ANALYZÁTOR AMINOKYSELIN AAA400

Návod k programu ChromuLan

11. prosince 2001

Výrobce	:	INGOS
Vývoj a konstrukce Chemický systém	:	PiKRON V. Havlíček - ZMBD chemik

Dodavatel a servis

: INGOS s.r.o. K Nouzovu 2090 14316 PRAHA 4 Tel: 02/4097683 02/4097692 Fax: 02/4097685 e-mail:ingos@tnet.cz www.ingos.cz

ÚVOD

ŘÍZENÍ

VYHODNOCOVANÍ

OBSAH







<u>1. ÚVOD</u>

Jedná se o volně šiřitelný software pro řízení sestav přístrojů a následné vyhodnocování výsledků. Projekt je inicializován a dotován firmou PiKRON jejíž přístroje podporují komunikaci a řízení přes komunikační protokol uLAN.

- V současné době je systém vyvíjen v prostředí DELPHI pro WINDOWS NT nebo WINDOWS 2000 a předpokládá se rozšíření pro LINUX.
- Tento návod pojednává o použití programu ChromuLan pro analyzátor aminokyselin AAA 400. V tomto případě se z programu používá standardní vyhodnocování a speciální programový modul pro řízení analyzátoru aminokyselin.

🔐 ChromuLan v0.26	×
File Application Edit Setup Tools Window Help	
1.30	
1.10 - 7 7 8 8 8 BUFFERS	Sequence 010117-1
	P1 0.K.
	P2 0.K.
	Column O.K.
0.50 -	Reactor O.K.
0.30 -	Autosampler Idle
	Datactor OK
P1 MPa P2 MPa	
D:\ULAN\DATA\Programs\h.AAP:AA Program	G -0.0199 B -0.0158
Time [min] Column T[Buffer Nr. AA Comm Note	
AA Prg.Lir 0.00 50 1 acInject pH2.60	AAA Status Time Program Sample State
AA Prg.Lir 1.00 50 4 acNone pH3.00	Beady 45.32 h Sample8 Waiting
AA Prg.Lir 4.00 50 4 acZero	
AA Prg.Lir 12.00 50 4 acZero 121.00	
AA Prg.Lir 31.00 60 2 acNone pH4.25	Help Start Settings Sequence On/Off
AA Prg.Lir 46.00 60 3 acNone +1.5NAOF	
AA Prg.Lir 69.00 74 3 acStartEq	Display Program Method Graph Status
AA Prg.Lir 71.00 74 6 acNone 0.2 NAOH	
AA Prg.Lir 76.00 74 1 acNone	
AA Pra.Lirl 82.00 60 1 acH20	
🏭 Start 🛛 🛱 🖉 🛄 🛄 Chromulan	EN 16:41

Obr. 1. ChromuLan

Program je koncipován tak, aby celé zařízení mohlo pracovat plně automaticky. V programu se nastaví sekvence, kde se každému vzorku přiřadí analytický program a vyhodnocovací metoda. Přístroj automaticky zpracuje vzorky, zajistí ekvilibraci kolony při přechodu mezi analytickými programy a výsledky automaticky vyhodnotí podle nastavené metody.

2. ŘÍZENÍ

Řídící modul pro AAA 400 se spustí funkcí Aplication \Rightarrow Amino Acid Analyzer. Současně

se spuštěním řídícího modulu se otevře technologické okno analyzátoru (obr. 2).



- 1. Ukazatel čísla aktuálního pufru
- 2. Ukazatel tlaku pumpy 1
- 3. Ukazatel tlaku pumpy 2
- 4. Ukazatel čísla zkumavky aktuálního vzorku
- 5. Ukazatel teploty kolony
- 6. Ukazatel teploty reaktoru
- 7. Stavový řádek viz kapitola 2.5
- 8. Panel řídících tlačítek



V levé části technologického okna je schéma analyzátoru ve kterém je zobrazen stav jednotlivých přístrojů. V pravé spodní části jsou tlačítka sloužící k ovádání jednotlivých funkcí.

2.1 Spuštění analyzátoru

- 1. Zkontrolujeme přístroj a provozní chemikálie (návod k obsluze AAA 400 kapitola UVEDENÍ DO PROVOZU)
- 2. Zkontrolujeme nastavení paramerů (2.2).
- 3. Tlačítkem \mathbf{On}/\mathbf{Off} v technologickém okně zapneme přístroj.
- 4. Vložíme vzorky do dávkovacího kotouče a připravíme sekvenci (2.4).
- 5. Počkáme dokud není přístroj připraven (2.5).
- 6. Tlačítkem **Start** spustíme sekvenci.

2.2 Nastavení

Stiskem tlačítka **Setting** se vyvolá dialog pro nastavení základních parametrů programu a startovacích parametrů přístroje.

Sequences directory	Adresář ve kterém jsou uloženy sekvence.
Programs directory	Adresář ve kterém jsou uloženy analytické programy.
Methods directory	Adresář ve kterém jsou uloženy vyhodnocovací metody.
Current Sequence	Jméno aktuální sekvence (2.4).
Default Prog. Name	Jméno programu který se nastaví do hlavičky při vytvo-
	ření nové sekvence (2.4.1).
Default method for new see	qJméno metody která se nastaví do hlavičky při vytvoření
	nové sekvence $(2.4.1)$.
P1 Flow [ml/min]	Průtok pumpy 1 [0.3].
P1 Press Min [MPa]	Dolní limit tlaku pumpy 1 [2.0].
P1 Press Max [MPa]	Horní limit tlaku pumpy 1 [9.0].
P1 Deviation [%]	Povolené kolísání tlaku pumpy 1 [50].
P2 Flow [ml/min]	Průtok pumpy 2 [0.2].
P2 Press Min [MPa]	Dolní limit tlaku pumpy 2 [0.1].
P2 Press Max [MPa]	Horní limit tlaku pumpy 2 [3.0].
P2 Deviation $[\%]$	Povolené kolísání tlaku pumpy 2 [80].
Column Temp. [C]	Teplota kolony [60].
Col. Temp. Min Dif [C]	Maximální povolený pokles teploty kolony [5].
Col. Temp. Max Dif [C]	Maximální povolený vzestup teploty kolony [5].
Colum Temp. Dev. $[\%]$	Povolené kolísání teploty kolony [10].
React. Temp. [C]	Teplota reaktoru [121].
React. Temp. Min Dif [C]	Maximální povolený pokles teploty reaktoru [5].
React. Temp. Max Dif [C]	Maximální povolený vzestup teploty reaktoru [5].
React. Temp. Dev. [%]	Povolené kolísání teploty reaktoru [10].

2.3 Analytický program

Analytický program slouží k řízení přístroje během analýzy vzorku. Každý řádek programu definuje činnost přístroje v daném čase.

Stiskem tlačítka **Program** v technologickém okně vyvoláme menu které má tři položky:

New Vyvolá okno editace nového programu.

Open Vyvolá nabídku pro otevření programu.

Edit Vyvolá okno editace posledně editovaného programu.

Okno editace programu je na obr. 3. Řádky programu jsou automaticky řazeny podle času. Vkládání nových řádek a mazání řádek je možno provádět kávesami **Insert** a **Delete**, nebo z menu které se vyvolá pravým tlačítkem myši.

Vzhledem k automatickémů řazení řádků je možné, že se při změně času řádek přesune na jinou pozici. Při úpravách programu je potřeba dát na tuto funkci pozor a vždy po změmě času zkontrolovat zda editujeme správný řádek.

Ve sloupci AA Command můžou být následující příkazy:

Inject	Nadávkuje vzork ze smyčky. Tento příkaz by měl být vždy v čase 0.
Zero	Vynuluje detektor. Tento příkaz se dává do místa, kde je s jistotou
	nulová linie.

StartEquil Od tohoto příkazu začíná ekvilibrační analýza (2.4.2).

INGOS s.r.o.

		2	3	4	5
<u>الا</u> DATA	\Programs	s∖h.AAP:AA P	rogram		_ 🗆 🗙
	Time [min]	Column ['] T[°C]	Buffer Nr.	AA Command	Note
AA Prg.Lir	0.00	50	1	acInject	pH2.60
AA Prg.Lir	1.00	50	4	acNone	pH3.00
AA Prg.Lir	4.00	50	4	acZero	
AA Prg.Lir	12.00	50	4	acZero	
AA Prg.Lir	31.00	60	2	acNone	pH4.25
AA Prg.Lir	46.00	60	3	acNone	+1.5NAOH
AA Prg.Lir	69.00	74	3	acStartEquil	
AA Prg.Lir	71.00	74	6	acNone	0.2 NAOH
AA Prg.Lir	76.00	74	1	acNone	
AA Prg.Lir	82.00	60	1	acH2O	
AA Prg.Lir	85.00	60	1	acLoad	
AA Prg.Lir	85.50	50	1	acAcqStop	
AA Prg.Lir	89.00	50	1	acNHD	
AA Prg.Lir	93.00	50	1	acNone	

1. Čas

2. Teplota kolony

- 3. Číslo pufru
- 4. Příkaz
- 5. Poznámka
- 2

obi, of onno ouroaccipiograma	Obr.	3.	Okno	editace	programu
-------------------------------	------	----	------	---------	----------

H2O	Přepne vstup pumpy 2 na vodu.
NHD	Přepne vstup pumpy 2 na ninhydrin.
$\operatorname{StopAcq}$	Ukončí záznam dat.
Load	Připraví další vzorek do smyčky.
None	Neprovádí se žádná akce.

Po úpravě je nutno program uložit. Uložení se provede příkazem **Save** z menu které vyvoláme pravým tlačítkem. Pokud opravujeme program za běhu analýzy, uplatní se změny až při dalším vzorku.

2.4 Sekvence

Sekvence určuje posloupnost vzorků při zpracování. Každý řádek sekvence odpovídá jednomu vzorku. Sekvence je automaticky pojmenována podle data vytvoření. Zároveň s vytvořením sekvence se na disku vytvoří adresář stejného jména do kterého se ukládají jednotlivé analýzy.

Stiskem tlačítka Sequence v technologickém okně vyvoláme menu které má tři položky:

Umožňuje založit novou sekvenci. Před vlastní editací je nutno nej-
prve vyplnit hlavičku sekvence (2.4.1).
Vyvolá nabídku pro otevření a editaci dříve uložené sekvence. Záro-
veň tuto sekvenci nastaví jako aktuální.
Vyvolá okno pro editaci aktuální sekvence.

IN	GOS	s.r.o.

2

AAA400

Pokud je sekvence prováděna, vyvolá se rovnou editace aktuální sekvence. V prováděné sekvenci lze měnit pouze vzorky které jsou ve stavu Waiting.

Okno editace sekvence je na obr. 4. Jednotlivé sloupce mají následující význam:

	\checkmark	γ	Ý				1	1	
D:	:\ULAN\DATA\	Sequen	ces\01011 ⁻	7-1.ULS:Sec	quence				
	Sample Name	e Vial Nr.	Sample De	sc. User Nan	ne File name	Program na	me State	Method name	
Samp	ole Sample1	1	Test1	V.H.	Sample1	s.AAP	sasDone	s.ULM	
Samp	ole Sample2	2	Test2	V.H.	Sample2	s.AAP	sasDone	s.ULM	
Samp	ole Sample3	3	Test3	V.H.	Sample3	s.AAP	sasDone	s.ULM	
Samp	ole Sample4	4	Test4	V.H.	Sample4	s.AAP	sasDone	s.ULM	
Samp	ole Sample5	5	Test5	V.H.	Sample5	h.AAP	sasDone	h.ULM	
Samp	ole Sample6	21	Test6	V.H.	Sample6	h.AAP	sasDone	h.ULM	
Samp	ole	22	Test7	V.H.	Sample7	h.AAP	sasError	h.ULM	
Samp	ble	8	Test8	V.H.	Sample8	h.AAP	sasWaiting	a h.ULM	
Samp	ole	11	Test9	V.H.	Sample9	h.AAP	sasWaiting	a h.ULM	
Samp	ole	12	Test10	V.H.	Sample10	h.AAP	sasWaiting	a h.ULM	
Samp	ole	13	Test11	V.H.	Sample11	h.AAP	sasWaiting	a h.ULM	
JSamp	áno uzorlu	15	Test12	V.H.	Sample12	h.AAP	IsasWaitini 1	h.ULM	
JIII		1			э.	Jmeno	souboru		
Cis.	lo zkumav	ку			6.	Jméno	analytic	kého programu	
Pop	pis vzorku				7.	Stav zr	oracován	i waarlan	
-					•••			I VZOIKU	
Jme	éno uživat	ele kt	zerý vzo	rek ana	- 8.	Jméno	metody	I VZOIKU	
Jme	éno uživat oval	ele kt	cerý vzo Obr.	orek ana 4. Okr	- 8. no editad	Jméno ze sekve	metody nce	žu o douluí co cu	4
Jme lyze nple al Nr	éno uživat oval e name r.	ele kt	cerý vzo Obr. Jméno ticky jn Číslo zk	rek ana 4. Okr vzorku. iéno sou cumavky	- 8. no editac Pokud 2 iboru. y ze kter	Jméno ze sekve: zůstane é se dai	metody nce nevypln ný vzorel	ěno doplní se au k nabere. Musí b	iton ýt -
Jme lyze nple el Nr	éno uživat oval e name r.	ele kt	verý vzo Obr. Jméno ticky jn Číslo zk plněno. o jednič	rek ana 4. Okr vzorku. néno sou cumavky Při přič ku vyšš	- 8. no editac Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej	Jméno zůstane é se dan cku se a jvyšší po	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo.	ıton ýt v teré
Jma lyza nple d Nr	éno uživat oval e name r. e Desc.	ele kt	cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz	vrek ana 4. Okr vzorku. néno sou cumavky Při přič ku vyšš zorku. N	- 8. Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a jvyšší po inný.	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo.	tton ýt v teré
Jme lyze nple el Nr nple er na	éno uživat oval e name r. e Desc. ame	ele kt	cerý vzo Obr. Jméno Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno u	rek ana 4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo	- 8. Pokud 2 Iboru. V ze kter lání vzor í než nej Vení pov e který v	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. vzorek a	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo.	ton ýt v teré
Jme lyze nple d Nr nple er na	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me	ele kt	erý vzo Obr. Jméno ticky jn Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno u	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatele souboru	- 8. Pokud 2 Iboru. V ze kter lání vzor í než nej Vení pov e který v	jméno zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. zorek a ku Je	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. d	uton ýt v teré
Jmo lyzo nple ol Nr nple er na e nan	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me	ele kt	Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno u Jméno u	rek ana 4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přic ku vyšš zorku. N uživatelo souboru	- 8. no editac Pokud : iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v i na disl mlní jelv	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a jvyšší po inný. vzorek a ku. Je j	metody nce nevypln ný vzorel utomatic pužité čís nalyzova povinné,	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. d při přidání vzor	tton ýt v teré rku
Jmo lyzo nple al Nr nple er na e nai	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me	ele kt	cerý vzo Obr. Jméno číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno Jméno automa	rek ana 4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatele souboru ticky vy	- 8. no editad Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v i na disl rplní jak	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. vzorek a ku. Je j o "Samj	metody nce nevypln ný vzorel utomatic pužité čís nalyzova povinné, ple" a po	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. d při přidání vzor přadové číslo.	tton ýt teré rku
Jma lyza nple al Nr nple er na e nai	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me me m name	ele kt	erý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno Jméno automa Jméno a	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic	- 8. Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v i na disl plní jaké	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. vzorek a ku. Je j o "Samj ogramu.	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzou jřadové číslo. uné. Při přidání v	iton ýt teré rku vzor
Jmo lyzo nple al Nr nple er na e nan ogran	éno uživat oval e name c. e Desc. ame me me m name	ele kt	Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno automa Jméno a se auto	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přicku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analyticky	- 8. Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej vení pov e který v n a disl vplní jak kého prov v doplní	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a jvyšší po inný. vzorek a ku. Je p o "Samp ogramu. jméno	metody nce nevypln ný vzorel utomatic pužité čís nalyzova povinné, ple" a po Je povir progran	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzon ňadové číslo. nné. Při přidání v	tton ýt teré rku vzor
Jma lyza nple al Nr nple er na e nan ogran	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me me m name	ele kt	Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno o jednič Popis vz Jméno Jméno automa Jméno se auto (2.4.1).	rek ana 4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky	- 8. no editac Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej vení pov e který v u na disl vplní jak kého pro v doplní	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. zorek a ku. Je j o "Samj ogramu. jméno	metody nce nevypln ný vzorel utomatic pužité čís nalyzova povinné, ple" a po Je povir progran	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se	tton ýt teré rku vzor
Jma lyza nple al Nr nple er na e nan ogran	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me m name		Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno a automa Jméno a se auto (2.4.1). Stav zp:	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky	- 8. no editac Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v i na disl vplní jaké kého pro v doplní í vzorku	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. vzorek a ku. Je j o "Samj ogramu. jméno . Jednot	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir progran	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se	tton ýt v teré rku vzor ekvi
Jma lyza nple al Nr nple er na e nai ogran	éno uživat oval e name c. e Desc. ame me m name		Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno Jméno se auto (2.4.1). Stav zpi entaci o	4. Okr. vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatele souboru ticky vy analytic maticky racování značeny	- 8. no editac Pokud : nboru. y ze kter lání vzor í než nej lení pov e který v na disl vplní jak kého prov v doplní í vzorku v barevn	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. zorek a ku. Je p o "Samp ogramu. jméno . Jednot ě	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ple" a po Je povir progran	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzon ňadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se vy jsou pro rychlo	ton ýt - teré rku zon ekvi ou o
Jma lyza nple al Nr nple er na ogran ogran	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me m name		Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno Jméno automa Jméno a se auto (2.4.1). Stav zp: entaci o	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky racován značeny ý stov	- 8. no editad Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v i na disl vplní jak kého pro y doplní í vzorku v barevn Při apol	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a inný. vzorek a ku. Je j o "Samj ogramu. jméno . Jednot ě.	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir progran clivé stav	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se vy jsou pro rychlo	ttor ýt rku vzor ekv: ou o
Jma lyza nple al Nr nple er na e nan ogran te	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me m name		Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno a automa Jméno a se auto (2.4.1). Stav zpi entaci o Chybov	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky racován značeny ý stav.	- 8. no editac Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v i na disl plní jak kého pro doplní í vzorku v barevn Při anal	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a inný. vzorek a ku. Je j o "Samj ogramu. jméno . Jednot ě.	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir progran clivé stav	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se vy jsou pro rychlo o k chybě.	ýt ýt tere rku vzoi ekvi ou o
Jma lyza nple al Nr nple er na ogran ogran te E: D	éno uživat oval e name c. e Desc. ame me m name		Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno Jméno automa Jméno a se auto (2.4.1). Stav zp: entaci o Chybov Vzorek	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky racován značeny ý stav.	 - 8. no editac Pokud s aboru. y ze kter lání vzor í než nej Není pov e který v a disl vplní jak kého prov doplní í vzorku y barevn Při anal; přádku z 	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a ivyšší po inný. zorek a ku. Je p o "Samp ogramu. jméno . Jednot ě. ýze vzor	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir progran clivé stav cku došlo n.	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se vy jsou pro rychlo o k chybě.	ttor ýt – tere rku vzoi ekvi ou o
Jma lyza nple al Nr nple er na ogran ogran te E: D R	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me m name m name		Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno Jméno automa Jméno a se auto (2.4.1). Stav zpi entaci o Chybov Vzorek Vzorek	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přicku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky racován značeny ý stav. 1 byl v po je v sou	 - 8. no editac Pokud z iboru. y ze kter lání vzor í než nej léní pov e který v i na disl plní jak kého prov doplní í vzorku v barevn Při anal přádku z časné do 	Jméno ze sekve: zůstane é se dar cku se a inný. zorek a ku. Je j o "Samj ogramu. jméno . Jednot ě. ýze vzor pracová obě zpra	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir progran clivé stav cku došlo n. acováván	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. d při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se vy jsou pro rychlo o k chybě.	ttor ýt rku vzoi ekvi ou o
Jma lyza nple al Nr nple er na e nan ogran te Er D R In	éno uživat oval e name r. e Desc. ame me me m name m name		Cerý vzo Obr. Jméno ticky jm Číslo zk plněno. o jednič Popis vz Jméno a automa Jméno a se auto (2.4.1). Stav zpi entaci o Chybov Vzorek Vzorek	4. Okr vzorku. néno sou umavky Při přič ku vyšš zorku. N uživatelo souboru ticky vy analytic maticky racován značeny ý stav. 1 byl v po je v sou je připr	 - 8. no editac Pokud 2 iboru. y ze kter lání vzor lání vzor í než nej léní pov e který v i na disl plní jak kého prov doplní jak kého prov doplní jak kého prov v zorku v barevn Při anal přádku z jčasné do aven ve 	Jméno ze sekve: zůstane é se dan cku se a inný. vzorek a ku. Je j o "Samj ogramu. jméno . Jednot ě. ýze vzor ppracová obě zpra smyčce.	metody nce nevypln ný vzorel utomatic oužité čís nalyzova povinné, ole" a po Je povir progran clivé stav cku došlo n. acováván	ěno doplní se au k nabere. Musí b ky doplní číslo k slo. při přidání vzor přadové číslo. né. Při přidání v nu z hlavičky se vy jsou pro rychlo o k chybě.	ttor ýt - tere rku vzor ekvr ou o

INGOS s.r.o.

Method name Jméno metody která bude použita k vyhodnocení vzorku (3.3). Je povinné, ale při vyhodnocování lze metodu dodatečně měnit (3.3). Při přidání vzorku se automaticky doplní jméno metody z hlavičky sekvnce (2.4.1).

Vkládání nových řádek a mazání řádek je možno provádět kávesami **Insert** a **Delete**, nebo z menu které se vyvolá pravým tlačítkem myši.

2.4.1 Hlavička sekvence

- Hlavička sekvence slouží pro zadání parameterů společných pro celou sekvenci. Dialog pro její editaci se vyvolá automaticky při zakládání nové sekvence, nebo jej lze otevřít přikazem **Header** v menu, které se vzvolá pravým tlačítkem v okně sekvence.
- V případě Analzyátoru aminokyselin se z hlavičky sekvence vzužívají pouze položky Program a Method.

2.4.2 Ekvilibrační analýza

- Při zpracování sekvence se na začátek a při každé změmě analytického programu automaticky zařadí ekvilibrační analýza. Tato analýza slouží k vyčištění a stabilizaci kolony.
- Ekvilibrační analýza probíhá podle programu následující analýzy. Nezačíná v čase nula, ale v místě kde je v programu příkaz StartEquil (2.3).

2.4.3 Hromadné vyhodnocení

- V okně sekvence je možno provádět hromadné vyhodnocení několika vzorků. Vzorky které chceme vyhodnotit označíme a funkcí **Show result for sel.** z menu pod pravým tlačítkem myši, vyvoláme okno výsledků.
- Vzorky pro hromadné vyhodnocení musí mít přiřazenu správnou metodu (3.3) a standard. Standard můžeme vybraným vzorkům přiřadit funkcí **Assign calib. file**.

2.5 Stavová informace

V pravé části technologického okna je stavový řádek viz obr. 5.





Další informace o stavu přístroje je možno vyvolat stiskem tlačítka Status viz obr. 6.





3. VYHODNOCOVANÍ

- Pro AAA400 se používá vyhodnocení pomocí standardu. Vzhledem k tomu, že chemie použitá v analyzátou se časem mnění (stárne NHD), je nutno zařadit po každých 5 až 10 vzorcích standard.
- Pro vyhonocení je možno použít i vnitřní standard. Používá se především k eliminaci chyby vzniklé při přípravě vzorku.

3.1 Postup vyhodnocení

- 1. Otevřeme analýzu standardu. Stiskneme tlačítko **Graph** v technologickém okně a vybereme standard.
- 2. Pokud jsme standard neoznačili v sekvenci, označíme jej dodatečně, v hlavičce (funkce **Setup**) označíme políčko *Cal. Standard*.
- 3. Pokud jsme neměli v sekvenci (2.4) správně nastavenou metodu, načteme funkcí **Method** \Rightarrow **Load From** správnou metodu pro standard viz 3.3.3 a spustíme funkci **Peak** \Rightarrow **Autodetect**.
- 4. Zkontrolujeme zda se vyhodnotily všechny píky. Pokud ne, opravíme metodu viz 3.3.2 a spustíme funkci **Peak** \Rightarrow **Autodetect**.
- 5. Uložíme standard $\mathbf{File} \Rightarrow \mathbf{Save}$.
- 6. Stiskneme tlačítko **Graph** v technologickém okně a vybereme analýzu kterou chceme vyhodnocovat.
- 7. Pokud jsme neměli v sekvenci (2.4) správně nastavenou metodu, načteme funkcí **Method** \Rightarrow **Load From** správnou metodu pro analýzu viz 3.3.4 a spustíme funkci **Peak** \Rightarrow **Autodetect**.
- 8. Zkontrolujeme zda se vyhodnotily všechny píky. Pokud ne, opravíme metodu viz 3.3.2 a spustíme funkci **Peak** \Rightarrow **Autodetect**.
- 9. Načteme standard funkcí Method \Rightarrow Load Calibration File a spustíme funkci Peak \Rightarrow Calculate Amounts.
- 10. Vyvoláme tabulku píků (obr. 9) **Peak** \Rightarrow **Browse**, kde si prohlédneme výsledky, případně funkcí **Print** \Rightarrow **Report** je vytiskneme.

3.2 Okno chromatogramu

AAA400

Okno chromatogramu můžeme otevřít dvěma způsoby. Stiskem tlačítka **Graph** v technologickém okně, nebo z menu příkazem **File** \Rightarrow **Open**.

Základní operace s grafem můžeme provádět pomocí tlačítek ve spodní části okna viz obr. 7. Stiskem tlačítka současně s klávesou **Shift** můžeme danou funkci použít opakovaně.



Stiskem pravého tlačítka myši v tomto okně vyvoláme menu chromatogramu které má tyto položky:

Setup	- nastavení parametrů anlýzy
Method	- submenu metody
Baseline	- submenu nulové linie
Peaks	- submenu píků
Math	- submenu přepočtů, využívá se při překrývání analýz viz 3.5
View	- nastavení viditelných položek (osy, popis píků, nulová linie a jiné)
Scale	- základní měřítko
Copy to clipboard	- kopírování grafu do jiných aplikací

Print

- tisk

3.2.1 Editace píků

Parametry píků můžeme editovat přímo v grafu, nebo v tabulce píků. V grafu můžeme editovat také nulovou linii a integrační značky píků viz obr. 8.



- 1. Popis píku
- 2. Naměřené data
- 3. Nulová linie
- 4. Koncový bod nulové linie
- 5. Integrační značky píku

Obr. 8. Editace píku

- Paramery píku v grafu editujeme tak, že označíme pík kliknutím na popis a dalším kliknutím na popis vyvoláme dialog pro editaci parametrů píku. Polohu koncových bodů nulové linie a integračních značek můžeme měnit přímo myší.
- Přidávání dalších píků a useků nulové linie provádíme pomocí talčítek ve spodní části okna chromatogramu (3.2).
- Tabulku píků vyvoláme funkcí $\textbf{Peak} \Rightarrow \textbf{Browse}$ viz obr. 9

3.3 Metoda

- Metoda obasahuje informace pro vyhodnocení analýzy. Matoda je součástí každé analýzy. Ale je možno ji uložit i do samostatného souboru a z tohoto souboru ji opět načíst. K tomu slouží funkce Method \Rightarrow Save To a Method \Rightarrow Load From.
- V případě analyzátoru aminokyselin je do analýzy automaticky vložena metoda nastavená v sekvenci viz 2.4.
- Data v metodě můžeme rozdělit na tři části: Hlavičku metody, popis píků a popis nulové linie.

3.3.1 Halvička metody

Hlavičku metody vyvoáme funkcí ${\bf Method} \Rightarrow {\bf Edit}$ viz obr. 10. Význam jednotlivých položek je následující.

	1	2		3	4 5	6	7	8	
Sa <mark>لبنا</mark>	mple1.	ULF;S	ample/	Peaks					
	×[min]	Area	Name	Amount	Usr Peak Coef	Window [min]	Response	Data name	
Peak	6.36	22.11	kcys	25	1	1.00	0.9222		
Peak	21.32	23.03	asp	24.11	1	2.00	0.9553		
Peak	24.13	25.28	mets	23.7	1	2.00	1.066		
Peak	26.88	25.42	thr	23.74	1	2.00	1.071		
Peak	29.12	25.7	ser	23.9	1	2.00	1.075		
Peak	34.85	28.58	glu	24.83	1	1.00	1.151		
Peak	36.58	6.803	pro	239.1	1	1.00	0.02845	В	
Peak	41.07	28.22	gly	23.52	1	1.00	1.2		-

- 1. Retenční čas
- 2. Plocha píku
- 3. Jméno píku
- 4. Množství aminokyseliny
- 5. Koeficient pro výpočet množství viz 3.3.4 a 3.4
- 6. Okno pro přiřazení píků metody viz 3.3.2
- 7. Odezva viz 3.4
- Jméno linie z které se pík vyhodnocuje. Pokud je políčko prázdné vyhodnocuje se podle zelené, písmeno B značí že se vyhodnocuje z modré.

Obr. 9. Tabulka píků

[Hethod (D:\ULAN	I\DATA\Sequer	nces 💶 🗙
Method template	Sample1	
Calibration file	D:\ULAN\DATA	\S
Method File Name	h.ULM	
Dilution	0	
Base.min.interval [min]	0.30	
Base Max Diff	0.006	
Min. peak height	0.01	
Min. peak width [min]	0.20	
Use Negative Peaks		
Calc Amounts	v	
Use Calibration File	v	
Use Internal Standard		
Factor	1	
Calibration File Age	22.1.2001 13:40:0	2
No Unknown Peaks	v	
<u>0</u> K	<u>C</u> ancel	Parameters

Obr. 10. Hlavička metody

Jméno souboru z kterého vznikla metoda
Jméno standardu
Jméno souboru metody
Tento parametr se zatím nepoužívá

AAA400	Kapitola 3: VYHODNOCOVANÍ
Daga min internel	Deužína za něj potradatalní podpatí linia žílaí jelo dlavké povať
Base min. interval	Pouziva se pri autodetekci nulove linie, rika jak diouny musi
	být rovný úsek, aby se považoval za nulovou linii.
Base max. diff	Udává maximální šum který může být na úseku, který se po-
	važuje za nulovou linii.
Min. peak height	Minimální výška píku. Píky které jsou menší se při autodetekci
	ignorují.
Min. peak width	Minimální šířka píku. Píky které jsou užšší se při autodetekci
I and a set	ignorují.
Use negative peaks	Políčko označíme pokud chceme vyhodnocovat negativní píky.
	U analyzátoru aminokyselin se nepoužívá.
Calc Amounts	Políčko označíme pokud chceme automaticky počítat množství.
	U analyzátoru aminokyselin je vždy označeno.
Use Calibration File	Políčko označíme pokud chceme použít standard. U analyzá-
	toru aminokyselin je vždy označeno.
Use Internal Standar	dPolíčko označíme pokud chceme použít vnitřní standard.
Factor	Přepočtový faktor viz 3.4 .
Calibration File Age	Datum a čas načtení kalibračního souboru. Při výpočtu se kon-
	troluje zda nebyl kalibrační soubor upraven po tomto datu. V
	případě že byl, provede se jeho nové načtení.
No Unknown Peak	Pokud označíme toto políčko, vyhodnocují se pouze píky které
	isou definovány v metodě

3.3.2 Píky metody

- Funkcí Method \Rightarrow Peaks \Rightarrow Browse vyvoláme tabulku píků metody. Tato tabulka je stejná jako tabulka píků (obr. 9). Píky do této tabulky můžeme přidávat klávesou **Insert**, nebo můžeme zkopírovat označené píky z analýzy příkazem Peaks \Rightarrow Copy Selected To Method.
- Píky metody se přiřazují k naměřeným píkům pomocí retenčního času a okna. Pokud se pík nepřiřadí správně změníme v tabulce píků metody retenční čas, nebo zvětšíme okno. Při změně okna musíme dbát na to, aby se okna nepřekrývaly.
- Přiřadit naměřený pík k píku metody je možno i funkcí **Assign metod peak**. Tuto funkci vyvoláme pravým tlačítkem na retenčním času píku. Pokud je v dialogu výběru píku označeno políčko *Update metod*, funkce automaticky opraví i retenční čas v metodě.

3.3.3 Metoda pro standard

Metoda pro standard musí mít v halvičce (3.3.1) nastaven Faktor=1. Dále v tabulce píků metody musí být nasataveny ve sloupci Amount množství jednotlivých aminokyselin ve standardu. Ve sloupci UsrPeakCoef musí být 1.

Také Multiply Factor a DivideFactor v sekvenci musí být nastaven na 1.

3.3.4 Metoda pro vzorek

Pokud chceme výsledky v gramech musíme v tabulce píků metody ve sloupci UsrPeakCoef nastavit molární hmotnosti jednotlivých aminokyselin.

Pokud používáme konstantní navážku a ředění zahrneme toto do *Faktoru* v hlavičce metody, pokud ne využijeme *Multiply Factor* a *DivideFactor* v sekvenci.

Jména píku v metodě pro vorek a v metodě pro standard musí být stejná, jinak se daný pík nevyhodnotí.

3.4 Výpočet

U analyzátoru aminokyselin se vždy používá výpočet se standardem. Tento výpočet probíha podle následujícího vzorce:

$$Amount = \frac{Area}{Response} * UsrPeakCoef * Factor * \frac{MutiplyFactor}{DivideFactor}$$

kde: Area je plocha píku, UsrPeakCoef je koeficient z tabulky píků. Faktor se nastavyje v hlavičce metody a je stejný pro všechny píky a pro všechny vzorky vyhodnocené danou metodou. MutiplyFactor a DivideFactor se nastavují pro každý vzorek zvlášť v sekvenci nebo v hlavičce vzorku, jsou stejné pro všechny píky. Response se vypočítá ze standardu podle vzorce:

$$Response = \frac{Area_{std}}{Amount_{std}} * UsrPeakCoef_{std} * Factor_{std} * \frac{MutiplyFactor_{std}}{DivideFactor_{std}}$$

Význam jednotlivých členů je stejný pouze se berou ze standardu.

3.5 Porovnávání analýz

- Program umožňuje vložit několik analýz do jednoho grafu. Toto se provede tak, že se stiskne tlačítko pro porovnávání analýz viz obr. 7 a pak se otevře další analýza funkcí $File \Rightarrow Open$. Jednotlivé analýzy je možno posouvat a zvětšovat funkcemi ze submenu Math v menu chromatogramu.
- Další možnost zobrazit několik analýz do jednoho grafu je funkcí **Open selected in one** window v menu, které se vyvolá pravým tlačítkem v okně sekvence.

Přepínat aktivní analýzy je možno funkcí **Overlay** z menu chromatogramu.

4. OBSAH

1	ÚVΟ	D	4
1. 2	ŘÍZE	ní	5
4.	9 1	Spuštění apalyzétoru	5
	2.1		ט ד
	2.2		о С
	2.3	Analyticky program	6
	2.4	Sekvence	7
		2.4.1 Hlavička sekvence	9
		2.4.2 Ekvilibrační analýza	9
		2.4.3 Hromadné vyhodnocení	9
	2.5	Stavová informace	9
3.	VYH	ODNOCOVANÍ	10
	3.1	Postup vyhodnocení	10
	3.2	Okno chromatogramu	10
		3.2.1 Editace píků	12
	3.3	Metoda	12
		3.3.1 Halvička metody	12
		3.3.2 Píky metody	14
		3.3.3 Metoda pro standard	14
		3.3.4 Metoda pro vzorek	14
	3.4	Výpočet	15
	3.5	Porovnávání analýz	15
4.	OBS.	AH	16
	4.1	Seznam obrázků a tabulek	16

4.1 Seznam obrázků a tabulek

Obr.	1. ChromuLan	4
Obr.	2. Technologické okno	5
Obr.	3. Okno editace programu	7
Obr.	4. Okno editace sekvence	8
Obr.	5. Stavový řádek	9
Obr.	6. Stavová informace 1	0
Obr.	7. Okno chromatogramu 1	.1
Obr.	8. Editace píku 1	.2
Obr.	9. Tabulka píků	3
Obr.	10. Hlavička metody 1	.3

4