目錄

1	•	Agilent -1200 簡易介紹2	
2	•	HPLC 開關機操作程序3	,
3	`	編輯完整方法(Edit entire Method)5	,
4	`	注射樣品設定(Sample Information)13	,
5	•	檢量線製作25	
6	`	數據分析42	,
7	`	報告輸出格式設定46	
8	•	系統清理)



壹、Agilent -1200 簡易介紹

設備外觀





貳、HPLC 開關機操作程序

- A.使用前檢查
 - 1.各設備間連線及電源插頭是否安插妥當。
 - 2.廢液出口端之管線是否接妥,並置於廢液桶內以免外漏。
 - 3.分離管柱是否為當時分析所需。
 - 4.檢視各移動相瓶管路是否接妥,移動相是否變質、沉殿。
 - 5.配製所需之移動相,經0.45μm 濾膜抽氣過濾後,倒至適當瓶內,以超音波振盪器驅 離溶於其中之氣體,將系統移動相輸送管附過濾頭置入瓶中。若有 Degasser 則可以 將此步驟省略,但建議還是做。

B.開機程序

CAG Bootp Server

1. 啟動電腦,待開機完成後,可以看到下面畫面		
	di21) Instrument I Office	Instrument 1 Offline
Ny Greater	Call Interaction	Instrument 1
Hr letwork	Ŭ	Online
Recycle En		
ji Kond Eddaw		
Resolut Resolut		
Real Action of A		
Start A 3 2 Chi Bootp Sawe	🤤 🎒 🎆 6:37 PM	

此為儀器連線常駐程式,若此程式未啟動,會 造成儀控軟體與儀器之間連線的問題

- 2. 再啟動所有電源(共5個);開闢位於左下方。
- (壓下開關後可聽到儀器自我測試的聲音,同時指示燈亦會由橘色轉為黃色。若燈號 為紅色則表示儀器開啟失敗,請通知儀器保管人協助處理。)







或在桌面 Start\Programs\Agilent Chemstation\instrument 1 Online 後則將開啟下列主畫面:



啟動後儀控主畫面



C.關機程序

- HPLC 關機需使用電腦將所有儀器操作的部分停止後,其中包括檢測器、智慧型溫控器、自動進樣器、送液幫浦系統等等,另一做法為設定關機方法,再將關機方法載入,待其達條件後即可關機。
- 2. 關機時請先將化學工作站軟體(Chemstation)關閉,再關閉 PC 及 HPLC Power

叁、編輯完整方法(Edit entire Method)

1.Pump 設定

以滑鼠點選主畫面中 Instrument 項目,將出現下圖之下拉選單: 再選擇 Set up Pump 後,則會出現 Pump 條件設定表,如下圖:



亦可將滑鼠指標移至主畫面之 pump 圖示,如圖



直接點選後將出現下列選單,選取 Set up Pump 選項後,同樣會出現上一頁的 Pump 條件設定表。 設定實驗流速 移動相閥開關 輸入移動相名稱



設定此區觀看的狀態



2.Pump條件設定表填寫說明:

Flow:填入欲使用之流量。

Stop time:每個樣品於本次實驗分析時所需要的時間。

Solvents A~D:填入四個送液瓶所裝之溶劑名稱,及所需之混和比例。

Timetable:實驗過程採用 grade 方式時,才要設定。設定方式為按下 Insert 鈕後,則新增一行。 則會看到下圖



上圖所示明顯黑字的部份為有啟動之移動相, 灰色部份為未啟動之移動相閥,上圖例為 0~40 分鐘時,當移動相 C 隨時間變化由 5%連續改變至 27%時,移動相 D 亦同時隨時間由 95% 連續改變至 73%並進行混和, 而當 40~70 分鐘時,移動相 C 則由 27%連續改變至 50%, 而移動相 D 則由 73%連續改變至 50%的比例混合,以此類推......

3.Injector 設定

以滑鼠點選主畫面中 Instrument 項目,出現下拉選單後,選擇 Set up Injector;

The strument 1 (offline 1): Method & Run Control File RunControl Instrument Method Sequence View Abort Help Set up Pump... Meth D101.D\DA.M 🔻 Sequences 禱 🛃 C:\CHEM32\1\DA...O_SEQI Set up Injector... Method and Run (Set up Column Thermostat... Set up DAD Signals... ess Data Mode E 🐨 C:\CHEM3; More Pump ۶ This method is used to a 🛄 AFCDE ۲ More Injector 🔜 BATCH Þ More DAD 🏭 DEF_L(Configure 1100/1200 Access... 🏭 DGNOI 🏭 INSTPERF.S 1.00 µl 40.0°C 1.500 ml/min 🔜 LOADTES... 🟭 ROBUST.S 🤬 ROUTINE.S 🏭 SEQDOC.S 凤 🟭 SEQSUM.S 或可將滑鼠指標移至主畫面之 Injector 圖示,如圖直接點選後將出現下列選單: 0Q/PV Response linearity - Well Plate Sampler 2 1,9 bar DAD 40.0*1 🕒 Set up Injector.. • D B Thermostat... B Configuration... ! Reset Injector on off Not Ready Inf Conlin P Help - 🗆 🗙 LC Parameters -選取 set up Injector 選項後,會出現 Injector 條件設定表,如下圖: Set up Injector : Instrument 1 × - Injection

Standard Injection	Injection Volume: 1.0
C Injection with Needle Wash	Wash Vial: 0
O Use Injector Program	Total Lines: 0 Edit
Optimization: none	0.00 min. after Injection
OK Cancel	Help More >>

於此表中僅需設定 Injection Volume 量即可。此例為注射量設定為 20.0 μ1; → 樣品注射系統溫度控制設定:選擇 Thermostat...,會出現下圖按下

設 定 溫 控 系 ← 統是否啟動	Sample Thermostat : Instrument 1	→設定溫度,範圍需依分 析方法而定
	Automatic Turn On Turn thermostat on at: Date: 10/14/2002 Time: 11:42:34 QK Cancel	

4.Column 溫度設定

以滑鼠點選主畫面中 Instrument 項目,出現下拉選單後,選擇 Set up Column Thermostat;

或可將滑鼠指標移至主畫面之 Column 圖示,如圖直接點選後將出現下列選單,

選取 Set up Column Thermostat 選項後,會出現 Column 溫度條件設定表,如下圖:

Temperature:建議設定為控溫狀態,本例為控制在40℃條件下。維持在控溫狀態最大優點在 於 baseline 較容易保持在穩定狀態,而較不會隨室溫變化而上下飄移。 StopTime:控溫維持時間,建議與 pump 時間相同。

5.DAD 檢測器設定

以滑鼠點選主畫面中 Instrument 項	目,出現下拉選單後,選擇 Set up DAD Signals
🍓 Instrument 1 (offline 1): Method & Run Cont	rol
File RunControl Instrument Method Sequence	View Abort Help
Set up Pump Set up Injector	D101.D\DA.M 🔽 Sequences 🥁 🛃 C:\CHEM32\1\DAO_SEQUE
Method and Run C Set up Column Thermostat	acc Date Mode
C:\CHEM3: AFCDE BATCH AFCDE More Pump More Injector More DAD	This method is used to an
DEF_L(Configure 1100/1200 Access DGNOI Configure 1100/1200 Access INSTPERF.S 0 0 0 LOADTES 0 0 0 0 0 ROBUST.S 0	1.00 μl 1.500 ml/min 40.0*C

或可將滑鼠指標移至主畫面之 DAD 圖示,如圖,直接點選後將出現下列選單,

選取 Set up DAD Signals 選項後,會出現 DAD 檢測器條件設定表,如下圖:

DAD Signals : Instrument 1

Time
 Sample,Bw
 Reference,Bw

 273
 4
 450
 80
 T

 254
 16
 360
 100
 m
 nm
 Store as Pump 🛔 min Stontime Postt Off 🗧 min 設定欲使用之波長範 210 8 360 100 ÷ nm C: □
 230
 16
 360
 100
 +

 280
 16
 360
 100
 +
 可設定同時記錄五個波 圍要啟動的燈源 ₩ UV **□** Vis 長,BW 為設定波長寬 Spectru Peakwidth (Responsetime) 度,如 A Signal 為 Store None (> 0.01 min (0.2 s) ▼ ▶ 訊號之反應時間 190 to 400 Rang 273nm, BW 為 4, 及偵 Autobalance 2.0 Step nm Prerun (4 nm 設定愈小解析度愈 測範圍為 271nm~275nm Threshold: 1.000 mAU C Postrun 好,但感度就會偏差 Margin for neg Timetable ... Total Lines: 0 100 mAU Cance <u>H</u>elp <u>0</u>K

需要 3D 圖定性分析時,選擇波長範圍,但需要將 Store 設為 All 或是 All in peak 時才可以輸入數值

Wavelength:依照實際需要自行設定。 Peakwidth: 訊號之反應時間,數值越小,訊號記錄就越密集。 StopTime:檢測維持時間,建議與 pump 時間相同。 同樣,設定完成後按下 OK 鈕即可。

;

6.存檔

上述設定動作若最後不進行存檔的話,則於下次開啟此軟體時,所有分析條件都將要再重新設定一次,非常浪費時間,故以下將介紹如何存檔。

首先以滑鼠點選主畫面中 View 項目,待出現下拉選單後,選擇 Preference

出現下列選單

Preferences	_ 🗆 ×
Paths Sequence Signal Options	
U:\Uhem32\3\SEQUENUE\	Add
	Remove
Data Paths	
C:\Chem32\3\DATA\	Add
	Remove
Method Paths	
C/Gremszysyme i Hodsy	Add
	Remove
OK Cancel Help	
	~
在 Paths Tab 鍵裡可增加或移除 Method、Data 和	Sequence 餘

在 Paths Tab 鍵裡可增加或移除 Method、Data 和 Sequence 的信	者存路徑
Preferences	
Paths Signal Options	
Sequence Paths	
C:\Chem32\1\SEQUENCE\ C:\Chem32\1\SEQUENCE\test\	
Remove	
Data Paths	
C:\Chem32\1\DATA\ C:\Chem32\1\DATA\test\ Add	
Remove	
Method Paths	
C:\Chem32\1\METH0DS\ C:\Chem32\1\METH0DS\test\ Add	
Remove	
OK Cancel Help	

Name:輸入檔名,受限於 Chemsation 軟體的關係不可使用中文。 之後會出現下圖,不輸需入任何資料,按下 OK 存檔便完成了

Save Method	
Comment for method history:	
ОК	

完成存檔動作後,即可先讓儀器進行分析條件平衡。

7. 啟動儀器方式

以滑鼠點選主畫面中 Instrument 項目,出現下拉選單後,選擇 System On 或將滑鼠指標移至 主畫面右側 System On 圖示,如圖,直接點選後儀器即會開始運作。(此時可聽到 pump 運作 的聲響)。

肆、注射樣品設定(Sample Information)

1.連續注射樣品系統

首先 Sequence parameters 設定

以滑鼠點選主畫面中 Sequence 項目,在下拉選單,選擇 Sequence parameters

將出現 Sequence parameters 設定表

	實驗操作人員姓名	
Auto:		
系統將自動對每一	quence Parameters: Instrument 1	X
資料命名	Qperator Name:	 ≝ Sequence 劫
Prefix/Counter :	Data File	百日日本, 圣边
可自己命名,若在	Path: C:\Chem32\1\DATA\	门兀芈俊,布主
Prefix 項目中設定檔案		我品維行任何
開頭,則在 Counter 項	Prefix: Counter:	種狀態
目中將會自動計數命		正式開始公析
名。如本例則自動以	Part of methods to run	前, 希望儀哭能白
SIG1000001 \	According to Runtime Checklist	府"和主戚品肥白 行门日前的公长
SIG1000002以此	Use Bequence Table Information	们以日前的分析
類推	Wait minutes after loading a new method Not Ready Timeout: minutes	保什干供 投时 时· 武 去 里 太
Subdirectory:檔案數		间, 5日足在 Sequence 中日
據預計存放的目錄	Bar Lode Header C Inject anyway	吃饭田名插八托
	On a bar code mismatch	时休用夕裡刀机
	- Fraction Information	力法在力法彼此
	Fraction Start Location: Transfer Settings	切探间 所而间隔 亚衡时间。
		开 供时间。
	Sequence Comment:	_
		-

According to Runtime Checklist:執行含資料收集、積分、檢量線計算、報告...等資料 Acquisition Only:僅執行資料的收集,不執行其他計算及報告列印

之後點選主畫面中 View 項目,待出現下拉選單後,選擇 Preference 出現下列選單

在 Sequence Tab 鍵裡,再設定 Run Sequence 時數據儲存之子目錄,子目錄會產生在上一頁 所建立 Subdirectory 之底下中。

子目錄之建立方式可依照日期、時間、操作者、儀器、Sequence 名稱、運行 Sequence 之次 數及電腦名稱等,軟體之預設值為 Sequence 名稱日期時間。

待檔案名稱路徑設定完成之後,以滑鼠點選主畫面中 Sequence 項目,待出現下拉選單後,選擇 Sequence Table,或是將滑鼠游標移到樣品盤圖示點下左鍵

14

Agilent Technologies

剩下之欄位: Method: Vial: lnj: Line: -Line 1 Inj Volume Vial Sample Name ISTD Amount **Dilution Datafi** ims ID. Multiplie AutoBalance 樣品注射體積 F Insert Cut Copy Paste Append Line Undo All Run Sequence 使用者選擇。 Insert/FillDown Wizard Undo Wizard пк Cancel Help

InJ/Vial,母個樣品欲重視分析次數。

Sample Type:維持在 Sample 狀態即可,若為檢量線製作,可在此選為 Calibration。Cal Level:在檢量線量限製作時,可設定此樣品為第幾等級濃度,供程式運算。

Sample Amount:可輸入樣品之濃度。

Inj Volume:分析時樣品注射量。

假若樣品數目很多,且僅使用一個分析方法時,則可以使用快速設定表單的方式設定,就不需要每個欄位一一輸入,同上頁畫面,左下方有個選項

mple Info								<u></u>			
								x			
Line Via	Sample Name	1	Method Name	Inj/Vial	Sample Type	Cal Level	Update RF	Update RT	Interval	Sample Amount	B
2					Sample						+

會出現下面的畫面

Insert/Filldown Wizard			×
Action Append Insert Fill down Every Immer(s) Number of Insert	List of detected ranges: Lines 001-002: Empty -> All 1 lines <-	Locations assignments Starting location Increment by 1	 → 從第幾個位置開始 → 間隔之位數 → 公插入> 欄數
Fields	Omit other sample types		
Clear all fields	Overwrite existing values		
Method name		•	
Sample name	Cal Level	ISTD Amount	
Inj./Location	Update RF Average	Multiplier	
Sample type Sample	Update RT Average	Dilution	
Sample amount	Interval	Inj. volume	
	OK Cance	Help	
Method Name : 불	墨擇所需之分析方法。		

Inj./ Location:每個樣品重複分析次數。 Inj. volume:每個樣品注射量。

設定完畢後切回主畫面,按下 Sequence 存檔後

🖣 Instrument 1 (offline 1): Method 8	& Run Control
File RunControl Instrument Method	Sequence View Abort Help
📑 🖥 Methods 🧟 🛃 C:\C	Sequence Parameters
Method and Run C 9 Method and Ru	Sequence Output
△ Rea	Sequence Summary Extended Statistics
AFCDELA SERTIC	New Sequence
	Load Sequence Save Sequence
INSTPERF.S	Save Sequence As
	Print Sequence
	Partial Sequence
	1 C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\DEMO_SEQUENCE -2006-02-24-1\DEMO_SEQUENCE.S 2 C:\CHEM32\1\DATA\DEMO\DEMO_SEQUENCE -2006-02-24-1\DEF_LC.S
STATIST.S Q° ° ° ° ° IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIII	3 TEST\DEF_LC.S

或將滑鼠移至主畫面之 Sequence 存檔圖示,按下以存檔

2. 單一注射樣品系統

首先,必須先切換至單一注射樣品模式,將主控制系統畫面,左上方的圖形切換到下圖所示

🍓 Instrument 1 (offlin	ne 1): Method & Run Control	7	human h. d.	(-ffling 1).	Mathada	Due Ceetu
File RunControl Instru	ment Method Sequence View Ab	File	DupCoptrol	(omine 1):	Method	
Methods 🛛	🖰 🛃 С:\СНЕМ32\1\D01-0101.Е		Runcontrol Dup Meth	ad an	FE	Dequence
Method and Run C .	Method and Run Control		Sample In	fo		M32\1\D)
	Deedu/Deesseess [Met		. ern		Control
	Ready/Reprocess i		Resume Ir	njection		- WBonr
AFCDELA			Run Sequ	ence	F6	yrtepit
BATCH.S			Pause Sec	quence		Rim
DEF_LC.S			Resume S	iequence		
			Stop Run/	/Inject/Seque	nce F8	80 100
ROBUST.S				RF.S	0000	0000
ROUTINE.S				ES 0	20202	0000
SEQDOC.S				ST.S		
SEQSUM.S					$\sim \sim \sim \sim \sim$	0000
STATIST.S	DEFAULT.D		SEQUC		0000	0000
+ est						

選擇 RunControl 選項裡的 Sample Info...,會出現下面的畫面,非常類似連續注射的畫面。

單一注射樣品,自動	命名	
	ample Info: Instrument 1	×
	Operator Name:	
	Data File	
	Path: C:\Chem32\1\DATA\ Subdirectory:	自動檔名,
自動命名選項	C Manual Prefix Counter:	Counter 為自動編 時如公·以止图為
c	Pretix/Lounter	航市伤,以此回两
	Sample Parameters	「約此头員級曾被 命名為
	Location: Vial 1 (blank run if no entry)	SIG10001.D
	Sample Name:	
	Sample Amount: 0 Multiplier: 1	
	ISTD Amount: 0 Dilution: 1	
	Compet	
	Run Method DK Cancel Help	

設定完畢後,按下OK鍵,回到主畫面,如果是 Ready 就可以執行實驗

믿

3.按下開始鈕前,最後檢查動作:
 3.1.送液瓶內容物體積設定

將滑鼠指標移至主畫面之送液瓶圖示,直接點選後將出現右列選單,

選取 Solvent bottles Filling 則會出現下列表單:

	Actual Volume:	Total Ve	olume:
<u>A</u> :	0.94 liter	1.00	liter
<u>B</u> :	0.00 liter	0.00	liter
<u>C</u> :	0.00 liter	0.00	liter
<u>D</u> :	0.86 liter	1.00	liter
2000			
Pre	vent analysis if lev	el falls below	v 0.100 lite

Actual Volume:送液瓶中目前實際存在溶劑體積。

Total Volume:送液瓶最大可裝入之溶液體積。

Prevent analysis if level falls below:可設定一個最低安全體積,通常以瓶中溶劑能完全淹沒瓶中過濾頭為最低限度。

Turn pump off if running out of solvent:當勾選此項目時,則當瓶中溶劑體積低於設定之最低 限度時,pump 將停止運作,而整體系統將 Shutdown,

以保護 pump 及 Column。

3.2.Method Information 建立

將滑鼠指標移至主畫面之 method parameter 圖示,如圖直接點選後將出現下列選單

🖣 Instrument 1 (offline 1):	Method & Run Control
File RunControl Instrument	Method Sequence View Abort Help
📑 🗧 Methods 🖙 🖢	Run Time Checklist
	Method Information
Method and Run C 7	Edit Entire Method
	Method Change History
AFCDELA	New Method
BATCH.S	Load Method
DEF_LC.S	Save Method
🛛 📲 DGNOISE.S	Save Method As
INSTPERF.S	Print Method
LOADTES	
ROBUST.S	1 C:(CHEM32(1)DATA(DEMO(DEMO_SEQUENCE -2006-02-24-1)001-0101.D)DA.M
ROUTINE.S	
SEQDOC.S	
i i i i i i i i i i i i i i i i i i i	4 IDUCKA.M

選擇 Method Information 項目後,將開啟 Method Information 設定表如下圖:

lethod Commen	its:	
OQ/PV Respons	se linearity - Well Plate Sampler	

使用者可在其中填入欲記錄的資訊,內容不要超過三行,受限於操作系統的關係,僅能輸入 英文

3.3.檢測器 Online Plot 確認:

在主畫面中可看到下列小視窗:

此視窗圖形即時反應出目前檢測器所偵測得到之訊號,通常會以 Peak 形態呈現出來。Y 軸表 示訊號強度,X軸為檢測系統啟動後所進行的時間,通常可利用此視窗瞭解目前系統穩定度 狀態。

Change..功能:

目前被記錄、監控 的項目	Edit Signal Plot Available Signals Adrosampler: Air Temperature DAD B: Signal=254,16 Reference=33 DAD C: Signal=210,8 Reference=36 DAD D: Signal=220,16 Reference=31 Quaternary Pump: ZA Quaternary Pump: ZA Quaternary Pump: XB ↓ Window <u>x</u> -axis range: 60 ★ min <u>d</u> raw zero line Method Settings	Selected Signals Add -> C - Remove select one signal Type: acquired y-axis range: auto y-adjust Anclu to Method	目前 Oline Plot 畫面上可觀看到 的項目
		Cancel Help	

3.4.Sample Tray 中樣品數目位置之確認:

請先用滑鼠指標點選決定是否使用 Sample tray,若決定使用 Sample tray 則會出現 sample tray 圖示,如下圖,可真實表示出樣品擺設位置,若發現有誤,可直接以滑鼠指標點選 sample tray 圖示,則會出現下列選單

此時選擇 Sequence table 項目後將會開啟 Sequence table 設定表,如之前 4.2.1 所述。 而在 Sample tray 圖示下方會有一塊區域,如下圖,其顯示目前正準備分析樣品相關資訊供使 用者 Check 之用。

即將要執行的 Method 與 Sequence 是否正確,可再存檔一次

同時可看見 Autosampler 的機械手臂會自行移動至正確位置抓取樣品瓶。

若於實驗中途發現有問題而想終止實驗進行,立刻移動滑鼠指標點選 器即會立刻終止目前正在進行的實驗,並進行資料處理,並以報告方 析結果。 鈕 ,則儀 式回覆分

Stop

若僅想暫時停止進行中的實驗,則以滑鼠指標點選主畫面 RunControl 項目,則會出現一張

再選擇 Pause Sequence 項目,此時畫面顏色會轉為黃色,並在完成目前進行中之分析工作 後,儀器隨即進入等待狀態,靜候使用者進一步下達指令。

若想讓儀器接續剛才未完成的工作,則選用 Resume Sequence 項目。此時書面顏色又會轉為 藍色,並接續前面未完成的工作。

禱 Ir	nstrument 1	(offline 1):	Method	& Run Contr
File	RunControl	Instrument	Method	Sequence
	Run Meth	od	F5	M32\1\D
	Sample In	fo		
Meth	Resume I	njection		Control
			54	- <mark>ly/Repro</mark>
	Run Sequ	ence	Fб	
	Pause per	equence		Sto
	Rosano s	equerree		
	Stop Runj	Inject/Seque	nce F8	
			0000	0000
		FS		
		it.s		
		NE.S	0000	20000
	SEQDO	c.s 📗 🖓		
			0.00	0.00

伍、檢量線製作

一般資料收集(Data Acqcuisition)完後會產生其相關資料檔案(Data file),化學工作站 (Chemstation)提供一資料處理的程式,能算出其樣品濃度或所欲了解的資訊,但首先便需製 作檢量線,當然一個方法只能一有一個檢量線程式,所以在作檢量線之前,必先確認此方法 再做適當的檢量線。以下便以最常用之外標準檢量線(ESTD)及內標準檢量線(ISTD)做簡單介 紹。

A.首先為進入資料分析(Data Analysis)畫面,由 View 中選擇 Data Analysis 進入主畫面

B.其資料處理主畫面如圖 2,以下便以化學工作站(Chemstation)之展示(Demo)檔案為例,分別 作外標準檢量線(ESTD)及內標準檢量線(ISTD)介紹。

C.載入樣品之資料檔案時還要注意在 View 項目,待出現下拉選單後,選擇 Preference 出現下 列選單

Preferences				_ 🗆 ×
Paths Sig	nal Options			
🔽 Int	egrate after load			
E Lo	ad using signal details			
⊡ Int	egrate and print report after load			
▼ Lo	ad DA method from data file			
	ок (Cancel	Help	

Integrate after load:載入檔案並依照目前方法之積分讀取

Load using signal details:可在 Calibration 項目之下拉選單中,選擇 Signal details 如下 列圖示,選取每次要載入之訊號,然後 Add to method 之後按 OK 即可。之後載入數據的圖譜 會依照 Signal Details 中的選擇被載入。

Signal Details: Instru	ıment 1							x
Available Signals-								
DAD1 A, Sig=254,	4 Ref=550,100			•	A	dd to Metho	٩ ٩	
Insert Row	Append Row	Delete Row]					
Signal Descri	ption				Start	End	Delay	
DAD1 A, Sig=25	4,4 Ref=550,100				0.000	0.000	0.000	<u>N</u>
				<u> </u>	1			▶
					1 (ancel 1	Help	1
						Januel	нер	

Integrate and print report after load:載入檔案並依照目前方法之積分讀取,並且列印報告 Load DA method from data file:如果執行連續自動注射運行時,會在檔案資料夾裡自動儲存 處理檔案資料分析之方法,在載入方法時即可選擇是否載入此方法。如果載入,方法即會像 下列圖示顯示 (DA method)

The comment of the co	naiysis	
File Graphics Integration Calibration	in Report Spectra Batch View Abort Help	
Signals 🦾 🔯 DEMO\DEMO_SE	4-1\001-0101.D 🔄 Methods 🏹 🛃 15OCRA.M (DA Method)	
Data Analysis 🛛 👎	Sequence: DEMO_SEQUENCE -2006-02-24-1	
Δ	🛛 🕅 🕅 📣 🕨 📗 🎓 🖨 🕕 🖶 😓 🕎 😓 🔜 🛛 Ready/Reproces	s C
C:\CHEM32\1\DATA	Line 🔻 Inj 🛛 Vial 💌 Sample Name 🔻 Method Name 💌 Sample Type 💌 Cal Level S	am
BATCH	▶ 🛨 1 1 Vial 1 isocratic standa ISOCRA.M Sample D	AD
DEMO SEQUENCE	+ 2 1 Vial 1 isocratic standard TEST.M Sample D	AD
ESTD DAD		
ISTD DAD	🛅 Integration 🎂 Calibration 💹 Signal 🛄 Purify 🧔 Spectrum	
OTHER LC DETECTORS	In the Report: Perf + Noise 🕒 🛆 🖓 🖓 All caded Signals 💌 🚚	
PURIFY Single Dunc		~
TEST	DAD1 A, Sig=254,4 Ref=off (DEMO\DEMO_SEQUENCE -2006-02-24-1\001-0101.D)	
* 🔁 test	PMP1, Solvent A	
	PMP1, Solvent C	
	D PMP1, Solvent D D PMP1, Flow	
	THM1, Temperature (Left)	
	PMP1 , Pressure	
	mAU _ %	_
	140 -	
	420	
Data Mothoda		
	100 - 60	
Method and Run Control	80-	
		_
		_

一、外標準檢量線(ESTD)

1. 進入資料分析畫面後,便需載入所屬標準品之資料檔案,以本例而言其檢量線之標準品檔 案在 C:\Chem32\1\data\demo\中,所以便需由 File 進入 Load Signal 後,選擇其標準品檔案 (C:\Chem32\1\data\demo\005-0101.d),如下圖所示。

 進入後其畫面如下,因其 Y 軸是採最大之波峰為主,故此譜圖可能看不出那些是欲做檢 量線之標準品,需做少許設定及積分設定以利檢量線製作。

 調整Y軸參數於Graphic 中選擇Signal Option,進入畫面後再於Ranges 中選擇Autoscale, 便可自動調整Y軸參數,或亦可選擇Use Ranges 自行設定Y軸(訊號值大小)之範圍與X 軸(分析時間)之範圍。

🎆 Instrument 1 (offline 1): Data An	ilysis	<u>_ 8 ×</u>
File Graphics Integration Calibration	Report Spectra Batch View Abort Help	
Signal Options	💌 Methods 🏹 🛃 DEF_LC.M 💌 🎞 🄙	
Data 🗸 Zoom In	Data Analysis	
Zoom Out	Signal Options: Instrument 1	dy/Reprocess Data Mode
-K New Annotation		a dyn epiocess Data mode
Line Annotation		hple Name Method Name Sample Am.
Move Annotation	Axes Compound Names Retention Times	
New 'WINE' Apportation	Baselines V Lick Marks Non-overlapping peak labels	F
Edit Annotation Options	Peak Labels Font	
Canuta Clinhand	Font Name: Arial	
Copy to Cipboard	Font Size: 8	01.D) 🔻 🛃 💽 💊 📐 🔼 💟 🖄 👋
	Font	
	r manges	
	Min Value Max Value	
	O Use Ranges / ime Range:	
	Autoscale Hesponse Hange:	
	Multi-Chromatogram	
		N 1
	Layout: Separated 💽 Scale: Each in full Scale	8
	Coom separate	\land
Data Methods		
		5 6 min
	•	•
📆 Data Analysis		
	OK Cancel Help	Area Height Width Area% Sy
Report Layout		294.7 104.9 0.0448 29.983
Yerification (00/PY)	Date 4/19/94 7:44:14 AM 3 2.565	176.3 26.8 0.0966 17.934
vernication (00/P+)	Sample Isocratic Std. 1 4 5.837	251.2 16.9 0.2219 25.554
💓 Diagnosis	Sample Info	
»	Operator a.g.h.	
-		Ŀ
Ready Edit the Signal Options		
😹 Start 🛛 🚮 🏉 🔍 🗍 👗 CAG I	ootp Server Times Instrument 1 (offline	😵 🗐 🐌 11:37 AM

4. 使用 Autoscale 後便如下圖,其Y軸範圍已改變,可清楚看出所欲做檢量線之物質,但因 其雜訊過多,於後續作檢量線會有稍許影響,故需作積分之設定。

	don Report Speca	L ADDITION ADDITION	eiþ						
Signals		Methods 🖓 🛃 I	DEF_LC.M		· 💷 🕗 🛛				
Integration Event	S								
data Analysis	ts							******	
Auto Integrate			> ♥ ₩ ₩ ₩ ₩	120		Ready/Repro	cess Data	Mode	
H DEM Draw Baseline			🕶 Operator 🛛 💌 🕯	/ial 💌	Data File	Sample Name	 Method N 	iame 💌	Sample A
+ log test Negative Peak(s)		7:44:14 AM	a.g.h. V	ial 5	005-0101.D	Isocratic Std. 1	DEMO.M		0
Tangent Skim									
Split Peaks									
Delete Peak(s)		_ 🔶 Calibration 🗔	Signal 💹 Purify 🏼	Spectru	m				
All Valleys									
Conu Manual Fue	nta to Mothod	- Report: Short	li 🖓 🔁 🕅	DAD1	A, Sig=25MO	\005-0101.D) 💌 🤅	🤩 🔫 🤜	$ \lor \Delta $	
Copy Manual Eve Apply Manual Eve	nts to Method	1.0. CircoE4.4 D-4-EE0.400							
Remove Manual E	vents from Method	1 A, Sig-204,4 Kei-000, lot	0(020000000101.0)						
riono ro rianda z	-	- 1							
	-	l E							
	80 -	2							
		1							
	60 -								
	1		10						
	40 -		585						
	40 -		2.585					837	
	40		2.665					5.837	
Data Methods	40-		2.565					6.837	
Data Methods	40-20-			<u> </u>				26.837	·
Data Methods	40 -		2	3	· · · ·	4	5	0-	
Data Methods	40 - 20 - 0 -		9907 2	3		4	5	0	•
Data Methods	40-20-0-		2	3		4	5	0-	1
Data Methods Methods Method and Run Control	40-20-0-	File Information	2,2666	3	t Time	4 Area	5 Height	2589 6 Width	Area%
Data Methods Method and Run Control Data Analysis Report Layout	40- 20- 0-	File Information ie 005-0101.D	2,2000	3	Time	4 Area 294.7	5 5 Height 104.9	6 Width 0.0448	Area% 29.983
Data Methods Methods Method and Run Control	40- 20- 0- 	File Information Ie 005-0101.D th C.VEHM3231DATA/DE	2 MO\	3	Time 0.747 1.021	Area 294.7 200.0	5 Height 104.9 76.5	6 Width 0.0448 0.0518	Area% 29.983 26.529
Data Methods Method and Run Control Control Data Analysis Report Layout Control Data (DQ/PY)	40- 20- 0- LCFii File Pa Da	File Information ie 005-0101.D th C:\CHEM32\1\DATA\DE te 4/159/4 7.44.14 AM te 4/159/4 7.44.14 AM	2 2 MO\	3	Time 0.747 2.1.021 3.2.565 5.07	Area 294.7 260.8 176.3 261.2	5 Height 104.9 76.5 26.8 26.8	6 Width 0.0448 0.0518 0.0366	Area% 29.983 26.529 17.934
Data Methods Method and Run Control Data Analysis Report Layout Yerification (OQ/PY)	40- 20- 0-	File Information ie 005-0101.0 it C:VCHEM321\DATA\DE te 4/19/34 7:44:14 AM le Isocratic Std. 1 do It	2 MO\	3	Time 0.747 2 1.021 3 2.565 4 5.837	Area 294.7 260.8 176.3 251.2	5 Height 104.9 76.5 26.8 16.9	6 Width 0.0448 0.0518 0.0966 0.2219	Area% 29.983 26.529 17.934 25.554
Data Methods Method and Run Control Control Control Method and Run Control C	40- 20- 0- 1 ILCFF File Pa Da Sample IT Barone	File Information Ie 005-0101.D th C.\CHEM32\1\DATA\DE td 4/13/9474414 AM Isocratic Std. 1 1 for 1	2 MO\	3	Time 0.747 1.021 3.2.565 4.5.837	4 234.7 260.8 176.3 251.2	5 Height 104.9 76.5 26.8 16.9	6 Width 0.0448 0.0518 0.0518 0.0518 0.2219	Area% 29.983 26.529 17.934 25.554
Data Methods Method and Run Control Data Analysis Part Layout Perification (0Q/PY) Diagnosis	40- 20- 0 File Pa Da Sample Ir Barcoo	File Information le 005-0101, D th C.\CPLEM32\1\DATA\DE te 4/19/34 7.44.14 AM le Isocratic Std. 1 ino isocratic Std. 1	MO\	3	Ime 0.747 1.021 3.2.565 4.5.837	Area 234.7 260.8 176.3 251.2	5 Height 104.9 76.5 26.8 16.9	6 9 4 0.0449 0.0518 0.0966 0.2219	Area% 29.983 26.529 17.934 25.554

5. 積分設定於 Integration 中選擇 Integration Events...,積分設定主畫面於左中部分,選擇 Area Reject 設定為 5,並於 Integration 中選擇 Integrate。

🖣 Instrument 1 (offline 1): Data A	nalysis						_	l a x
File Graphics Integration Calibratio	n Report Spectra Batch View Abort	Help						
Signals 🚛 🔤 DEMO\005-0101.I	D 🔄 Methods 🕼 📷] DEF_LC.M		· 🎟 🙁				
Data Analysis 🛛 🗣	Data Analysis							
					Ready/Reproce	ess Data Mode		
🖃 🦾 DEMO	Date Time	Operator a g b	▼ Vial ▼	Data File	Sample Name	Method Name	▼ Samp	le Am
主 🦾 test		digiti	THUIS	003 0101.0	Isocratic Sta. 1			
								•
	📙 Integration 🎂 Calibration 🛽	\Lambda Signal 🔣 Pur	ify 💩 Spectru	m				
	[🛄 🞊 📈 Report: Short	🖹 🖻 🗟 é	3 🗞 📃					
	DA-1 A. Sig=25MO\005-0101.D) -				*//*			
								1
		」	DAD1 A, Sig	=254,4 Ref=550,1	00 (DEMO\005-0101.D))		
	Manual Events			021				
			80	÷ I				
	For All Signals:		60					
			40 -	<u>}</u>	2.565		37	
	l lataantiaa Eurata	N-h-s	20		Ä		26.8	
Data Methods	Tangent Skim Mode	Standard	۰ل	Λ			<u>ــــــــــــــــــــــــــــــــــــ</u>	
	Tail Peak Skim Height Ratio	0.00		2		4	6	min
Method and Run Control	Skim Vallen Batio	20.00						
📆 Data Analysis	Events Table DAD Default		# Time	Å	Height \	vidth Area?	Summetru	
	Time Integration Events	Value	1 0.747	294.7	104.9 0	0.0448 29.983	0.729	
Report Layout	Initial Slope Sensitivit	y 5 1 0.05	2 1.021	260.8	76.5 (0.0518 26.529	0.707	
Verification (OQ/PV)	Area Reject		4 5.837	251.2	16.9 (0.2219 25.554	0.67	
	Initial Height Height	s OFF						
87 Diagnosis								
÷								
Ready Cancel integration events e	diting							
😹 Start 🗍 🛃 🍪 🚺 🕌 CAG	Bootp Server	(offline				Ø.	*** 11:	40 AM

6. 積分完成後便如下圖,此動作為減少非標準樣品 Peak 之影響, Area Reject 設定值多寡則 視其所需。

🍓 Instrument 1 (offline 1): Data Ar	nalysis								_ 8 ×
File Graphics Integration Calibration	n Report Spectra Batch View Abort	Help							
Signals 🦳 🦾 DEMO\005-0101.D) 💽 Methods 🛵 🖶	DEF_LC.M			- 🔳 🕗 🛛				
Data Analysis 🛛 🔍	Data Analysis								
Δ			표 및 백	- 12 - 13		Ready/Reproc	ess Data Mod	e	
E C:\CHEM32\1\DATA	Date Time	▼ Opera	tor Vi	al 🔻	Data File	Sample Name	Method Name	▼ Sam	ple Am
H Ca test	▶ 🕂 4/19/1994 7:44:14 AM	a.g.h.	Vi	al 5	005-0101.D	Isocratic Std. 1	DEMO.M	0	
									•
		u Signai y	👖 Punty 😋	spectru	Im				
	📙 🛄 1 🕅 🕅 Report: Short		🛕 🖆 🐔	ì					
	DAD1 A, Sig=25MO\005-0101.D) 💌	ۍ کې	🔍 💊 🕰	a 💵 🖄	V 🕽 🔊 🛛	🔺 🎌 💁 📃	•		
				AD1 A Sig	=254 4 Ref=550	100 (DEMO)005-0101	2)		1
			mAU -	4	. 20 .,		~		
	Manual Events			7	021				
			80 -		-				
	For All Signals:		60 -						
			40		1	2.586		31	
	Integration Events	Mahua	20 -	- 1		Δ		22	
Data Methods	Tangent Skim Mode	Standard	0	L	Λ			_/,	
	Tail Peak Skim Height Ratio	0.00			2		4	6	min
🟹 Method and Run Control	Skim Valley Batio	20.00	•						•
Data Analysis	Events Table DAD Default	•							
	Time Integration Events	Value	#	0.747	Area 294.7	Height 104.9	Width Area 2 0.0448 29.983	0.729	
🥤 Report Layout	Initial Slope Sensitivity	5	2	1.021	260.8	76.5	0.0518 26.529	0.707	
Verification (OQ/PV)	Initial Area Reject	5	4	5.837	251.2	26.8	0.0966 17.934	0.644	
	Initial Height Reject	1 OFF							
S Diagnosis	Thidai Shoulders	on							
» Ť									
Ready Cancel integration events ea	diting								
🏦 Start 🛛 🛃 🏈 🕅 🌋 CAG	Bootp Server	(offline					Ø	005 11	:40 AM

7. 當設定完成後,先於 Calibration 中選擇 Calibration Settings,設定所相關之參數,如濃度 單位、檢量線型式等等,一般以原始設定即可,倘若欲知更高階設定,可於參閱"求 助"(Help)。

🝓 Instrument 1 (offline 1): Data Analysis		_ @ ×
File Graphics Integration	Calibration Report Spectra	atch View Abort Help	
Signals 🛄 🙀 DEMON	New Calibration Table	Nethods 🔄 🛃 DEF_LC.M 💌 🧾 🥠	
Data Analysis	Delete Calibration Table Recalibrate		
	Add Level		rocase Data Modo
	Add Peaks		
📰 🔤 DEMO 🧹	Calibration Settings	4 Calibration Settings: Instrument 2	T DEMO.M 0
🖭 🞑 test	Advanced Calibration	Title	
	Calibration Table Options	Use Sample Data From Data File	
	Select Peak	Cal Sample Defaults	
	Delete Peaks	Amount U.000 I# Compound ISTD Amount	
	Add Peaks	ort: Amount Units ng/ul	
	Recalibrate Compounds	- Big=2: Multiplier 1.000	
	Calibration Table	Dilution 1.000	
	Compound Groups Signal Details	Default RT Windows	
	Control Sample Limits	Minutes % Type Linear	
		Reference Peaks 0.00 + 5.00 Origin Include	<u> </u>)
	00-	Other Peaks 0.00 + 5.00 Weight Equal	
	40 -	Calculate Uncalibrated Peaks	
	-	For Signal:	837
	20 -	Correct All RTs	Ň
Data Methods	0-	C Using Compound None	
		C With Rsp Factor 0.000	5 6 min
Method and Run Co	ntrol	Use ISTD None	
Data Analysis		I I I I I I I I I I I I I I I I I I I	
		ile Info	Height Width Area% Sj
🕑 Report Layout	LC-File (15-0101	104.9 0.0448 29.983
	Date 4	19/94	26.8 0.0966 17.934
Verification (UQ/PV	Sample I	ocratic: OK Cancel Help	16.9 0.2219 25.554
💓 Diagnosis	Sample Info		
	Barcode Derator a	ah.	
	• <u> </u>		
Ready Edit current Calib	ration Settings		
🛃 Start 🛛 🚮 🏉 🔍	CAG Bootp Server	Tinstrument 1 (offline 📃 Document - WordPad	🛞 🗐 🏷 🐇 11:42 AM

8. 當於 Calibration settings 設定完畢後,於 Calibration 中選擇 New Calibration Table,進入主畫面後,可選擇手動或自動設定,本例以自動設定作說明,其中 Level 指其檢量線之點,所謂 Level 1 便指檢量線中之第一點,本例以 3 點作一檢量線,而 Default Amount 為其濃度,濃度為 30 ng/ul(單位於 Calibration Settings 中已設定),所以於 Default Amount 欄中設定為 30。

🍓 Instrument 1 (offline 1):	: Data Analysis							_ 8 ×
File Graphics Integration	Calibration Report Spectra E	Batch View Abort Help						
Signals 🦾 🚾 DEMO	New Calibration Table	📊 🛃 🔄 🕹 🕹	F_LC.M	- 🔳 🥼				
	Delete Calibration Table							
Data Analysis	Recalibrate						*****	
-I CI)CHEM32111DATA	Add Peaks				Ready/Repr	ocess Data M	ode	
÷li⊇ DEMO	College Collins	-	Operator 💌 Vial	💌 Data File	Sample Name	 Method Nar 	ne 💌	Sample Am
🗉 🦾 test	Advanced Calibration	:14 AM	a.g.h. ¥ial 5	005-0101.D	Isocratic Std.	L DEMO.M		0
	Calibration Table Ontions	-						•
-	Calibration rable Options	Calibrate: Instrumen	t 2	×	1			
	Select Peak				1			
	Add Peaks		New Calibration Table		05-0101.D) 🔻	J 💽 🔍		V 🛯 👋
	Recalibrate Compounds	- Calibration Tab	le			- 1		1
	Calibration Table							
	Compound Groups	C Manual Setu	ιp					
	Signal Details	(Automatia C	atura Lauak 1					
	Control Sample Limits	Automatic J	erap Lever P			設力	言為:	30
	60 -	D	efault Arkount: 0.000		T			
			2	2				
	40 -	Collection Man	-					
			16		88			
	20-	Calculate Si	gnals Separately				Ň	
Data Methods	0-					/	\sim	
8			8.			5	6	min
Method and Run Cor	ntrol	OK	Cancel	Help				
Data Analysis								
	F	ile Information		# Time	Area	Height	Width	Area% Sy
Report Layout	LC-File 0	05-0101.D	<u> </u>	1 0.747	294.7	104.9	0.0448	29.983
A	File Path C	:\UHEM32\1\DATA\DEM0 /19/94 7:44:14 6M	N	2 1.021	260.8	76.5	0.0518	26.529
Verification (OQ/PV)	Sample Is	ocratic Std. 1	19/94 /:44:14 AM		251.2	16.9	0.2219	25.554
Diagnosis	Sample Info							· · · · ·
ev signesis	Barcode	ab						
		.y.n. muo u	•	•				Þ

9. New Calibration Table 設定完畢後便如下圖所示,於左下角 Calibration Table 中,選擇檢量線之物質,其餘部分可刪除,然後於 Compound 欄中填寫其物質名稱,如此檢量線之第一點(Level 1)便設定完畢。

10. 上述設定完畢後,便完成第一點檢量線(Level 1)設定,再來便是第二點(Level 2)檢量線之設定;首先載入第二點檢量線之資料,於File 中選擇 Load Signal 並載入第二點(Level 2)檢量線資料(c:\Chem32\1\data\demo\006-0201.d),然後於 Calibration 中選擇 Add Level,於 Add level 中的 Default Amount 設定濃度為 50,如此便完成第二點(Level 2)檢量線之設定。

11. 完成步驟 10 設定畫面如下,於左下角 Calibration Table 中可發現已有第二點檢量線之資料,於右下角 Calibration Curve(檢量線圖)可見其檢量線之相關資訊。

12. 而第三點(Level 3)檢量線設定與步驟 9 相似,惟第三點檢量線之資料檔為 (c:\Chem32\1\data\demo\007-0301.d),而 Default Amount 設定濃度為 70,如此便完成第三 點(Level 3)檢量線之設定,如下圖可見第三點之資料。

🞆 Instrument 1 (offline 1): Data A	Analysi	is													_ 8 ×
File Graphics Integration Calibratio	ion Re	eport	Spectra	Batch \	/iew Abort Help)									
Signals 🦾 🔯 DEMO\007-0301.	.D		-	Method	ds 🔄 🛃 DE	F_LC.M			•	🔳 🕗					
Data Analysis 🛛 🖓	Data	a Anal	ysis												
Δ								3 5	-8		Read	y/Repro	cess Data Mode	•	
)ate '	Time		•	Opera	tor 🔻	Vial	•	Data File	Sam	ole Name	 Method Name 	▼ San	nple A 🔺
		• 4/19	9/1994 7:4	4:14 AM		a.g.h.		Vial 5	-	005-0101.D	Isocra	tic Std. 1	DEMO.M	0	
iest	+	F 4/19	9/1994 8:3	3:10 AM		a.g.h.		Vial 6	1	006-0201.D	Isocra	tic Std. 2	DEMO.M	0	•
															<u> </u>
📗 Integration _全 Calibration 💹 Signal 🚻 Purify 🌭 Spectrum															
🐺 🎭 🤯 🧱 💅 Report: Short															
DAD1 A, Sig=25MO\007-0301.D) 💌 逃 🔩 😪 💊 🕅 🖓 🍇 💽 🔽 Overview 💌 🌸 🌐															
Dab1.4. Sine254.4 Rete500.100 (0EM00027-0301.0)															
		m/	AU I	ç	¥ G										
		mAU ¥			3444			0875							
					1		2		3	4			5	6	min
Data Methods															Þ
8		Calib	ration Ta	ble									ibration Curve		
Method and Run Control		Fr	nter [[ìelete	Insert Pr	int [οκ (Help	1				0.0004.0		
Data Analysis	-	#	BT	Signal	Compound		Amt[ng/u]	n	 Area	Bsn Factor	Bef	151	Area = 8.17	951287*Amt+	4.39516
	_	1	1.025	DAD1 A	A	11	30.00	0 2	260.760	1.1505e-1	No	N 🔺	Area Rel. Res%(1): 4.396	
Report Layout						2	50.00	0 4	406.790	1.2291e-1			500		3
	- -	-			-	3	70.00	0 5	576.950	1.2133e-1		_	400	*	
Yerification (OQ/PV)	-	2	2.580	DAD1 A	В	1	30.00		176.270	1./019e-1	No	<u>N</u>	300		
~	-1 -					3		0 3	+54.000	1.10138-1		- 11	200		
👹 Diagnosis		3	5.875	DAD1 A	с	1	30.00		251.170	1.1944e-1	No	N	0	Correlation: 0	99949
» *			•			12	50.00	nl 🤆	393 780	1.2697e-1			0	Amou	unt[ng/ul]

13. 完成上述步驟設定,便已完成簡易外標準品之檢量線,爾後便可以此檢量線算出未知濃度之樣品,但前提為在相同方法條件下;因本例無未知樣品之資料,假設 005-0101(濃度為 30)為未知樣品資料,載入 005-0101.d 資料,可驗證檢量線是否正確,其結果如下圖所示,但並未出現預期之濃度結果,只見其面積、面積百分比及物質名稱,並無濃度顯示。

14. 上述情形為報告格式未適當設定,於 Report 中選擇 Specify Report,於 Quantitative Results(定量結果)中更改其計算方式,由 Percent(面積百分比)計算更改為 ESTD(外標準) 計算即可,倘若欲知更高階設定可參閱其"求助"(Help)。

nstrument 1 (offline 1): Data A	nalysis		
File Graphics Integration Calibratic	Report Spectra Batch View Abort	Help	
Signals 🖳 🛄 DEMO\007-8301	Print Report	DEF_LC.M	
	Specify Report		
Data Analysis 🛛 🗛	Edit Instrument Curves		
	System Suitability 🕨 Թ	🗢 🔍 🖶 🖶 🧐 🖄 🤣 😓 🏪 💦 Ready/Repro	cess Data Mode
	Automated Library Search	Specify Report: Instrument 1	× Method Name Sample A
	Matchilded Library Search	Destination Quantitative Besuits	DEMO,M 0
Hest	+ 4/19/1994 8:33:10 AM	□ Printer	DEMO.M 0
	Image: A state of the state		
			中原本 Porcont (万公比
	📗 🛅 Integration 🏾 🎂 Calibration 🖉	File Prefix DIF Cov Sorted By: ISTD	田原本TEICeiii(日分に
		Beport ESTD%	計算)改為ESTD(外標準
		Signal Options	L 笞)
	DAD1 A, Sig=25MO\007-0301.D) 🔻	Style	ा में 🦣 🏭 📰
		Report Style: Short	
	DAD1 A, Sig=254,4 Ref=550		
	mAU S	Sample info on each page	
	이 이 이 아이 아	Add Chromatogram Output Add Summed Peaks Table	
	100-		
	100	Report Layout For Uncalibrated Peaks	12
	50	C Separately C With Calibrated Peaks C Do Not Report	00 10
		Characterize October	
	1	Size	6 min
Data Mathada	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	© Portrait % of Page	
Data Methods		Cutation and the Time: 100	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
A Mathed and Run Control	Calibration Table	Multi-Page (Landscape) Response: 40	ration Curve
	Enter Delete Insert	1 🚔 Pages	0.0001.0
Data Analysis	# BT Signal Compound	OK Cancel Help	Area = 8.17951287*Amt +4.39516
	1 1.025 DAD1 A A	1 30.000 260.760 1.1505e-1 No N	Area Rel. Res%(1): 4.396
Report Layout		2 50.000 406.790 1.2291e-1	3
		3 70.000 576.950 1.2133e-1	400 5
🟹 Verification (OQ/PV)	2 2.580 DAD1 A B	1 30.000 176.270 1.7019e-1 No N	
-		2 30.000 434.000 1.1013e-1 3 70.000 387.380 1.8070e-1	200
💓 Diagnosis	3 5875 DAD1A C	1 30.000 251.170 1.1944e-1 No N	0 - Correlation: 0.99949
>			0 Amounting/ull
-			

-

15. 步驟 14 設定完畢後在載入 estd1.d(假設 estd1.d, 濃度 30 ng/ul 為未知樣品)資料並檢測其報告,結果如下圖,便可見其相關物質之濃度單位、濃度值及物質名稱。

👫 Instrument 1 (offline 1): Data An	alysis	_ 8 ×								
File Graphics Integration Calibration	n Report Spectra Batch View Abort Help									
Signals 🦾 🔯 DEMO\007-0301.D	🗸 Methods 🏹 🛃 DEF_LC.M									
Data Analysis 🛛 📮	Data Analysis									
Δ	🔣 🗑 🖑 🕨 🖉 💭 💷 🛱 🖳 🖏 🕸 💀 🔜 🛛 🛛 Ready/Reprocess Data Mode									
C:\CHEM32\1\DATA	Jarmen Dari Deri Daret le tur Varitur -	-								
+ Mo										
	🛄 Integration 虄 Calibration 📶 Signal 📶 Purify 🧔 Spectrum									
	🐺 🎭 🛃 📶 🗹 Report: Shot									
	DAD1 A, Sig=25MO\007-0301.D) 💌 🛃 🔩 🔍 🗼 🖄 🕼 🎪 💽 💽 Overview 💽 🌸 🏥									
	Report									
	External Standard Report									
	·									
	Sorted By : Signal									
	Calib. Data Modified : Sunday, June 18, 2006 10:28:53 PM									
	Dilution · 1.0000									
	Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs									
Data Mathada	Signal 1: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=550,100									
Data Methods										
in Method and Run Control	RetTime Type Area Amt/Area Amount Grp Name									
🖳 Data Analysis	1.025 VB 576.95331 1.21325e-1 69.99905 A									
Report Layout	2.580 вв 387.38327 1.50996е-1 58.49338 в									
	5.875 BB 555.43567 1.25822e <mark>-</mark> 1 69.88606 C									
Verification (OQ/PV)		_								
Diagnosis										
ey signed	pdfFactory Pro on FPP2: Close large V Page 1 V of 2 Prev Next Print	Help								
*										

二、內標準檢量線(ISTD)

所謂內標準品檢量線為一組檢量樣品中加入標準品,此標準品必須與其他樣品不同,且 其濃度必須一定,例如三種不同濃度之檢量標準品,其內標準品的濃度必須是相同的。本例 以005-0101,006-0201及007-0301的資料作為說明,以下便一一說明。

 載入內標準品之方法,本例以 Def_lc.m(視本身所需)為例,載入其檢量標準品資料,於 Data Anlaysis 中選擇 File\Load Signal,以本例而言其檢量線之標準品檔案在 C:\Chem32\1\data\demo\005-0101.d中,所以便需由File進入Load Signal後,選擇其 標準品檔案(C:\Chem32\1\data\demo\005-0101.d),如下圖所示。其步驟與外標準品相 似,包括Y軸設定與積分設定等等,有未詳述部分可參閱前面步驟1~7。

anstrument I (ornine I): Data Ana	nysis							_ 면 스	
File Graphics Integration Calibration	Report Spectra Batch View Abort H	Help							
Signals 🤖 🔯 DEMO\005-0105.D	💌 🛛 Methods 🛵 🛃	DEF_LC.M	•	II 🕗 📃					
Data Analysis 4	Data Analysis								
Δ			7 I.	1	Ready/Reni	ncess Data	Mode		
E C:\CHEM32\1\DATA			~~ ~	ŭ	rieddyniepi	ocess Dulu	moue		
庄 🧰 DEMO	Date Time	▼ Operator ▼ Via	▼ D	ata File	Sample Name	 Method N 	ame 💌	Sample A	
🖃 🦳 test	▶ ± 4/19/1994 8:16:54 AM	a.g.h. Vial	5 0)5-0105.D	Isocratic Std.	1 DEMO.M		0	
	•							Ŀ	
	🛅 Integration 🎂 Calibration 💹 Signal 🔟 Purify 🧔 Spectrum								
	🗓 🕼 🔏 Report: Short 🗈 💪 🚽 🏠 1) DADI A, Sig=MO(005-0105.D) 🔽 🖑 🔩 💊 💫 💭 💟 🖄 类								
	DAD1 A, Sig=254,4 Ref=550,10	00 (DEMO\005-0105.D)							
	mAU 5								
	- i								
	80 8								
	60-								
	40	7							
		0					8		
	20-	Δ					ů. v		
		Λ					\wedge		
Data Methods	0						\sim	·	
	1	2	3	4		5	6	min	
Method and Run Control	•							•	
📰 Data Analysis									
	File Information		#	Time	Area	Height	Width	Area% Sy	
Report Layout	LC-File 005-0105.D	<u> </u>	1	0.747	297.7	105.8	0.0448	30.003	
	File Path C:\CHEM32\1\DATA\DB	EMO\	2	1.023	264.2	76.6	0.0523	26.624	
Verification (OQ/PV)	Sample Lencratic Std 1		3	2.571	252.2	26.9	0.2222	17.851	
	Sample Info		4	0.000	200.0	1 10.0	0.2232	20.022	
💓 Diagnosis	Barcode								
	Operator a.g.h.								

 載入資料並完成相關設定(含Y軸及積分設定)後,於Calibration 中選擇New Calibration Table,一般選擇Automatic Setup,而Level 1 為檢量線之第一點資料,Default Amount 濃度為 30。

🖣 Instrument 1 (offline 1)	: Data Analysis						
File Graphics Integration	Calibration Report Spectra I	Batch View Abort	Help				
Signals	New Calibration Table	📕 🔂 🗠 🕹	DEF_LC.M	💌 🎞 🕗			
Data Analysis	Delete Calibration Table Recalibrate		,				
	Add Level				Beady/Benro	nee Data Mode	
E C:\CHEM32\1\DATA	Add Peaks						
I DEMO	Calibration Settings	:14 AM	• Uperator •	Vial 5 005-0101.0	Sample Name	Method Name DEMO.M	• Sample Am
+ est	Advanced Calibration						
	Calibration Table Options	•					
	Select Peak	Calibration 🚺	Signal 🔣 Purify	💩 Spectrum			
	Delete Peaks	ort: Short		CADLA Sig=25M	01005-0101.01 👻 🤞		
	Add Peaks Recalibrate Compounds						
	Calibration Table	— Big=254,4 Ref=551	ai.)rate: Instrumer	.t 2		×	
	Compound Groups	1		New College Table			
	Signal Details	.02		New Calibration Table	1		in the the of
	Control Sample Limits		Calibration Tab	le		18	設定局 0
	60		C Manual Set				
			* Manual Jeu				
	40-		Automatic S	etun Level 1	>	10	
	20 -	- 11 H L				258	
Data Methods		$-\Lambda\Lambda$	D	efault Amount. 0.000			
🖣 Method and Run Cor	ntrol		-	• • • •			
Data Apalusis			Calibration Mod	ie		1	
	F	File Information	Calculate Si	gnals Separately		leight W	/idth Area% St
Report Layout	LC-File C	005-0101.D				104.9 0.	0448 29.983
A	File Path C	2:\CHEM32\1\DATA				76.5 0.	0518 26.529
Verification (OQ/PV)	Sample 1	socratic Std. 1			1.1.1	16.9 0.	2219 25.554
Diagnosis	Sample Info			Lancer	Help		
	Barcode Derator a	a.q.h.					
	• <u> </u>						
Ready Prepare new Calib	ration Table from current chroma	atogram					
🏽 🕄 🎯 🕼 🗍	💥 CAG Bootp Server	🛛 🚟 Instrument 1 (offline			1	🗊 🍪 🍮 🛛 11:43 AM

上述設定完畢後,填入 Compound 名稱,而名稱 I-standard(R.T.為 3.225)為本例之內標準品,於 ISTD 欄中填入 Yes,其後便會出現另一畫面,填入 ISTD Amount 濃度為 30。

三點(Level 2、3)之檢量線設定。

🍓 Instrument 1 (offline 1): Data Ar	nalysis					<u>- 8 ×</u>		
File Graphics Integration Calibration	n Report Spectra Batch View Abort H	Help						
Signals 🦾 🔯 DEMO\005-0101.D	🖸 💽 Methods 🔄 🛃	DEF_LC.M	- 1	Ī 🕗 🛛				
Data Analysis 🛛 🕂	Data Analysis							
Δ		● 🕀 🖫 🔍	s 👽 🕹 晶	Ready/Reproc	ess Data Mode			
C:\CHEM32\1\DATA	Date Time	▼ Operator ▼	Vial 🔻 Data	a File Sample Name 🔻	Method Name 🔻 Sam	ple Am		
	▶ 🕂 4/19/1994 7:44:14 AM	a.g.h.	Vial 5 005-	0101.D Isocratic Std. 1	DEMO.M 0			
	•					•		
	Integration 🏘 Calibration 📶	Signal 📶 Purify	less Spectrum					
	🖳 🦓 🥵 🧱 🚮 🗹 Report: Sh	nort 📑	L, 🖪 🗞					
🗍 DAD1 A, Sig=25MO\005-0101.D) 💌 🛃 🔩 😪 💊 🕅 👰 🚳 💽 🛛 Overview 💌 🌸 🌐								
	DAD1 A, Sig=254,4 Ref=550,10	00 (DEMO\005-0101.D)						
	mAU 80 60 40 0 1	2	0 J			min		
Data Methods	4					•		
Method and Run Control	Calibration Table Enter Delete Insert F Signal Compound Lvl DAD1 A A 1	Print OK Amt[ng/ul] 30.000 2	Help Area Rsp.Factor 194.710 1.0180e-1	Image: Constraint of the second sec	B, DAD1 A Area = 8.69202372*Amt +(Area = Rel. Res%(1): 0.000			
Report Layout	2 DAD1 A B 1 3 DAD1 A Letandard 1	30.000 2	60.760 1.1505e-1 76.270 1.7019e-1	No No 1	200	~		
Verification (DQ/PV)	4 DADIA C 1	30.000 2	51.170 1.1944e-1	No No 1	150 100			
Diagnosis					50 0 <u>Correlation: 1.</u>	0000		
» *				▶	0 Amou	nt[ng/ul]		
	·							
Ready done								
🎢 Start 🛛 🗹 🏈 🔍 🗍 🎎 CAG	Bootp Server E:\		ment 1 (offline	📕 istd2 - WordPad	🍄 🗗 🏷 🧐	25 AM		

6. 第二點(Level 2)檢量線之設定,首先便載入第二點檢量線之資料,先於File 中選擇Load Signal,並載入第二點(Level 2)檢量線之資料(c:\Chem32\1\data\demo\006-0201.d), 然後於Calibration 中選擇Add Level,於Add level 中的Default Amount 設定濃度為 50,但因內標準品(I-standard)之濃度於不同Level 中濃度是相同的,故需將I-standard 之Level 2 濃度更改為 30,如此便完成第二點(Level 2)檢量線之設定。

 而第三點(Level 3)檢量線設定與步驟 6 相似,惟第三點檢量線之資料檔為 007-0301.d (c:\Chem32\1\data\demo\007-0301.d),而 Default Amount 設定濃度為 70,但同樣的因 內標準品(I-standard)之濃度於不同 Level 中濃度是要相同的,故需將 I-standard 之 Level 3 濃度更改為 30,如此便完成第三點(Level 3)檢量線之設定,如下圖可見第三點 之資料。

8. 完成上述步驟設定,便已完成簡易之內標準品之檢量線,爾後便可以此檢量線算出未知 濃度之樣品,但前提為在相同方法條件(有製作檢量線之方法)下;因本例無未知樣品之 資料,假設005-0105.d(濃度為30)為未知樣品資料,載入ISTD.m方法和005-0105.d資 料,可驗證檢量線是否正確,但為避免外標準檢量線所犯的錯誤(外標準檢量線之步驟 13,無濃度結果,只見其面積、面積百分比及物質名稱,並無濃度顯示),先於 Report 中選擇 Specify Report,於 Quantitative Results(定量結果)中設定其計算方式,更改 為 ISTD(內標準)計算即可,可參閱外標準檢量線之步驟14。

9. 以下便是以 I 獗Instrument 1 (offline 1): Data An	STD.m方法與載入 005-0105.d 之資料,所產生之報告。 alysis
File Graphics Integration Calibration	Report Spectra Batch View Abort Help
Signals 🤖 🔤 DEMO\005-0105.D	💌 Methods 🔄 🛃 DEF_LC.M 💽 🏢 🕖
Data Analysis 🐥	Data Analysis
➡ 🐨 C:\CHEM32\1\DATA ➡ 🔁 DEMO ➡ 🚍 test	Date Time ▼ Operator ▼ Vial ▼ Data File Sample Name Method Name ▼ Sample A ▶ ± 4/19/1994 8:16:54 AM a.g.h. Vial 5 005-0105.D Isocratic Std. 1 DEMO.M 0
	👖 Integration 🚰 Calibration 🛄 Signal 🛄 Purify 🧆 Spectrum
	Image: Short Image: Short Image: Short Image: Short Image: Short All Loaded Signals Image: Short Image: Short Image: Short Image: Short
Data Methods Image: Constraint of the second sec	0.747 BB 297.71973 6.31399e-1 31.83655 A 1.023 BB 264.19666 7.09736e-1 31.75693 B 2.571 BB I 177.13606 1.00000 30.00000 I-standard 5.856 BB 253.25984 7.35661e-1 31.55430 C Totals without ISTD(s) : 95.14778
Verification (OQ/PV) Diagnosis	↓ ↓ pdfFactory Pro on FPP2: Letter 81/2 x 11 in/Portrait Close Iarge ▼ Page 2 • of 2 Prev Next Print Help
Ready Magazine Carlos and Start Magazine Carlos and Start Magazine Carlos and Start	المربقة المحمد المربقة المحمد المربقة المحمد المربقة المحمد المربقة المحمد ا

10. 上述便是簡易之檢量線設定,其中只有較常用之外標準品與內標準品檢量線製作說明, 但檢量線之製作並非只有此兩種,其餘未說明部分請自己參考使用,若有未詳述或不明 白地方,可電詢相關工程師。

陸、數據分析

1.Peak Area 積分方式的設定

當實驗完成後,使用者可能會發現預設的 Peak Area 積分方式不是我們所需要的,如積分取點 位置不對、Peak Area 太小,軟體自動忽略不去積分等問題,因此以下將介紹如何進行積分設 定,以符合我們的需求。

首先移動滑鼠指標點選鈕後,將會出新的下拉選單,如下圖:

選取欲處理的資料檔案後,畫面會切回 Data Analysis 主畫面,此時移動滑鼠指標點選畫面中 Integration 項目,則會出現另一張下拉選單,如下圖:

移動滑鼠指標選取其中 Integration Events 選項後,則將會出現積分方式設定主畫面,如下圖:

Time:此欄可輸入積分條件起始或結束時間。

Integration Events:將滑鼠指標移至該欄上,點選後將會出現積分方式選擇欄,如下圖,使用 者可依 Peak 實際形狀,選用最適當積分方式。

Value:決定開啟或關閉選用之積分方式。同樣以將滑鼠指標移至該欄位上,點選後將會出現 開關選單,如右圖圖示,請依實際情況自行選用。

Time	Integration Events	Value	_
Initial	Height Reject	1	
Initial	Shoulders	OFF	
1.200	Integration	OFF 🔻	
1.400	Baseline Now	DEE	
1.600	Baseline Now	ON	

2.Peak 名稱標示設定

當我們需要在每張報告中自動加上 peak 名稱,只要依循下列三種方式中任一種設定 Calibration table 即可達成。

Calibrate...
 Calibration Settings...
 Calibration Table...
 Calibration Table...

尚未建立過就使用 New Calibration Table..., ,若已有建立過了,預增加新的 Peak,則選擇 Add Peaks...,會出現下圖畫面

Calibrate: Instrumen	t 1 🔀
Ade	d Peaks
Level	1
Default Amount:	0.000
ОК	Cancel Help

此時,可以輸入樣品濃度於 Default Amount 的欄位

Calibration table 設定畫面:

在此畫面中概略說明

此處可以自行定義 Peak 命名的範圍,如上圖,RT 為 0.078min,From 為 0.076min,To 為 0.080min,即為 RT 只要落在 0.076min~0.080min 均以 Compound 欄位所填之文字為 Peak 名 稱

柒、報告輸出格式設定

通常有兩種方式可開啟報告輸出格式設定

🖣 Instrument 1 (offline 1): Data A	nalysis	
File Graphics Integration Calibratio	n Report Spectra Batch View Abort Help	
Signals 🦾 🔤 DEMO\007-0301.	Print Report DEF_LC.M	
Data Analysis 🛛 🗣	Edit Instrument Curves	
	System Suitability 🔸 🖗 🔘 🕕 🚟 🖼	Specify Report.
	Automated Library Search 💌 Operator 💌 Vial	
Ha test	р на нутайтаа.g.h. Vial 5	
	+ 4/19/1994 8:33:10 AM a.g.h. Vial 6	
	📗 Integration 虄 Calibration 🔟 Signal 🛄 Purify 🧔 🤅	
	📑 🎭 🎭 🚛 🖌 Report: Short 🖹 🛕	

以滑鼠指標點選,選擇 Specify Report 即會開啟報告輸出格式設定表。

報告處理完成,直接輸出至印表機輸出 報告處理完成,直接在螢幕上顯示報告

Report Style:點選後,將會出現一張下拉選單,如下圖:

Destination		Destination	
<u>Printer</u>	<mark>▼ S</mark> creen	□ <u>P</u> rinter	
□ <u>F</u> ile	File Type	□ <u>F</u> ile	- File Type
File Prefix	□. <u>D</u> IF □. <u>C</u> SV	File Prefix	□. <u>D</u> IF □. <u>C</u> SV
Report	T.XLS T.HTM	Report	
Report Style: De	etail	Report Style: De	tail tail+Spectrum
Sh	ort	Fu	
✓ <u>A</u> dd Chron GL	ader+Short P+Short P+Detail	I Sample in Lib I Add Chron Pe Pe	rary Search rformance rformance+Lib Search rformance+Noise
- Report Laves	ort+Spectrum	- Report Lave	ended Performance

Short	簡短型報告
Detail	詳細型報告
Header+Short	有表頭簡短型報告
GLP+Short	GLP 簡短型報告
GLP+Detail	GLP 詳細型報告
Short+Spectrum	簡短型有光譜圖之報告
Detail+Spectrum	詳細型有光譜圖之報告
Full	完整型報告
Library Search	程式庫搜尋
Performance	效能型報告(結果多偏重於與 peak 分離效能相關的參數)
Performance+Lib Search	效能型報告+光譜資料庫搜尋報告
Performance+Noise	效能型報告+雜訊報告
Extended Performance	延伸效能型報告

定量結果

結果經計算	章後共有 6 種模式可供選擇:
Percent	以百分比表示
ESTD	以外標準品檢量線定量所得結果表示
Norm%	經歸一化計算後以百分比表示
ISTD	以內標準品檢量線定量所得結果表示
ESTD%	經外標準品檢量線所得定量結果除以樣品量,
	並將其轉換成百分比表示之(前提:於 Sample
	amount 欄位中有填入0以外的數字時,才使用
	此功能)
ISTD%	經內標準品檢量線所得定量結果除以樣品量,
	並將其轉換成百分比表示之(前提:於 Sample
	amount 欄位中有填入0以外的數字時,才使用
	此功能)

Signal Options:可供使用者各項圖譜顯示參數設定

Destination —		Quantitative	Results
Printer P	<u>I S</u> creen	Calculate:	Percent 💌
🔽 File	File Type	Based On:	ESTD Norm%
– File Prefix	□. <u>I</u> XT □. <u>₩</u> MF	Sorted By:	ISTD ESTD%
Report			ISTD% -
Inoport		Signal Optio	ns

選擇上面的選項,會出現下面畫面

勾選的項目,為	K	
圖譜上欲顯示 的資訊	Signal Options: Instrument 1	[
	Include ✓ Axes ✓ Compound Names ✓ Retention Times ✓ Baselines ✓ Tick Marks	
目前圖譜上所 使用的字形及 大小,或是自行	Peak Labels Font Font Name: Arial Font Size: 8 Font	
修改字形	Min Value Max Value C Use Ranges Time Range: C Autoscale Response Range:	
圖譜顯示之比 例,可選擇全 圖、自定範圍、	Multi-Chromatogram Layout: Separated Scale: All the same Scale Zoom separate	
系統自動決定		若為使用者自 定範圍,可在 此輸入X、Y軸 的範圍
	OK Cancel Help	

當上述的工作都做好後回到資料分析的畫面

按下預覽報告的圖示,會出現下圖

確定無誤後,便可以按下列印功能鍵,列印出報告,這樣就算是一個樣品的實驗完成。

捌、系統清理

一、系統清洗

1.若使用的移動相含鹽類(如 buffer),請先用水清洗。

2. 打開排水閥約3分鐘,使原先的移動相自管路排出。

- 3.緊關排水閥,將流速設至適當值,啟動 pump 清洗至所需時間。
- 4.將清洗溶液換為保存溶液,以1ml/min 之流速清洗約60分鐘。

5.關閉 pump 及電源。

6.若要長期清洗,可設定 Clean Method。