整することができます。時には、たとえば等温 GC やアイソクラティック LC 分析では、ピークは分析が進むにつれて顕著に広がります。これを補正するため、インテグレータは、分析中にピークが広がると、ピーク幅を自動的に更新します。これは、無効にされたり、タイムイベントで設定されたりしていない限り、行われます。

ピーク幅の更新は、次の方法で重み付けされます。

$$0,75 \times (\text{existing peak width}) + 0,25 \times (\text{width of current peak})$$

積分タイムイベントが無効にした場合、またはピーク幅を特定の値に設定した場合には、自動的なピーク幅の調整は無効になります。

高さリジェクトとピーク幅

ピーク幅と高さリジェクトは両方とも、積分プロセスで非常に重要です。これらの値を変更すると、異なった結果になることがあります。

- ノイズの多い環境で、比較的少量の成分を検出する必要がある場合には、高さリジェクトとピーク幅の両方を大きくします。ピーク幅を大きくすると、ノイズの除去効果が改善され、高さリジェクトを大きくすると、ランダムノイズを無視しやすくなります。
- 高さがノイズそのものに近い、微量成分を検出して定量するには、高さリジェクトとピーク幅を小さくします。ピーク幅を小さくすると、シグナルのフィルタリング効果が小さくなり、高さリジェクトを小さくすると、高さが足りないために小さなピークが拒否されることがなくなります。
- 分析対象にさまざまなピーク幅のピークが含まれている場合には、ピーク幅を最も狭いピークに合わせてとともに、高さリジェクトを小さくして、高さが減ったために広いピークが無視されることがないようにしてください。

積分のチューニング

積分をカスタマイズするには、スロープ感度、ピーク幅、高さリジェクト、面積リジェクトの値を変更することが、多くの場合に役立ちます。

106 ページ 図 27 は、これらのパラメータが、シグナル内の 5 つのピークの積分にどのように影響するかを示しています。

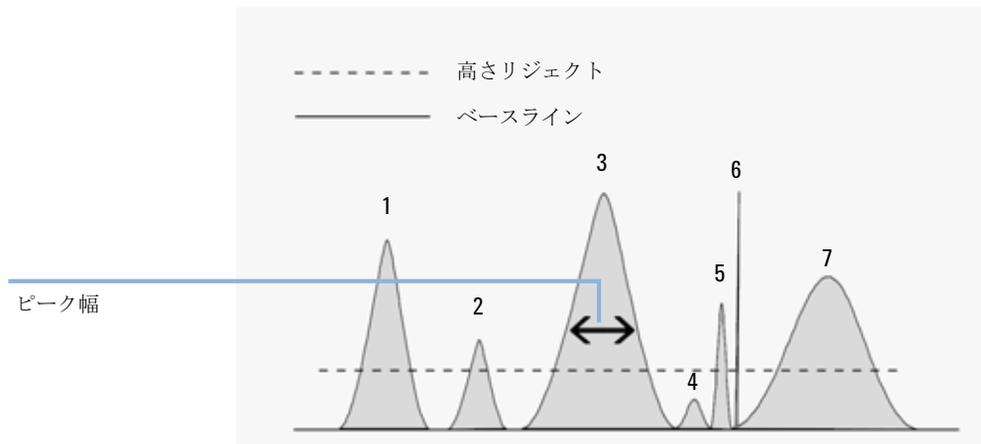


図 27 初期イベントの使用

ピークは、4 つの積分パラメータのすべてが満たされたときにのみ、積分されます。106 ページ 図 27 のようにピーク 3 のピーク幅、面積リジェクト、スロープ感度などを使用すると、ピーク 1、3、5、7 だけが積分されます。

ピーク 1 は、4 つの積分パラメータすべてが満たされているので、積分されます。

ピーク 2 は、面積が設定された面積リジェクト値より小さいので、拒否されます。

ピーク 3 は、4 つの積分パラメータすべてが満たされているので、積分されます。

ピーク 4 は、ピーク高さが高さリジェクトの値より小さいので、積分されません。

ピーク 5 は、面積が設定された面積リジェクト値より小さいので、拒否されます。

ピーク 6 は積分されません。フィルタリングとバンチ化により、ピークは見えなくなります。

ピーク 7 は積分されます。

表 12 高さおよび面積リジェクト値

積分パラメータ	ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5	ピーク 7
高さリジェクト	越える	越える	越える	越えない	越える	越える
面積リジェクト	越える	越えない	越える	越えない	越えない	越える
ピークは積分される	はい	いいえ	はい	いいえ	いいえ	はい

タイムイベント

シグナルベースラインのデフォルトの構成が適切でない場合には、タイムイベントを使用して、シグナルベースラインをカスタマイズすることができます。これらのイベントは、最終的なピーク面積を加算する場合、そして短期間および長期間のベースラインの逸脱を補正する場合に、役立ちます。積分イベントについての詳細は、「初期イベント」[104 ページ](#)  を参照してください。

自動積分

自動積分機能は、初期イベントを設定するための開始点を提供します。これは、新しいメソッドを実装する場合に、特に役立ちます。タイムイベントを含んでいない、デフォルトの積分イベントテーブルから始めます。それから、一般的な使用目的のために自動積分機能によって提案されたパラメータを最適化することができます。

操作の原則

自動積分機能は、クロマトグラムデータを読み込んで、クロマトグラムオブジェクト内の各シグナルに対する初期積分パラメータの最適値を計算します。

アルゴリズムは、クロマトグラムの開始と終了の 1% の部分を調べて、その部分のノイズとスロープを決定します。ノイズは、線形回帰の標準偏差の 3 倍を、回帰で使用されたポイントのパーセント数の平方根で割った値として、決定されます。これらの値は、積分の高さリジェクトおよびスロープ感度に適切な値を割り当てるために使用されます。それからアルゴリズムは、クロマトグラムの長さに応じ、LC の場合は 0.5%、GC の場合は 0.3% ないし 0.2% として、

4 積分 積分イベント

ピーク幅の一時的な値を割り当てます。初期面積リジェクトはゼロに設定して、積分を試行します。この試行は、少なくとも 5 つのピークが検出されるまで、毎回パラメータを調整し、または初期高さリジェクトを 0 に設定して、必要に応じて数回繰り返されます。積分の試行は、10 回行っても上記の条件が満たされなかった場合には、終了します。

それから、積分の結果が調べられ、検出されたピークの幅に基づいてピーク幅が調整され、初期ピークに向かって計算のバイアスが設定されます。検出されたピークのピーク対称性を使用し、ピーク幅計算に 0.8 ~ 1.3 の対称性を持つピークだけを含みます。十分に対称なピークが検出されないと、この制限は緩和され、下限値は 1.5 分の 1 に、上限値は 1.5 倍にされます。それから、ピーク間のベースラインを調べて、以前の高さリジェクトおよびスロープ感度の値を調整します。面積リジェクトは、積分の試行の間に検出された最も対称度の高いピークの最小面積の 90% に設定されます。

クロマトグラムは、これらの積分パラメータの最終的な値を使用して再度積分され、その積分の結果が保存されます。

自動積分のパラメータ

次のパラメータが、自動積分機能によって設定されます。

- 初期スロープ感度
- 初期高さ
- 初期ピーク幅
- 初期面積リジェクト

マニュアル積分

このタイプの積分を行えば、選択したピーク、またはピークのグループを積分できます。初期面積リジェクト値を除き、ソフトウェアのイベント積分は、マニュアル積分で指定範囲内では無視されます。マニュアル積分の結果得られた1つまたは複数のピークが、面積リジェクトのスレッシュホールドよりも低い場合には、廃棄されます。マニュアル積分イベントは、絶対時間値を用います。シグナルドリフトは調整しません。

マニュアル積分では、自分でピークの開始および終了ポイントを定義して、定量とレポートのために再計算する面積を含めることができます。マニュアル積分によるピークは、レポート内ではピーク分離コード **M** によってラベルされます。

マニュアル積分では、次の機能が提供されます。

- | | |
|------------------|--|
| ベースラインを引く | [ベースラインを引く] では、ピークまたは複数のピークのためのベースラインが引かれる場所を指定します。範囲内のピークをすべての谷のポイントで自動的に分離するかを指定できます。 |
| ネガティブピーク | [ネガティブピーク] は、ネガティブピークとしてベースライン下の面積すべてを処理する時間を指定します。範囲内のピークをすべての谷のポイントで自動的に分離するかを指定できます。 |
| タンジェントスキム | [タンジェントスキム] は、メインピークから離れてタンジェントスキムされたピーク的面積を計算します。タンジェントスキムされたピークの面積は、メインピークの面積から減算されます。 |
| ピーク分割 | [ピーク分割] は、ピークをドロップラインで分割するポイントを指定します。 |
| ピーク削除 | 積分結果から 1 つ以上のピークを削除します。 |

マニュアル積分ピークのピーク分離コード

ベースラインの手動描画などのマニュアル積分イベントは、タイム積分イベントよりもさらにデータファイル固有です。複雑なクロマトグラムの場合、再解析のためにこれらのイベントを使用できることが非常に望まれます。

そのため、**ChemStation B.04.01** 以降では、メソッドの代わりにデータファイルに直接、マニュアル積分イベントを保存できます。データファイルをレビューまたは再解析する時はいつでも、データファイル中のマニュアル積分イベントが自動的に適用されます。マニュアル積分イベントを含む分析は、[ナビゲーション] テーブルの対応する列に印が付けられます。

マニュアルによるベースライン描画やピーク削除のツールに加えて、以下の操作を行う 3 つの追加ツールがユーザーインターフェースに用意されています。

- データファイルに現在表示されているクロマトグラムのマニュアルイベントを保存。
- 現在表示されているクロマトグラムからすべてのイベントを削除。
- 最後のマニュアル積分イベントを元に戻す（イベントが保存されるまで使用可能）。

[ナビゲーション] テーブルのレビュー中に次のデータファイルで操作を続ける場合、**ChemStation** は未保存のマニュアル積分イベントを確認し、イベントを保存するかユーザーに尋ねます。

[ナビゲーション] テーブルのレビュー中にデータファイルに保存されたマニュアルイベントは、[パッチ] モードでのレビュー中に保存されたマニュアル積分イベントと結合しません。これら 2 つのレビュー方法は、データファイルのマニュアルイベントに関して完全に別です。

リビジョン **B.04.01** 以前の **ChemStation** では、マニュアル積分イベントはメソッドだけに保存できます。**B.04.01** では、このワークフローをまだ使用できます。メソッドでマニュアル積分イベントを取り扱うために、[データ解析] ビューの [積分] メニューには以下の項目が示されます。

メソッドのマニュアルイベントの更新：メソッドに新しく記載したマニュアルイベントを保存します。

メソッドからマニュアルイベントを適用：現在読み込まれているデータファイルに、現在メソッドに保存されているマニュアルイベントを適用。

メソッドからマニュアルイベントの削除：メソッドからマニュアルイベントを削除します。

メソッドに保存されたマニュアルイベントをデータファイルに保存するように変換するには、メソッドからイベントを使用し、データファイルに結果を保存します。希望する場合、メソッドからイベントを削除します。

メソッドの【積分イベント】テーブルの【マニュアルイベント】チェックボックスがオンの場合、このメソッドを用いたデータファイルを読み込む時に、メソッドのマニュアルイベントが常に適用されます。データファイルに追加マニュアルイベントを含む場合、メソッドのイベントの後に適用されます。【マニュアルイベント】チェックボックスがオンの場合、データファイルにイベントを保存するかユーザーが尋ねられることはありません。

メソッドに保存されたマニュアル積分イベントの変換

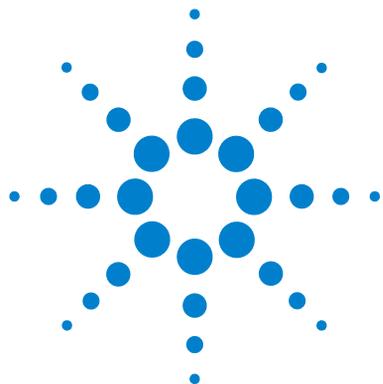
ChemStation リビジョン B.04.01 以前の場合、個々のデータファイルの代わりに、メソッドにマニュアル積分イベントを保存しました。データファイル固有の方法でマニュアルイベントを保存するために、各固有のデータファイルの個別のメソッド DA.M を使用することが最も便利でした。

メソッドのマニュアル積分イベントをデータファイルで保存されたイベントに変換するか、メソッドに保存されたマニュアルイベントを用いて作業を続けるために、【データ解析】ビューの【積分】メニューにより以下の項目を示します。

- **メソッドのマニュアルイベントの更新**：新たに描かれたマニュアルイベントをメソッドに保存します。
- **メソッドからのマニュアルイベントの適用**：現在、メソッドに保存されているイベントを、現在読み込んでいるデータファイルに適用します。
- **メソッドからのマニュアルイベントの削除**：メソッドからマニュアルイベントを削除します。

4 積分

マニュアル積分



5 定量

定量とは	114
定量計算	115
補正係数	116
絶対レスポンスファクタ	116
倍率	116
希釈率	116
サンプルアマウント	117
キャリブレーションされていない計算の手順	118
面積%および高さ%	118
キャリブレーションされた計算の手順	119
ESTD 計算	120
補正%計算	122
ISTD 計算	123
分析 1: キャリブレーション	124
分析 2: 未知サンプル	124
キャリブレーションピークの ISTD 計算	125
キャリブレーションされていないピークの ISTD 計算	125

この章では、ChemStation が定量を行う方法について説明します。面積%および高さ%の計算、外部標準 (ESTD) 計算、補正%計算、内部標準 (ISTD) 計算、および同定されていないピークの定量に関する詳細を説明します。



定量とは

ピークが積分され同定された後の分析における次の段階は、定量になります。定量では、ピーク面積または高さを使用し、サンプル内の化合物の濃度を測定します。

定量分析には多くの手順が含まれますが、要約すると次のようになります。

- 分析している化合物を把握する。
- この化合物を含んでいるサンプルの分析方法を確立する。
- 既知の濃度または化合物の濃度を含む 1 つまたは複数のサンプルを分析して、その濃度に起因するレスポンスを取得する。

検出器に非直線形のレスポンスが返ってくる場合は、化合物の異なる濃度を使用して、たくさんのサンプルを分析することもできます。このプロセスは、マルチレベルキャリブレーションと呼ばれます。

- 化合物の未知の濃度を含むサンプルを分析して、その未知の濃度に起因するレスポンスを取得します。
- 未知の濃度のレスポンスを既知の濃度の反応と比較し、存在する化合物の量を測定します。

未知のサンプルの反応と既知のサンプルのレスポンスとを有効に比較するには、同一の条件のもとでデータを取得し処理する必要があります。

定量計算

ChemStation では、混合物内に存在する成分ごとの濃度を測定する次のような計算手順が提供されます。

- パーセント
- 標準化
- 外部標準 (ESTD)
- ESTD%
- 内部標準 (ISTD)
- ISTD%

未知のサンプル内の化合物の濃度を測定するのに使用される計算方法は、定量の種類によって異なります。各計算手順では、計算にピーク領域または高さが使用され、異なる種類のレポートが生成されます。

補正係数

定量計算では、絶対レスポンスファクタ、倍率、希釈率、およびサンプルアマウントの4つの補正係数が使用されます。これらの係数は、キャリブレーションの手順の中で使用され、検出器のレスポンスにおける変動を、異なるサンプル成分、濃度、サンプル希釈、サンプルアマウント、および変換単位に補正します。

絶対レスポンスファクタ

あるサンプル成分の絶対レスポンスファクタは、成分の量をキャリブレーション混合物の分析における成分のピークの測定面積または高さで割ったものを表します。キャリブレーションされた各計算手順で使用される絶対レスポンスファクタは、検出器のレスポンスをサンプルの個々の成分に補正します。

倍率

倍率は、各成分の結果に乘じるために各計算式で使用されます。倍率は、単位を変換して量を表すために使用できます。

希釈率

希釈率ファクタは、レポートが印刷される前に、すべての計算された結果が乘じられる係数です。結果のスケールを変更するために、または分析前にサンプル組成の変更を補正するために希釈率を使用できます。コンスタントファクターの使用を必要とする以外の目的にも希釈率を使用できます。

サンプルアmount

ESTD% または ISTD% の計算が選択された場合、ESTD および ISTD レポートには、絶対値ではなく相対値が表示されます。つまり、各成分のアmountは、サンプルアmountの割合として表示されます。サンプルアmountは、ESTD% および ISTD% レポート内で使用され、指定された値で割ることにより、分析された成分の絶対アmountを相対値に変換します。

5 定量

キャリブレーションされていない計算の手順

キャリブレーションされていない計算の手順

キャリブレーションされていない計算の手順では、キャリブレーションテーブルは必要ありません。

面積 % および高さ %

面積 % の計算手順では、分析における各ピークの面積は、すべてのピークの面積の合計に対する割合としてレポートされます。面積 % は、前もってキャリブレーションする必要がなく、検出器の限度内で注入されたサンプルの量によって異なります。レスポンスファクタは使用されません。すべての成分が検出器の中で等しく反応し、溶出された場合、面積 % は成分の相対アmountの適切な近似値を提供します。

面積 % は、定性的な結果が重要な場合、および他のキャリブレーション手順に必要なキャリブレーションテーブルを作成するための情報を生成するのに使用されます。

高さ % の計算手順では、分析における各ピークの高さは、すべてのピークの高さの合計に対する割合としてレポートされます。

キャリブレーションされた計算の手順

外部標準 (ESTD)、標準化、および内部標準 (ISTD) の計算では、レスポンスファクタが必要で、そのためキャリブレーションテーブルが使用されます。キャリブレーションテーブルは、選択した手順によって、選択した単位へのレスポンスの変換を指定します。

ESTD 計算

ESTD 手順は、基本的な定量の手順で、キャリブレーションおよび未知のサンプルの両方が同じ条件のもと分析されます。未知のサンプルの結果は、その後キャリブレーションサンプルの結果と比較され、未知のサンプルのアマウントが計算されます。

ESTD 手順では、ISTD 手順とは異なり、絶対レスポンスファクタが使用されません。キャリブレーションからレスポンスファクタが取得され、その後保存されます。引き続きサンプルが分析される中で、これらのレスポンスファクタを測定されたサンプルアマウントに適用することにより、成分のアマウントが計算されます。注入サイズの変動やサンプル前処理を補正するための標準試料がサンプル中にないため、分析間でサンプル注入サイズに再現性があるかを確認します。

ESTD レポートが準備される際、未知のサンプルの中の特定の化合物のアマウントの計算が、次の 2 つのステップで行われます。

- 1 この化合物のキャリブレーションポイントを通る曲線についての式は、[キャリブレーション設定] または [検量線] ダイアログ ボックスで指定されたフィットの種類を使用して計算されます。
- 2 未知のサンプル内の化合物のアマウントは、下で説明する式を使用して計算されます。このアマウントはレポートで表示されるか、レポートされる前に、倍率、希釈率、またはサンプルアマウントの値により呼び出された追加の計算で使用される可能性があります。

ESTD レポートが選択された場合、化合物の絶対アマウント x を計算するのに使用された式は次のとおりです。

$$\text{Absolute Amt of } x = \text{Response}_x \cdot RF_x \cdot M \cdot D$$

変数の意味は次のとおりです。

Response_x は、ピーク x のレスポンスです。

RF_x は、成分 x のレスポンスファクタで、次のように計算されます。

$$RF_x = \frac{\text{Amount}_x}{\text{Response}_x}$$

M は、倍率です。

D は、希釈率です。

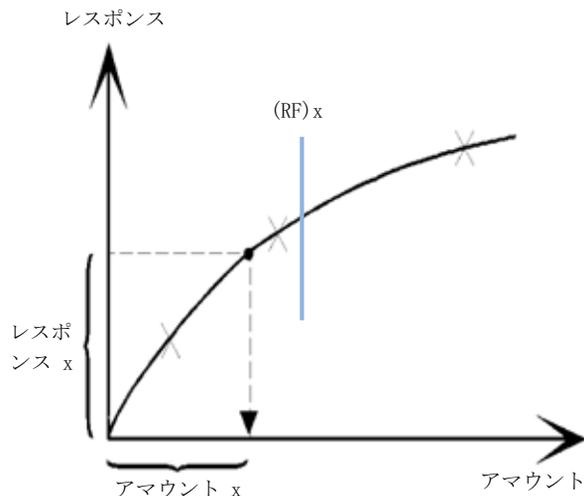


図 28 レスポンスファクタ

倍率および希釈率は、[キャリブレーション設定]または[サンプル情報]ダイアログボックスのいずれかから読み込まれます。

ESTD% レポートが選択され、サンプルアmountがゼロでない場合は、成分 x の相対アmount (%) は次のように計算されます。

$$\text{Relative Amt of } x = \frac{[\text{Absolute Amt of } x] \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

変数の意味は次のとおりです。

x の絶対アmountは、上の ESTD 計算のところで示してあります。

シングルラン用に、サンプルアmountが、[サンプル情報]、または[キャリブレーション設定]から取得されます。サンプルアmountがゼロの場合は、ESTD が計算されます。

補正 % 計算

ノーマライゼーション方式では、異なるサンプル成分に対して検出器の感度に発生する変化を補正するために、ピーク面積 (または高さ) にレスポンスファクタが適用されます。

Norm% レポートは、化合物の絶対アmountよりも相対アmountを計算する追加ステップがある点を除いて、ESTD レポートと同じように計算されます。

補正 % レポートには、面積 % および高さ % レポートと同様の欠点があります。全体のピーク面積に影響を及ぼす変更によって、各個別ピークの濃度計算に影響が及びます。ノーマライゼーションレポートは、重要なすべての成分が溶出され統合された場合のみ使用される必要があります。選択されたピークをノーマライゼーションレポートから除外すると、サンプル内のレポート結果が変更されます。

成分 x の補正 % を計算するのに使用される式は次のものです。

$$\text{Norm\% of } x = \frac{\text{Response}_x \cdot RF_x \cdot 100 \cdot M \cdot D}{\sum(\text{Response} \cdot RF)}$$

変数の意味は次のとおりです。

レスポンス_x	ピーク x の面積 (または高さ)
RF_x	レスポンスファクタ
$S(\text{Response} \cdot RF)$	ピーク x を含むすべてのピークに対する $(\text{Response } RF)$ の積のすべての合計
M	乗数
D	希釈率

倍率および希釈率は、[キャリブレーション設定] または [サンプル情報] ダイアログボックスのいずれかから読み込まれます。

ISTD 計算

ISTD 手順では、ノーマライジングファクタとして働く成分の既知のアマウントを追加することにより、ESTD 方式の欠点が排除されます。この内部標準の成分は、キャリブレーションおよび未知のサンプルの両方に追加されます。

ソフトウェアは、メソッドの中に保存されている以前のキャリブレーションから取得した適切なレスポンスファクタを取り込みます。分析による内部標準の濃度およびピーク面積または高さを使用して、ソフトウェアは成分の濃度を計算します。

内部標準として使用される化合物は、化学的にもリテンション/マイグレーションタイムにおいてもキャリブレーション化合物に類似していなければなりません。クロマトグラフ的には識別できなければなりません。

表 13 ISTD 手順

利点	欠点
サンプルサイズバリエーションは重要ではない。	内部標準をすべてのサンプルに追加する必要があります。
機器のドリフトは、内部標準で補正できる。	
ISTD と未知のサンプルの化学的挙動が類似している場合、サンプルの準備の影響が最小限に抑えられる。	

ISTD 手順が非直線形の特徴をもったキャリブレーションに使用される場合、計算方式の結果発生するエラーが組織的なエラーを引き起こさないように注意する必要があります。マルチレベルキャリブレーションでは、ISTD 化合物のアマウントを一定、つまり、化合物のキャリブレーションカーブが非直線形の場合、すべてのレベルで同じにする必要があります。

内部標準分析では、対象となる成分のアマウントは、2つのピークの比率によって内部標準成分のアマウントと関係しています。

ツーランの ISTD キャリブレーションでは、未知のサンプルでの特定の化合物の補正されたアマウント比の計算は、次のような段階により実行されます。

分析 1: キャリブレーション

- 1 キャリブレーションポイントは、キャリブレーション テーブルの特定のピークの、レベルごとのアマウント比とレスポンス比の計算によって作成します。

アマウント比は、任意のレベルについての内部標準のアマウントによって分割される化合物のアマウントです。

レスポンス比は、任意のレベルについての内部標準の面積または高さによって分割される化合物の面積です。

- 2 キャリブレーションポイントを通る曲線についての式は、[キャリブレーション設定] または [検量線] ダイアログ ボックスで指定されたカーブ フィットの種類を使用して計算されます。

$$RF_x = \frac{\text{Amount Ratio}}{\text{Response Ratio}}$$

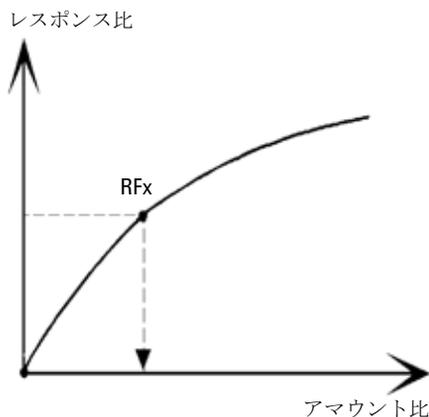


図 29 アマウント比

分析 2: 未知サンプル

- 1 未知のサンプルでの化合物のレスポンスは、未知のサンプルでの内部標準のレスポンスで分割され、未知のレスポンス比を提供します。
- 2 未知のサンプルのアマウント比は、上記のステップ 2 の検量線の式およびサンプル内の ISTD の実アマウントを使用して計算されます。

キャリブレーションピークの ISTD 計算

シングルレベルキャリブレーション用に、キャリブレーションされた成分 x の実アmountを計算するのに使用される式は、次のようなものです。

$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

$$\text{Actual Amount of } x = \text{RF}_x \cdot \{\text{Response Ratio}\}_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

変数の意味は次のとおりです。

RF_x は、化合物 x のレスポンスファクタです。

ISTD の実アmount (実アmount) は、[キャリブレーション設定] または未知のサンプルに追加された内部標準向けの [サンプル情報] ダイアログボックスに入力された値です。

M は、倍率です。

D は、希釈率です。

ISTD% レポートタイプが選択された場合、成分 x の相対 (%) アmountの計算には次の式が使用されます。

$$\text{Relative Amt of } x = \frac{\{\text{Absolute Amt of } x\} \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

キャリブレーションされていないピークの ISTD 計算

同定されていないピークのアmountを計算するのに使用されるレスポンスファクタを定義するには、2通りの方法があります。

- 1 [キャリブレーション設定] ダイアログボックスの [レスポンスファクタ固定] ボックスで設定される固定レスポンスファクタを使用します。ISTD 補正を指定することで、固定レスポンスファクタの補正を選択できます。

$$\text{Actual Amount of } x = \text{RF}_x \cdot \{\text{Response Ratio}\}_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

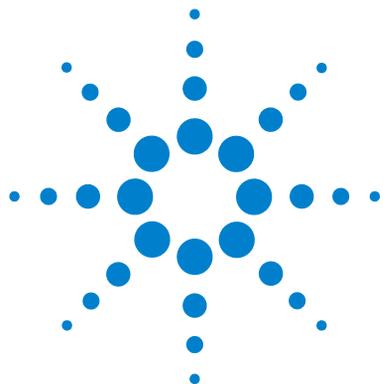
$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

RF_x は、[キャリブレーション設定] ダイアログボックスで設定されるレスポンスファクタです。

これらの式からは、ISTD レスポンス内にある変動が未知の成分の定量を補正するのに使用されることがわかるはずです。

- 2 キャリブレーションピークを使用します。これにより、すべてのピークの定量に確実に同じレスポンスファクタが使用されるようになります。選択された化合物およびキャリブレーションされていないピークのレスポンスファクタは、すべてのリキャリブレーションの際に補正されます。キャリブレーションされたピークのレスポンスファクタが変化した場合、キャリブレーションされていないピークのレスポンスファクタもまた、同様のアmountだけ変化します。キャリブレーションテーブルがすでに設定されている場合、[キャリブレーション設定] ダイアログボックスにある [既存化合物使用] コンボボックスから化合物を選択できます。

キャリブレーションされていないピーク x の実アmountを計算するのに使用される式を上を示しています。



6

ピーク同定

ピーク同定とは	128
ピークマッチングルール	129
ピーク同定のタイプ	130
絶対リテンション/マイグレーションタイム	130
補正リテンション/マイグレーションタイム	130
ピーククオリファイア	130
アマウントリミット	131
絶対リテンション/マイグレーションタイム	132
補正済みリテンション/マイグレーションタイム	134
単一のリファレンスピーク	134
複数のリファレンスピーク	135
ピーククオリファイア	136
シグナル相関	137
クオリファイアバリフィケーション	137
クオリファイア比の計算	137
同定プロセス	139
リファレンスピークの検出	139
ISTD ピークの検出	139
残りのキャリブレーションピークの検出	140
未確認のピークの分類	140

本章では、ピーク同定のコンセプトについて説明します。



ピーク同定とは

ピーク同定は、未知のサンプルの中の成分を、そのクロマトグラフ / 電気泳動特性に基づき、よく知られたキャリブレーションサンプルの分析と比較することによって、識別することです。

分析メソッドで定量が要求されている場合には、これらの成分の同定は、定量のための必要なステップとなります。対象とする各成分のシグナル特性は、メソッドのキャリブレーションテーブルに保存されます。

ピーク同定プロセスの機能は、シグナルの各ピークを、キャリブレーションテーブルに保存されたピークと比較することです。

キャリブレーションテーブルには、対象とする成分の、予想されるリテンション / マイグレーションタイムが含まれています。キャリブレーションテーブルのピークのリテンション / マイグレーションタイムと一致したピークには、その成分の属性、たとえば名前やレスポンスファクタが与えられます。キャリブレーションテーブルのどのピークとも一致しなかったピークは、不明として分類されます。このプロセスは、次のものによってコントロールされます。

- タイムリファレンスピークとして指定されたピークの、キャリブレーションテーブルでのリテンション / マイグレーションタイム、
- リファレンスピークに指定されたリテンション / マイグレーションタイムウィンドウ、
- タイムリファレンスピークではないキャリブレーションピークの、キャリブレーションテーブルでのリテンション / マイグレーションタイム、
- リファレンス以外のピークに指定されたリテンション / マイグレーションタイムウィンドウ、および
- 正しい比を持つ、付加的な所定のピークの存在。

ピークマッチングルール

ピークマッチングプロセスには、次の規則が適用されます。

- サンプルのピークが、キャリブレーションテーブルの成分ピークのピークマッチングウィンドウ内に入った場合には、ピークにはその成分の属性が与えられます。
- 複数のサンプルのピークがピークマッチングウィンドウ内に入った場合には、予想されるリテンション/マイグレーションタイムに最も近いピークが、その成分として同定されます。
- ピークがタイムリファレンスまたは内部標準の場合には、ウィンドウ内の最大のピークがその成分として同定されます。
- ピーククオリファイアも使用されている場合には、成分のピークを同定するために、ピーク比がピークマッチングウィンドウと組み合わせられます。
- ピークがクオリファイアピークの場合には、化合物のメインのピークに最も近い測定ピークが同定されます。そして
- サンプルピークがどのピークマッチングウィンドウにも入らなかった場合には、不明な成分として一覧表示されます。

ピーク同定のタイプ

サンプルのピークを ChemStation ソフトウェアのキャリブレーションテーブル内のピークとマッチさせるためには、いくつかの技法があります。

絶対リテンション/マイグレーションタイム

サンプルピークのリテンション/マイグレーションタイムは、キャリブレーションテーブル内の各成分に指定された、予想リテンション/マイグレーションタイムと比較されます。

補正リテンション/マイグレーションタイム

成分ピークの予想リテンション/マイグレーションタイムは、1つまたは複数のピークの実際のリテンション/マイグレーションタイムを使用して補正され、マッチングプロセスはこの補正された(相対)リテンション/マイグレーションタイムを使用して行われます。リファレンスピークは、キャリブレーションテーブル内で指定されている必要があります。

ピーククオリファイア

リテンション/マイグレーションタイムでピークを同定することに加えて、ピーククオリファイアを使用すれば、より正確な結果を得ることができます。リテンション/マイグレーションタイムウィンドウ内に複数のピークが存在する場合には、正しい化合物を同定するために、クオリファイアを使用する必要があります。

アマウントリミット

[化合物詳細] ダイアログボックスで定義されたアマウントリミットは、ピーク同定をクオリファイするために使用されます。同定された化合物のアマウントがアマウントリミット内であれば、ピークの同定がレポートに記述されます。

6 ピーク同定

絶対リテンション/マイグレーションタイム

絶対リテンション/マイグレーションタイム

リテンション/マイグレーションタイムウィンドウは、ピークマッチングプロセスで使用されます。リテンション/マイグレーションタイムウィンドウは、予想されるピークのリテンション/マイグレーションタイムを中心とするウィンドウです。このウィンドウ内に入ったサンプルは、成分同定の候補と見なされます。

132 ページ 図 30 は、1.809 ～ 2.631 分のピーク 2 のリテンション/マイグレーションタイムウィンドウを示しています。ここで、予想リテンション/マイグレーションタイムは 2.22 分です。ピーク 2 には 2 つの可能性があり、一方は 1.85 分で、もう一方は 2.33 分です。予想ピークがリファレンス以外のピークの場合には、予想リテンション/マイグレーションタイムの 2.22 分に近い方のピークが選択されます。

予想ピークがタイムリファレンスまたは内部標準の場合には、ウィンドウ内の最大のピークが選択されます。

どちらの場合にも、ChemStation は 2.33 分のピークを選択します。2 つのピークが同じサイズの場合には、ウィンドウの中心に近いほうのピークが選択されます。

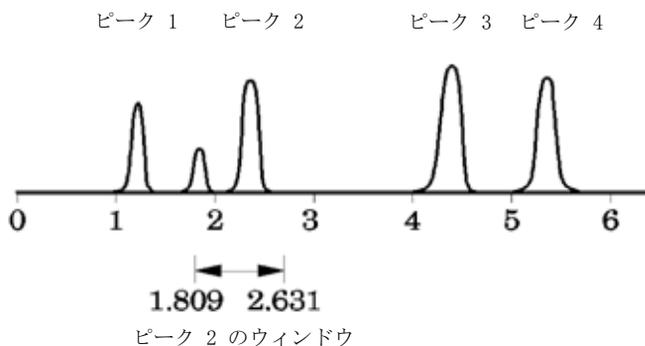


図 30 リテンション/マイグレーションタイムウィンドウ

ピークの同定には、3 種類のウィンドウが使用されます。

- リファレンスピークウィンドウは、リファレンスピークにのみ適用されません。

- リファレンス以外のピークウィンドウは、キャリブレーションされた他のすべてのピークに適用されます。そして
- [化合物詳細]** ダイアログボックスで設定された、個々の成分の固有のウィンドウ値です。

このウィンドウのデフォルト値は、[キャリブレーション設定] ダイアログボックスで入力されます。ピークマッチングウィンドウを定義するリテンション / マイグレーションタイムの両側の幅は、絶対ウィンドウとパーセンテージウィンドウの和です。

5%のウィンドウは、ピークのリテンション / マイグレーションタイムが、そのピークのキャリブレーションされたリテンション / マイグレーションタイムの下 2.5% から上 2.5% までの間に入っていないなければならないことを意味しています。たとえば、キャリブレーション分析でリテンション / マイグレーションタイムが 2.00 分のピークは、その後の分析では 1.95 ~ 2.05 分に現れる必要があります。

たとえば、絶対ウィンドウが 0.20 分で、相対ウィンドウが 10% の場合には、リテンション / マイグレーションタイムウィンドウは 1.80 ~ 2.20 分になります。

$$1.80 \text{ 分} = 2.00 \text{ 分} \cdot 0.10 \text{ 分} (0.20 \text{ 分} / 2) \cdot 0.10 \text{ 分} (2.00 \text{ 分の } 10\%)$$

$$2.20 \text{ 分} = 2.00 \text{ 分} + 0.10 \text{ 分} (0.20 \text{ 分} / 2) + 0.10 \text{ 分} (2.00 \text{ 分の } 10\%)$$

補正済みリテンション/マイグレーションタイム

絶対リテンション/マイグレーションタイムを使ってピークをマッチするのは、簡潔な方法ですが常に信頼できるとは言えません。個々のリテンション/マイグレーションタイムは、条件やテクニックにおける小さな変更によって変化します。その結果、ピークマッチングウィンドウ外にピークが発生し、認識されません。

絶対リテンション/マイグレーションタイムで発生する避けられないばらつきに対処するテクニックは、1つ以上のリファレンスピークに対する成分のリテンション/マイグレーションタイムを表すことです。

リファレンスピークは、キャリブレーションテーブル内でそのピークの参照列内のエントリとして認識されます。相対ピークマッチングテクニックは、サンプルピークのリテンション/マイグレーションタイム内のシフトを相殺する目的でピークマッチングウィンドウの位置を変更するために、リファレンスピークまたはピークを使用します。

メソッド内に定義されたリファレンスピークがない、あるいは ChemStation が実行中に少なくともリファレンスピークを1つも識別できない場合、ソフトウェアは識別のために絶対リテンション/マイグレーションタイムを使用します。

単一のリファレンスピーク

リファレンスピークのリテンション/マイグレーションタイムウィンドウは、そのリテンション/マイグレーションタイムの周囲に作成されます。このウィンドウ内の最大のピークが、リファレンスピークとして同定されます。キャリブレーションテーブル内のその他のピークの予想リテンション/マイグレーションタイムは、リファレンスピークの予想リテンション/マイグレーションタイムと実際のリテンション/マイグレーションタイムとの比に基づいて補正されます。

複数のリファレンスピーク

単一のリファレンスピークによるリテンション/マイグレーションタイムの補正は、予想リテンション/マイグレーションタイムと実際のリテンション/マイグレーションタイムとのずれが、分析が進むとともに、均一そして線形に変化するという仮定に基づいています。長い分析ではしばしば、リテンション/マイグレーションタイムの変化は不均一です。そのような場合には、分析中に間隔を置いて、複数のリファレンスピークを使用すれば、より良い結果が得られます。この場合、シグナルは別個のゾーンに分けられます。それぞれのゾーン内では、リテンション/マイグレーションタイムのずれは均一であるものの、変化率はゾーンごとに異なると仮定します。

ノート

複数のリファレンスピークのリテンションタイムが近すぎ、分析全体に分散していない場合には、時間補正アルゴリズムはうまく働かないことがあります。

ピーククオリファイア

1 つ以上のシグナルで成分を検出できます。複数の検出器または複数のシグナルを生成できる検出器を使用するすべての形態のクロマトグラフィに当てはまることですが、多波長またはダイオードアレイ検出器を使用する液体クロマトグラフィでは、マルチシグナルの検出が最も一般的に使用されています。通常は、メインピークがキャリブレーションテーブル内で定義される際に最大吸光度に近い波長が使用されるように、それらの検出器は設定されています。136 ページ 図 31 では、 λ_1 です。

シグナルとして取り込んだ他の 2 つの波長は、ピーククオリファイアとして使用できます。図では、これらは λ_2 および λ_3 です。

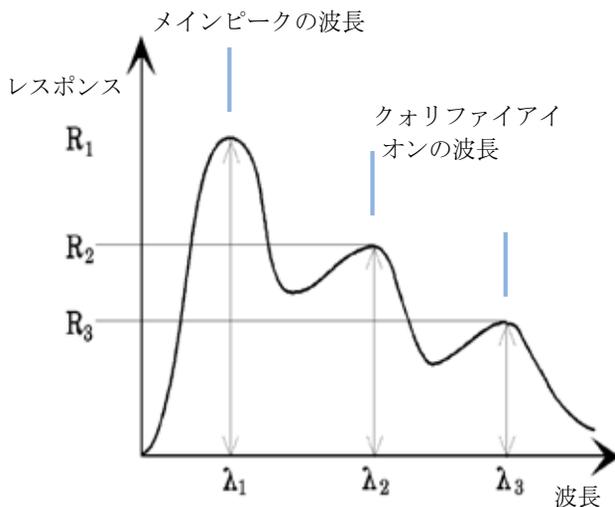


図 31 ピーククオリファイア

化合物のピークは、複数の波長に一定のレスポンス比を持ちます。

クオリファイアピークレスポンスは、メインピークレスポンスの割合の一部です。同定詳細オプションが選択されていると、予測レスポンスの許容範囲を決定するリミットをキャリブレーションテーブルで設定できます。メインピーククオリファイア λ_1 と、たとえば λ_3 などのクオリファイアピーク間の比率が許容リミットの範囲内であれば、化合物同一性が確認可能です。

シグナル相関

シグナル相関とは、定義されたタイムウィンドウの異なる検出器シグナルで測定された2つのピークを同じ化合物に割り当てることです。シグナル相関ウィンドウは、**_DaMethod** レジスタの **QuantParm** テーブル内にある **SignalCorrWin** パラメータによってコントロールされます。シグナル相関は、シグナル相関ウィンドウを **0.0** 分に設定すると無効になります (詳細については、『マクロプログラミングガイド』を参照してください)。シグナル相関がオフの場合、異なる検出器シグナルで同じリテンション/マイグレーションタイムで溶出しているピークは異なる化合物として扱われます。

LC、CE、CE/MS、および LC/MS データ用のデフォルトシグナル相関ウィンドウは **0.03** 分で、GC データ用は **0.0** 分です。

クォリファイアベリフィケーション

シグナル相関が有効化された場合、すべてのデータファイルタイプに対して、デフォルトでクォリファイアベリフィケーションが有効になります。メソッドの **定量パラメータ** テーブル内にある **UseQualifiers** フラグを設定すると、これを無効にできます (詳細については、『マクロプログラミングガイド』を参照してください)。シグナル相関がオフになると、クォリファイアベリフィケーションも無効になります。

クォリファイア比の計算

クォリファイアベリフィケーションが化合物に対して有効化されると、クォリファイアのサイズとメインピークのサイズの比が、キャリブレーションリミットに対して検証されます。サイズは、レポート条件の中の計算ベースの設定に従って、高さまたは面積を表します。

クォリファイアピークは、目標化合物と同じ方法でキャリブレーションできます。ユーザーが予想クォリファイア比を指定する必要はありません。予想クォリファイア比は自動的に計算されます。

両者とも化合物のリテンションタイムで測定されます。

QualTolerance パラメータは、クォリファイア比の許容範囲値を定義します。たとえば、 $\pm 20\%$ などです。

6 ピーク同定

ピーククオリファイア

キャリブレーションテーブルユーザーインタフェース (同定詳細) 内で許容値を設定でき、それは絶対比率で表します。

マルチレベルのキャリブレーションの場合、ChemStation は各キャリブレーションレベルの測定クオリファイア比に基づいて最小クオリファイア許容値を計算します。以下の式を使用して、最小クオリファイア許容値が計算されます。

$$\text{minimum qualifier tolerance} = \frac{\sum_{i=1}^i (q_i - \bar{q})}{\bar{q} \times i} \times 100$$

この式で q_i は、レベル i での測定クオリファイア比を表します。

同定プロセス

ソフトウェアは、ピークを同定しようとする際、積分データを 3 回検査します。

リファレンスピークの検出

最初の検査は、タイムリファレンスピークを同定します。ソフトウェアは、キャリブレーションテーブルの中でリファレンスピークのリテンション/マイグレーションウィンドウの範囲内にあるものを探す分析の中から、ピークリテンション/マイグレーションタイムを検出します。分析ピークのリテンション/マイグレーションタイムが、キャリブレーションテーブルピーク用に構築されたウィンドウの範囲内にある場合、その分析のピークがキャリブレーションテーブル内のリファレンスピークであると同定されます。

ウィンドウ内で複数のピークが検出された場合は、正のシグナルクオリファイアの一致 (設定されている場合) が後に続き、最大面積または高さを持つピークが、リファレンスピークとして選択されます。

各タイムリファレンスピークが検出されると、検出されたリテンション/マイグレーションタイムとキャリブレーションテーブル内に格納されている値との違いを使用して、キャリブレーションテーブル内の他のすべてのピークの予想リテンション/マイグレーションタイムが調整されます。

ISTD ピークの検出

2 回目の検査は、定義済み内部標準ピークを同定します。それらのピークが ISTD として同定されていない場合は、タイムリファレンスピークとして同定されます。ISTD ピークは、ピークリテンション/マイグレーションタイムウィンドウとピーククオリファイアにより同定されます。複数のピークが同じ ISTD ウィンドウ内で検出された場合は、最大のピークが選択されます。

残りのキャリブレーションピークの検出

3回目の検査は、キャリブレーションテーブルに一覧表示されている残りすべてのピークを同定します。キャリブレーションテーブル内の非リファレンスピークは、RT ウィンドウを使用して残りの分析ピークとマッチされます。

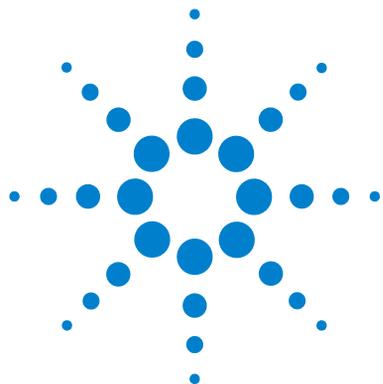
非リファレンスキャリブレーションピークは、それぞれキャリブレーションテーブル内に固有のリテンション/マイグレーションタイムを保持しています。これは、あらかじめ同定したタイムリファレンスピークに基づいた特定の分析のために調整されます。キャリブレーションピークのリテンション/マイグレーションタイムウィンドウは、キャリブレーションピークの補正済みリテンション/マイグレーションタイムに基づいて調整されます。

同じウィンドウ内に複数のピークが検出された場合は、予想リテンションタイム/マイグレーションタイムに最も近く、かつオプションのクオリファイア仕様に適合するリテンション/マイグレーションタイムを持つピークが選択されます。

未確認のピークの分類

同定されていないピークが残っている場合、それらは不明なピークに分類されます。ChemStation は、同じ化合物に属する不明なピークをグループ化しようと試みます。複数のシグナルでピークが検出された場合は、各シグナル内で同じリテンション/マイグレーションタイムを持つピークが1つの化合物にグループ化されます。

[キャリブレーション設定] ダイアログボックス内で対応する選択がなされた場合、不明のピークは報告されます。



7 キャリブレーション

用語の定義	142
キャリブレーションテーブル	143
検量線	144
未知サンプル	146
キャリブレーションの種類	147
シングルレベルキャリブレーション	147
マルチレベルキャリブレーション	148
キャリブレーション範囲	150
検量線の近似	150
原点処理	150
グループキャリブレーション	154
ピーク和	155
リキャリブレーション	156
リキャリブレーションとは	156
なぜリキャリブレーションするのか?	156
マニュアルリキャリブレーション	156
ピーク和を使用したリキャリブレーション	157
リキャリブレーションオプション	157
リキャリブレーション方法	158
未確認のピークのリキャリブレーション	158

本章では、ChemStation で行われるキャリブレーションについて説明します。



用語の定義

キャリブレーション キャリブレーションとは、特別に容易されたキャリブレーションサンプルを注入することで、成分の絶対濃度を計算するために使用されるレスポンスファクタを決定するプロセスのことです。同定のためには、キャリブレーションテーブルも使用されます。「ピーク同定」 [127 ページ](#)  を参照してください。

化合物 化合物は、マルチシグナルキャリブレーションの場合は複数のピークから構成されることがありますが、通常はシグナルごとに 1 つです。シングルシグナルキャリブレーションでは、化合物は 1 つのピークを参照します。

キャリブレーションレベル 1 つのキャリブレーションレベルは、1 つのキャリブレーションサンプル濃度の複数のキャリブレーションポイントから構成されます。マルチシグナルキャリブレーションでは、いくつかのシグナルにわたってキャリブレーションポイントを区別できます。

キャリブレーションポイント キャリブレーションポイントは、検量線上のピークに対応するアマウント / レスポンス比を参照します。

キャリブレーションサンプル キャリブレーション標準または標準混合物とも言われるキャリブレーションサンプルは、定量する化合物の既知アマウントを含むサンプルです。ソフトウェアでは、キャリブレーション標準バイアルからの注入をキャリブレーションサンプルと呼びます。

キャリブレーションサンプルは、化学薬品供給業者から購入するか、正確に計量した純粋化合物の一部を使用することができます。キャリブレーションサンプル内の化合物のアマウントは、通常 ng/μ を単位とする濃度で一般的に表現されます。

キャリブレーションテーブル

キャリブレーションテーブルは、選択した計算手順に従って決定した、単位へのピーク面積または高さの変換を指定します。このテーブルは、キャリブレーション分析からのリテンション/マイグレーションタイムのリストを含みます。これらのリテンション/マイグレーションタイムは、サンプル分析から得られたピークのリテンション/マイグレーションタイムと比較されます。一致するものがあれば、サンプル内のピークは、キャリブレーションテーブル内にある成分と同じものを示しているとみなされます。「ピーク同定」127 ページ [図](#)を参照してください。分析中またはレポートの生成中、各ピーク用に入力されたアmountは、レポート用に選択された計算手順用の量を計算するのに使用されます。キャリブレーションテーブルを作成するのに必要な情報の種類とアmountは、目的とする計算手順の種類によって異なります。

キャリブレーションテーブルを作成するには、次の情報が必要です。

- キャリブレーション混合成分の各ピークのためのリテンション/マイグレーションタイム
- キャリブレーション混合物を作成するのに使用される各成分のアmount (一貫した単位で表したもの)

検量線

検量線は、複数のサンプルから取得された 1 つの化合物の Amount およびレスポンスデータをグラフで表したものです。

通常は、キャリブレーションサンプルの一部が注入され、シグナルが 1 つ取得され、144 ページ 図 32 と同じように、ピークの面積または高さを計算してレスポンスが決定されます。

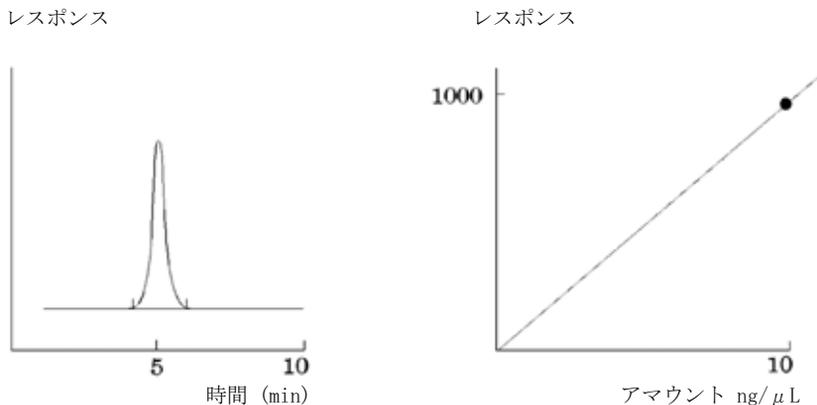


図 32 キャリブレーションサンプル (10 ng/μL) シグナルおよび検量線

相関係数が、検量線のグラフとともに表示されます。相関係数は、回帰係数の平方根で、データポイントと検量線間の相関を示します。係数値は、小数点以下第 3 位まで表され、範囲は次のとおりです。

0.000 ~ 1.000

変数の意味は次のとおりです。

0.000 = 一致なし

1.000 = 完全な一致

各キャリブレーションレベルに相対残差が表示されます。以下の式を使用して計算します。

$$relRES = \frac{Response_{calibrated} - Response_{calculated}}{Response_{calculated}} \cdot 100$$

変数の意味は次のとおりです。

relRES = 百分率での相対残差

計算されたレスポンスは、検量線上のポイントを表します。

レポートに印刷されている残差標準偏差は、キャリブレーションテーブルおよびカーブの印刷を選択した際に、次の式を使用して計算されます。

$$ResSTD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Resp_{calibratedi} - Resp_{calculatedi})^2}{n - 2}}$$

変数の意味は次のとおりです。

ResSTD = 残差標準偏差

Resp_{calibratedi} = ポイント i に対するキャリブレーションレスポンス

Resp_{calculatedi} = ポイント i に対する計算されたレスポンス

n = キャリブレーションポイントの数

未知サンプル

未知サンプルとは、定量する化合物のアマウントがどれぐらい含まれているかが不明なサンプルのことです。

未知サンプルに含まれる化合物の割合を知るには、次のことが必要です。

- 化合物の検量線を作成する
- 未知サンプルの一部を注入し、およびキャリブレーションサンプルとまったく同じ方法で分析を実行する
- 化合物のアマウントが不明なために生じるピークの面積または高さを表すレスポンスを、シグナルから決定する
- 検量線を使用して、未知サンプル内の化合物のアマウントを計算する

たとえば、未知サンプル内のピークの面積が 500 である場合、[146 ページ 図 33](#) に示した検量線を使用して、未知サンプル内のアマウントは $5 \text{ ng}/\mu\text{L}$ と決定できます。

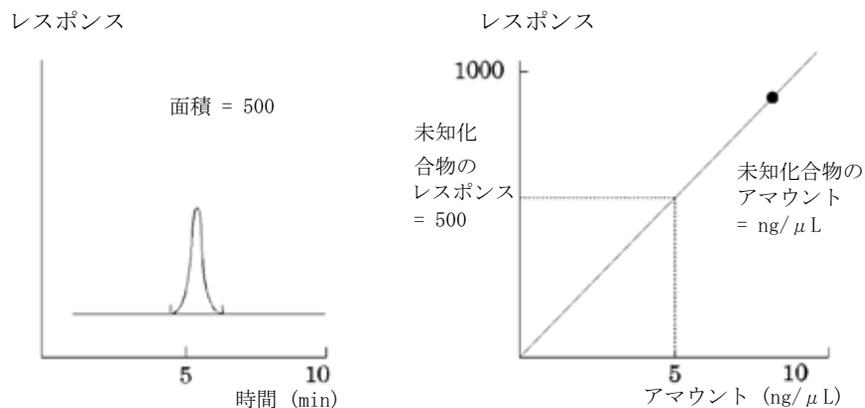


図 33 未知サンプルからのシグナルおよび検量線

キャリブレーションの種類

ChemStation には、シングルレベルおよびマルチレベルキャリブレーションという、2 種類のキャリブレーションがあります。

シングルレベルキャリブレーション

147 ページ 図 34 に示した検量線には、1 つのポイント、つまり 1 つのレベルが含まれています。シングルレベル検量線では、検出器のレスポンスは、対象となるサンプル用の濃度の実用範囲に対して、直線になると仮定されます。任意の成分ピークのレスポンスファクタは、ポイントと原点とを結んだ検量線の傾きを逆にする事で得られます。シングルレベルキャリブレーションの欠点は、サンプル濃度に対する検出器レスポンスが直線になると仮定され、濃度対レスポンスのプロット上で原点を通過するという点です。これは常に正確であるとは言えず、不正確な結果につながる可能性があります。

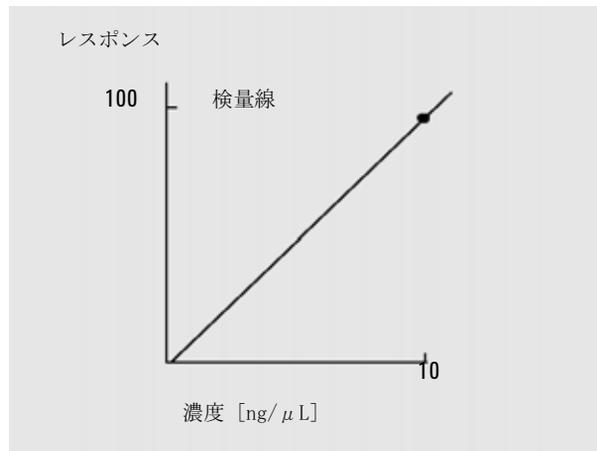


図 34 シングルレベル検量線

正確な定量結果を得るには、検量線に少なくとも 2 つのレベルがなければなりません。これらのレベルは、未知サンプル内で見つかることが予想されるアマウントを含んでいる必要があります。

7 キャリブレーション

キャリブレーションの種類

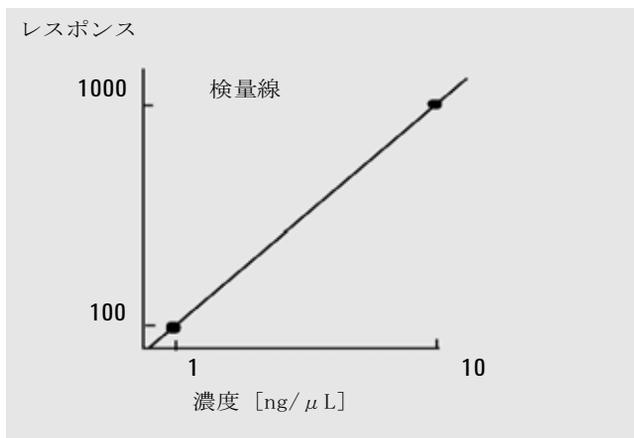


図 35 2 レベル検量線

たとえば、化合物を定量する際に、未知サンプルが $1 \sim 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ の範囲であると予想される場合は、検量線は 148 ページ 図 35 のように少なくとも 2 レベルを持つ必要があります。

アマウントリミット

ChemStation では、各成分に対する絶対アマウントに基づいて有効な定量範囲を定義することができます。

マルチレベルキャリブレーション

ある成分が直線のレスポンスを表していると仮定したり、キャリブレーション範囲の直線性を確認するのに正確さに欠ける場合には、マルチレベルキャリブレーションを使用できます。各キャリブレーションレベルは、特定の成分濃度を持つキャリブレーションサンプルに対応します。キャリブレーションサンプルは、未知サンプル内で予想される濃度範囲内で、各成分濃度が変化するように準備する必要があります。これにより、検出器のレスポンスが濃度に従って変化することが可能になり、それに応じてレスポンスファクタを計算できます。

このマルチレベル検量線には 3 つのレベルがあり、原点までの直線の近似が表示されます。この原点までの直線の近似方式は、シングルポイントメソッドキャリブレーションに似ています。濃度に対する検出器のレスポンスは直線だ

と仮定されます。2つのキャリブレーションタイプの違いは、直線の近似を使用すると、検出器のレスポンスの slope が各レベルに1つずつ、複数のポイントに基づく最適な近似により決定できるという点です。

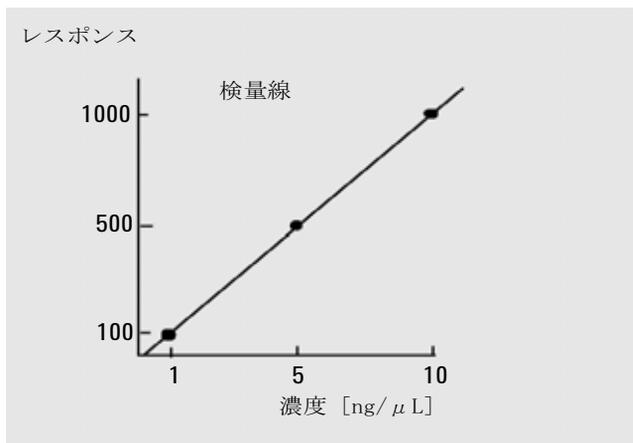


図 36 3 レベルのマルチレベル検量線

この曲線を作成するために使用される情報の表形式である該当のキャリブレーションテーブルは、149 ページ 図 表 14 の表と同じように見えるかもしれませんが。

表 14 キャリブレーションテーブル

レベル	アmount (ng/μL)	レスポンス (面積カウント)
1	1	100
2	5	500
3	10	1000

この例では、3つのレベルを生成するのに使用されたキャリブレーションサンプルは、1、2、および3と識別されています。

キャリブレーション範囲

各マルチレベルキャリブレーションは、キャリブレーションサンプルで使用されている濃度範囲にわたって有効です。検量線の外挿は、特にそれが直線ではない場合は、近似値に過ぎません。各化合物用の有効なキャリブレーションは、[化合物の詳細]ダイアログボックスで定義できます。その化合物の各エントリは、上限および下限を表すことができます。これらの限界を超えると、注釈としてレポートが付けられます。

検量線の近似

さまざまな検量線の近似計算が、マルチレベルキャリブレーションに使用できます。

- 折れ線
- 直線
- 対数
- 累乗
- 指数
- 二次式
- 三次式
- 平均 (レスポンス / アマウント)

非直線の近似

サンプル濃度内の変化に対する検出器のレスポンスは、直線ではない場合があります。このような種類の分析には、直線回帰キャリブレーションメソッドは適切ではなく、マルチレベルキャリブレーション計算を使用する必要があります。

原点処理

レスポンスカーブがプロットされる際の原点の処理方法には次の4つがあります。

- 原点を無視

- 原点を含める
- 原点を強制する
- 原点をつなぐ

検量線に原点を含めるように強制するには、キャリブレーションポイントが、第1象限から第3象限に原点を中心として対称に置かれます。回帰の計算にすべてのポイントを使用すると、結果として生じる検量線が原点を確実に通過するようになります。これは、151 ページ 図 37 でも説明されます。

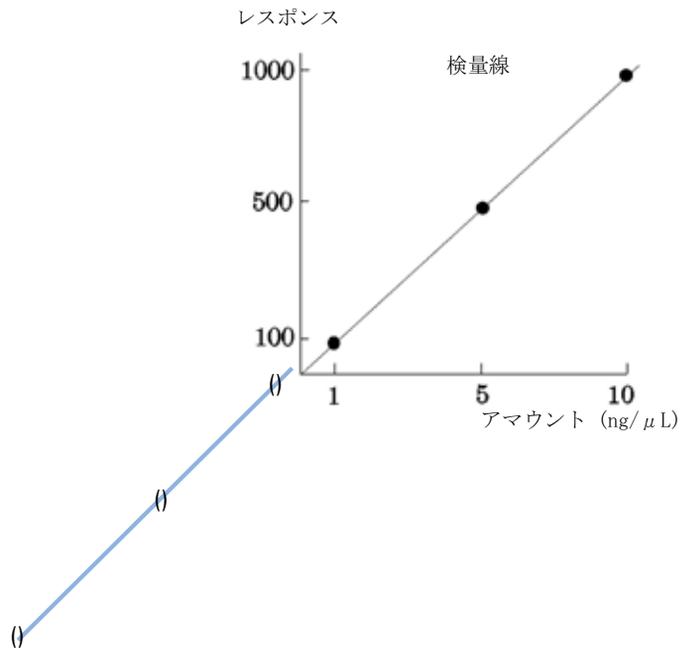


図 37 原点を含むよう強制

検量線の近似および原点処理の詳細については、オンラインヘルプファイルを参照してください。

キャリブレーションポイントの重み付け

デフォルトの検量線を設定する場合、カーブを生成するさまざまなキャリブレーションポイントに、相対的な重み付け(または重要性)を指定できます。

次の重み付けオプションを選択できます。

7 キャリブレーション

キャリブレーションの種類

重み付け	説明
均等	すべてのキャリブレーションポイントが同等の重み付けを持ちます。
直線 (アマウント)	アマウント x のキャリブレーションポイントは、最小アマウントに対して $1/x$ で標準化された重みを持つので、最大の重み付けは 1 です。標準化は、重み付けを最小アマウントと掛け合わせることで行われます。たとえば、アマウント x のキャリブレーションポイントの重みは $(1/x) \times a$ です。ここで a は、キャリブレーション標準で調製されたキャリブレーション済み化合物の最小アマウントです。 原点が含まれると、他のキャリブレーションポイントの重み付けの平均値が割り当てられます。
直線 (レスポンス)	レスポンス y のキャリブレーションポイントは、最小レスポンスに対して $1/y$ で標準化された重みを持つので、最大の重み付けは 1 です。標準化は、重み付けを最小レスポンスと掛け合わせることで行われます。たとえば、アマウント y のキャリブレーションポイントの重みは、 $(1/y) \times b$ です、ここで b は、キャリブレーション標準で調製されたキャリブレーション済み化合物の最小アマウントに対応するレスポンスです。 原点が含まれると、他のキャリブレーションポイントの重み付けの平均値が割り当てられます。
二次式 (アマウント)	アマウント x のキャリブレーションポイントは、最小アマウントに対して $1/x^2$ で標準化された重みを持つので、最大の重み付けは 1 です。標準化は、重み付けを最小アマウントと掛け合わせることで行われます。たとえば、アマウント x のキャリブレーションポイントの重みは $(1/x^2) \times a^2$ です。ここで a は、キャリブレーション標準で調製されたキャリブレーション済み化合物の最小アマウントです。
二次式 (レスポンス)	レスポンス y のキャリブレーションポイントは、最小レスポンスに対して $1/y^2$ で標準化された重みを持つので、最大の重み付けは 1 です。標準化は、重み付けを最小レスポンスと掛け合わせることで行われます。たとえば、レスポンス y のキャリブレーションポイントの重みは、 $(1/y^2) \times b^2$ です、ここで b は、キャリブレーション標準で調製されたキャリブレーション済み化合物の最小アマウントに対応するレスポンスです。
キャリブレーション数	キャリブレーションポイントは、ポイントのリキャリブレーション回数に従って重み付けされます。標準化は行われません。

二次式キャリブレーションポイントの重み付けは、たとえば、キャリブレーションポイントの散らばりに合わせて調整するのに使用できます。これにより、一般的に比較的正確に計測できる原点により近いキャリブレーションポイントが、原点からさらに遠く散らばっている可能性のあるキャリブレーションポイントよりも高い重み付けを得るようになります。

使用するキャリブレーションポイントの重み付けの種類を決定するには、メソッドの要件を基礎に考える必要があります。

グループキャリブレーション

グループキャリブレーションは、個々の濃度は不明だが、化合物グループの濃度の合計が分かっている場合の化合物に適用できます。それはたとえば、異性体などです。全体の化合物グループがキャリブレーションされます。次の式が使用されます。

キャリブレーション

$$Conc_{AB} = RF_A \cdot Response_A + RF_B \cdot Response_B$$

変数の意味は次のとおりです。

$Conc_{AB}$ は、化合物 A および B から構成される化合物グループの濃度

$Response_A$ は、化合物 A の面積 (または高さ)

RF_A は、レスポンスファクタ

化合物グループ内の化合物には、同等のレスポンスファクタを仮定します。

$$RF_A = RF_B$$

そのため、化合物グループ内の化合物の濃度は、次の式で計算されます。

$$Conc_A = \frac{Conc_{AB} \cdot Resp_A}{Resp_A + Resp_B}$$

ピーク和

このピーク和テーブルは、以下の機能でより効率的に実行される石油化学および製薬業界向けの特定アプリケーションのために提供されます。

- ユーザーが指定した範囲内にあるピーク面積を合計する
- ピークの範囲内にある面積を合計し、乗数を 1 つ使用して計算を実行する
- 同じ名前を持つすべてのピーク的面積を合計する

ピーク和テーブルは同様ですが、標準キャリブレーションテーブルと異なります。キャリブレーションテーブルのように、現在のメソッドと関連していません。

ノート

ピーク和テーブルを作成する前に、分析のためのキャリブレーションテーブルを作成する必要があります。

リキャリブレーション

リキャリブレーションとは

リキャリブレーションは、検量線上のレベルを更新したい場合に使用するプロセスです。リキャリブレーションをする場合、元と同じで同量（これが最も重要）のキャリブレーション化合物を含んだサンプルを分析します。キャリブレーションサンプルを分析すると、更新されたレスポンスファクタおよびリテンション/マイグレーションタイムが取得されます。何度もキャリブレーション分析を行ってレスポンスファクタを平均化させ、レスポンスファクタが同等に重み付けされるようにすることもできます。

なぜリキャリブレーションするのか？

ほとんどのキャリブレーションの寿命には、クロマトグラフィにおける変化のため、限界があります。リキャリブレーションは、分析の正確性を保持するために必要です。たとえば、カフェインを含むサンプルを定量するためのカフェイン用化合物のキャリブレーションテーブルを作成します。ある時点で、カラム/キャピラリを取り替える必要があります。カラム/キャピラリは、まったく同じ種類のものと取り替えますが、最初にカフェイン用にキャリブレーションテーブルを作成した場合には、それが以前のカラム/キャピラリとまったく同じ動作をするわけではありません。したがって、一貫性を保持するために、キャリブレーションテーブル内のレベルをリキャリブレーションする必要があります。これを行うことで、同じシステム条件下で分析されたサンプルを定量することになります。

マニュアルリキャリブレーション

[新規のキャリブレーションテーブル] ダイアログボックスの [マニュアル設定] オプションボタンを使用して、ピークキャリブレーション情報のマニュアル入力およびキャリブレーションテーブルの標準化することができます。通常、新しいキャリブレーションメソッドは、キャリブレーション標準混合物の分析、キャリブレーションテーブルの作成、そしてすべてのキャリブレーションピークのアマウントを入力してレスポンスファクタを入手することで、生成

されます。しかし、この方法は、長年にわたって同じ化合物が分析され、さまざまな化合物のレスポンスファクタや検出器を簡単に利用できるようになって、たとえば石油化学業界で使用されるようなアプリケーション向けには非効率です。

キャリブレーションテーブルをマニュアルで作成するには、ピークおよびそのレスポンスファクタをキャリブレーションテーブルに入力し、少なくとも1つのレスポンスリファレンスのピークを含む標準でメソッドをリキャリブレーションし、デルタ%の更新を選択します。

ピーク和を使用したリキャリブレーション

リキャリブレーションが実行される場合は、メソッドのピーク和テーブルにおけるリテンション/マイグレーションタイムの範囲は、実際にリキャリブレーションが実行される前に更新されます。ピーク和リキャリブレーションはこの方法で実行され、デルタが時間計算に統合されることが確認されます。

リキャリブレーションオプション

キャリブレーションテーブル内のレスポンスを新しいキャリブレーションデータで更新するには、いくつかの方法があります。

平均

すべてのキャリブレーション分析の平均が次の式を用いて計算されます。

$$Response = \frac{n \cdot Response + MeasResponse}{n + 1}$$

浮動平均

すべてのキャリブレーション分析に対する加重された平均が計算されます。更新済みの重み付けは、[リキャリブレーション設定]ダイアログボックスで設定されます。

$$Response = \left(1 - \frac{Weight}{100}\right) \cdot Response + \left(\frac{Weight}{100}\right) \cdot MeasResponse$$

置換

新しいレスポンス値が古い値に置き換わります。

リキャリブレーション方法

ChemStation のソフトウェアを使用すると、2通りの方法でリキャリブレーションができます。自動化された分析の間に、対話的または自動的にリキャリブレーションができます。対話的リキャリブレーションとは、1つまたは複数のキャリブレーションサンプルを注入した後、ChemStation ソフトウェアを使用してリキャリブレーションの手順を直接に順番に行うことを指します。シーケンスを使用するリキャリブレーションとは、リキャリブレーションが行われる際に、自動化ソフトウェアがリキャリブレーションを実行するように指定することを指します。詳細は、「自動リキャリブレーション」[182 ページ](#)  を参照してください。

ソフトウェアを使用したリキャリブレーションの実行方法については、ヘルプシステムの「方法」の部分参照してください。

未確認のピークのリキャリブレーション

同定されていないピークをリキャリブレーションするには、3つの方法があります。

リキャリブレーションなし

キャリブレーションテーブル内のピークが、積分結果の中で同定できなかった場合、キャリブレーションは中断されます。シーケンス中でこれが起これば、シーケンスもまた中断します。

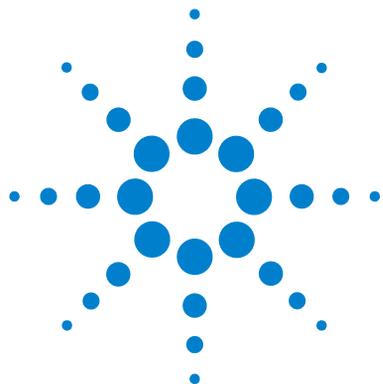
部分リキャリブレーション

この機能は、同定されたピークのみでのリキャリブレーションが可能です。ピークが見つからないと、キャリブレーションは中断はされませんが、ピークが見つからないというレポートが注釈として付けられます。

リテンション/マイグレーションタイムのリキャリブレーション

この機能により、同定されたピークおよび同定されていないピークすべてのリテンション/マイグレーションタイムのリキャリブレーションが可能になります。これは、同定されたピークのリテンション/マイグレーションタイムを使用して行われます。同定されたピークには、レスポンスファクタの更新はありません。

7 キャリブレーション リキャリブレーション



8

自動化

- 自動化とは 163
- シーケンス / シーケンステンプレートとは 164
- プレファレンス - シーケンスタブ 165
- シーケンスパラメータ 167
- シーケンステーブル 169
- シーケンスの作成 (シーケンスとシーケンステンプレート) 170
 - シーケンステーブルエディタの使用 170
 - バイアル範囲の挿入ボタンの使用 170
 - 行追加ボタンの使用 170
 - カスタムフィールドボタンの使用 171
- シーケンスを用いた作業 (シーケンスとシーケンステンプレート)
) 172
 - 優先サンプル 172
 - コントロールサンプルを使用したシーケンス 172
 - シーケンスの中止 173
 - シーケンスの中断 173
 - シーケンスの一時停止 173
 - 部分シーケンスの分析 173
- シーケンスログファイル 175
- シーケンスが実行されると何が起こるか? 176
- シーケンスデータファイル構造 (ユニークなフォルダ作成オン)
) 178
 - シーケンス内のデータファイルの命名 179
 - シーケンス実行時のデータファイル自動命名 179
 - データファイル名のマニュアル入力 180
- ポストシーケンス処理 181
 - ノットレディータイムアウト (LC および CE のみ) 181



待機時間 (LC および CE のみ)	181
自動リキャリブレーション	182
リキャリブレーションの指定	183
シーケンステーブル内のリキャリブレーションパラメータ	183
シーケンスの種類	186
明示的キャリブレーションシーケンス	187
周期的シングルレベルキャリブレーションシーケンス	188
周期的マルチレベルキャリブレーションシーケンス	189
メソッド A の分析順序	190
メソッド B の分析順序	191
明示的および周期的キャリブレーション両方	193
例	193
SimpReg の分析順序	194
ブラケットを含む周期的キャリブレーションシーケンス	195
例	195
ブラケットシーケンス処理	196
例	197
標準の同じ希釈率を含むマルチバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス	199
「ラウンドロビン」キャリブレーションバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス	199
キャリブレーションごとに異なるバイアルを使用する周期的リキャリブレーション	201
開始および終了ブラケットに異なるバイアルを使用するブラケットシーケンス	201

本章では、自動化の概念について説明します。具体的には、ChemStation 内でシーケンスを使用する方法、シーケンスの実行時に起こること、およびシーケンスのカスタマイズ方法を説明します。

自動化とは

自動化とは、複数の注入を無人で分析するものです。

ChemStation ソフトウェアのシーケンス機能により、取り込み、データ解析、レポート作成を自動化することができます。

シーケンス / シーケンステンプレートとは

シーケンスはサンプルの分析を自動化する一連の命令のことです。

シーケンスは、自動的に各サンプルを注入し、そのサンプル用に指定されたメソッドにしたがってデータを取り込み分析するのに使用されます。シーケンス内の各サンプルバイアルは、異なる分析メソッドを使用することで、異なるクロマトグラフ / エレクトロフェログラフ条件および解析パラメータのセットによって分析することもできます。

ChemStation では、ワークフローに合ったデータ保存モデルを選択できるように、2つのデータ保存モードを導入しています。このモードは以下のシーケンスの使用法に影響を及ぼします。

- ユニークなフォルダ作成オン
- ユニークなフォルダ作成オフ

サンプルデータの一貫性を保つための「ユニークなフォルダ作成オン」では複数回取り込みを実行するために使用できる「シーケンステンプレート」としてシーケンスを使用しますが、[メソッド & ランコントロール]での再解析に使用されません。シーケンステンプレートが実行されると、すべての関連ファイルを含むシーケンスデータコンテナが作成されます。シーケンステンプレートが再利用されると、再利用ごとに新しいシーケンスデータコンテナが作成されます。

「ユニークなフォルダ作成オフ」ではすべてのデータを1つのディレクトリに保存します。シーケンスファイル*.sはシーケンステンプレートとしては使用されず、そのためデータディレクトリがユーザーから変更されない場合、シーケンスを再実行することで現在のデータを上書きする恐れがあります。

利用可能なシーケンス / シーケンステンプレート (*.s) は、**ChemStation** エクスプローラ内に表示されます。素早く簡単に操作するために、[プレファレンス]ダイアログボックスの[パス]タブを使用して、**ChemStation** エクスプローラの選択ツリーに追加のシーケンス / シーケンステンプレートの場所を追加することができます。

プレファレンス - シーケンスタブ

[シーケンス] タブで、ユーザーは 2 つの異なるデータ保存モデルを選ぶことができます。このモードにより、ChemStation でシーケンスデータがどのように保存されるかを定義します。

ユニークなフォルダ作成オン

このモードのデータ保存では、生データとメソッドの間に堅牢で永続的なリンクが存在します。シーケンスラン内またはシングルランとして取り込まれるかに関わらず、各データファイルは少なくとも 2 つのメソッド (データ取り込みに使用されたメソッドとデータ解析に使用されたメソッド) へのリンクを持ちます。

シーケンスデータは、定義済みのシーケンスコンテナ名を使用して、シーケンスデータコンテナに格納されています。[プレファレンス] ダイアログボックスの [シーケンス] タブ内で、シーケンスコンテナの命名規則 (名前のパターン) を指定できます。名前のパターンが指定されていない場合、デフォルトのシーケンス名パターンが使用されます。[シーケンス] タブは、データ取り込みのみに使用されるので、オンラインシステムのみに存在します。

シーケンス名のパターンには、さまざまなセクションを含めることができます。システムは、選択されたシーケンス名のパターンに含まれるセクションを使用してシーケンスデータコンテナの名前を決定し、これを作成します。この特定のシーケンスに属するデータファイル、メソッド、シーケンスログブック、`sequence_name.s` ファイル、および `sequence_name.b` ファイルはすべて、シーケンスデータコンテナに保存されます。シーケンスデータコンテナは、シーケンスが開始した際に作成されます。

シーケンスファイル (.s) は、シーケンステンプレートとして使用されるので、既存のデータが上書きされることなく、シーケンスパラメータが変更されることもなく任意のシーケンスファイル (.s) を何度でも実行できます。カウンタと時間のどちらもシーケンス名パターンで使用されていない場合は、システムはカウンタを自動的に導入して、データが上書きされないようにします。同じシーケンステンプレートを使用する 2 つ目、3 つ目およびそれ以降のシーケンスでは、シーケンスコンテナ名にカウンタが追加されます。

ユニークなフォルダ作成オフ

このモードのデータ保存では、メソッド名が取り込みと解析に使用されたデータファイルとメソッドの間に存在する唯一のリンクです。メソッドのコピーはシーケンスまたはデータファイルと一緒に決して保存されず、メソッドが変更されたり、その名前の新しいメソッドが作成されると、シーケンスを正確に複製できません。シーケンスデータファイルは [シーケンスパラメータ] ダイアログボックスの [データファイル] グループで指定されたパラメータに従って保存され、[プレファレンス] ダイアログボックスの [シーケンス] タブのシーケンス命名機能はこのモードでは無効です。このモードのデータ保存は ChemStation リビジョン B.02.01 以前と同一で、そのため、ChemStation の [データ解析] ビューの最新のデータレビュー / 再解析機能の利点を完全に活用できません。

ノート

「ユニークなフォルダ作成オフ」オプションを使用して取り込まれたシーケンスデータは、[メソッド & ランコントロール] ビューの再解析オプションを使用して再解析する必要があります。

ノート

アドオンソリューションの G2189BAChemStation OpenLAB Option と G2181BA ChemStore では、環境設定モード「ユニークなフォルダ作成オン」を必要とします。ChemStation にアドオンがインストールされるとすぐ、「ユニークなフォルダ作成オフ」オプションは無効になります。

シーケンスパラメータ

[シーケンスパラメータ] ダイアログには、シーケンス内のすべてのサンプルバイアルに共通する情報が含まれています。このダイアログボックスを使用して、次のタスクを行います。

- [パス] コンボボックスを使用して、データディレクトリを選択し、オペレータ名 (アクセスレベルダイアログボックスで入力したオペレータ名が表示される) についての情報を入力し、
- 特定の [メソッド実行部分] パラメータを選んでシーケンス解析がどのように行われる必要があるかを指定します。

たとえば、次のいずれかを選択できます。

- ランタイムチェックリストを実行
- 取り込みのみを実行、または
- 再解析のみを実行、ChemStation リビジョン B.01.03 までで取り込んだデータに対して、「ユニークなフォルダ作成オフ」オプションで取り込まれたデータに対して

ノート

リビジョン B.01.03 までの ChemStation で取り込んだか、「ユニークなフォルダ作成オフ」オプションを使用して取り込んだシーケンスデータは、[メソッド & ランコントロール] ビュー内の再解析オプションを使用して再解析する必要があります。

ChemStation リビジョン B.02.01 以降で取り込んだシーケンスデータは、[データ解析ナビゲーション] テーブル内の再解析オプションを使用して再解析する必要があります。

再解析オプションが選択されている場合は、サンプルがもともと分析された際に定義されたサンプルデータを使用するか、[シーケンステーブル情報を使用] チェックボックスを有効にすることで、シーケンステーブルに以下の新しいデータを入力して、更新されたサンプルデータを使用することを選択できます。

- シャットダウンパラメータを使用して、シーケンスが終了したらどうするかを指定する

8 自動化

シーケンスパラメータ

- システムにバーコードリーダーがインストールされていると仮定すれば、シーケンス内でバーコードを使用する必要があるか、およびバーコードの不一致をどのように処理するかを指定する

シーケンステーブル

シーケンステーブルは、同じバイアルを分析するのに使用するメソッド、およびバイアルが分析される順序を決定します。このテーブルには、名前、定量パラメータ、およびリキャリブレーションパラメータを含む各サンプルのデータも含まれます。

デュアルサンプルリングをサポートする機器 (GC) には、[インジェクタ] グループボックスが表示されます。[フロント] または [バック] を選択すると、シーケンステーブル内の行、およびそのインジェクタの現在の実行ステータスが表示されます。

このテーブルの列の説明、およびこの列がメソッド内に格納されている情報とどのように作用し合うかに関する説明については、オンラインヘルプリファレンスを参照してください。

シーケンスの作成 (シーケンスとシーケンステンプレート)

シーケンステーブルを使用して、シーケンス内で分析されるサンプル、メソッド、およびバイアルを指定します。シーケンステーブルでは、分析される順にシーケンス中の各サンプルが一覧表示されます。このテーブルには、必要なバイアル、メソッド、各サンプル用のキャリブレーション情報が含まれます。

シーケンステーブルエディタの使用

ビューおよびシーケンステーブルの内容を変更したい場合は、シーケンステーブルの右下隅にあるリストシンボルをクリックして、シーケンステーブルエディタを開くことができます。シーケンステーブルエディタを開くと、シーケンステーブル内に特定の列を表示させるか指定することができます。加えて、各シーケンステーブルの列の列幅を定義できます。インストールしたソフトウェアパッケージに応じて、たとえば、**LC/MS** がインストールされると「ターゲットマス」フィールド、**ChemStore** アドオンがインストールされると「スタディ」フィールドなどの追加の列フィールドが足されます。

バイアル範囲の挿入ボタンの使用

サンプルメソッドを使用するサンプルをたくさん持っている場合は、[バイアル範囲の挿入]機能を使用して、これらのサンプルをシーケンステーブルに素早く入力できます。この機能は、メソッド名、バイアル範囲、バイアルごとの注入回数をコピーし、サンプルアmountを指定した場合は、**ISTD** アmount、倍率、および希釈率もコピーされます。システムは、その後、範囲内にいる各バイアルの情報をシーケンステーブルに入力します。

行追加ボタンの使用

[行追加]ボタンを選択すると、新しい空行がシーケンステーブルの最後に追加されます。

カスタムフィールドボタンの使用

シーケンステーブルで使用されるメソッドでカスタムフィールドの設定を完了していれば、各サンプル (サンプル関連カスタムフィールド) またはサンプルのメソッド中の各化合物 (化合物関連カスタムフィールド) のカスタムフィールド値を編集するためには、[カスタムフィールド] ボタンを選択します。

シーケンスを用いた作業 (シーケンスとシーケンステンプレート)

シーケンス (シーケンスとシーケンステンプレート) は、[シーケンス]メニューからアクセスし、作成されます。シーケンスは、メソッドと同じ方法で作成および保存できます。シーケンスを保存する際には、.S の拡張子を持ったファイルが作成されます。シーケンスを編集したり、再利用したい場合は、たとえば、[シーケンス]メニューの [シーケンスの読み込み] アイテムを使用してそのシーケンスにアクセスします。

優先サンプル

現在分析中のシーケンスは、処理中のメソッドが完了したら一時停止することができます。シーケンスは、同じまたは別のメソッドで優先サンプルの分析をするために一時停止することができます。シーケンスは、その後再開し、一時停止した時のサンプルから続行できます。

コントロールサンプルを使用したシーケンス

コントロールサンプルは、シーケンステーブルの [サンプルタイプ] フィールドで指定することができます。コントロールサンプルを分析するのに使用されたメソッドは、化合物の 1 つにコントロールサンプルリミットが指定されているキャリブレーションテーブルを含んでいる必要があります。指定したコントロールサンプルリミットを超えた場合、シーケンスは停止し、ログブックにメッセージが書き込まれます。ChemStation のレポートスタイルのいずれかを使用している場合は、これらの分析で生成されるレポートにはコントロールサンプルリミットも出力されます。コントロールサンプルを持つシーケンスの定義方法については、オンラインヘルプシステムの「方法」の部分を参照してください。

シーケンスの中止

現在実行中の分析は、シーケンスが中止する前に完了します。中止されたシーケンスを再開することはできません。

シーケンスの中断

中断機能は、現在実行中のシーケンスを即時停止させます。

シーケンスの一時停止

シーケンスの一時停止中は、シーケンステーブルファイル名およびデータファイル名の変更はできません。まだ実行されていないシーケンス行の変更、または現在のシーケンス行のバイアル番号の変更のみが、シーケンステーブルの中で行えます。将来の分析用にシーケンス行の追加、削除、および変更はできません。

たとえば、サンプルの新しいバッチを追加するため、実行中のシーケンスを編集する必要がある場合があります。現在実行中のシーケンス行の中にあるサンプルの後に **ChemStation** が追加のバイアルを次のサンプルとして処理するように、シーケンスを編集できます。

部分シーケンスの分析

すでに設定されたシーケンステーブルは、[シーケンス]メニューから[部分シーケンス]を選択して部分的に実行できます。[部分シーケンス]ダイアログボックスがシステムにより表示され、分析用テーブルから個々のサンプルを選択できます。

[部分シーケンス]ダイアログボックスの各行に、シングル分析が表示されます。各分析ごとに、バイアル、メソッド、データファイル、およびサンプル名が与えられます。加えて、**Seq Tbl** および **Calib:RF:RT** 列にはそれぞれ、シーケンステーブルおよびすべてのキャリブレーションサンプルのエンコードされた情報が表示されます。これらのコードの説明は、オンラインヘルプを参照してください。

8 自動化

シーケンスを用いた作業 (シーケンスとシーケンステンプレート)

[印刷] ボタンを選択すると、部分シーケンスを紙に印刷できます。

以下の [部分シーケンス] ダイアログボックスは、193 ページ 図 表 20 および 194 ページ 図 表 21 の中で後ほど示されているように、SimpReg メソッドおよびシーケンステーブルが現在用いられている場合の結果を表します。サンプル 1、2、4、5 および 8 が処理用にマークされています。

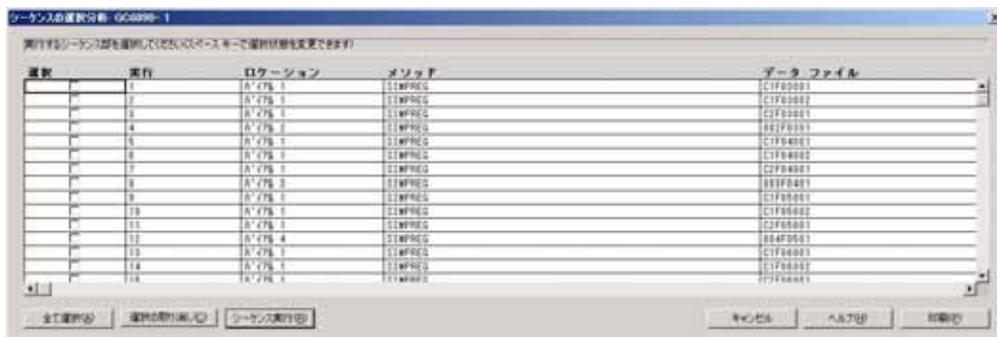


図 38 部分シーケンスダイアログボックス

プレファレンスモード「ユニークなフォルダ作成オン」での部分シーケンス

シーケンスデータは、定義済みのシーケンスコンテナ名を使用して、シーケンスデータコンテナに格納されています。部分シーケンスを実行する場合、システムはシーケンスの一部が実行されるごとに、[プレファレンス] の設定値に基づき新しいシーケンスデータコンテナを作成します。そのため、たとえば 1 つのシーケンスに基づく部分シーケンスを 3 回実行すると、同じシーケンスのシーケンスデータコンテナを 3 つ作成する可能性があります。

プレファレンスモード「ユニークなフォルダ作成オフ」での部分シーケンス

シーケンスデータファイルは、[シーケンスパラメータ] ダイアログボックスの [データファイル] グループで指定されたパラメータに従って保存されます。シーケンスが部分的に実行されても、すべてのデータファイルは同じサブディレクトリに保存されます。

シーケンスログファイル

シーケンス実行中に何が起こったかを示すシーケンスログファイルが生成されます。無人または終夜でシーケンスが実行されている場合にエラーが発生した時に認識するために役立ちます。ログブックファイルには、常に **.log** の拡張子が付きます。ログブックファイルは、シーケンスのデータが保存されているディレクトリにあります。

シーケンスが実行されると何が起こるか？

「ユニークなフォルダ作成オン」を使用したシーケンスの起動

シーケンスパラメータ内のパス定義およびシーケンスプレファレンスに基づいて、シーケンスデータコンテナがシステムにより作成されます。シーケンステンプレート *.s、この特定のシーケンスに属するシーケンステーブルで定義されたすべてのメソッドはシーケンスデータコンテナにコピーされます。取り込み中、システムはこれらのファイルを使用して作動し続けます。シーケンスを開始すると、対応するシーケンス行のメソッドがこれらのデータコンテナから ChemStation 内に読み込まれます。

「ユニークなフォルダ作成オフ」を使用したシーケンスの起動

シーケンスを開始すると、システムはシーケンスファイル *.s を読み込み、シーケンステーブルのエントリに基づき、シーケンス行の対応するメソッドが ChemStation 内に読み込まれます。2 番目のデータ保存モード「ユニークなフォルダ作成オン」と対照的に、シーケンスデータコンテナは決して作成されません。シーケンスとメソッドはマスターディレクトリに残ります。

シーケンス実行中にさらに実行されるステップ：

実行されるシーケンス行ごとに以下のステップが繰り返されます。

- オートサンプラが装備されている場合、ChemStation ソフトウェアは、バイアルの列に入力されている数字に従って、オートサンプラのサンプルをまず探します。
- 機器は、メソッドパラメータを使って読み込まれます。
- プレランマクロが実行されます。
- サンプルはその後、機器に注入されます (マニュアルまたは自動)。
- メソッドデータ解析が終了します。ユーザー定義のマクロすべてを含む、積分、定量、およびレポートです。モード「ユニークなフォルダ作成オン」が使用される場合、システムは分析中に 2 つの追加メソッド ACQ.M と DA.M を保存します。
- ポストランマクロが実行されます。
- 全体の処理の間、ChemStation がシーケンスの進捗状況を随時追跡し、シーケンスログファイルを作成します。

シーケンスが実行されると何が起こるか？

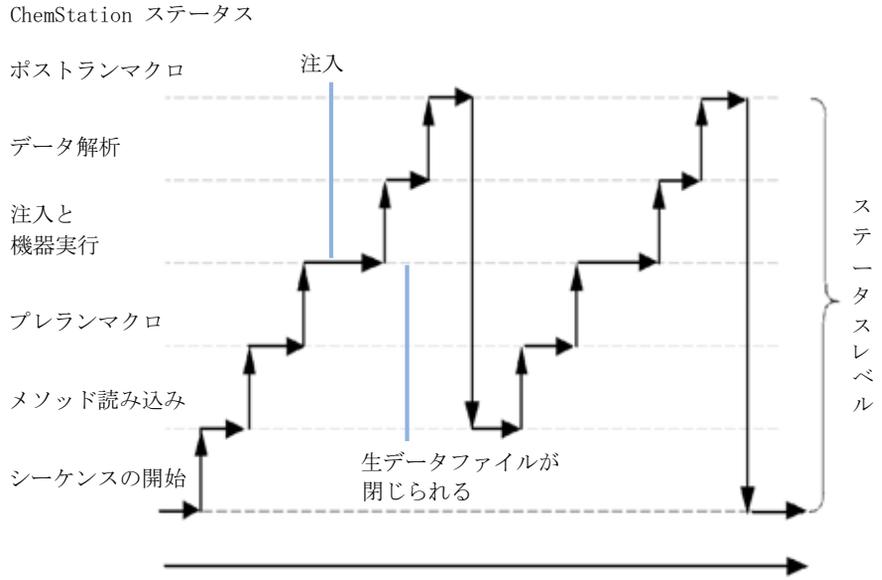


図 39 シーケンスステータス

シーケンスデータファイル構造 (ユニークなフォルダ作成オン)

ChemStation リビジョン B.02.01 以降では、図「シーケンスデータファイル構造 (ユニークなフォルダ作成オン)」のように、生データとメソッド間のリンクが強化されています。

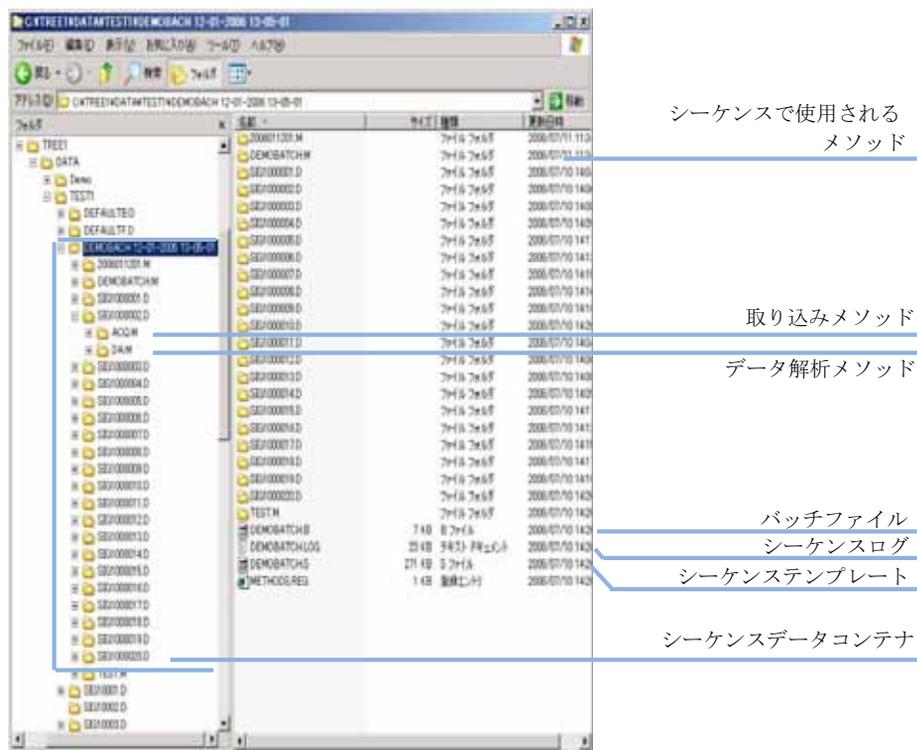


図 40 シーケンスデータファイルの構造

シーケンス内のデータファイルの命名

シーケンス内のデータファイルの命名は、次の方法で行われます。

- 自動
- マニュアル
- プレフィックス / カウンタ

シーケンス実行時のデータファイル自動命名

サンプルバイアル

例 : 017-0103.D

変数の意味は次のとおりです。

- 最初の 3 桁はバイアル番号。たとえば、017。
- 液体クロマトグラフィおよびキャピラリー電気泳動において、第 4 番目の桁は分離のためのハイフン (-) です。ガスクロマトグラフにおいては、この桁はフロント (F) か、バック (B) のどちらかです。
- 第 5 番目と 6 番目の桁は、使用されるメソッドを定義するシーケンス行です。たとえば、最初のシーケンス行は 01 で表されます。
- 第 7 番目と 8 番目の桁は、メソッドによるこのバイアルに対する注入番号です。

ブランクラン

例 : NV--0499.D

変数の意味は次のとおりです。

- NV は、非バイアル (no vial) を表します。
- - は、分離のためのハイフンです。
- 0499 は、シーケンスの第 4 行の 99 回目のブランクランを意味します。

データファイル名のマニュアル入力

シーケンステーブルの列の 1 つは、[データファイル] という名前です。その列にエントリが含まれていない場合は、指定されたデータファイル命名規則（自動またはプレフィックスカウンタ）を使用してデータファイル名が作成されます。[データファイル] 列にテキストが入力されていると、分析用のデータファイル名として **ChemStation** はそのテキストを使用します。

ある行に、マニュアルデータファイル名でバイアルごとに複数の注入が指定されている場合、**ChemStation** は、ユーザーが入力した文字の最後を自動的に切り捨てて、注入番号を代わりに追加します。これにより、同じデータファイル名が複数の注入に再使用されるのを防ぎます。

データファイルの命名にプレフィックス / カウンタを使用

[プレフィックス / カウンタ] を使用してデータファイルに名前を付ける場合は、**ChemStation** によって各分析に対して名前が 1 つ生成されます。GC のように、機器がデュアルシグナル解析をサポートしている場合は、**ChemStation** がシグナルごとに名前を生成します。

シーケンス設定では、プレフィックス / カウンタに長いファイル名を使用できます。プレフィックス / カウンタにより定義されたデータファイル名には、最高 15 文字と .d の拡張子、つまり全体で、17 文字まで使用できます。

プレフィックス / カウンタのフィールドには、次のルールが適用されます。

- カウンタ自体には、最大 6 文字まで使用可能
- プレフィックスに使用されている文字が 9 文字に満たない場合、カウンタが自動的に 6 桁に拡張される
- カウンタ内で指定されている番号は、増加する値の開始番号

表 15

プレフィックス	カウンタ	作成されるファイル名
長い	000001	long000001
longname	000001	longname000001
testwithalongna	1	testwithalongna1

ポストシーケンス処理

通常実行中にシーケンスが完了した後、またはシーケンス処理中に ChemStation にエラーが発生した後の処理を指定できます。LC の処理には、[ポストシーケンスコマンド/マクロ] チェックボックスをオンにすることでこれを指定できます。次の選択が可能です。

- システムを、ランプおよびポンプがオフになる **STANDBY** 状態に設定する
- システムを、すべてのランプがオフになる **LAMPOFF** 状態に設定する (LC および CE のみ)
- システムを、すべてのポンプがオフになる **PUMPOFF** 状態に設定する (LC および CE のみ)
- デフォルトのシャットダウンマクロを使用するか、**SHUTDOWN.MAC** を変更して、特定の処理を決定させる

たとえば、シーケンスが完了した後は、システムをスイッチを切ることができます。シャットダウンマクロを使用すると、フローをゼロにセットしたり、フローを緩やかに減らしたりもできます。

シーケンスパラメータ内では、[ポストシーケンスコマンド/マクロ] フィールドにマクロの名前を指定してボックスをオンにすることで、カスタムマクロが実行されるように指定できます。

ノットレディータイムアウト (LC および CE のみ)

シーケンスパラメータ内のノットレディータイムアウトは、装置の準備が整うまでシステムが待機する時間の長さです。この時間が経過すると、システムはシャットダウンします。

待機時間 (LC および CE のみ)

シーケンスパラメータでは、メソッドの読み込み後、そのメソッドを使用して注入するまでの待機時間を指定できます。これは、新しい分析条件を利用する場合に、カラム/キャピラリーを再平衡化するために役立ちます。

自動リキャリブレーション

キャリブレーションは、たとえば、カラムやキャプラリーの変更など、運転条件に変更があった後にしばしば実行されます。分析性能に影響を与えるファクタを補正するために、分析シーケンスの開始時またはシーケンス実行中に定期的に、プログラムの一部として自動リキャリブレーションが通常は実行されます。

自動シーケンスリキャリブレーションを指定するには、2つの方法があります。

- 明示的キャリブレーションシーケンス
- 周期的キャリブレーションシーケンス

プレファレンスモード「ユニークなフォルダ作成オン」を使用したリキャリブレーション

リキャリブレーション実施中、使用したメソッドのキャリブレーションテーブルは定義したメソッド設定に従って更新されます。データ保存モード「ユニークなフォルダ作成オン」を使用すると、リキャリブレーションメソッドはシーケンスデータコンテナ内にあります。この処理中、シーケンスメソッドのキャリブレーションテーブルは更新されます。DA.Mに加え、個々のデータファイルのメソッドには結果作成に使用された更新したキャリブレーションが含まれます。

プレファレンスモード「ユニークなフォルダ作成オフ」を使用したリキャリブレーション

リキャリブレーション実施中、使用したメソッドのキャリブレーションテーブルは定義したメソッド設定に従って更新されます。データ保存モード「ユニークなフォルダ作成オフ」を使用すると、リキャリブレーション中にマスターメソッドのキャリブレーションテーブルが更新されます。

リキャリブレーションの指定

シーケンス用のリキャリブレーションパラメータは、シーケンステーブルに直接入力されます。これらのパラメータは、シーケンスの中でメソッドがどのようにリキャリブレーションされるかを定義します。

シーケンステーブル内のリキャリブレーションパラメータ

レスポンスファクタおよびリテンション/マイグレーションタイムは、次に挙げるいくつかの方法で更新できます。キャリブレーションレベル、レスポンスファクタ更新、およびリテンション/マイグレーションタイム更新は、キャリブレーションテーブルをリキャリブレーションする際にデータ解析で使用される命令です。

サンプルテーブルの [サンプルタイプ] の列にキャリブレーションと入力した場合、次に挙げる列が有効になり、編集できます。

- Cal レベル
- RT 更新
- RF 更新
- インターバル

これらの各列に入力できる値を表に示します。

表 16 シーケンステーブル内のリキャリブレーションパラメータ

CAL レベル	RT 更新	RF 更新	インターバル
キャリブレーションテーブルレベル番号 (1-999)	更新せず	更新せず	周期的リキャリブレーションインターバル番号 (1-999)
	平均	平均	ブランク
	置換	置換	
		ブラケット	
		F %	

8 自動化

リキャリブレーションの指定

この表では、シーケンステーブル内の列が表示されており、リキャリブレーションパラメータ、およびそこに入力できる値が含まれています。

更新せず

レスポンスファクタまたはリテンション/マイグレーションタイムを変更しません。

置換

以前のリテンション/マイグレーションタイムおよびレスポンス（面積または高さ）を、現在の分析のみのものと置き換えます。このリキャリブレーション分析の中に見つからないピークに対しては、レスポンスは変更されません。

平均

各ピークのリテンション/マイグレーションタイムおよびレスポンス（面積または高さ）を、元のキャリブレーションランとそれ以降に平均化されたすべてのリキャリブレーションに基づいて平均化します。リキャリブレーションの中に、ピーク 1 つが欠けている場合でも、ピークの平均レスポンスには大きな影響はありません。

ブラケット

サンプルは、プレサンプルおよびポストサンプルキャリブレーションに挟み込まれます。閉じているブラケットの最後のキャリブレーションサンプルが分析されると、解析が実行されます。既存のキャリブレーションデータは、開いているブラケットのキャリブレーションランの結果データに置き換わります。閉じているブラケットキャリブレーションとそのキャリブレーションテーブルとの平均を計算します。

インターバル

インターバルは、シーケンス中のキャリブレーション頻度を決定します。キャリブレーション頻度は、次のキャリブレーション注入セットが実行される前に行われるサンプル注入回数に対応します。分析の開始時にキャリブレーションが行われ、その結果（レスポンスファクタなど）がキャリブレーションテーブルに入力されます。これらの結果は、その後、二次的な定量計算に用いられます。指定した注入回数を実行されると、別のキャリブレーションが分析され、その結果はキャリブレーションテーブルに入力されます。このとき、前のキャリブレーション分析結果は上書きされます。

F %

デルタ % 計算により、解析からのレスポンスファクタとキャリブレーションテーブルにマニュアルで入力されたレスポンスファクタの比較が可能になります。デルタ % は、テーブル内のすべてのキャリブレーションピークに適用されます。複数の内部標準を同定でき、次にその測定レスポンスファクタはその他のピークの新しいレスポンスファクタの計算に使用されます。どの内部標準が、キャリブレーションテーブルの各ピークのデルタ % 計算に使用されるか同定します。

シーケンスの種類

シーケンスには、次のような種類があります。

- 明示的キャリブレーションシーケンス
- 明示的シングルレベルキャリブレーションシーケンス
- 周期的マルチレベルキャリブレーションシーケンス
- シーケンス内での明示的および周期的キャリブレーション両方
- ブラケットキャリブレーションを含む周期的キャリブレーションシーケンス

明示的キャリブレーションシーケンス

この種類のシーケンスは、シーケンステーブルでユーザーが定義したインターバルでリキャブレーションされます。

明示的キャリブレーションシーケンスには、シーケンステーブル内にインターバルのエントリを指定せずに、キャリブレーションサンプルがシーケンスに入れます。シーケンステーブル内にあるキャリブレーションサンプルのエントリごとに、リキャリブレーションが1度行われます。

8 自動化

周期的シングルレベルキャリブレーションシーケンス

周期的シングルレベルキャリブレーションシーケンス

この種類のシーケンスは、同じバイアル、つまり、シーケンス内で規則的なインターバルのキャリブレーションサンプルを使用します。

シーケンステーブル内のインターバルエントリは、リキャリブレーションの実行方法を決定します。例えば、インターバル値が 2 の場合は、シーケンス内で 2 つのサンプルバイアルごとにリキャリブレーションされます。

周期的マルチレベルキャリブレーションシーケンス

このタイプのシーケンスは、異なるキャリブレーションサンプルを使用して、マルチレベルキャリブレーションメソッドをリキャブレーションします。

次に挙げる例では、サンプルの2つのグループを分析するためのメソッドAおよびメソッドBからなる2メソッドシーケンスを説明します。メソッドの両方は、マルチレベルキャリブレーションメソッドで、定義されたインターバルごとに自動的にリキャリブレーションを行います。

シーケンステーブルには、メソッドごとに次の3つのエントリがあります。

- 2つのキャリブレーションレベル：
 - メソッドA内のシーケンス行1および2。
 - メソッドB内のシーケンス行8および9。
- サンプル用の5つのエントリ：
 - メソッドA内のシーケンス行3から7まで。
 - メソッドB内のシーケンス行10から14まで。

シーケンスリキャリブレーションテーブル内のリキャリブレーションインターバルによって、キャリブレーションは規則的なインターバルに実行されるように指定されています。

- メソッドAでは、サンプルが2つ終わるごとにリキャブレーションされます。
- メソッドBでは、サンプルが3つ終わるごとにリキャブレーションされます。

以下のシーケンステーブルでは、例を単純化するために切り詰めてあります。

表 17 メソッドAおよびB用のシーケンステーブル

行	パイアル	メソッド名	注入/バイアル	サンプルタイプ	Cal レベル	RF 更新	RT 更新	インターバル
1	1	メソッドA	1	キャリブレーション	1	平均	更新せず	2
2	2	メソッドA	1	キャリブレーション	2	平均	更新せず	2

8 自動化

周期的マルチレベルキャリブレーションシーケンス

表 17 メソッド A および B 用のシーケンステーブル

行	バイアル	メソッド名	注入/バイアル	サンプルタイプ	Cal レベル	RF 更新	RT 更新	インターバル
3	10	メソッド A	1					
4	11	メソッド A	1					
5	12	メソッド A	1					
6	13	メソッド A	1					
7	14	メソッド A	1					
8	3	メソッド B	1	キャリブレーション	1	平均	更新せず	3
9	5	メソッド B	2	キャリブレーション	2	平均	更新せず	3
10	20	メソッド B	1					
11	21	メソッド B	1					
12	22	メソッド B	1					
13	23	メソッド B	1					
14	24	メソッド B	1					

メソッド A の分析順序

このセクションでは、2 メソッドシーケンスの最初の部分であるメソッド A の分析順序について説明します。

表 18 メソッド A の分析順序

注入番号	メソッド	バイアル	操作
1	メソッド A	1	キャリブレーションレベル 1 およびレポート
2	メソッド A	2	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
3	メソッド A	10	サンプル分析およびレポート

表 18 メソッド A の分析順序

4	メソッド A	11	サンプル分析およびレポート
5	メソッド A	1	キャリブレーションレベル 1 およびレポート
6	メソッド A	2	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
7	メソッド A	12	サンプル分析およびレポート
8	メソッド A	13	サンプル分析およびレポート
9	メソッド A	1	キャリブレーションレベル 1 およびレポート
10	メソッド A	2	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
11	メソッド A	14	サンプル分析およびレポート

メソッド B の分析順序

このセクションでは、2 メソッドシーケンスの 2 番目の部分であるメソッド B の分析順序について説明します。

メソッド B はメソッド A と比べると次のような違いがあります。

- キャリブレーションレベル 2 に対して、バイアルごとに 2 つの注入があります。インターバルエンタリは、3 に設定されています。

表 19 メソッド B の分析順序

注入番号	メソッド	バイアル	操作
12	メソッド B	3	キャリブレーションレベル 1 およびレポート
13	メソッド B	5	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
14	メソッド B	5	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
15	メソッド B	20	サンプル分析およびレポート

8 自動化

周期的マルチレベルキャリブレーションシーケンス

表 19 メソッド B の分析順序

16	メソッド B	21	サンプル分析およびレポート
17	メソッド B	22	サンプル分析およびレポート
18	メソッド B	3	キャリブレーションレベル 1 およびレポート
19	メソッド B	5	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
20	メソッド B	5	キャリブレーションレベル 2 およびレポート
21	メソッド B	23	サンプル分析およびレポート
22	メソッド B	24	サンプル分析およびレポート

部分シーケンスを使用することで、[190 ページ 図 表 18](#) や [191 ページ 図 表 19](#) に示した結果を取得し、シーケンステーブルの設定後に分析順序のプレビューを確認できます。

明示的および周期的キャリブレーション両方

この種類のシーケンスは、同じシーケンス内にある明示的および周期的キャリブレーションから構成されています。

この機能を使用すると、シーケンスの初めにメソッドを完全にリキャリブレーションでき(明示的リキャリブレーション)、その後、シーケンスの間にキャリブレーションの更新ができます(周期的リキャリブレーション)。

- シーケンステーブル内で、キャリブレーションレベルごとに、キャリブレーション行を2行指定する必要があります。キャリブレーション行の1つは、明示的リキャリブレーションエントリ用で、もう1つは、周期的リキャリブレーションエントリ用です。
- シーケンステーブルには、キャリブレーション行ごとのエントリが含まれる必要があります。すべての周期的リキャリブレーションバイアルは、明示的リキャリブレーションおよびサンプルエントリの前に存在する必要があります。

例

以下のシーケンステーブルは、SimpReg と呼ばれるシングルレベルキャリブレーションメソッドを表しています。例を単純化するために切り詰めてあります。

表 20 SIMPREG 用のシーケンステーブル

1	1	SimpReg	1	キャリブレーション	1	平均	平均	3
2	1	SimpReg	1	キャリブレーション	1	置換	置換	
3	2	SimpReg	1					
4	3	SimpReg	1					
5	4	SimpReg	1					
6	5	SimpReg	1					
7	6	SimpReg	1					

シングルキャリブレーションレベルごとに 2 つのエントリがあります。

- 最初のキャリブレーション行は、同じレベル用ですが、キャリブレーションパラメータを平均化します。インターバルのエントリは、サンプルが 3 つ終わるごとにリキャリブレーションが実行されるように指定します。
- 2 番目のエントリは、すべてのリキャリブレーションパラメータを置き換えます。つまり、リキャリブレーション全体が実行されます。これには、リキャリブレーションインターバルがありません。

シーケンステーブル

シーケンステーブルは 7 行から構成されます。最初の行は、周期的リキャリブレーションサンプルを指定します。2 番目の行は、シーケンスの始めに 1 度だけ実行される明示的リキャリブレーションを指定します。3 行目から 7 行目までは、分析されるサンプルを指定します。

シーケンステーブル内のエントリの順序はとても重要です。周期的キャリブレーションを指定するすべての周期的リキャリブレーションバイアルのエントリは、サンプルエントリまたはメソッド用の明示的リキャリブレーションエントリよりも前に位置する必要があります。

SimpReg の分析順序

このセクションでは、SimpReg メソッド用の分析順序について説明します。

表 21 SimpReg の分析順序

シーケンス行	注入番号	メソッド	バイアル	操作
2	1	SimpReg	1	サンプルキャリブレーション
1	2	SimpReg	1	通常キャリブレーション
3	3	SimpReg	2	サンプル分析
3	4	SimpReg	3	サンプル分析
4	5	SimpReg	4	サンプル分析
5	6	SimpReg	1	通常キャリブレーション
6	7	SimpReg	5	サンプル分析
7	8	SimpReg	6	サンプル分析

ブラケットを含む周期的キャリブレーションシーケンス

ブラケットを使用した周期的キャリブレーションシーケンスでは、現在のキャリブレーションと以前のキャリブレーションの結果を平均化するにより、不明の定量結果を計算するために使用されるキャリブレーションテーブルが生成されます。この新しいキャリブレーションテーブルは、サンプルの分析時の機器のレスポンスをより正確に表すものです。

例

次のような状況を考えてみてください。

- 機器のレスポンスがドリフトしている。
- 同一の2成分混合物が3回注入されるように指定されている。
- 2回の注入は、キャリブレーションサンプルとして指定されており、残りの1回は、サンプルとして指定されている。
- 最初と3番目の注入は、キャリブレーションサンプルである。
- 2番目の注入はサンプルです。

2番目の注入(サンプル)の正確な定量結果を取得するには、2つのキャリブレーションサンプル間の線形補間行われる必要があります。図を参照してください。この処理は、ブラケットと呼ばれます。

8 自動化

ブラケットを含む周期的キャリブレーションシーケンス

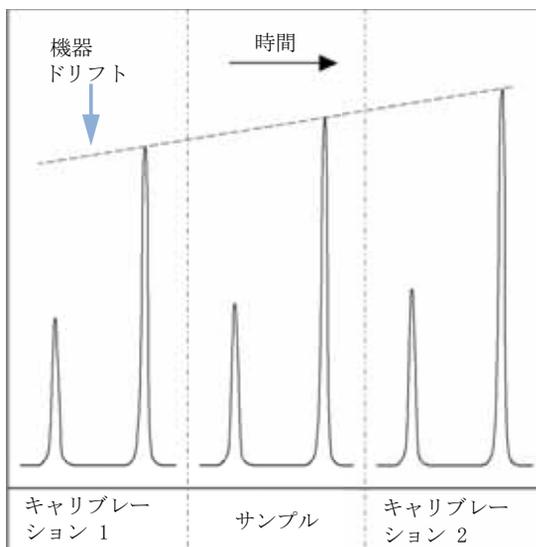


図 41 ブラケット

ブラケットシーケンス処理

- 最初のキャリブレーションバイアルが分析される。
- サンプルバイアルが分析される。
- 次のキャリブレーションバイアルが分析される。
- 既存のレスポンスファクタを新しいものと取り替えて、以降のキャリブレーションランを新しいキャリブレーションテーブルに平均化して格納することにより、キャリブレーションテーブルが作成される。
- サンプルバイアルデータが解析され、レポートが生成される。
- 分析が必要なサンプルバイアルがさらにある場合は、ステップ 2 へシーケンスが戻る。

例

このセクションでは、**Brack.M** と呼ばれる 1 つのメソッドから構成されるシーケンスブラケットの例を説明します。**Brack.M** メソッドは、周期的キャリブレーションを使用した 2 レベルの内部標準メソッドです。

シーケンステーブル

Brack.M のシーケンステーブル (次ページ) は、例を単純化するために切り詰めてあります。これは 7 行から構成されます。最初の 2 行は各レベル用にリキャリブレーション条件を定義します。残りの行は、分析されるサンプルを定義します。

さらに具体的に説明すると、**Brack.M** メソッドのテーブルには次に挙げるものが含まれます。

- キャリブレーションサンプルを使用したサンプルのブラケットを指定する、[レスポンスファクタ更新] 列の中の「ブラケット」というエントリ。
- リテンション/マイグレーションタイムの置換を指定する、[リテンション/マイグレーションタイム更新] 列の中の「更新」というエントリ。
- 3 サンプルごとにリキャリブレーションを実行するように指定する、[リキャリブレーションインターバル] 列の中にある「3」というエントリ。

表 22 BRACK-M 用シーケンステーブル

1	1	BRACK-M	2	キャリブレーション	1	ブラケット	置換	3
2	2	BRACK-M	2	キャリブレーション	2	ブラケット	置換	3
3	10	BRACK-M	1					
4	11	BRACK-M	1					
5	12	BRACK-M	1					
6	13	BRACK-M	1					
7	14	BRACK-M	1					

8 自動化

ブラケットを含む周期的キャリブレーションシーケンス

ブラケットシーケンスの分析順序

Run No.	Method Name	Vial No.	Inj No.	DataFile Name	Lvl No.	Upd RF	Upd Ret	Operation
1	Brack.M	1	1	c1-03001.d	1	R	R	Report for Calibration Run No.1
2	Brack.M	1	2	c1-03002.d	1	A	R	Report for Calibration Run No.2
3	Brack.M	2	1	c2-03001.d	2	R	R	Report for Calibration Run No.3
4	Brack.M	2	2	c2-03002.d	2	A	R	Report for Calibration Run No.4 Print Calibration Table
5	Brack.M	10	1	010-0301.d				Sample Analysis, no report
6	Brack.M	11	1	011-0301.d				Sample Analysis, no report
7	Brack.M	12	1	012-0301.d				Sample Analysis, no report
8	Brack.M	1	1	c1-03003.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
9	Brack.M	1	2	c1-03004.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
10	Brack.M	2	1	c2-03003.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
11	Brack.M	2	2	c2-03004.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report Print Calibration Table
				010-0301.d				Report for Sample Run No.5
				011-0301.d				Report for Sample Run No.6
				012-0301.d				Report for Sample Run No.7
				c1-03003.d	1	R		Report for Calibration Run No.8
				c1-03004.d	1	A		Report for Calibration Run No.9
				c2-03003.d	2	R		Report for Calibration Run No.10
				c2-03004.d	2	A		Report for Calibration Run No.11
12	Brack.M	13	1	013-0301.d				Sample Analysis, no report
13	Brack.M	14	1	014-0301.d				Sample Analysis, no report
14	Brack.M	1	1	c1-03005.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
15	Brack.M	1	2	c1-03006.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
16	Brack.M	2	1	c2-03005.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
17	Brack.M	2	2	c2-03006.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report Print Calibration Table
				013-0301.d				Report for Sample Run No.12
				014-0301.d				Report for Sample Run No.13
				c1-03005.d	1	R		Report for Calibration Run No.14
				c1-03006.d	1	A		Report for Calibration Run No.15
				c2-03005.d	2	R		Report for Calibration Run No.16
				c2-03006.d	2	A		Report for Calibration Run No.17

Where A = average

R = replace

標準の同じ希釈率を含むマルチバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス

「ラウンドロビン」キャリブレーションバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス

周期的リキャリブレーションを実行する、つまり決まった数のサンプル注入の後に自動リキャリブレーションを実行する大きなシーケンスを分析する場合、シーケンスの過程においてキャリブレーションバイアルの容量が空になってしまうという潜在的リスクがあります。**ChemStation** シーケンステーブルは、ラウンドロビン形式で使用される標準と同じ希釈率を含む一連のバイアルを使用する方法を提供します。

この機能のおかげで、複数のキャリブレーションを使用する大きなシーケンスを、決まったインターバルで自動リキャリブレーションを行うように定義でき、各キャリブレーションバイアルは同一程度に消費されます。

適切な数のキャリブレーションバイアルを定義することで、各キャリブレーションバイアルが一度だけ使用されることを保証することもできます。たとえば、すべてのリキャリブレーションに新しいキャリブレーションバイアルが必要とされる場合には、以上のことは重要な要件です。なぜなら、いったんセブタムが破裂したり、スチールニードルと接触して劣化し始めると、検体が蒸発するからです。以下のセクションでは、**ChemStation** シーケンステーブルを以上の要件を満たすように設定するにはどうしたらよいかについて説明します。

シーケンス全体におけるキャリブレーション化合物の予想使用量に基づいて、各レベル用のキャリブレーションバイアルの全体の数を決定してください。

キャリブレーションバイアルごとに、個別の周期的リキャリブレーション行を設定します。同一のキャリブレーションレベル用に定義された行は、隣接するシーケンス行の中にある必要があり、定義されたバイアルの位置も、隣接している必要があります。すべてのキャリブレーション行に対して、同一のリキャリブレーションインターバルを選択します。たとえば、使用するシーケンスでサンプル注入を 6 回行うたびにリキャリブレーションする必要がある場合、リキャリブレーションインターバルを 6 に設定します。

8 自動化

標準の同じ希釈率を含むマルチバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス

表 23 各レベルに定義された 3 つのバイアルを使用する周期的リキャリブレーションシーケンス

バイアル番号	サンプル名	サンプルタイプ	メソッド名	注入回数	レベル	RT 更新	RF 更新	インターバル
1	Cal1a	Calib	メソッド A	1	1	平均	平均	6
2	Cal1b	Calib	メソッド A	1	1	平均	平均	6
3	Cal1c	Calib	メソッド A	1	1	平均	平均	6
5	Cal2a	Calib	メソッド A	1	2	平均	平均	6
6	Cal2b	Calib	メソッド A	1	2	平均	平均	6
7	Cal2c	Calib	メソッド A	1	2	平均	平均	6
10	サンプル 10	サンプル	メソッド A	6				
11	サンプル 11	サンプル	メソッド A	6				
12	サンプル 12	サンプル	メソッド A	6				
13	サンプル 13	サンプル	メソッド A	6				
14	サンプル 14	サンプル	メソッド A	6				

実行の順序は次のとおりです。

- バイアル 1 (Cal1a)
- バイアル 5 (Cal2a)
- バイアル 10 (サンプル 10) から 6 回注入
- バイアル 2 (Cal1b)
- バイアル 6 (Cal2b)
- バイアル 11 (サンプル 11) から 6 回注入
- バイアル 3 (Cal1c)
- バイアル 7 (Cal2c)
- バイアル 12 (サンプル 12) から 6 回注入
- バイアル 1 (Cal1a)
- バイアル 5 (Cal2a)
- バイアル 13 (サンプル 13) から 6 回注入
- バイアル 2 (Cal1b)
- バイアル 6 (Cal2b)
- など

キャリブレーションごとに異なるバイアルを使用する周期的リキャリブレーション

すべてのキャリブレーションバイアルが、確実に1度だけ注入されるようにするために、シーケンスは十分な数の異なるキャリブレーションバイアルを定義し、前の例で説明したラウンドロビン順が適用されないようにする必要があります。たとえば、サンプル10個ごとに要求されるリキャリブレーションに、シーケンスが80個のサンプルバイアルを処理する場合、シーケンステーブルには、各レベルごとに $80/10 + 1 = 9$ で計算される9個のキャリブレーション行が含まれている必要があります。

前の例にあったように、キャリブレーション行は、隣接するバイアルの位置を参照する隣接するシーケンス行である必要があります。

開始および終了ブラケットに異なるバイアルを使用するブラケットシーケンス

同じ機能がブラケットシーケンスでも利用可能です。キャリブレーションバイアルの適切なバイアル範囲を定義することにより、異なるキャリブレーションバイアルが開始および終了ブラケットに使用されるようにブラケットシーケンスを定義できます。この場合もまた、キャリブレーションバイアルのバイアルの位置と同じく、シーケンス内のキャリブレーション行は隣接している必要があります。

ブラケットキャリブレーションバイアルがラウンドロビンモードで使用されるか、1回のシングル注入のみに使用されるかは、各レベル用のキャリブレーションバイアルの合計数、およびシーケンスが要求するリキャリブレーションの数に単に依存します。

以下の例では、キャリブレーションによりブラケットされている3回のサンプル注入を定義しています。開始ブラケットは、終了ブラケットとは異なるキャリブレーションを使用します。サンプル注入が行われるごとに、リキャリブレーションを実行する必要があります。このため、リキャリブレーションインターバルは1にします。レベルごとのキャリブレーション行の数は、サンプルの数に1を足した数です。

8 自動化

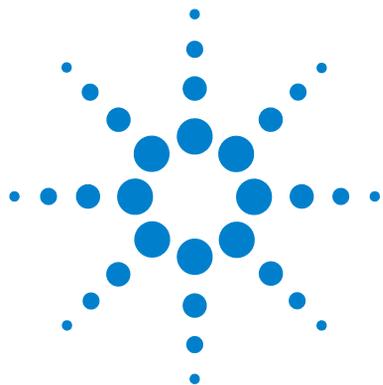
標準の同じ希釈率を含むマルチバイアルを使用した周期的リキャリブレーションシーケンス

表 24 開始および終了ブラケットに使用される異なるバイアル

バイアル番号	サンプル名	サンプルタイプ	メソッド名	注入回数	レベル	RT 更新	RF 更新	インターバル
1	Cal1a	Calib	メソッド A	1	1	Brkt	Brkt	1
2	Cal1b	Calib	メソッド A	1	1	Brkt	Brkt	1
3	Cal1c	Calib	メソッド A	1	1	Brkt	Brkt	1
4	Cal1d	Calib	メソッド A	1	1	Brkt	Brkt	1
10	サンプル 10	サンプル	メソッド A	1				
11	サンプル 11	サンプル	メソッド A	1				
12	サンプル 12	サンプル	メソッド A	1				

このシーケンスの実行順序は次のとおりです。

- バイアル 1 (Cal1a)、開始ブラケット 1
- バイアル 10 (サンプル 10)
- バイアル 2 (Cal1b)、終了ブラケット 1 および開始ブラケット 2
- バイアル 11 (サンプル 11)
- バイアル 3 (Cal1c)、終了ブラケット 2 および開始ブラケット 3
- バイアル 12 (サンプル 12)
- バイアル 4 (Cal1b)、終了ブラケット 3



9

データレビュー、再解析、バッチ レビュー

データ解析でのナビゲーションテーブル	204
ナビゲーションテーブルの設定	204
ナビゲーションテーブルツールバー	205
ナビゲーションテーブルを用いたデータレビュー	206
ナビゲーションテーブルを用いたシーケンス再解析	207
バッチレビューとは	209
インストール済みの ChemStation OpenLAB Option でバッチレ ビュー機能を有効にする	210
バッチ設定	211
バッチテーブル	211
化合物テーブル	212
バッチレポート	212
ユーザーインターフェイス	212
レビュー機能	214
バッチレビュー内のキャリブレーション	214
バッチレポート	215
バッチ履歴	215

本章では、データをレビューする可能性とシーケンスデータの再解析方法について説明します。さらに、バッチレビュー、バッチコンフィグレーション、レビュー機能、バッチレポートのコンセプトを説明します。



データ解析でのナビゲーションテーブル

[データ解析]ビューには、データファイルの中を簡単に移動するように設計されたナビゲーションテーブルが含まれます。ナビゲーションテーブルには、選択されたデータまたはシーケンスデータのサブディレクトリに含まれる分析が表示されます。ナビゲーションテーブルを使用して、個々の分析を読み込んだりアクセスしたり、自動的に読み込まれているシグナルをスクロールできます。詳細は、『新しい ChemStation ワークフローから始める』マニュアルを参照してください。

ナビゲーションテーブルの設定

ナビゲーションテーブルには、利用可能なデータセットに基づいて、データファイル情報が表示されます。ナビゲーションテーブルは読み取り専用で、ナビゲーションテーブル内の値は上書きできません。

表 25 ナビゲーションテーブルの列

シングルランの列	シーケンスランの列
重ね書き	重ね書き
日付 / 時刻	行
オペレータ	Inj (注入)
バイアル	バイアル
データファイル	サンプル名
サンプル名	メソッド名
メソッド名	サンプルタイプ
マニュアルイベント	マニュアルイベント
サンプル情報	Cal レベル (キャリブレーションレベル)
サンプルアマウント	サンプル情報
ISTD アマウント	サンプルアマウント

表 25 ナビゲーションテーブルの列

シングルランの列	シーケンスランの列
倍率	ISTD アマウント
希釈率	倍率
---	希釈率
---	データファイル

ナビゲーションテーブルには、他の場所に列を移動するためのソートやドラッグアンドドロップのような、標準のテーブル設定機能が含まれています。ナビゲーションテーブル内に表示される列を選択することもできます。

さらに、列特有のグループ化が可能で、たとえば、「オペレータ」列で読み込まれたファイルをグループ化することにより、特定のオペレータのシングルランを表示できます。

ナビゲーションテーブルで、マウスの右クリック機能を使用して、シグナルの読み込み、シグナル重ね書き、データのエキスポート、レポートの印刷、メソッドパラメータの取り込みなどができます。行の左の+(プラス)記号をクリックして、シグナル固有のオプションを設定することで、ナビゲーションテーブルの各行を拡張できます。

- **シグナル:** 取り込んだシグナルを一覧表示し、読み込むシグナルを指定できます。シグナル表示の選択は、分析ごとに個別に適用されます。
- **一般情報:** 分析についてのヘッダー詳細を一覧表示します。
- **機器カーブ:** 機器データカーブがクロマトグラム/エレクトロフェログラムとともに表示され、印刷結果にも表示されるように選択できます。

ナビゲーションテーブルツールバー

ナビゲーションテーブルには、シングルラン/シーケンスデータのレビュー、またはシーケンスデータの再解析のどちらかが可能な2つのツールセットが含まれています。

9 データレビュー、再解析、バッチレビュー

データ解析でのナビゲーションテーブル

データレビューツールセット

ナビゲーションテーブルのレビュー機能により、読み込まれたシグナルを自動的にまたはマニュアルで処理することができます。[プレファレンス] > [シグナル / レビューオプション] で指定された選択に応じて、システムは自動的にシグナルを積分し、ファイルが読み込まれる時に各ファイルのレポートを印刷できます。データファイルに適用されるメソッドは、トップメニュー内に表示されます。

シーケンス再解析ツールセット

シーケンス再解析ツールセットは、ChemStation B.02.01 以降で取り込まれたシーケンスが読み込まれ、「ユニークなフォルダ作成」がオンの状態で取り込また場合にのみ利用可能です。シーケンスの再解析の開始、停止、一時停止が可能です。さらにツールバーからは、シーケンスの再解析および印刷用のパラメータを変更するために、次に挙げるダイアログボックスにアクセスできます。

- シーケンステーブル (シーケンスデータコンテナ内にある、元の *.s テンプレートのコピー)
- [シーケンスパラメータ] ダイアログボックス
- [シーケンス出力] ダイアログボックス
- [シーケンスサマリパラメータ] ダイアログボックス
- [拡張統計パラメータ] ダイアログボックス
- 現在のシーケンスの保存
- 現在のシーケンスの印刷

ナビゲーションテーブルを用いたデータレビュー

必要なワークフローに応じて、次に挙げる 3 つの方法のうちの 1 つを使用してデータをレビューできます。

- 1 各データファイルの個々のメソッドを使用して、シーケンスデータをレビューします (シーケンスデータ B.02.01 以降)。[プレファレンス] > [シグナル / レビューオプション] の「データファイル毎のメソッド (DA.M)」オプションを使用して、シーケンスデータを読み込む前にデータファイルと一緒に保存されたデータ解析メソッド (DA.M) をシステムに読み込ませます。データレビュー処理時にナビゲーションテーブルの各行がアクセスされる際、選択したデータファイルのリンクされた DA.M が読み込まれ、レポー

トのレビューおよび作成に使用されます。メソッド名はステータスバーに表示され、システムが括弧の中にデータファイルを追加し(データファイルから)、読み込まれたメソッドがデータファイル用の個別メソッドであることを示します。

- 2 シーケンスメソッドを使用してデータのレビューします。[プレファレンス] > [シグナル / レビューオプション] の「シーケンスメソッド」オプションを使用して、ナビゲーションテーブルの現在の行に対応するシーケンスメソッドをシステムに読み込ませます。データファイルが読み込まれ、レポートのレビューや作成に使用されるときはいつでも、このメソッドが読み込まれます。メソッド名はステータスバーに表示され、システムが括弧の中にシーケンスを追加し(シーケンス)、読み込まれたメソッドがナビゲーションテーブルの現在の行に対応したシーケンスメソッドであることを示します。
- 3 異なるメソッドを使用したデータのレビュー: データのレビューに、データファイルと一緒に保存された個別のデータ解析メソッド (DA.M) とは異なるメソッドを使用する場合は、[プレファレンス] > [シグナル / レビューオプション] の「現在のメソッド」オプションを選択する必要があります。この場合、システムは現在読み込まれているメソッドを使用してレビューおよびレポートの生成を行います。ステータスバーにメソッド名が表示されます。

ノート

LC、CE、LC/MS、CE/MS システムでは、オプション「データファイルからの個々のメソッド (DA.M)」がデフォルトで選択されます。

GC システムでは、「現在のメソッド」がデフォルトで選択されます。

ナビゲーションテーブルを用いたシーケンス再解析

ノート

リビジョン B.01.03 までの ChemStation で取り込んだシーケンスデータは、[メソッド & ランコントロール] ビュー内の再解析オプションを用いて、再解析する必要があります。「ユニークなフォルダ作成」がオフに切り換えられると、B.03.01 で取り込まれたデータに対しても同じことが適用されます。

ChemStation リビジョン B.02.01 以降で取り込まれたシーケンスデータは、[データ解析] ナビゲーションテーブルの再解析ツールセットを使用して再解析する必要があります。

9 データレビュー、再解析、バッチレビュー

データ解析でのナビゲーションテーブル

データ解析内のナビゲーションテーブルを使用して再解析を行うには、次に挙げる必要なすべてのファイルがシーケンスデータコンテナ内に入っています。

- シーケンスデータファイル (*.d)
- シーケンス中に使用されたすべてのメソッド (*.m) ファイル
- 元のシーケンステンプレートのコピー (*.s)
- シーケンス関連バッチ (*.b) ファイル
- シーケンス関連ログブック (*.log) ファイル

解析中に、データファイル用の個々のメソッドである **DA.M** とバッチファイル (*.b) が更新されます。

データ解析の再解析機能を使用すると、データコンテナ内のシーケンステンプレート (*.s) を変更して、倍率、希釈率などを変更したり、再解析に他のメソッドを使用したりできます。デフォルトでは、データ解析の再解析シーケンスパラメータ「メソッド実行部分」は「再解析のみ」に設定され、「シーケンステーブル情報を使用」オプションにチェックマークが付きます。これらの事前定義されたデフォルト値によって、シーケンステーブル内のパラメータの変更ができ、データ解析シーケンスパラメータを再度編集することなしに再解析を実行できます。

シーケンステンプレート内のメソッドを明示的に変更してない場合は、シーケンスコンテナ内に格納されているシーケンスメソッドを使用して、システムはシーケンスを再解析します。このメソッドは、データ取得中に使用された元のメソッドです。[プレファレンス] > [シグナル / レビューオプション] の「データファイル毎のメソッド (DA.M)」オプションが選択されている場合でも、システムは再解析するために個々のデータファイルの **DA.M** ではなく、シーケンスコンテナメソッドを使用することに注意してください。

特定のメソッドパラメータを変更する必要がある場合は (たとえば、*.xls ファイルへの出力指定など)、シーケンスコンテナ内のメソッドを変更し保存する必要があります。この一般的な変更は、再解析中にすべてのデータファイルに適用されます。

さらにデータを取り込むために更新済みのシーケンスコンテナメソッドを使用したい場合は、シーケンスデータコンテナから定義済みメソッドパスの 1 つにこのメソッドをコピーする必要があります。アップデータされた新しいメソッドは、マスターメソッドとしてメソッドビューの **ChemStation** エクスプローラで使用できるようになります。

バッチレビューとは

バッチレビューとは、データ解析に含まれる機能で、分析者がシーケンスの結果の「最初の」レビューを行ったり、分析の選択を迅速、容易にするのに役立つように設計されています。このバッチレビューは、たくさんのサンプルを再解析する場合に特に時間を節約できます。シーケンスが分析されると、必ずバッチファイル(拡張子 .b を持つ)が自動的に生成され、データファイルとともにデータディレクトリ内に配置されます。このバッチファイルには、バッチレビューそれ自体の中にあるデータファイルへのポインタを含んでいます。バッチを読み込む際、分析者はバッチに使用するメソッドを選択し、バッチ内で分析する任意のデータファイルを個別に選択するだけです。キャリブレーションの正確さ、機器のパフォーマンス、および個別の積分を結果を承認する前にチェックすることができます。変更されたクロマトグラム特有のパラメータは、データの追跡を可能にするために、データファイルといっしょに保存できます。この対話式的环境では、ピーク純度、ライブラリ検索など、その他すべてのデータ解析機能の全体にアクセスできます。

バッチレビューでは、標準データ解析と同じデータ解析レジスタ (ChromReg および ChromRes) を使用するため、分析を実行中のオンラインセッションでは使用すべきではありません。

9 データレビュー、再解析、バッチレビュー

インストール済みの ChemStation OpenLAB Option でバッチレビュー機能を有効にする

インストール済みの ChemStation OpenLAB Option でバッチレビュー機能を有効にする

ChemStation OpenLAB Option がインストールされた際に、デフォルトの設定ではバッチレビュー機能は使用できません。バッチレビューを使用するため、ChemStation.ini ファイルの [PCS] セクションのエントリによりこの機能を有効にする必要があります。このファイルは、Windows ディレクトリの c:\WINDOWS にあります。

[PCS]

_BatchReview=1

デフォルトエントリの

_BatchReview=0

でこの機能を切ります。

バッチ設定

バッチとは、ユーザー定義のメソッドを使用して処理される、ユーザーが選択した一連のデータファイルのことです。バッチ内のすべてのデータファイルは、同じメソッドを使用して処理されます。レビューのために新しいサンプルが読み込まれるごとに実行される処理ステップを選択することができます(積分、同定/定量、レポート)。

バッチ内のすべてのキャリブレーションランが、平均化されたレスポンスファクタを使用して1つのシングルキャリブレーションテーブルを生成するために使用されます。このテーブルは、その後、定量するのに使用されます。

バッチテーブル

分析対象がユーザー設定が可能なバッチテーブルの中に表示されます。

- テーブルの列の数と内容を指定できます。
- 分析は次に挙げる指標でソートできます。
 - 他のすべての条件から独立しているランインデックス(分析が取り込まれた順序)
 - サンプルタイプ(コントロールサンプル、キャリブレーションサンプル、ノーマルサンプルの順)と各サンプルタイプ内の分析インデックス
 - メソッドと(データ取り込みをするのに複数のメソッドが使用された場合は)各メソッド内の分析インデックス
- サンプル、キャリブレーションサンプル、およびコントロールサンプルはテーブルに表示することも隠すこともできます。

選択された分析ごとに、バッチテーブルの1行を使用します。サンプルタイプを「削除」に変更することで、バッチテーブルの分析を除外できます(キャリブレーションからなど)。

化合物テーブル

化合物の結果がユーザー設定が可能な化合物テーブルに表示されますが、化合物テーブルの内容はバッチテーブル内のサンプルのタイプに依存します。

- 化合物リストは、バッチレビュー用に読み込まれたメソッド内で発見されたすべての化合物を含んでいます。
- キャリブレーションサンプルのみがバッチテーブルに表示される場合は(サンプルとコントロールサンプルは隠されている)、化合物テーブルにはキャリブレーション関連情報のための列が追加表示されます(予想アマウント、相対エラー、および絶対エラー)。
- コントロールランのみがバッチテーブルに表示される場合は(サンプルとキャリブレーションサンプルは隠されている)、化合物テーブルには定義済みのコントロールリミット用の列が追加表示されます。

化合物特有の情報を含む列には、%s をカラムの仕様に追加することにより、化合物の名前をテーブルタイトルに含めることができます。

バッチレポート

バッチレポートには、通常、バッチテーブルと化合物テーブルに類似した 2 つのテーブルが含まれます。これらのテーブルも、ユーザー設定が可能です。

化合物特有の情報を含む列には、%s をカラムの仕様に追加することにより、化合物の名前をテーブルタイトルに含めることができます。複数行のヘッダーが使用できます。記号「|」を改行する位置に挿入します。

ユーザーインターフェイス

バッチレビューでは、次の 2 つのユーザーインターフェイスの中から選択できません。

- 標準インターフェイスには、バッチメニューのアイテムのほとんどに対応するボタンバー、バッチテーブル、化合物テーブルが含まれています。

- 最低限のインターフェイスには、標準インターフェイスと同様のボタンバーが含まれていますが、バッチテーブルと化合物テーブルがバッチテーブルに特化した情報のみを含むコンボボックスに置き換えられています。最低限のインターフェイスのボタンバーには、バッチテーブル関連または化合物テーブル関連のボタンが含まれていません。

レビュー機能

次の2つの方法でデータファイルを表示できます。

- テーブルから表示したい分析を選択する、マニュアルによる表示
- データファイルごとのインターバルを事前定義した、自動表示自動表示では、テーブルに表示されているサンプルタイプのみが表示されます。分析は、テーブル内の順序に従って表示されます。自動レビューは一時停止ができ、その後再開したり、停止したりできます。

バッチレビューでは、**ChemStation** が提供する標準機能が使用できます。これには、キャリブレーション、たとえばスムージングやマニュアル積分によるクロマトグラムのマニュアル操作が含まれます。データファイルに加えられたすべての変更は、マークされバッチファイルとともに保存されます。レビューされたクロマトグラムは、バッチテーブル内でアスタリスクでマークされます。現在のクロマトグラムのみに加えられた変更、またはバッチ内のすべてのクロマトグラムに加えられた変更を破棄することもできます。

レビューが開始されると、選択された処理オプションが実行されます。その処理がすでに実行され、変更が保存されていると、処理済の結果が読み込まれます。これは、未処理を読み込むよりも処理が必要ないので短時間で済みます。

バッチレビュー内のキャリブレーション

バッチレビュー内のキャリブレーションは、シーケンステーブルのリキャリブレーション設定とは独立して働きます。バッチキャリブレーションの最初のステップでは、必ずキャリブレーションテーブルのレスポンスおよびリテンションタイムのエントリ両方が置き換えられます。以降のキャリブレーション標準に対しては、レスポンスおよびリテンションタイムの値が平均化されます。

バッチレポート

ユーザー設定が可能な「バッチテーブル」211 ページ  は、プリンタへ直接印刷したり、画面に表示したり、次に挙げるフォーマットのうちの 1 つを使用して、ユーザ指定のプレフィックスを付けてファイルに出力することもできます。

- 拡張子 .TXT を持つ UNICODE テキスト
- 拡張子 .DIF を持つデータ交換フォーマット
- 拡張子 .CSV を持つ CSV (値がコンマで区切られた) フォーマット
- 拡張子 .XLS を持つ Microsoft Excel フォーマット

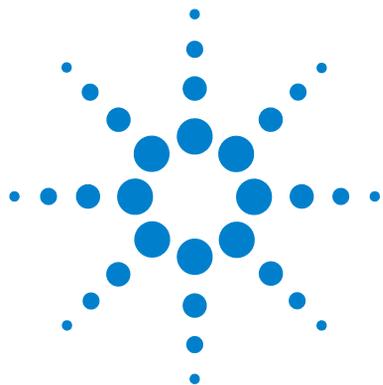
レポートオプションは、バッチテーブル内のソートメソッドとは独立したサンプルソート (ランインデックス、サンプルタイプ、またはメソッドによる) も可能にします。ソートの優先順序は、「バッチテーブル」211 ページ  に従います。

バッチ履歴

バッチレビューでは、現在のバッチ処理に関連するすべてのアクションがログに記録されます。バッチを変更するすべてのアクション (たとえば、表示されたクロマトグラムの変更、サンプルタイプの変更、バッチの読み込みおよび保存など) に対しては、日付とタイムスタンプ、現在のオペレーター名、およびイベントの説明を記録する行がバッチ履歴に 1 行追加されます。

バッチ履歴には、自分のコメントを追加することもできます。既存のバッチ履歴のエントリは編集不可能で、履歴リストは、バッチ履歴のメニューアイテムからはできないとアクセスできません。

9 データレビュー、再解析、バッチレビュー バッチレポート



10

ChemStation レポートの使用

- レポートとは 218
- 結果のレポート 219
 - キャリブレーションされていないレポート 219
 - キャリブレーションされたレポート 219
 - 外部標準レポート 220
 - 内部標準レポート 220
 - コントロールチャートレポート 220
- 定量結果 221
- カスタムフィールド値のレポート 222
- レポートスタイル 223
 - カスタマイズされたレポートのレポートスタイルへの追加 225
- 他のレポートスタイルパラメータ 226
 - ピーク和テーブル 226
 - キャリブレーションされていないピークのレポートレイアウト 226
- レポート出力先 227
 - レポートファイルフォーマット 227
- シーケンスサマリレポート 229
 - 概要 229
 - シーケンスサマリレポートの設定 229

本章では、レポートの概念について説明します。内容は、レポート結果、定量結果、レポートスタイル、レポート出力先、およびシーケンスサマリレポートについての詳細になります。



10 ChemStation レポートの使用

レポートとは

レポートとは

レポートは、分析するサンプルの定量的および定性的情報から構成されます。レポートは紙に印刷したり、画面に表示したり、電子ファイルに出力したりできます。レポートには、分析中に検出されたピークの詳細、および取り込んだシグナルのプロットが含まれます。

結果のレポート

次の 2 種類のレポートが利用可能です。

- 検出器のレスポンスを修正しない、キャリブレーションされていないレポート
- 検出器のレスポンスにある相違点をサンプルのさまざまな成分に修正した結果を表示する、キャリブレーションされたレポート。

キャリブレーションされていないレポート

キャリブレーションされていないレポートには、面積 % および高さ % レポートが含まれます。これらのレポートは主に、キャリブレーションされたレポートの準備に使用されます。対象となる化合物用の単位面積または高さのレスポンスを生成するのに必要な化合物の量が類似していれば、最終レポートとしての価値もあります。

キャリブレーションされたレポート

キャリブレーションされたレポートは、検出器のレスポンスにある相違点をレポートされた化合物に修正します。レポートされた化合物の既知アmountを含む 1 つまたは複数のキャリブレーションサンプルを、未知のサンプルに使用されるのと同じ条件のもとで分析する必要があります。これらのキャリブレーションサンプルから取得した積分データは、キャリブレーションデータの準備に使用されます。このデータは、レポート生成に使用される、リテンション/マイグレーションタイム、量およびレスポンスのリストです。キャリブレーションされたレポートは、外部標準および内部標準とよばれる 2 つのキャリブレーション手順に基づいています。

外部標準レポート

ESTD レポートは、選択した単位、または存在するすべての化合物に占める各化合物の割合を使用して、結果を一覧表示します。外部標準の手順には、キャリブレーションサンプルと未知サンプルの両方が注入された相対量が正確に分かっている必要があります。外部標準レポートの信頼性は、注入の再現性、およびサンプルごとに違うその他の要因による限界があります。

内部標準レポート

外部標準手順の限界は、内部標準のアプローチを使用することで克服することができます。内部標準の正確な既知アmount (同じアmountである必要はない) がキャリブレーションサンプルと未知サンプルの両方に加えられます。対象の各化合物のレスポンスは、内部標準のレスポンスで分割され、レスポンス比を提供します。検量線は、このレスポンス比とアmount比のプロットで、この情報はレポートされる結果の計算で使用されます。このようにして、すべての化合物に等しく影響を与えるクロマトグラフ/エレクトロフェログラフシステムにおける注入量またはわずかな変更に関する不注意によるエラーがなくなります。ISTD レポートは、選択した単位で結果を一覧表示します。

コントロールチャートレポート

コントロールチャートレポートは、特定のキャリブレーションされた化合物に対する複数の分析から、単一の結果を記録します。コントロールチャート機能は、ChemStation が稼動した後にインストールされます。この機能を使用するメソッドは、各分析の後、記録された結果を Microsoft Excel のワークシートに渡します。その後、Excel を使用してレポートを印刷します。

定量結果

レポートタイプは、たとえば **ISTD** レポートのように、それを作成するのに使用された計算方法の名前で識別されます。以下は、各タイプの簡単な説明です。各レポート用の計算方法については、「定量結果」[221 ページ](#) に記載されています。

面積% は最も簡単なレポートで、サンプル成分の検出器レスポンスの差異に対しては修正が行われないため、キャリブレーションデータを必要としません。面積% レポートは、他のレポートオプションとともに使用するキャリブレーションテーブルを作成するのに特に役立ちます。このレポートは、成分の検出器レスポンスでの相違が重要ではない分析に適しています。

高さ% は、面積% レポートと同様のレポートですが、ピークの高さの代わりにピークの高さが計算に使用される点が異なります。

Norm% は、各成分が存在するすべての成分の割合として報告されるレポートです。ピークは、各割合の計算前に検出器のレスポンスに対して修正されません。

ESTD は、選択した単位にかかわらず、各物質の実際のアマウントのレポートを作成します。アマウントは、以前に作成されたキャリブレーションテーブルを使用して計算されます。外部標準を使用するには、注入されたキャリブレーション混合物の量を知っている必要があります。

ESTD% は、注入されたサンプルの割合として各物質の相対アマウントのレポートを作成します。アマウントは、以前に作成されたキャリブレーションテーブルを使用して計算されます。外部標準を使用するには、注入されたキャリブレーション混合物の量を知っている必要があります。

ISTD は、各物質の実際のアマウントのレポートを作成します。アマウントは、以前に作成された検量線を使用して計算されます。サンプル混合物とキャリブレーション混合物の両方で内部標準を使用すると、注入されたサンプルの量を調べて管理する手間が省けます。これにより、分析ごとに機器のパフォーマンスに生じる偏差も修正されます。

ISTD% は、注入されたサンプルの割合として各物質の相対アマウントのレポートを作成します。サンプル混合物とキャリブレーション混合物の両方で内部標準を使用すると、注入されたサンプルの量を調べて管理する手間が省けます。これにより、分析ごとに機器のパフォーマンスに生じる偏差も修正されます。

10 ChemStation レポートの使用

カスタムフィールド値のレポート

カスタムフィールド値のレポート

取り込みメソッドに従い特定のサンプルに取り付けられたカスタムフィールドの値を、レポートに追加できます。元のサンプル情報を含むレポートヘッダーの最後に、サンプルカスタムフィールドが一覧表示されます。化合物カスタムフィールドは、レポートの最後に表示されます。

レポートスタイル

次に挙げるレポートスタイルが利用可能です。

[レポート条件] ダイアログボックス内の適切なボックスにチェックを入れることで、レポートスタイルのいずれかにシグナルを追加することを選択します。

- **なし** - 文章はレポートされません。[クロマトグラム出力の追加] オプションが選択されている場合のみ、クロマトグラムが記録されます。
- **簡易** - [シグナル詳細] ダイアログボックス (LC のみ) または [シグナル] ダイアログボックス (GC のみ) で設定されるすべての積分済みシグナルの定量結果のテキストから構成されます。簡易レポートでは、ピーク幅はインテグレータに使用される次のようなより複雑な式で計算します。 $PW = 0.3(IPRight - IPLLeft) + 0.7(Area/Height)$ この式で、IPRight および IPLLeft は変曲点です。
- **詳細** - ヘッダー、定量結果、検量線などから構成されます。ヘッダーはメソッドディレクトリの RPTHEAD.TXT ファイルに保存されます。テキストエディタからヘッダーを変更して、メソッド固有のテキストを入れることができます。
- **ヘッダー + 簡易** - ファイルヘッダーおよび定量結果のテキストから構成されます。ヘッダーはメソッドディレクトリの RPTHEAD.TXT ファイルに保存されます。テキストエディタからヘッダーを変更して、メソッド固有のテキストを入れることができます。
- **GLP + 簡易** - ヘッダー、サンプル情報、装置条件、ログブック、シグナル、定量結果から構成されます。ヘッダーはメソッドディレクトリの RPTHEAD.TXT ファイルに保存されます。テキストエディタからヘッダーを変更して、メソッド固有のテキストを入れることができます。
- **GLP + 詳細** - ヘッダー、サンプル情報、装置条件、ログブック、シグナル、定量結果、検量線から構成されます。ヘッダーはメソッドディレクトリの RPTHEAD.TXT ファイルに保存されます。テキストエディタからヘッダーを変更して、メソッド固有のテキストを入れることができます。
- **フル** - ヘッダー、サンプル情報、装置条件、ログブック、シグナル、定量結果から構成されます。ヘッダーはメソッドディレクトリの RPTHEAD.TXT ファイルに保存されます。テキストエディタからヘッダーを変更して、メソッド固有のテキストを入れることができます。

10 ChemStation レポートの使用

レポートスタイル

- **パフォーマンス** - 「システムスタビリティ」メニューにある [パフォーマンスリミット編集] ダイアログボックスで指定されたリミット値に従ってレポートを作成します。

キャリブレーションされていないメソッドの場合、レポートパラメータには各ピークのピーク番号、リテンション/マイグレーションタイム、ピーク面積、ピーク高さ、シグナルの説明、真の半値幅 (「真のピーク幅 W_x [分]」[248 ページ](#)  も参照)、対称度、 k' 、効率 (理論段数)、分解能が含まれます。

キャリブレーション済みメソッドの場合、レポートパラメータには各ピークのピーク番号、リテンション/マイグレーションタイム、化合物名、アマント、シグナルの説明、真の半値幅、対称度、 k' 、効率 (理論段数)、分解能が含まれます。

半値幅計算式は、インテグレータに使用されるより複雑な式とは異なります。効率および分離度の値は、ここから計算したピーク幅に基づきます。レポートのヘッダーには、機器、カラム/キャピラリ、サンプル、取り込みパラメータなどのメソッド関連情報がすべて含まれています。シグナルもプロットされます。

- **パフォーマンス + ノイズ** - [システムスタビリティ] メニューの [ノイズ範囲の編集] ダイアログボックスで定義されたノイズ範囲のノイズ計算とパフォーマンスレポートスタイルを組み合わせます。さらに、ノイズは、標準偏差の 6 倍、最大振幅、および ASTM ノイズとされます。ドリフトとうねりも決定されます。
- **パフォーマンス + 拡張** - ピークパフォーマンスの計算や各ピークの個別プロットからのすべてのパラメータを含む拡張レポートが作成されます。プロットには、ベースライン、タンジェント、および定義された高さのピーク幅を含みます。このレポートタイプにはキャリブレーションピークのみが含まれます。

パフォーマンスレポートスタイルのために印刷されたパラメータに加え、以下のようにさらに多くのピークパフォーマンスパラメータが決定されます。各ピークのピーク開始および終了時間、歪み、超過、ピーク幅、USP テーリングファクタ、データポイント間の時間間隔、データポイント数、統計学的モーメント、理論段数、メートルあたりの理論段数、選択性、分解能が印刷されます。ピーク幅、理論段数、メートルあたりの理論段数、選択性、分解能は、真の半値幅、5 シグマ、タンジェント、テーリングメソッドにより計算されます (詳細は、「パフォーマンステスト定義」[246 ページ](#)  を参照してください)。

レポートのヘッダーには、機器、カラム/キャピラリ、サンプル、取り込みパラメータ、およびシグナルのプロットなどのメソッド関連情報がすべて含まれています。ピークパフォーマンスパラメータアルゴリズムの完全なリストは、「パフォーマンステスト定義」[246 ページ](#)  を参照してください。

スペクトルのレポートスタイル (簡易 + スペクトル、詳細 + スペクトル、パフォーマンス + ライブラリサーチ) は、『スペクトルモジュールの概要』で説明されます。

カスタマイズされたレポートのレポートスタイルへの追加

ChemStation の [レポートのレイアウト] ビューで作成したカスタムレポートテンプレートを、利用可能なレポートスタイルのリストに追加できます。

ノート

パフォーマンスレポート以外のすべてのレポートは、インテグレータでさらに複雑な式を使用して計算したピーク幅を一覧表示します (ピーク幅計算の詳細については、「ピーク幅」[80 ページ](#)  を参照してください)。

他のレポートスタイルパラメータ

ピーク和テーブル

このピーク和テーブルは、以下の機能でより効率的に実行される石油化学および製薬業界向けの特定アプリケーションのために提供されます。

- ユーザーが指定した範囲内にあるピーク面積を合計する
- ピークの範囲内にある面積を合計し、乗数を 1 つ使用して計算を実行する
- 同じ名前を持つすべてのピークの面積を合計する

レポートが作成されると、ChemStation は、ピーク和レポートによって置き換えられる補正 % は例外として、ピーク和テーブルを使用して標準計算後に印刷されるピーク和レポートを生成します。

キャリブレーションされていないピークのレポートレイアウト

キャリブレーションされていないピークのレポートレイアウトを変更するには、[レポート条件] ダイアログボックス内で次のいずれかを選択します。

- リテンション / マイグレーションタイムでの並べ替えを選択している場合は分割された 1 つのテーブルで、シグナルでの並べ替えを選択している場合は分割された複数のテーブルで、[分割] を選択して、キャリブレーションされていないピークをレポートします。
- [キャリブレーションピークと一緒に] を選択して、キャリブレーションされていないピークをキャリブレーションピークと一緒にレポートします。
- [レポートしない] を選択して、キャリブレーションされていないピークのレポートを非表示にします。

レポート出力先

レポートは、次のいずれかに出力できます。

- 画面

レポート(テキストとグラフィックを含む)は、画面上のレポートプレビューウィンドウに表示され、そこから印刷することができます。

- プリンタ

テキストとグラフィックから構成されるレポートは、現在選択されているプリンタに印刷されます。

- ファイル

レポートはファイルに保存されます。データがファイルに保存されると、たとえば **Microsoft Windows** の **EXCEL** のような他のプログラムでデータを再処理することができます。

レポートファイルフォーマット

レポートは、さまざまな形式で保存できます。各フォーマットには個別の拡張子があります。1つのレポートに複数のフォーマットを選択することもできます。

.TXT レポートのテキストは、UNICODE テキストファイルとして出力されます。

.EMF それぞれのレポートグラフィック(シグナルまたは検量線)は、**Microsoft Windows** メタファイル(WMF)に保存されます。1つのレポートに複数の.WMF ファイルを持たせることもできます。生成されたファイルフォーマットは、Windows のソフトウェア開発ドキュメントで定義されている **Microsoft** 標準メタファイルフォーマットにしていますが、これらのファイルは、さまざまな独自仕様のソフトウェアパッケージで使用されている **Aldus Placeable Metafile (APM)** フォーマットと互換性があります。

.DIF 表形式のレポートは、データ交換フォーマット(DIF)で保存されます。このフォーマットは、**Microsoft Windows EXCEL** などのスプレッドプログラムで利用できます。選択されたレポートスタイルとは関係なく、"簡易"のレポートスタイルに含まれる情報のみ保存されます。

10 ChemStation レポートの使用

レポート出力先

.CSV このレポートは、CSV (値がコンマで区切られた) フォーマットです。これは表形式データ用の非常に単純な形式で、多くのスプレッドシートやデータベースで利用可能です。選択されたレポートスタイルとは関係なく、「簡易」のレポートスタイルに含まれる情報のみが保存されます。

単一のレポート用に、複数の .DIF および .CSV ファイルを使用できます。レポートブロックごとに、たとえば REPORT00.CSV のような最初のファイルにレポートヘッダー情報が含まれます。それに続くファイルには、表形式の結果が含まれます。

結果がリテンション/マイグレーションタイムによってソートされている場合、全体のテーブルに、たとえば REPORT01.CSV のようなファイル 1 個のみ必要です。

結果がシグナルによってソートされる場合、シグナルごとに個別の表が必要です。この場合、ファイルは Report01.CSV から ReportNN.CSV (NN はシグナルの番号を表す) という形式で名前が付けられます。

.XLS レポートは、Microsoft Excel スプレッドシートに XLS フォーマットでエクスポートされます。データは一般的に処理を加える必要があります。

.PDF レポートは .pdf ファイルに印刷されます。 .pdf レポートの場合、ChemStation は「novaPDF Pro Server v5」と呼ばれる PDF プリンタを使用します。このプリンタの対応するライセンスは、ChemStation からの印刷にのみ有効です。他のアプリケーションからもこのプリンタを使用する場合、その目的のためのライセンスを購入する必要があります。

シーケンスサマリレポート

概要

ChemStation では、個別のサンプル分析ごとに、さまざまな標準レポートを印刷できます。シーケンスサマリ レポートは、別のレポート出力方法で、たくさんの異なる分析にわたってパラメータを計算しレポートすることができます。たとえば、機器の安定性や新しいメソッドの堅牢性をテストするのに役立ちます。

シーケンスサマリ レポートには次のものが含まれます。

- タイトルページ
- 機器のリビジョン番号および使用される分析カラム / キャピラリを含む、機器の設定
- どの分析の自動シーケンスが実行される必要があるかを記述しているシーケンステーブルのリスト
- シーケンスが行った内容およびシーケンス実行中に発生した予期しないイベントのログブック記述
- メソッドのリスト
- サンプルごとの個別レポート
- 選択した基準に基づく分析に関する統計 (統計はキャリブレーションされた化合物のみに対して計算される) および
- レポートの詳細セクションを参照するページ番号付きの目次

シーケンスサマリレポートの設定

シーケンスサマリレポートを設定する際、次に挙げる 9 個のカテゴリから、適切なチェックボックスをチェックして有効化し、必要に応じてテンプレートセクションからレポートスタイルを選択することにより、好きな組み合わせを選択できます。各テンプレートは、シーケンスサマリレポート全体における特定のセクションの内容とレイアウトを指定します。

次に挙げるシーケンスサマリレポートのスタイルのいずれかを選択できます。

10 ChemStation レポートの使用

シーケンスサマリレポート

ヘッダページ

GLP テンプレートは、以降のレポートのために、GLP をタイトルページとして、大きな文字で印刷します。日付および署名する場所も含まれます。

コンフィグレーション

レポートに機器コンフィグレーションおよび分析カラム / キャピラリの仕様を含めたい場合は、[コンフィグレーション] を選択します。

シーケンステーブル

レポート内のサンプルのリスト、サンプル定量パラメータ、およびメソッド名を含むには、[シーケンステーブル] を選択します。このリストは、システムが何を分析したかを表示します。

ログブック

機器の状態およびサンプル分析中に発生した異常イベントを含む、システムが実行した分析のリストを取得するには、[ログブック] を選択します。

メソッド

一連の自動分析の中で使用された、すべての分析メソッドを一覧表示するには、[メソッド] を選択します。

分析レポート

メソッド用に設定されたレポートスタイルに基づいて個別の分析レポートを取得するには、[分析レポート] を選択します。

個別の分析レポートは、シーケンスサマリレポート内で指定されたレポートセクションに加えて、問題になっているメソッドに指定されたレポートスタイルに基づいて、分析ごとに印刷できます。「シーケンス出力」を参照してください。

SUILabel タイプ = " アプリケーション "> キャリブレーションランおよびサンプルラン用の統計

[キャリブ試料分析の統計] を選択すると、キャリブレーションサンプルの統計的トレンド分析が生成されます。[未知試料分析の統計] を選択すると、サンプル (不明) 分析の統計的トレンド分析が生成されます。両方の選択で、標

準統計法および拡張統計法のテンプレートスタイルを使用できます。拡張統計法は分析の統計トレンドをグラフで印刷するのに対し、標準統計法はテキストのみ印刷します。[拡張統計法用のアイテムおよびリミット] ダイアログ ボックスで選択した内容は、[シーケンスサマリパラメータ] ダイアログ ボックスの [拡張統計法] オプションを選択した場合にのみ使用されます。

[シーケンスサマリパラメータ] ダイアログボックスの [標準統計法] オプションを選択した場合、レポートされる統計は次のとおりです。

- リテンション / マイグレーションタイム
- 面積
- 高さ
- アマウント
- ピーク幅 (レポートスタイルに基づく、「レポートスタイル」 [223 ページ](#)  を参照)
- 対称度

統計計算では、マルチレベルキャリブレーションメソッドを使用するシーケンス内の異なるキャリブレーションレベルは区別されません。これは、たとえば、面積、高さ、アマウントのような濃度に依存するアイテム ([拡張統計法用のアイテムおよびリミット] ダイアログ ボックスを参照してください) はすべて、キャリブレーションレベルにかかわらずひとまとめにして考えられることを意味します。このため、[キャリブ試料分析の統計] の値は、シーケンス内のマルチレベルキャリブレーションメソッドには役立ちません。

サマリ

サマリを選択すると、分析された一連のサンプルの概要、および使用されたメソッドが印刷されます。サマリが他のシーケンスサマリ とともに選択されている場合、シーケンスサマリレポートの別の部分を参照するページ番号が含まれます。次に挙げる 2 つのサマリスタイルが利用可能です。

サンプルサマリは、サンプル名、データファイル名、メソッドおよびバイアル番号のようなサンプル情報とともに、シーケンス内のサンプル分析実行の詳細を表にします。

化合物サマリは、キャリブレーションされた化合物またはピークごとの基本定量結果とともに、メソッド内で指定されたレポートのタイプに基づいてサンプル分析を表にします。

10 ChemStation レポートの使用

シーケンスサマリレポート

シーケンス出力

[シーケンス出力] ダイアログボックスでは、シーケンスサマリレポートの印刷位置を定義することもできます。

[ファイルへのレポート] を選択してファイル名を入力すると、指定したファイルにレポートが出力されます。デフォルト設定は、データは **GLPrprt.txt** というファイルに保存されます。デュアル注入機能を持つ GC システムでは、フロントインジェクタとバックインジェクタのデータはそれぞれ、**GLPrptF.txt** および **GLPrptB.txt** というファイルに保存されます。

[プリンタへのレポート] を選択すると、システム上のプリンタにレポートが印刷されます。[各装置レポートを印刷] を選択すると、各分析後にサンプルレポートを印刷する機能が有効になります。これらのレポートは、シーケンス全体の終了時に生成されるシーケンスサマリレポートとして指定したレポートに加えて印刷されます。これらのレポート用に、[シーケンス出力] ダイアログで新しい出力先を指定したり、個々のメソッド内で指定した出力先を使用することができます。

11

システムスタビリティの解析

ノイズ測定 237

標準偏差の 6 倍を使用したノイズ計算 237

ピーク to ピーク の式を使用したノイズ計算 238

ASTM メソッドによるノイズ計算 239

S/N 計算 241

ドリフトおよびうねり 241

ピーク対称性の計算 242

システムスタビリティの式および計算 244

一般定義 245

空隙量 245

リテンションされない化合物のリテンションタイム $t(m)$ [分]
] 245

パフォーマンステスト定義 246

統計モーメント 246

統計モーメント、歪み、および超過 247

真のピーク幅 W_x [分] 248容量ファクタ (USP)、容量比率 (ASTM) k' 248USP テーリングファクタ (USP) t 248カラムごとの理論段数 (USP, ASTM) n 249メートルごとの理論段数 N [1/m] 250相対リテンション (USP, ASTM)、選択性 α 250分離度 (USP, ASTM) R 251

再現性に関する定義 252

サンプル平均 M 252サンプル標準偏差 S 252相対値標準偏差 $RSD[\%]$ (USP) 253平均値の標準偏差 SM 253信頼区間 CI 253

11 システムスタビリティの解析 シーケンスサマリレポート

回帰分析 254

回帰係数 255

標準偏差 (S) 255

内部保持されている倍精度数へのアクセス 256

本章では、分析機器がサンプル分析に使用される前と分析メソッドが定期的
に使用される前の両方の時点で事前解析を行うために、および分析システムが定
期的な分析に使用される前および分析の実行中にパフォーマンスをチェックす
るために、**ChemStation** では何ができるかについて説明します。

分析機器がサンプル分析に使用される前と、分析メソッドが定期的
に使用される前の両方の時点においてパフォーマンスを解析することは、分析を行うた
めの優れた習慣です。定期的な分析の前および実行中に、分析システムのパ
フォーマンスをチェックするのも良い考えです。**ChemStation** ソフトウェア
では、これらの3つの種類のテストを自動的に行うためのツールが提供されてい
ます。機器テストでは、検出器の感度、ピークリテンション/マイグレーション
タイムの精度、およびピーク面積の精度のテストを含めることができます。
メソッドテストでは、リテンション/マイグレーションタイムとアマウントの
精度、選択性、および操作における日々の変化に対するメソッドの堅牢性のテ
ストを含めることができます。システムテストでは、アマウントの精度、2つ
の特定のピーク間の分解度、およびピークテーリングのテストを含めることが
できます。

ラボでは、次の要件を満たす必要があります。

- GALP 規制
- GMP 規制および cGMP 規制
- GALP 規制

ラボでは、これらのテストの実施、およびその結果の完全な文書化が推奨され
ます。たとえば、ISO9000 認定に従うために、品質管理システムの一部になっ
ているラボでは、機器の適切な機能することを証明する必要があります。

ChemStation では、複数の分析結果を照合し、シーケンスサマリレポートの中
でそれらの結果を統計的に解析します。

テストは、規制当局および独立監査人によって一般的に認められているフォー
マットで文書化されます。統計には次のもの含まれます。

- ピークリテンション/マイグレーションタイム
- ピーク面積
- アマウント
- ピーク高さ

- 半値幅
- ピーク対称度
- ピークテーリング
- 容量ファクタ (k')
- 理論段数
- ピーク間の分離度
- 先行するピークに関連した選択性
- 歪み
- 超過

平均値、標準偏差、相対標準偏差、および信頼インターバルが計算されます。標準偏差、相対標準偏差、または信頼インターバルのパラメータにリミットを設定できます。値がリミットを超える場合は、そのことに注意を促すようにレポートにフラグが付きます。

分析データの質は、測定が行われた時の実際の状態の記録を取ることでサポートされます。**ChemStation** のログブックは分析前後に装置条件を記録します。この情報はデータとともに保存され、サンプルデータとともにレポートされます。分析全体を通して機器のパフォーマンスカーブがシグナルとして記録され、データファイルに保存されます。機器がサポートしている場合は、クロマトグラムに重ね書きされたこれらの記録は、たとえば監査の時など、必要に応じて呼び出すことができます。

ベースラインノイズおよびドリフトは、自動的に計測されます。検出可能な最低レベルが、メソッド内のキャリブレーションされた化合物ごとにピーク高さのデータから計算されます。

最後に、機器コンフィグレーション、機器のシリアル番号、カラム/キャピラリー識別番号、および自分のコメントを印刷される各レポートに含めることができます。

拡張パフォーマンスの結果は、リテンション/マイグレーションタイムと化合物名によって確実に特徴付けることで、メソッド内でキャリブレーションされた化合物に対してのみ計算されます。

典型的なシステムパフォーマンステストのレポートには、次のパフォーマンス結果が含まれます。

- 機器の詳細
- カラム/キャピラリーの詳細
- 分析メソッド

11 システムスタビリティの解析

シーケンスサマリレポート

- サンプル情報
- 取り込み情報
- シグナル説明およびベースラインノイズ測定
- リテンション/マイグレーションタイムまたは化合物名で名付けられたシグナル

さらに、次に挙げる情報がクロマトグラム内のキャリブレーションされた化合物ごとに生成されます。

- リテンション/マイグレーションタイム
- k'
- 対称度
- ピーク幅
- 理論段数
- 分離度
- シグナルノイズ比
- 化合物名

ノイズ測定

ノイズは、シグナルの選択された時間範囲で取得されたデータポイント値から測定されます。ノイズは、次の異なる 3 種類の方法で扱われます。

- ドリフトの直線回帰の標準偏差の 6 倍 (sd)
- ピーク to ピーク (修正されたドリフト)
- ASTM メソッド (ASTM E 685-93) による測定

ノイズは、シグナルの最高 7 つの範囲に対して計算できます。範囲は、レポートパラメータの中で、システムスータビリティの設定の一部として指定されません。

標準偏差の 6 倍を使用したノイズ計算

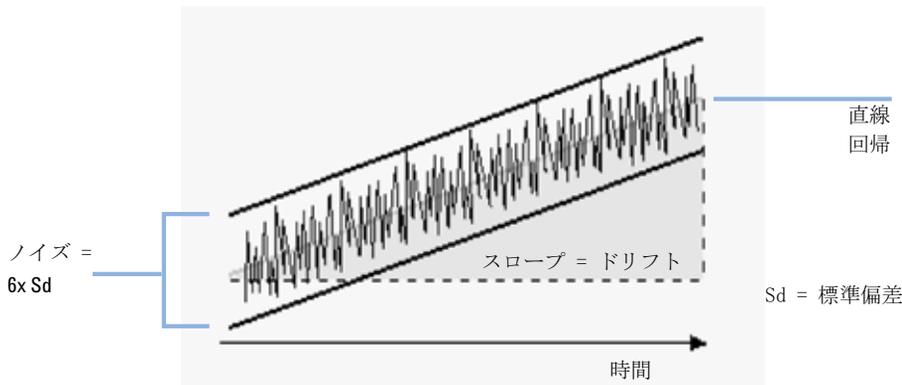


図 42 標準偏差の 6 倍を使用したノイズ

直線回帰は、任意の時間範囲内のすべてのデータポイントを使用して計算されます (「回帰分析」 254 ページ 図 を参照してください)。ノイズは、次の式によって取得されます。

$$N = 6 \times Std$$

変数の意味は次のとおりです。

11 システムスタートビリティの解析 ノイズ測定

N は、6 倍標準偏差法に基づくノイズです。

Std は、この時間範囲内のすべてのデータポイントの直線回帰の標準偏差です。

ピーク to ピーク の式を使用したノイズ計算

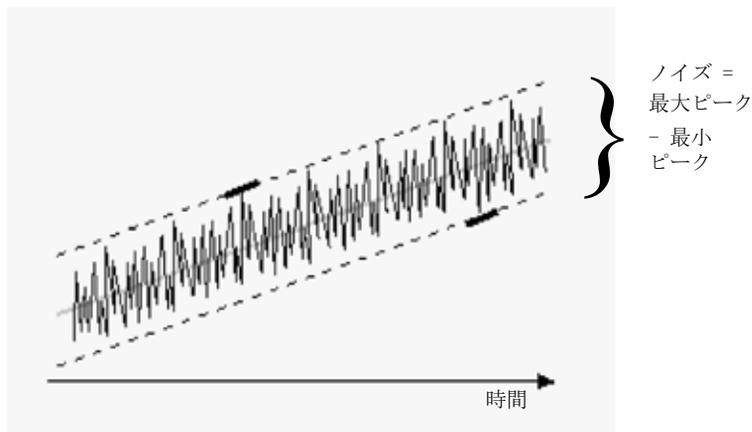


図 43 最大ピークから最小ピーク (距離) としてのノイズ

ドリフトは、時間範囲内のすべてのデータポイントを使用して直線回帰を測定することによって計算されます(「回帰分析」254 ページ図を参照)。直線回帰のラインは、ドリフト修正済みシグナルを得るために時間範囲内のすべてのデータポイントから差し引かれます。ピーク to ピークによるノイズは、次の式によって取得されます。

$$N = I_{\max} - I_{\min}$$

変数の意味は次のとおりです。

N はピーク to ピークノイズです

I_{\max} は最高 (最大) 強度のピークです

I_{\min} はこの時間範囲内の最低 (最小) 強度のピークです。

ASTM メソッドによるノイズ計算

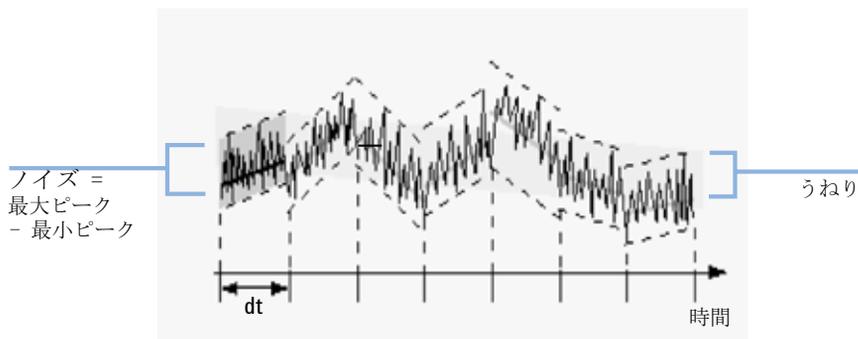


図 44 ASTM メソッドで測定されたノイズ

ASTM ノイズ測定 (ASTM E 685-93) は、ASTM (米国材料試験協会) によって定められた、流体クロマトグラフィで使用される可変波長光度検出器をテストする標準的技法に基づいています。時間範囲の大きさに基づいて、ノイズは 3 つの異なるタイプに区別されます。ノイズ測定は、定義された時間範囲内のピーク to ピーク測定に基づきます。

サイクルタイム、 t

長期ノイズ、検出器シグナル (6 ~ 60 サイクル/時の周波数を持つ) の全不規則振動用の最大振幅です。長期ノイズは、選択された時間範囲が 1 時間を超える場合に測定されます。各サイクルの時間範囲 (dt) は、選択された時間範囲内で少なくとも 6 サイクル発生する 10 分に設定されます。

短期ノイズ、検出器シグナル (1 サイクル/分を超える周波数を持つ) の全不規則振動用の最大振幅です。短期ノイズは、10 ~ 60 分の選択された時間範囲で測定されます。各サイクルの時間範囲 (dt) は、選択された時間範囲内で少なくとも 10 サイクル発生する 1 分に設定されます。

超短期ノイズ (ASTM E 685-93 の一部ではない)、この用語は、検出器シグナル (1 サイクル/0.1 分を超える周波数を持つ) の全不規則振動用の最大振幅を表すためのものです。

超短期ノイズは、1 ~ 10 分の選択された時間範囲で測定されます。各サイクルの時間範囲 (dt) は、選択された時間範囲内で少なくとも 10 サイクル発生する 0.1 分に設定されます。

11 システムスタビリティの解析 ノイズ測定

サイクル数 n の測定

$$n = \frac{t_{tot}}{t}$$

この式で、 t はサイクルタイム、 t_{tot} はノイズが計算される全時間を表します。

各サイクル内のピーク to ピークノイズの計算

ドリフトは、時間範囲内のすべてのデータポイントを使用して直線回帰を測定することでまず計算されます(「回帰分析」[254 ページ](#)  を参照)。直線回帰のラインは、ドリフト修正済みシグナルを得るために時間範囲内のすべてのデータポイントから差し引かれます。ピーク to ピークによるノイズは、次の式によって取得されます。

$$N = \frac{I_{max}}{I_{min}}$$

この式で、 N はピーク to ピークノイズ、 I_{max} および I_{min} は時間範囲内の最高(最大)と最低(最小)の強度ピークをそれぞれ表します。

ASTM ノイズの計算

$$N_{ASTM} = \frac{\sum_{i=1}^n N}{n}$$

この式で、 N_{ASTM} は ASTM メソッドに基づくノイズを表します。

選択された時間範囲が 1 分に満たない場合は、ASTM ノイズ測定は行われません。範囲に応じて、選択された時間範囲が 1 分以上の場合は、ノイズは以前に説明した ASTM メソッドの少なくともサイクルごとに 7 個のポイントがキャリブレーション内で使用されます。自動ノイズ測定内のサイクルは、10 % 重複します。

S/N 計算

S/N 計算のためにノイズを計算するには、ドリフトの直線回帰の標準偏差の 6 倍 (sd) が ChemStation では使用されます。システムスタビリティ設定内で指定されている範囲からピークに最も近い範囲が選択されます。S/N は、次の式によって取得されます。

$$\text{Signal-to-Noise} = \frac{\text{Height of the peak}}{\text{Noise of closest range}}$$

S/N は、各シグナル内のピークごとに計算されます。ChemStation でノイズ値が見つからない場合は、S/N は「-」と記録されます。

ドリフトおよびうねり

ドリフトは、直線回帰のスロープとして表されます。図「標準偏差の 6 倍を使用したノイズ」を参照してください。うねりは、ASTM ノイズサイクル内の中間データ値の最大振幅ノイズとして測定されます。「ASTM メソッドで測定されたノイズ」を参照してください。

11 システムスタビリティの解析

ピーク対称性の計算

ピーク対称性の計算

ChemStation では、ピーク対称度の比率は測定されません。これは通常、ピーク高さのピーク半値幅を 10 %、または FDA が推奨する 5% で比較して測定されます。

ピーク対称度は、インテグレータによって次に挙げるモーメント方程式で擬似モーメントとして計算されます。

$$m_1 = a_1 \left(t_2 + \frac{a_1}{1.5H_f} \right)$$

$$m_2 = \frac{a_2^2}{0.5H_f + 1.5H}$$

$$m_3 = \frac{a_3^2}{0.5H_r + 1.5H}$$

$$m_4 = a_4 \left(t_3 + \frac{a_4}{1.5H_r} \right)$$

$$\text{Peak symmetry} = \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_3 + m_4}}$$

変曲点が発見されない場合、または変曲点が 1 個だけ記録された場合は、ピーク対称度は次のように計算されます。

$$\text{Peak symmetry} = \frac{a_1 + a_2}{a_3 + a_4}$$

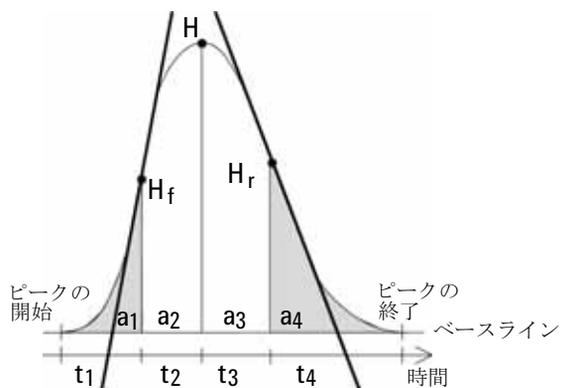


図 45 ピーク対称度ファクタの計算

変数の意味は次のとおりです。

a_i = 区分の面積

t_i = 区分の時間

H_f = 表の変曲点の高さ

H_r = 裏の変曲点の高さ

H = 頂点の高さ

システムスタビリティの式および計算

ChemStation では、さまざまなシステムスタビリティのテストから結果を取得するのに、次の式が使用されます。結果は、パフォーマンス、パフォーマンス+ノイズおよびパフォーマンス+拡張レポートスタイルを使用して記録されます。

所定の定義に ASTM または USP が指定されている場合、定義は対応する出典での定義に従います。ただし、ここで使用されている記号は、出典で使用されているものと異なる可能性があります。

ここで使用される 2 つの出典は以下のとおりです。

- *ASTM:Section E 682 - 93, Annual Book of ASTM Standards, Vol.14.01*
- *USP:The United States Pharmacopeia, XX.Revision, pp.943 - 946*

一般定義

空隙量

$$V = d^2 \pi l (f/4)$$

変数の意味は次のとおりです。

d = カラムの直径 [cm]

π = 定数、円の円周対直径の比率

l = カラムの長さ [cm]

f = 固定相では利用されないが、移動相で利用可能なカラム量の割合。f のデフォルト値 = 0.68 (Hypersil 用)

リテンションされない化合物のリテンションタイム $t(m)$ [分]

(デッドタイムまたは空隙時間とも呼ばれる)

$$T_m = V/F$$

変数の意味は次のとおりです。

F = 流量 of LC [ml/分]

パフォーマンステスト定義

統計モーメント

$$M0 = d_t \cdot X$$

$$M1 = t_0 + d_t \cdot \frac{X}{Y}$$

$$M2 = \frac{d_t^2}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^2 \cdot A_i \right)$$

$$M3 = \frac{d_t^3}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^3 \cdot A_i \right)$$

$$M4 = \frac{d_t^4}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^4 \cdot A_i \right)$$

変数の意味は次のとおりです。

N	区片面積の数
A_i	i をインデックスに持つ区片面積の値
d_t	隣接する区片面積間の時間間隔
t_0	最初の区片面積の時間

$$\sum_{i=1}^N$$
 部分測定用の開始インデックス 1 から終了インデックス N の合計

$$X = \sum_{i=1}^N (A_i)$$

$$Y = \sum_{i=1}^N ((i-1)A_i)$$

統計モーメント、歪み、および超過

統計モーメントは、非対称ピーク形状を説明する代替の方法として計算されます。ピークモーメントの数は無限にあります。最初の5つを使用してクロマトグラフピークに接続します。これらは、**0番目のモーメント**、**1番目のモーメント**、... **4番目のモーメント**と呼ばれます。

0番目のモーメントはピーク面積を表します。

1番目のモーメントは、平均リテンションタイムまたはピークの重力の中心で測定されたリテンションタイムです。ピークが対象でない限りは、これはピークの最大値で測定されたクロマトグラフのリテンションタイムとは異なります。

2番目のモーメントは、側面波及の測定であるピークの分散です。これは、機器システムの別の部分からの分散の合計です。

3番目のモーメントは、縦の対称度または歪みを説明します。これは、ガウス標準からのピーク形状の逸脱を測定します。[パフォーマンス+拡張]レポートで追加された歪みは、無次元の形態です。対称ピークには**0**の歪みがあります。テーリングピークには正の歪みがあり、**1番目のモーメント**はリテンションタイムより大きくなります。フロントピークには負の歪みがあり、**1番目のモーメント**はリテンションタイムより小さくなります。

4番目のモーメントまたは超過は、縦軸に沿ったピークの圧縮または伸縮の大きさと、**4番目のモーメント**が**0**であるようなガウス標準とこれとの比較方法です。これは、コンスタント面積を維持しながらガウスピークの側を移動または分離させることで視覚化できます。比較においてピークを圧縮または小さくする場合は、超過は負になります。高い場合は、超過は正になります。また、超過は無次元の形式にある [パフォーマンス+拡張] レポートで与えられます。

11 システムスタビリティの解析 パフォーマンステスト定義

真のピーク幅 W_x [分]

W_x = width of peak at height x % of total height

W_B ベース幅、4シグマ、変曲点を通るタンジェントをベースラインを交差させることで取得 (タンジェント法のピーク幅)。

$W_{4.4}$ 高さの 4.4% 幅 (5シグマ幅)

$W_{5.0}$ 高さの 5% 幅 (テーリングピーク幅)、USP テーリングファクタに使用

$W_{50.0}$ 高さの 50% 幅 (真の半値幅または 2.35シグマ)

容量ファクタ (USP)、容量比率 (ASTM) k'

$$k' = \frac{T_R - T_0}{T_0}$$

変数の意味は次のとおりです。

T_R = ピークのリテンションタイム [分]

T_0 = 空隙時間 [分]

USP テーリングファクタ (USP) t

$$t = \frac{W_{5.0}}{t_w \cdot 2}$$

変数の意味は次のとおりです。

t_w = ピークフロントと TR 間の距離 (分)、ピーク高さの 5% で測定

$W_{5.0}$ = ピーク高さの 5% のピーク幅 [分]

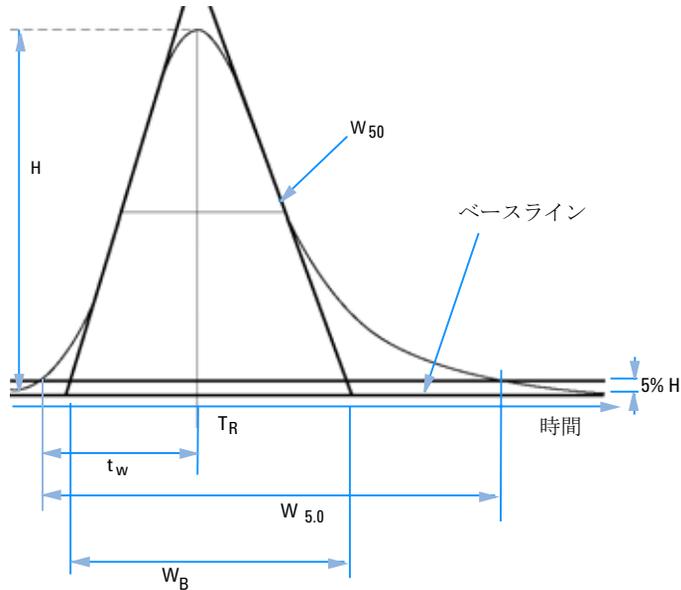


図 46 パフォーマンスパラメータ

カラムごとの理論段数 (USP, ASTM) n

タンジェント法 (USP, ASTM):

$$n = 16 \left(\frac{T_R}{W_B} \right)^2$$

変数の意味は次のとおりです。

W_B = ベース幅 [分]

半値幅法 (USP, ASTM):

$$n = 5.54 \left(\frac{T_R}{W_{50}} \right)^2$$

変数の意味は次のとおりです。

W₅₀ = ピーク高さの半分のピーク幅 [分]

11 システムスタビリティの解析 パフォーマンステスト定義

5 シグマ法:

$$n = 25 \left(\frac{T_R}{W_{4.4}} \right)^2$$

変数の意味は次のとおりです。

$W_{4.4}$ = ピーク高さの 4.4% のピーク幅 [分]

分散法:

$$n = \frac{M1^2}{M2}$$

変数の意味は次のとおりです。

$Mx = x$ 番目の統計モーメント (「統計モーメント」 246 ページ  も参照してください)

メートルごとの理論段数 N [1/m]

$$N = 100 \times \frac{n}{l}$$

変数の意味は次のとおりです。

n = 理論段数

l = カラムの長さ [cm]

相対リテンション (USP, ASTM)、選択性 α

(ピーク a および b に関連、ピーク a の $T_R <$ ピーク b の T_R)

$$\alpha = \frac{k'_{(b)}}{k'_{(a)}}, \alpha \geq 1$$

変数の意味は次のとおりです。

$k'_{(x)}$ = ピーク x の容量ファクタ

分離度 (USP, ASTM) R

(ピーク a および b に関連、ピーク a の $T_R <$ ピーク b の T_R 、 T_R の単位は分)

タンジェント法 (USP, ASTM):

$$R = \frac{2(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{B(b)} + W_{B(a)}}$$

5 シグマ法:

$$R = \frac{2.5(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{4.4(b)} + W_{4.4(a)}}$$

半値幅法 (パフォーマンスレポートで使用される分離度):

$$R = \frac{(2.35/2)(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{50(b)} + W_{50(a)}}$$

統計法

$$R = \frac{M1_{(b)} - M1_{(a)}}{W_{S(b)} + W_{S(a)}}$$

変数の意味は次のとおりです。

$M1_{(x)}$ = ピーク x の平均リテンションタイム (1 番目の統計モーメント) [分]

$W_{B(x)}$ = ピーク x のベース幅 [幅]

$W_{4.4(x)}$ = ピーク x の高さ 4.4% の幅 [分]

$W_{50(x)}$ = ピーク x の高さ 50% の幅 [分]

$W_S(x)$ = 統計モーメントから抽出した幅 = (「統計モーメント」 246 ページ 図も参照してください)

11 システムスタビリティの解析

再現性に関する定義

再現性に関する定義

再現性の点から見た分析データの統計的レビューのためには、シーケンスは、無数の起こり得る実験結果から取得した小さなランダムサンプルと見なされます。結果全体を吟味するには、無限のサンプル材料と時間が必要になります。厳密に統計的なデータは、完全な自己完結型のデータセットや母集団にのみ当てはまります。そのため、選択されたサンプルが全データを表していると仮定できることが、そのような処理に対する前提条件になります。

サンプル平均 M

N 回の測定から構成されるランダムサンプルの平均値 M は、次に挙げる式に基づいて、連続カウンタ i をインデックスに持つ、この N のシングル観測値 X_i の限定されたセットから計算されます。

$$M = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

変数の意味は次のとおりです。

N = 部分測定の回数

X_i = i 個目の部分測定の値

サンプル標準偏差 S

サイズが N であるランダムサンプルがあるとします。大きなデータ母集団から選択された有限のサンプルに対するサンプル標準偏差 S は、次のように決定されます。

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - M)^2}{N - 1}}$$

サンプル標準偏差 S は、全体の母集団に対する標準偏差 s とは次の 2 点で異なります。

- 実際の平均値の代わりに、サンプル平均値 M が使用される
- N の代わりに $N-1$ で割る

相対値標準偏差 RSD[%] (USP)

相対標準偏差は、次のように定義されます。

$$RSD = 100 \frac{S}{M}$$

平均値の標準偏差 S_M

M をサンプル平均値、 S をサンプル [または $(N-1)$] 標準偏差とします。サンプル平均値 M の標準偏差 S_M は、次のように決定されます。

$$S_M = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

これをさらに例を使って説明すると、次のようになります。

ある化合物のリテンションタイムは、1 つのシーケンスの中で計算された平均値からわずかに外れている可能性があるのに対し、他のシーケンスからのデータは、たとえば周囲の温度が変化したり、時間が経つにつれてカラムの材料が劣化したりすることが原因で、さらに大きく異なる可能性があります。この偏差を測定するために、サンプル平均値の標準偏差 S_M を、上記の式に基づいて計算できます。

信頼区間 CI

信頼区間を計算すると、平均値を 1 つのサンプルだけではなく、母集団全体に適用した場合に予想される、平均値の正確さに関する情報が得られます。

全体平均の $100 \times (1 - \alpha) \%$ 信頼区間は、次の式から得られます。

11 システムスタビリティの解析

再現性に関する定義

$$CI = t_{(\alpha/2);N-1} \cdot S_M$$

変数の意味は次のとおりです。

$$t_{(\alpha/2);N-1}$$

? のリスク確率での t 分布のパーセントポイント)

シーケンスサマリレポートの拡張統計には、95% の信頼区間が使用できます (a = 0,05)。

サンプル量が小さい場合は、t 分布 (または「研究者分布」) を使用する必要があります。サンプル量が大きい場合は、t 分布および一般 (ガウス) 分布の結果には違いがありません。このため、サンプルが 30 以上の場合、一般分布が代わりに使用されます (数が大きい場合は t 分布の計算はとても困難になるので、近似値を求めるには一般分布が最適です)。

6 個のサンプルに対する 95% 信頼区間:

$$1 - a = 0.95$$

$$N = 6$$

5 (N-1) 自由度に対して t 分布表から t の正しい値を取得する必要があり、a/2 の場合は 0.025 になります。これにより、次のような CI の計算式が成り立ちます。

$$CI = 2.571 \cdot \frac{1}{\sqrt{6}} \cdot S_M$$

回帰分析

次のように仮定します。

一次関数:

$$y_{(X)} = a + bX$$

係数:

$$a = \frac{1}{\Delta_X} \left(\sum_{i=1}^N X_i^2 \cdot \sum_{i=1}^N Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i \right) \right)$$

$$b = \frac{1}{\Delta_X} \left(N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right) \right)$$

変数の意味は次のとおりです。

$$\Delta_X = N \cdot \sum_{i=1}^N X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N X_i \right)^2$$

回帰係数

$$r = \frac{\left(N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right)}{\sqrt{\Delta_X \cdot \Delta_Y}}$$

変数の意味は次のとおりです。

$$\Delta_Y = N \cdot \sum_{i=1}^N Y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N Y_i \right)^2$$

標準偏差 (S)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - a - bX_i)^2}{N - 2}}$$

11 システムスタビリティの解析

内部保持されている倍精度数へのアクセス

内部保持されている倍精度数へのアクセス

バリデーションの目的で、検量線、相関係数、理論段数などの ChemStation から得られる結果をマニュアルで再計算する必要がある場合があります。これを行うには、ChemStation で使用される数の書式を考慮する必要があります。

ChemStation 内部に保存されているすべての数は、「C」のデータタイプである DOUBLE が使用されます。これは、扱う数ごとに、14 桁の有効数字が保存されている計算になります。このデータタイプの実装は、「C」のデータタイプおよび関連する端数計算ルールに関する IEEE 標準を Microsoft が実装したものに従っています (Microsoft の文書 Q42980、Q145889 および Q125056 を参照してください)。

キャリブレーションテーブルの計算に使用可能なパラメータの数に制限がないため、丸め誤差の増殖と蓄積により発生する恐れのあるエラーを正確に計算することは不可能です。一方、異なる検量線の構成で完全なテストを行うと、最高 10 桁の精度が保証されます。クロマトグラフ分析における面積、高さ、およびリテンションタイムの再現性は、通常 3 桁の有効数字で表されるので、計算においては、10 桁の有効数字があれば十分です。この理由から、キャリブレーションおよびその他のテーブルは、最高 10 桁の有効数字を表示します。

バリデーションのために外部 (マニュアル) 計算をする必要がある場合、内部計算に使用されるすべての桁を使用することをお勧めします。表示されたデータまたは端数を切り捨てたデータ (あるいはその両方) を外部計算に使用すると、丸め誤差のため、ChemStation が生成した結果とは異なる恐れがあります。

次の段落では、一般的にマニュアル計算で必要とされる、内部に保存されている数字のすべての桁にアクセスする方法を説明します。すべての場合において、一覧表示されたコマンドを実行する前に、適切なレポートスタイルを持つデータファイルを 1 つ読み込む必要があります。すべてのコマンドは、ChemStation のビューメニューからコマンドラインに入力できます。ファイル「C:\CHEM32\TEMP.TXT」の情報は、メモ帳または適切なテキストエディタを使用して表示できます。

生のピーク情報:

- リテンションタイム
- 面積

- 高さ
- 幅 (インテグレータ)
- 対称度
- ピーク開始時間
- ピーク終了時間

コマンドラインに次のように入力します。

```
DUMPTABLE CHROMREG, INTRESULTS, "C:\CHEM32\1\TEMP\  
INTRES.TXT"
```

処理されたピーク情報:

- 測定されたリテンションタイム
- 予想リテンションタイム
- 面積
- 高さ
- 幅 (インテグレータ)
- 対称度
- 半値幅 - ピーク高さの半分 (パフォーマンスおよび拡張パフォーマンス)
- テーリングファクタ (パフォーマンスおよび拡張パフォーマンス)
- 選択性 (パフォーマンスおよび拡張パフォーマンス)
- K' (拡張パフォーマンス)
- タンジェント法のピーク幅 (拡張パフォーマンス)
- 歪み (拡張パフォーマンス)
- 理論段数 - 半値幅 (パフォーマンスおよび拡張パフォーマンス)
- 理論段数 - タンジェント (拡張パフォーマンス)
- 理論段数 - 5 シグマ (拡張パフォーマンス)
- 理論段数 - 統計 (拡張パフォーマンス)
- 分離度 - 半値幅 (パフォーマンスおよび拡張パフォーマンス)
- 分離度 - タンジェント (拡張パフォーマンス)
- 分解能 - 5 シグマ (拡張パフォーマンス)
- 分離度 - 統計 (拡張パフォーマンス)

コマンドラインに次のように入力します。

11 システムスタビリティの解析

内部保持されている倍精度数へのアクセス

```
DUMPTABLE CHROMRES, PEAK,"C:\CHEM32\1\TEMP\PEAK.TXT"
```

処理された化合物情報:

- 計算されたアマウント

コマンドラインに次のように入力します。

```
DUMPTABLE CHROMRES, COMPOUND,"C:\CHEM32\1\TEMP\COMPOUND.TXT"
```

キャリブレーションテーブル情報:

- レベル番号
- アマウント
- 面積
- 高さ

コマンドラインに次のように入力します。

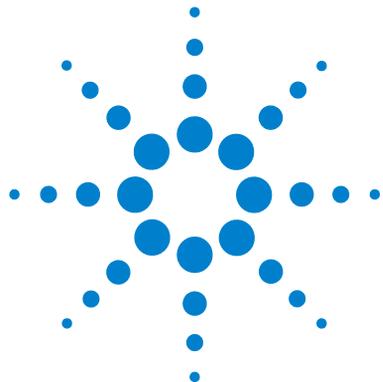
```
DUMPTABLE _DAMETHOD, CALPOINT,"C:\CHEM32\1\TEMP\CALIB.TXT"
```

直線回帰情報:

- Y インターセプト (CurveParm1)
- スロープ (CurveParm2)
- 相関係数

コマンドラインに次のように入力します。

```
DUMPTABLE _DAMETHOD, PEAK,"C:\CHEM32\1\TEMP\REGRESS.TXT"
```



12

システムベリフィケーション

ベリフィケーションおよび診断ビュー 260

システムベリフィケーション 260

GLP セーブレジスタ 263

DAD テスト機能 265

DAD テストレビュー機能 265

本章では、ベリフィケーション機能および ChemStation の GLP ベリフィケーションの特徴について説明します。



ベリフィケーションおよび診断ビュー

たとえば、LC 用 Agilent 1100/1200 シリーズモジュールなどの設定した機器でサポートされている場合は、ChemStation は機器のベリフィケーションおよび診断タスクを実行するビューを、追加で 2 つ用意しています。詳細については、オンラインヘルプシステムを参照してください。

システムベリフィケーション

システムベリフィケーションは、規制されたラボにおいて分析装置を定期的に使用する場合に、重要な要素となります。ChemStation の GLP ベリフィケーション機能は、ソフトウェアまたはソフトウェアの関連コンポーネントが正しく機能しているか、または特定の分析時に正しく機能していたかを容易に証明できるように設計されています。

ChemStation のベリフィケーション機能によって、ChemStation ソフトウェアが正しく動作しているかが検証ができます。これは、特定のメソッドに従ってデータファイルを再解析して、その結果と定義済の基準との比較を実行します。ベリフィケーション機能は、積分と定量の結果の完全性を保証するのに、特に重要です。

分析メソッドが使用するアルゴリズムソフトウェアの組み合わせをチェックするのに、標準ベリフィケーションテストを使用するか、別のメソッドとデータファイルを使用して独自のテストを定義できます。ベリフィケーションテストは保護されたファイルなので、変更や削除はできません。

[データ解析] ビュー内のベリフィケーションアイテムでは、次に挙げるオプションから任意のものを選択できます。

- データベース内でベリフィケーションテストを実行
- 新しいベリフィケーションテストを定義し、データベースに追加
- データベースからベリフィケーションテストを削除

オンラインヘルプシステムの「方法」の部分に、以上のタスクを実行する方法が説明してあります。ChemStation ベリフィケーションテストを実行するには、テスト全体の実行か部分を組み合わせて実行するかを選べます。

ベリフィケーションテストの結果はバイナリフォーマットで、デフォルトのサブディレクトリ `c:\CHEM32\1\Verify` にメソッドおよびデータファイルと一緒に保存されます。ベリフィケーション用のサブディレクトリは、シーケンス、メソッド、およびデータのサブディレクトリと同じレベルにあります。結果は、プリンタまたはファイルに出力することができます。組み合わせられたベリフィケーションテストを含むテスト結果は、合格または不合格の判定が行われます。

次に挙げるベリフィケーションテストコンポーネントが使用できます。

デジタルエレクトロニクス (Agilent 1100/1200 シリーズ DAD のみ)

テストクロマトグラムがダイオードアレイ検出器の中に保存されます。このクロマトグラムは、フォトダイオードアレイからの一般生データと同じ事前解析ステップを経た後、ChemStation に送られます。結果データは、このテストクロマトグラムのために ChemStation 内部に保存された元の結果データと比較されます。一致しない箇所があると、テストが失敗します。このテストにより、データ処理を行う DAD エレクトロニクスも正しく機能していることが保証されます。保存されたテストクロマトグラムが使用されるので、ランプまたはダイオードアレイは、このテストに含まれません。それらは、「DAD テスト機能」[265 ページ](#)  を使用してチェックできます。

ピーク積分

データファイルは、オリジナルメソッドを使用して再度積分されます。その結果は、ベリフィケーションレジスタに保存されている元の積分結果と比較されます。一致しないと、テストが失敗します。

化合物定量

データファイル内の化合物は再度定量されます。その結果は、ベリフィケーションレジスタに保存されている元の定量結果と比較されます。一致しないと、テストが失敗します。

レポート印刷

元のレポートが再度印刷されます。

次のページは、正常に完了したベリフィケーションテストの例です。

12 システムベリフィケーション ベリフィケーションおよび診断ビュー

```
=====
ChemStation Verification Test Report
=====
```

Tested Configuration:

Component	Revision
ChemStation for LC 3D ChemStation	B.01.01
Microsoft Windows	Microsoft Windows XP
Processor	Processor_Architecture_Intel
CoProcessor	yes

ChemStation Verification Test Details:

Test Name : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL
Data File : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.D
Method : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.M
Original Datafile : VERIFY.D
Original Acquisition Method : VERIFY.M
Original Operator : Hewlett-Packard
Original Injection Date : 4/16/93 11:56:07 AM
Original Sample Name : Isocratic Std.

Signals Tested:

Signal 1: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=450,80 of VERIFY.D

ChemStation Verification Test Results:

Test Module	Selected	For Test	Test Result
Digital electronics test	No		N/A
Integration test	yes		Pass
Quantification test	yes		Pass
Print Analytical Report	No		N/A

ChemStation Verification Test Overall Results: Pass

GLP セーブレジスタ

GLP セーブレジスタは、ランタイムチェックリストの中で選択された場合、各分析の最後に保存されます。レジスタには、以下の情報が含まれています。

- シグナル
- ログブック
- 積分結果テーブル
- 定量結果テーブル
- 機器パフォーマンスデータ
- データ解析メソッド

このレジスタは、分析時に生成される、完全に保護されたレコードです。将来、好きな時に、分析メソッドの証拠として呼び出すことができます。

[データ解析] ビューの [GLP セーブレジスタ] オプションからは、いつでも GLP セーブレジスタファイルをレビューすることができます。ファイルはチェックサムで保護され、バイナリにエンコードされるので、確実に変更できないようになります。

GLP セーブレジスタをレビューに選択するのに使用するダイアログボックスで、レビューオプションを次のうちから選択できます。

- オリジナルメソッドの読み込み
- オリジナルシグナルの読み込み
- 機器パフォーマンスデータの読み込み
- オリジナルメソッドの印刷
- オリジナル積分結果の印刷
- オリジナル定量結果の印刷
- オリジナルのメソッドとシグナルから、オリジナルのレポートを生成

GLP レビューファンクションを使用して、オリジナルのクロマトグラフデータを表示でき、機器パフォーマンスデータからの解析の質を保証でき、データ解釈の信頼性を立証できます。

たとえば、次のことができます。

12 システムベリフィケーション

GLP セーブレジスタ

- サンプル解析時に使用するメソッドのデータ解析部分を再読み込みして再印刷し、解決の結果として表示されたデータ解析がいかなる方法でも変更されていないことを保証します。
- 再計算せずに、積分と定量の結果をレビューして、レポートの信頼性を保証します。

DAD テスト機能

検出器テストは、規制されたラボにおける分析装置の定期的なシステムバリデーションにおける一手順として使用できます。

DAD テストは、ご使用のダイオードアレイ検出器のパフォーマンスを評価します。[機器]メニューから DAD テストを選択すると (LC3D および CE のみ可能)、機器の強度および波長キャリブレーションがチェックされます。[保存]を押すと、デフォルトの機器ディレクトリにある DADTest データベース、つまり DADTest.Reg と呼ばれるレジスタファイルにテスト結果が自動的に保存されます。

DAD テストレビュー機能

[データ解析] ビューメニューの [DAD テストレビュー] 機能により、いつでも DADTest.Reg ファイルをレビューすることができます。ファイルはチェックサムで保護され、バイナリにエンコードされるので、確実に変更できないようになります。

レビューには、次の DAD テストの好きな部分を選択できます。

ホルミウムスペクトルの表示	DAD テストレビューテーブルに一覧表示されているすべてのホルミウムスペクトルをプロットします。アクティブなスペクトルにはタグが付けられます。
強度スペクトルの表示	DAD テストレビューテーブルに一覧表示されているすべての強度スペクトルをプロットします。アクティブなスペクトルにはタグが付けられます。
新しいデータベースとして保存	DAD の中でランプを交換する場合、テーブルから不必要なテスト結果を削除し、[新しいデータベースとして保存] 機能を使用して、DADTest をリセットできます。
選択されたスペクトルの表示	テーブル内で選択したスペクトルのみ表示します。
強度グラフの表示	強度グラフをプロットし、ダイオードアレイ検出器内のランプの寿命を表示することができます。このグラフは、時間に対するランプの最大強度の機能を提供します。

索引

A

ASTM ノイズ測定 239

C

ChemStation

カスタマイズ 27

CI 253

E

ESTD

計算 120

手順 120

T

t 分布 254

U

USP テーリングファクタ 248

ア

アナログシグナル 60

アマウントリミット 148

カ

カスタマイズ
レポート 25

キ

キャリブレーション
サンプル 142
ポイント 142
マルチレベル 148
レベル 142化合物 142
曲線近似 151
設定 126

ク

クオリファイア 136

コ

コントロールチャートレポ
ート 26

コンフィグレーション 15

サ

サンプル
キャリブレーション 142
未知 146

シ

シーケンス
作成 172
詳細 164
編集 172
保存 172シグナル
アナログ 60
デジタル 60
詳細 44システムスタビリティ
リミット 235システムスタビリティレポ
ート 24
拡張性能 25
性能とノイズスタイル 24
性能レポート 24システムスタビリティ
含まれる統計 234
システムスタビリティ式
USP テーリングファクタ 248
ピーク幅 249
段数 249
シヨルダール 87
シヨルダール検出 104

ス

スロープ感度 104

ソ

ソフトウェアの概要
オペレーティングシステ
ム 15
システムコンフィグレーショ
ン 15
メソッドとシーケンス 15

タ

タイムウィンドウ
リテンション/マイグレー
ション 132
タンジェントスキム 94

チ

チェックマーク 70

デ

ディレトリ
メソッド 51
構造 35
データ解析

索引

- 特殊レポート作成 24
データ取り込み
詳細 60
- テ**
テーリングファクタ 248
- デ**
デジタルシグナル 60
- ネ**
ネガティブ ピーク 75
- ノ**
ノイズ測定 239
- バ**
バッチテーブル
コンフィグレーション
レポート 215
削除したサンプルタイ
プ 211
バッチレポート
出力形式 215
- パ**
パフォーマンス
テスト定義 246
- バ**
バンチ化 82
- ピ**
ピーク
クォリファイア 136
ピークの頂点 86
ピーク
ピーク対称性 242
- リテンションタイムウィンド
ウ 133
レスポンス 136
対称性 242
ピーク定量
定量 114
ピーク認識
フィルタ 81
ピーク幅 104
タンジェント 248
高さ x% の 248
ピーク面積 101
- フ**
ファイル
メソッド 51
ファイル形式
バッチレポート 215
結果レポート 227
フィルタ
ピーク認識 81
- ブ**
ブラケット
周期的キャリブレーション 195
- プ**
プレファレンス 35
- ベ**
ベースラインの設定 89
ベースラインの落ち込み 91
ベースライン割り当て 75, 89
- マ**
マニュアル積分 109
マルチレベル
キャリブレーション 148
マルチレベルキャリブレーション 148
- メ**
メソッド
ディレクトリ 51
メソッドファイル
機器パラメータ 51
メソッド
詳細 42
操作 52
編集 49
- リ**
リキャリブレーション
詳細 158
理由 158
リテンションタイムウィンド
ウ 133
リテンションタイム
絶対 132
リファレンスウィンドウ 133
リファレンスピーク
複数 136
- レ**
レスポンス
検出器 147
比 136
レポート
カスタマイズ 25
コントロールチャート 26
シーケンスサマリ 25
システムスタービリティ 24
スタイル 223
ファイル形式 227

索引

イ

医薬品安全性試験実施基準 29

化

化合物 142

開

開始時間 73

外

外部標準 120

割

割り当てられないピーク 99

希

希釈率 121

機

機器コントロール
ネットワーク 32

曲

曲線
近似 151

近

近似
曲線 151

計

計算
ESTD 120
補正 % 122

検

検出器レスポンス 147
検量
線 144
検量線
キャリブレーションポイント
の重み付け 151
シングルレベル 147
マルチレベル 148
強制ゼロ (原点) 通過 151
近似 151
詳細 144, 144

原

原点
含める 151
強制 151
処理 151
接続 151
無視 151

高

高さリジェクト 104, 105

残

残差
相対 144
標準偏差 145

自

自動化 161

式

式
パフォーマンステスト定
義 246

周

周期的キャリブレーション
ブラケット 195

終

終了時間 73

重

重み
2次曲線 151
キャリブレーションポイン
ト 151
均等 151
直線 151

初

初期ピーク幅 104
初期ベースライン 73, 74

乗

乗数 120

信

信頼区間 253

精

精度
分析 158

積

積分イベント 73, 104
積分
チェックマーク 70
積分のチューニング 106

絶

絶対

索引

リテンションタイム 132

線

線

検量 144

セ

段数 249

頂

頂点 73

定

定量

ESTD 手順 120

詳細 114

微

微分係数 81

標

標準

外部 120

複

複数

リファレンスピーク 136

分

分析

精度 158

補

補正 %

レポート 122

計算 122

未

未知サンプル 146

面

面積リジェクト 104

溶

溶媒ピーク 102

www.agilent.com

本書では

このハンドブックでは、**Agilent ChemStation** の様々な概念を説明します。**ChemStation** がどのように動作するかを理解を高めることを目的としています。

ChemStation の使用に関する情報は、一般的なヘルプシステムやオンラインヘルプ「チュートリアル」を参照してください。

© Agilent Technologies 2004, 2005-2008

Printed in Germany
07/08



G2070-96125



Agilent Technologies