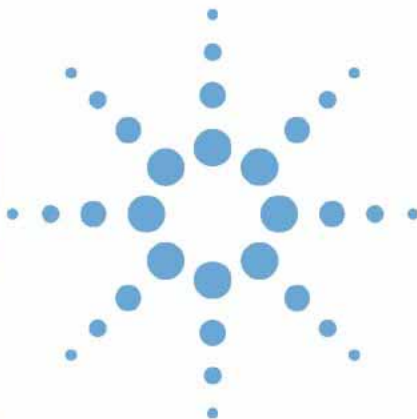


Agilent ChemStation



**Familiarización con
ChemStation**

Avisos

© Agilent Technologies, Inc. 2004, 2005-2008

No se permite la reproducción de parte alguna de este manual bajo cualquier forma ni por cualquier medio (incluyendo su almacenamiento y recuperación electrónicos y la traducción a idiomas extranjeros) sin el consentimiento previo por escrito de Agilent Technologies, Inc. según lo estipulado por las leyes de derechos de autor estadounidenses e internacionales.

Número de referencia del manual:

G2070-95125

Edición

07/08

Impreso en Alemania

Agilent Technologies
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Revisión de software

Esta guía es válida para las revisiones B.04.xx del software Agilent ChemStation, donde xx hace referencia a revisiones menores del software que no afectan a la exactitud técnica de esta guía.

Garantía

El material contenido en este documento se proporciona "tal como es" y está sujeto a modificaciones, sin previo aviso, en ediciones futuras. Además, hasta el máximo permitido por la ley aplicable, Agilent rechaza cualquier garantía, expresa o implícita, en relación con este manual y con cualquier información contenida en el mismo, incluyendo, pero no limitado a, las garantías implícitas de comercialización y adecuación a un fin determinado. En ningún caso Agilent será responsable de los errores o de los daños incidentales o consecuentes relacionados con el suministro, utilización o uso de este documento o de cualquier información contenida en el mismo. En el caso que Agilent y el usuario tengan un acuerdo escrito separado con condiciones de garantía que cubran el material de este documento y que estén en conflicto con estas condiciones, prevalecerán las condiciones de garantía del acuerdo separado.

Licencias sobre la tecnología

El hardware y/o software descritos en este documento se suministran bajo una licencia y pueden utilizarse o copiarse únicamente de acuerdo con las condiciones de tal licencia.

Avisos de seguridad

PRECAUCIÓN

Un aviso de **PRECAUCIÓN** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños en el producto o pérdida de datos importantes. No avance más allá de un aviso de **PRECAUCIÓN** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

ADVERTENCIA

Un aviso de **ADVERTENCIA** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños personales o la muerte. No avance más allá de un aviso de **ADVERTENCIA** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

En esta guía...

Se describen varios conceptos de Agilent ChemStation. El objetivo es ampliar su comprensión sobre el funcionamiento de ChemStation.

Para obtener más información acerca de cómo utilizar ChemStation, consulte el sistema de ayuda general y el "Tutorial" de la ayuda en línea.

1 Características de Agilent ChemStation

En este capítulo se describen los principales componentes y características de ChemStation.

2 Métodos

En este capítulo se describe el concepto de métodos y su funcionamiento.

3 Adquisición de datos

En este capítulo se describen los conceptos de adquisición de datos, ficheros de datos y libro de registro, entre otros.

4 Integración

En este capítulo se describen los conceptos de integración de los algoritmos de integración de ChemStation. Describe el algoritmo de integración, la integración y la integración manual.

5 Cuantificación

En este capítulo se describe cómo ChemStation lleva a cabo la cuantificación. Proporciona detalles sobre los cálculos de % de área y % de altura, el cálculo por estándar externo o ESTD (External Standard), el cálculo de % Norm, el cálculo por estándar interno o ISTD (Internal Standard) y la cuantificación de picos no identificados.

6 Identificación de picos

En este capítulo se describen los conceptos de identificación de picos.

7 Calibración

En este capítulo se describe la calibración de ChemStation.

8 Automatización

En este capítulo se describen los conceptos de automatización. Se explica cómo utilizar secuencias en ChemStation, qué ocurre cuando se analiza una secuencia y cómo personalizar secuencias.

9 Revisión de datos, reprocesamiento y revisión por lotes

Este apartado describe las opciones para revisar datos y cómo reprocesar datos de secuencia. Asimismo, se detallan los conceptos de Revisión por lotes, Configuración de lotes, funciones de revisión e informes de lotes.

10 Utilización de los informes de ChemStation

En este capítulo se describe qué es un informe. Proporciona detalles de los resultados de la elaboración de informes, resultados cuantitativos, estilos de informe y elaboración de informes del resumen de secuencias.

11 Evaluación de la idoneidad del sistema

En este capítulo se describe lo que puede hacer ChemStation para evaluar el rendimiento tanto del instrumento analítico antes utilizado para el análisis de muestras como el método analítico antes de que se utilice por rutina y comprobar el rendimiento de los análisis antes y durante los análisis rutinarios.

12 Verificación del sistema

En este capítulo se describen la función de verificación y las funciones de verificación GLP de ChemStation.

Contenido

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Características de Agilent ChemStation | 9 |
| | Descripción general | 11 |
| | Hardware de ChemStation | 14 |
| | Acerca del software de ChemStation | 15 |
| | Instrument Control | 32 |
| | Documentación | 33 |
| | Estructura de directorios de ChemStation | 35 |
| | Panel de navegación | 39 |
| 2 | Métodos | 41 |
| | Definición de método | 42 |
| | Partes de un método | 43 |
| | Estado de los métodos | 46 |
| | Creación de métodos | 49 |
| | Edición de métodos | 50 |
| | Estructura de los directorios de métodos | 52 |
| | ¿Qué sucede cuando se ejecuta un método? | 53 |
| | Resumen de la operación del método | 58 |
| 3 | Adquisición de datos | 61 |
| | Definición de la adquisición de datos | 62 |
| | Ficheros de datos | 63 |
| | Monitores en línea | 65 |
| | Libro de registro | 66 |
| | Información del estado | 67 |
| 4 | Integración | 69 |
| | Definición de la integración | 71 |
| | Función de la integración | 72 |
| | Algoritmos de integración de ChemStation | 73 |
| | Introducción | 75 |
| | Definición de términos | 80 |

| | |
|-----------------------------|-----|
| Principio de funcionamiento | 82 |
| Reconocimiento de picos | 83 |
| Asignación de la línea base | 93 |
| Medida del área de pico | 106 |
| Eventos de integración | 109 |
| Integración manual | 115 |

5 Cuantificación 119

| | |
|---|-----|
| Definición de la cuantificación | 120 |
| Cálculos de cuantificación | 121 |
| Factores de corrección | 122 |
| Procedimientos de cálculo no calibrados | 124 |
| Procedimientos de cálculo calibrados | 125 |
| Cálculo ESTD | 126 |
| Cálculo de % Norm | 129 |
| Cálculo ISTD | 130 |

6 Identificación de picos 135

| | |
|---|-----|
| Definición de la identificación de picos | 136 |
| Reglas de asignación de picos | 137 |
| Tipos de identificación de picos | 138 |
| Tiempo de retención o migración absoluto | 140 |
| Tiempos de retención/migración corregidos | 142 |
| Cualificadores de pico | 144 |
| El proceso de identificación | 147 |

7 Calibración 149

| | |
|------------------------|-----|
| Definición de términos | 150 |
| Tabla de calibración | 151 |
| Curva de calibración | 152 |
| Muestras desconocidas | 154 |
| Tipos de calibración | 155 |
| Calibración de grupo | 162 |
| Suma de picos | 163 |
| Recalibración | 164 |

8 Automatización 169

- Definición de la automatización 171
- Definición de una secuencia o plantilla de secuencia 172
- Preferencias: ficha Secuencia 173
- Parámetros de secuencia 175
- Tabla de secuencias 176
- Creación de secuencias(Secuencias y plantillas de secuencias) 177
- Uso de secuencias (secuencias y plantillas de secuencias) 179
- Archivo de registro de secuencias 182
- ¿Qué ocurre cuando se analiza una secuencia? 183
- Estructura del fichero de datos de la secuencia (Activar creación de carpeta única) 185
- Asignación de nombres a ficheros de datos en una secuencia 186
- Operación postsecuencia 188
- Recalibración automática 190
- Especificación de recalibraciones 191
- Tipos de secuencia 194
- Secuencias de calibración explícita 195
- Secuencias de calibración cíclicas de un único nivel 196
- Secuencias de calibración cíclicas multinivel 197
- Calibraciones explícitas y cíclicas juntas 201
- Secuencias de calibración cíclica con agrupamiento 203
- Secuencias de recalibración cíclica con múltiples viales que contienen la misma dilución de un estándar 207

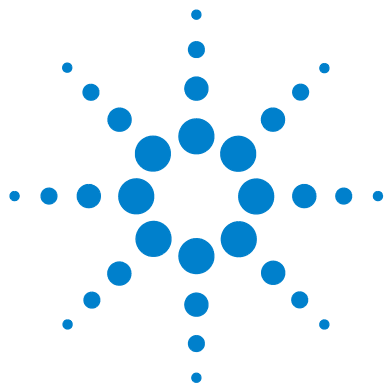
9 Revisión de datos, reprocesamiento y revisión por lotes 211

- Tabla de navegación de Análisis de datos 212
- Definición de la revisión por lotes 217
- Habilitación de la función de revisión por lotes con la opción ChemStation Open-LAB instalada 218
- Configuración de lotes 219
- Funciones de revisión 222
- Informes de lotes 223

10 Utilización de los informes de ChemStation 225

- Definición de un informe 226
- Elaboración de informes de resultados 227

| | |
|---|------------|
| Resultados cuantitativos | 229 |
| Informes de valores de campos personalizados | 231 |
| Estilos de informe | 232 |
| Otros parámetros de estilo del informe | 235 |
| Destino del informe | 236 |
| Elaboración de informes de resumen de secuencias | 238 |
| 11 Evaluación de la idoneidad del sistema | 243 |
| Determinación del ruido | 247 |
| Cálculo de la simetría de picos | 252 |
| Fórmulas y cálculos de idoneidad del sistema | 254 |
| Definiciones generales | 255 |
| Definiciones del test de rendimiento | 256 |
| Definiciones de reproducibilidad | 262 |
| Acceso al número de doble precisión almacenado internamente | 267 |
| 12 Verificación del sistema | 271 |
| Ventanas de verificación y diagnóstico | 272 |
| Registro GLPsave | 275 |
| Función del test del DAD | 277 |



1

Características de Agilent ChemStation

| | |
|---|----|
| Descripción general | 11 |
| Módulos instrumentales adicionales | 12 |
| Módulos de evaluación de datos adicionales | 12 |
| Productos sólo de evaluación de datos | 13 |
| Hardware de ChemStation | 14 |
| Acerca del software de ChemStation | 15 |
| Sistema operativo | 15 |
| Métodos y secuencias | 15 |
| Configuración del sistema | 15 |
| Modelo de datos | 16 |
| Convenciones de los nombres de ficheros | 16 |
| Interfase de usuario de software | 18 |
| Adquisición de datos | 20 |
| Análisis de datos: presentación | 21 |
| Análisis de datos: integración | 22 |
| Análisis de datos: cuantificación | 22 |
| Análisis de datos: revisión de datos, reproceso de datos y revisión por lotes | 22 |
| Análisis de datos: informes estándar | 23 |
| Análisis de datos: informes especializados | 24 |
| Utilidades y compatibilidades | 26 |
| Personalización | 27 |
| Automatización | 27 |
| Buenas prácticas de laboratorio | 29 |
| Instrument Control | 32 |
| Trabajo en red | 32 |
| Documentación | 33 |
| Estructura de directorios de ChemStation | 35 |



1 Características de Agilent ChemStation

En esta guía...

| | |
|-----------------------|----|
| Panel de navegación | 39 |
| Botones de navegación | 39 |
| ChemStation Explorer | 39 |

En este capítulo se describen los principales componentes y características de ChemStation.

Descripción general

ChemStations para los sistemas GC, LC, LC/MSD, CE, CE/MSD y A/D son sistemas de control instrumental, adquisición de datos y evaluación de datos para

- Cromatógrafos de gases Agilent 7890A,
- cromatógrafos de gases Agilent 6890N, 6890Plus y 6890A,
- Cromatógrafos de gases Agilent 6850,
- Cromatógrafo de gases 5890 Serie II,
- Módulos y sistemas Agilent Serie 1100/1200 para LC,
- LC/MSD Agilent Serie 1100,
LC/MSD Single Quad Agilent Serie 6100,
- Cromatógrafos de líquidos Serie 1090,
- detectores FLD 1046 y ECD 1049,
- sistema de electroforesis capilar de Agilent (CE),
- sistema CE/MS Agilent e
- interfase analógico/digital de doble canal Agilent 35900E.

El software está diseñado para ordenadores personales compatibles con IBM con un sistema operativo Microsoft® Windows XP Professional.

El software se vende como una ChemStation básica de un solo instrumento con cinco versiones. Todas las versiones incluyen adquisición de datos, control instrumental, análisis de datos (integración, cuantificación e informes), automatización y personalización para un instrumento analítico. Un instrumento está definido como de ejecución en una sola base de tiempo, pero puede recopilar datos simultáneamente de diferentes detectores. Las cinco versiones son:

- ChemStation de un solo instrumento para sistemas de cromatografía de gases (GC), referencia G2070BA
- ChemStation de un solo instrumento para sistemas de cromatografía de líquidos (LC), referencia G2170BA
- ChemStation de un solo instrumento para sistemas de electroforesis capilar (CE), referencia G1601BA

- ChemStation de un solo instrumento para sistemas de cromatografía de líquidos/detector selectivo de masas (LC/MSD), referencia G2710BA, y
- ChemStation de un solo instrumento analógico/digital (A/D) para adquisición de datos analógicos con control externo de eventos, referencia G2072BA

La función de control instrumental del software ChemStation se puede ampliar adquiriendo módulos adicionales de adquisición de datos y de control instrumental para poder tener configuraciones de varios instrumentos y técnicas mixtas.

Módulos instrumentales adicionales

Los módulos instrumentales adicionales son:

- módulo de control instrumental GC y adquisición de datos, referencia G2071BA,
- módulo de control instrumental LC y adquisición de datos, referencia G2171BA,
- módulo de control instrumental GE y adquisición de datos, referencia G2172BA,
- módulo de control instrumental LC/MSD, adquisición y evaluación de datos, referencia G2715BA, y
- módulo de adquisición de datos analógico, referencia G2073BA.

Módulos de evaluación de datos adicionales

La capacidad de proceso de datos de las ChemStations también se puede ampliar mediante la adquisición de módulos adicionales de proceso de datos para aplicaciones especializadas:

- módulo adicional de evaluación espectral con detector de diodos (DAD), referencia G2180BA,
- módulo de base de datos de resultados y organización de muestras ChemStore, referencia G2181BA, y
- módulo de evaluación de datos de bioanálisis y deconvolución LC/MSD, referencia G2720BA, sólo para su uso con ChemStation LC/MSD.

En cada ChemStation se pueden configurar hasta cuatro instrumentos de cromatografía. Si se configuran instrumentos con detectores de espectroscopía (detectores de diodo-array para cromatografía de líquidos o electroforesis capilar), no se soportan más de dos detectores de diodos en una ChemStation y el número de instrumentos soportados está restringido a tres. Cuando ChemStation para LC/MS se utiliza para controlar el módulo LC/MS Agilent Serie 1100/1200 (opcionalmente con un LC Agilent Serie 1100/1200 o LC 1090 Serie II), el PC no admite ningún otro instrumento.

Productos sólo de evaluación de datos

También hay disponibles tres productos sólo de evaluación de datos que podrían no tener instrumentos configurados. Están diseñados para evaluación de datos en oficinas:

- ChemStation para evaluación de datos LC 3D, referencia G2190BA, incluye evaluación de datos espectrales del diodo-array y las funciones de ChemStation para evaluación de datos, y
- ChemStation para evaluación de datos LC/MSD, referencia G2730BA, incluye evaluación de datos espectrales del diodo-array, evaluación de datos espectrales de masa y las funciones de ChemStation básica para evaluación de datos.

Hardware de ChemStation

Para obtener más detalles sobre el hardware de ChemStation, consulte el manual *Instalación de ChemStation*.

Acerca del software de ChemStation

Sistema operativo

ChemStation requiere el sistema operativo Microsoft Windows XP Professional SP3 o Windows Vista Business SP1.

Los gráficos de control de ChemStation requieren Microsoft Excel.

Métodos y secuencias

El método analítico describe completamente cómo se realiza una separación determinada. Contiene todos los parámetros para el control instrumental y la adquisición y evaluación de datos, incluida la integración, cuantificación e informes. El sistema se puede configurar para que adquiera los datos de varias muestras con diferentes métodos. El fichero de control de este tipo de operación se denomina secuencia, y contiene la información de cada muestra, referencias a los métodos apropiados y especificaciones de recalibración automática. Para obtener más información sobre métodos y secuencias, consulte [“Automatización”](#) en la página 27 y el sistema de ayuda en línea.

Configuración del sistema

La configuración del sistema instrumental se realiza mediante el editor de configuración. Permite definir los instrumentos, sus direcciones GPIB o LAN, los directorios de los datos, las secuencias y métodos y la definición de color del software ChemStation. Para obtener más información, consulte los manuales suministrados con los módulos ChemStation adicionales.

Modelo de datos

El software ChemStation está diseñado sobre un modelo de datos basado en una estructura de memoria denominada registro. Los registros son estructuras multipropósito que pueden contener datos analíticos y datos para información bidimensional (por ejemplo, tiempo/intensidad) e información tridimensional (por ejemplo, tiempo/intensidad/longitud de onda).

ChemStation proporciona los comandos y funciones para construir, expandir, extraer y editar registros, siempre que no se alteren los datos primarios. Para obtener más información, consulte la *Guía de programación de macros* disponible como ayuda en línea.

Convenciones de los nombres de ficheros

Convenciones de los nombres

Las reglas siguientes permiten que ChemStation genere y procese nombres válidos para ficheros y directorios:

No está permitido que los caracteres siguientes formen parte de los nombres de ficheros y directorios:

- < > : " / \ | @ % * ? espacios en blanco, etc.

Si se utilizan estos caracteres en la carpeta de instalación, la copia de reprocesamiento no comienza y si se utiliza el carácter % en la carpeta de instalación, algunos accesos directos de "Agilent Chemstation B.04.01" no funcionan correctamente.

Son asimismo aplicables las siguientes reglas:

Tabla 1 Caracteres restringidos

| Parámetro de ChemStation | Character |
|---|---|
| Nombres de ficheros de método: | % y . (punto decimal) no permitidos |
| Nombres de ficheros de datos (prefijo/contador): | espacios en blanco no permitidos |
| Subdirectorios de datos y subdirectorios de secuencias: | [] + = ; , . (punto decimal) y espacios en blanco no permitidos |

No se pueden utilizar como nombre de un fichero los siguientes nombres de dispositivo reservados:

- CON, PRN, AUX, NUL
- COMx (donde x es un número del 1 al 9)
- LPT1x (donde x es un número del 1 al 9)

Debe evitarse asimismo el uso de estos nombres seguidos de una extensión (p.ej. Nul.txt).

NOTA

En las pruebas realizadas para validar las convenciones de los nombres de ficheros se utilizan equipos con sistema operativo en inglés, japonés y chino. Agilent no puede garantizar el soporte de sistemas operativos que no sean en inglés y sus caracteres especiales.

Longitud máxima de los nombres de ficheros y subdirectorios de ChemStation

Se enumeran a continuación las especificaciones de ChemStation Agilent relativas a nombres de ficheros y subdirectorios:

Tabla 2 Longitud máxima de los nombres de ficheros y subdirectorios de ChemStation

| Fichero de datos/Subdirectorio/Ruta | Longitud máx. de entrada | Apéndice automático | Ejemplo |
|--|--------------------------|---------------------------------------|--|
| Nombre de fichero de datos | 38 | .D | Demodad.d |
| Nombre de fichero de datos utilizando prefijo/contador | 15 | .D | longname000001.d |
| Método Secuencia Hipersecuencia Librerías Plantillas de informes personalizadas | 40 | . M . S . HYP . UVL . FRP | def_lc.m def_lc.s def_lc.hyp demodad.uvl areapct.frp |
| Subdirectorio de fichero de datos | 40 | | demo (en información de la muestra) |
| Subdirectorio de secuencias de datos | 40 | | demo (en parámetros de secuencia) |

Tabla 2 Longitud máxima de los nombres de ficheros y subdirectorios de ChemStation

| Fichero de datos/Subdirectorio/Ruta | Longitud máx. de entrada | Apéndice automático | Ejemplo |
|--|--------------------------|---------------------|--|
| Nombre de contenedor de datos de secuencia | 40 | | test_date_time (crear usando preferencias de secuencias) |
| Ruta de datos | 100 | 100 | c:\chem32\1\data |
| Ruta de método | | | c:\chem32\1\methods |
| Ruta de secuencia | | | c:\chem32\1\sequence |
| Ruta de hipersecuencia | | | c:\chem32\1\hyper |
| Ruta de librerías | | | c:\chem32\speclib |
| Ruta de plantilla de informe personalizado | | | c:\chem32\repstyle |

NOTA

Las barras de herramientas que muestran nombres de ficheros de datos/secuencias/métodos se han redimensionado para mostrar hasta 18 caracteres.

Todos los mensajes del sistema de informes de los libros de registro de ChemStation en formato ampliado y las cadenas de información se imprimen en varias líneas. En determinados informes, por ejemplo el informe de secuencia, los nombres de ficheros pueden aparecer truncados para que encaje toda la información en la plantilla de informe.

Interfase de usuario de software

La interfase de usuario de ChemStation está diseñada con ventanas que agrupan las funciones del software según las tareas analíticas típicas. Las siguientes tres ventanas estándar están presentes en todas las configuraciones del software:

- Método y Control de análisis para controlar y adquirir datos del instrumento
- Análisis de datos para revisar y volver a evaluar los datos adquiridos
- Diseño del informe para diseñar informes específicos

Existen otras ventanas si se piden módulos de evaluación de datos adicionales o para determinadas configuraciones de instrumentos que admiten procedimientos de diagnóstico y verificación de instrumentos. La ventana de guía de ChemStation está disponible cuando se desea que los operadores de los instrumentos analicen muestras a partir de una tabla preconfigurada y fácil de usar.

El panel de navegación contiene el botón de navegación que permite cambiar rápidamente de las ventanas de ChemStation y ChemStation Explorer con estructura de árbol. El contenido de ChemStation Explorer depende de la ventana y facilita acceso a diferentes elementos de ChemStation.

Cada ventana consta de un conjunto de elementos de usuario estándar, incluidos menús y barras de herramientas. La barra de herramientas estándar ofrece acceso rápido a información común sobre especificaciones del sistema, por ejemplo, métodos y secuencias. La ventana Método y Control de análisis incorpora además una barra de estado del sistema, un área de información de la muestra, que puede configurarse para un solo análisis o para análisis automatizados, y un diagrama esquemático de la interfase del instrumento para configuraciones GC, CE y LC. El diagrama esquemático de la interfase del instrumento utiliza puntos de acceso para el acceso rápido a los parámetros de los instrumentos y un gráfico animado que ofrece una visión general de cada análisis según se realiza. Si no es necesario, el diagrama esquemático del instrumento se puede desactivar para ahorrar memoria y otros recursos de Windows.

La ventana Análisis de datos amplía la barra de herramientas estándar para incluir modos de análisis de datos específicos, como integración, calibración, informes, anotación, comparación de señales y otros modos especializados si los módulos están instalados. Cada uno de los diferentes modos de análisis de datos se soportan mediante un conjunto de herramientas específico de cada uno de ellos.

La ventana Diseñador de informes permite al usuario definir el diseño de un estilo de informe determinado de una manera gráfica orientada a objetos. También utiliza un conjunto de barras de herramientas específico de esta tarea.

Adquisición de datos

En la pantalla se monitoriza y se actualiza constantemente el estado de los instrumentos, además del tiempo de análisis transcurrido, tanto cuando el software está en una ventana visible como cuando es un icono. Las transacciones que se producen durante el análisis, incluidos los errores y las condiciones del instrumento al principio y al final del análisis, se registran en el libro de registro del sistema y con cada fichero de datos se guarda un extracto del mismo.

Con cada fichero de datos se pueden guardar las condiciones del instrumento, por ejemplo, flujo, temperatura, presión y composición del disolvente en el caso de cromatógrafos de líquidos. Estos parámetros del instrumento se pueden mostrar y trazar para confirmar la calidad de cada análisis. La naturaleza exacta de los parámetros registrados depende tanto de la técnica como de la capacidad del instrumento configurado.

Se puede usar una o varias ventanas para monitorizar en tiempo real los datos que el instrumento está adquiriendo. Los datos se muestran con unidades de medida reales como mAU, voltios, grados o bar. Cada ventana puede mostrar superpuestas varias señales de cromatografía o electroferografía o parámetros de instrumentos, por ejemplo, la presión. La configuración predeterminada de la pantalla se puede ajustar y el sistema la recuerda para que los usuarios puedan establecer su propia configuración como predeterminada del instrumento. La ventana tiene función de zoom y se puede usar el cursor para mostrar la respuesta de una señal determinada en cualquier momento del tiempo.

Durante un análisis, se pueden usar todas las funciones de ChemStation mediante la copia fuera de línea. Mientras se realiza la adquisición, la parte de análisis de datos de la sesión fuera de línea de un instrumento no es accesible y la revisión de los datos hay que realizarla en la copia fuera de línea.

Los usuarios que desean comenzar el proceso de datos antes de terminar el análisis disponen de una función de instantánea. La instantánea hay que tomarla en la copia fuera de línea de las sesiones del instrumento y se muestra inmediatamente para su revisión.

El diseño de las ventanas de información de señal y estado, incluidos los componentes del diagrama esquemático de la interfase del instrumento, se guarda automáticamente.

Para obtener más información sobre adquisición de datos, consulte [“Adquisición de datos”](#) en la página 61 y el sistema de ayuda en línea.

Análisis de datos: presentación

La ventana Análisis de datos añade a la barra de herramientas estándar funciones de análisis de datos agrupadas por tareas, por ejemplo, integración, calibración, informes, anotación y comparación de señales. Se pueden realizar las siguientes operaciones gráficas clave:

- selección de presentaciones de una o varias señales al cargar el cromatograma o electroferograma,
- superposición de los cromatogramas o electroferogramas de diferentes muestras,
- sustracción de un cromatograma o electroferograma de otro,
- alineación gráfica vertical y horizontal de las señales para ayudar a la comparación visual,
- inversión o reflejo de las señales para ayudar a la comparación visual,
- funciones de zoom y desplazamiento gráfico,
- ajuste de los atributos de presentación, incluida la selección de marcas de señalización, líneas base, ejes, tiempos de retención/migración y nombres de los compuestos (el usuario también puede seleccionar la fuente de las etiquetas de los compuestos y RT, ajustar el tamaño y la orientación de la presentación, seleccionar la presentación como superpuesta o separada y seleccionar los factores de escala)
- la presentación de cromatograma o electroferograma puede incluir superposiciones gráficas de los parámetros de los instrumentos según la capacidad del instrumento configurado,
- las anotaciones definidas por el usuario se pueden añadir de forma interactiva a la presentación, pudiendo seleccionar la fuente, el tamaño, la rotación del texto y el color (una vez definidas, las anotaciones se pueden mover, editar y eliminar),
- copiar la presentación al portapapeles de Windows con el formato de meta-fichero y mapa de bits,
- una función *modo de selección* para mostrar los valores de puntos de datos individuales en unidades de detector, y
- exportación de puntos digitalizados de tiempo o intensidad al portapapeles de Microsoft Windows.

Análisis de datos: integración

El algoritmo de integración de ChemStation es la segunda revisión de una nueva generación que pretende mejorar la resistencia, fiabilidad y facilidad de uso.

Análisis de datos: cuantificación

El modo de calibración de ChemStation de la ventana de análisis de datos permite la presentación simultánea de:

- las señales que se van a calibrar con una indicación de la ventana de tiempo de retención o migración del compuesto actual,
- la tabla de calibración cuya presentación se puede configurar mediante una amplia selección de parámetros de calibración, y
- la curva de calibración del compuesto que se va a calibrar.

Todas las ventanas del modo de calibración están vinculadas de manera que los cambios en una se reflejan automáticamente en todas las demás. Este modo permite la selección y modificación gráfica de los datos de calibración.

La cuantificación se basa en los cálculos %, % normalizado, patrón externo, % patrón externo, patrón interno y % patrón interno calculados en cada altura o área de pico. Las calibraciones pueden ser multinivel e incluir varias definiciones de patrón interno. Los historiales de calibración se guardan automáticamente y se pueden usar para ponderar los cálculos de recalibración.

Para obtener más información sobre calibración y cuantificación, consulte [“Calibración”](#) en la página 149.

Análisis de datos: revisión de datos, reproceso de datos y revisión por lotes

En la ventana Análisis de datos hay disponibles otros dos conjuntos de herramientas:

- Tabla de navegación
- Revisión por lotes

La tabla de navegación permite varias operaciones gráficas clave:

- funciones estándar de configuración de tablas como ordenar, opciones de arrastrar y colocar, selección de columnas, agrupación de elementos para especificar una configuración de navegación de tablas preferida
- funciones con el botón derecho del ratón para cargar una señal, superponer una señal, exportar datos o imprimir informes
- expandir una línea en la tabla de navegación para revisar los detalles de las señales
- revisar señales y crear informes de ChemStation con los métodos cargados o con el método individual de fichero de datos DA.M, por ejemplo, para revisar los eventos de integración manual
- reprocesar los datos de secuencia (datos de secuencia adquiridos mediante ChemStation Rev. B.02.01 y posteriores)

En la ventana Revisión por lotes se pueden realizar las siguientes operaciones gráficas:

- definir la revisión y el reprocesamiento automático o manual de ficheros de datos (calibrados)
- recalibrar la tabla de calibración
- revisar las tablas de compuestos de los métodos calibrados
- crear informes por lotes específicos

Análisis de datos: informes estándar

En la pantalla de especificación de informes se puede seleccionar un conjunto estándar de estilos personalizables para informes de muestras. Cada tipo de informe estándar contiene grupos de información estándar y grupos de información opcional.

Para obtener más información sobre los estilos de informe disponibles, consulte [“Utilización de los informes de ChemStation”](#) en la página 225.

Análisis de datos: informes especializados

ChemStation también dispone de funciones de informes avanzadas para las aplicaciones que requieren un conjunto de informes más especializado. Algunas son: estadísticas sobre la calidad de separación, informes que incluyen análisis de tendencias entre muestras y diseños de informes personalizables.

Informes de idoneidad del sistema

Los informes de idoneidad del sistema permiten a los usuarios notificar los parámetros de rendimiento del sistema para análisis individuales. Hay tres variaciones o estilos de este tipo de informes.

El **Standard Performance report** imprime los parámetros de métodos sin calibrar que son:

- tiempo de retención/migración
- factor de capacidad (k')
- área de pico,
- altura de pico
- simetría
- anchura real del pico a media altura,
- eficacia en número de platos,
- resolución y
- selectividad.

En los métodos calibrados, el nombre del compuesto y la cantidad reemplazan las columnas de área de pico, altura y selectividad.

La cabecera del informe incluye la cabecera y el pie de página estándar, el bloque de información de la muestra, los parámetros de la columna analítica y, opcionalmente, un trazado del cromatograma o electroferograma.

El **Performance and Noise style** añade una evaluación del ruido de la señal, en hasta siete rangos de evaluación definidos por el usuario, a los datos del estilo de informe de rendimiento. Los parámetros de ruido se notifican como relaciones señal/ruido para cada pico o compuesto calibrado y una tabla de ruidos para cada señal. Cada tabla de ruidos incluye el ruido calculado mediante seis veces la desviación estándar, los métodos pico a pico y ASTM así como la precesión y la deriva.

El estilo **Extended Performance** añade gráficos de cada pico individual que muestran gráficamente los tiempos de inicio y final del pico, a media altura y en la línea base. Este estilo incluye los siguientes parámetros además de los incluidos en los informes de rendimiento estándar:

- área, altura y cantidad,
- sesgo,
- exceso,
- factor de cola usp,
- intervalo de tiempo entre los puntos de datos y el número de puntos de datos en el pico,
- momentos estadísticos (M0 a M4),
- anchura del pico a media altura calculada mediante los métodos real, cinco sigma, tangencial y de cola, y
- plato/columna y platos/metro calculados mediante los métodos anchura de pico a media altura, cinco sigma, tangencial y estadístico.

Los usuarios pueden definir sus propios rangos de evaluación del ruido y límites aceptables para estos criterios de rendimiento. En el informe se indican los valores situados fuera de los límites aceptables definidos por el usuario.

Para obtener más información sobre los cálculos de idoneidad del sistema, consulte [“Evaluación de la idoneidad del sistema”](#) en la página 243.

Informes de resumen de secuencias

Los informes de resumen de secuencias se producen al final de una serie de análisis automatizados. Su rango de aplicaciones va desde un breve resumen de las muestras analizadas a un análisis gráfico detallado sobre tendencias y repetibilidad de los parámetros seleccionados por el usuario entre diferentes muestras analizadas con el mismo método.

Para obtener más información sobre informes de resumen de secuencias, consulte el sistema de ayuda en línea y la sección [“Elaboración de informes de resumen de secuencias”](#) en la página 238.

Informes personalizados

ChemStation incluye una ventana de diseño de informes personalizados para aquellos usuarios que desean definir el contenido exacto de sus informes. El usuario define gráficamente un diseño de informe que puede incluir informa-

ción general sobre la muestra, información sobre señales, integración y resultado analítico cuantitativo. Se pueden definir los elementos individuales, como el texto, las tablas y los gráficos, organizarlos en secciones informativas y ajustar gráficamente su posición relativa y la orientación de cada elemento definido. Se pueden añadir, eliminar, reordenar y anidar las secciones individuales.

El usuario puede definir cabeceras y pies de página para que aparezcan en cada página, marcas de hora del informe y numeración de página con el formato *página x de y*. La información incluida en el informe puede ser cualquier parámetro de ChemStation o definido por el usuario.

Una vez diseñado el informe, se puede asociar a un método determinado para que sea el formato de informe predeterminado para ese tipo determinado de análisis.

Los informes personalizados se pueden enviar a la pantalla, a la impresora y a un fichero. Los informes en pantalla contienen gráficos.

Para obtener más información sobre el diseño de informes, consulte el sistema de ayuda en línea.

Informes de diagramas de control

El software ChemStation incluye la función para diagramas de control. Una vez instalada y seleccionada, el usuario puede realizar el seguimiento automático de un parámetro determinado de un compuesto cada vez que se analiza un método. Estos parámetros son: cantidad, factor de respuesta, tiempo de retención/migración y área.

Para obtener más información sobre los informes personalizados y de diagramas de control, consulte el sistema de ayuda en línea.

Utilidades y compatibilidades

General

ChemStation puede importar y exportar ficheros de datos con el formato de cromatografía andi (Analytical Data Interchange) de la Analytical Instrument Association (AIA), revisión 1.0, copyright 1992. Se admite la importación de

datos en el nivel de conformidad uno (información de muestra y datos de señal) y la exportación de datos en el nivel de conformidad dos (información de muestras, datos de señal y resultados de integración).

ChemStation incluye comandos y funciones para admitir la norma de intercambio dinámico de datos (DDE) de Microsoft Windows, tanto como cliente DDE como servidor DDE. Se incluyen comandos para establecer y terminar las conexiones, transferir información en ambas direcciones y ejecutar funciones remotas.

Personalización

ChemStation se puede personalizar mediante un eficaz conjunto de comandos. Estos comandos se pueden agrupar para ejecutar automáticamente una función específica; este grupo se denomina macro. Los usuarios que escriben macros pueden definir sus propias variables, crear constructos condicionales o de bucle, realizar E/S físicas como el tratamiento de ficheros y la interacción de usuarios, anidar sus macros y programar e intercambiar datos con otras aplicaciones de MS-DOS o Microsoft Windows.

Para obtener más información sobre la personalización, consulte la *Guía de programación de macros* disponible como ayuda en línea.

Automatización

ChemStation puede ejecutar secuencias multimétodo.

El grupo de parámetros de secuencia puede definirse para utilizar ficheros generados automáticamente o numerados secuencialmente, con un prefijo de hasta quince caracteres. El usuario puede seleccionar si desea realizar análisis completos o reprocesar los datos únicamente de secuencias. También puede seleccionar, en una serie, un comando de cierre específico o una macro de cierre definida por el usuario que se ejecuta cuando la secuencia termina, por error o después de terminar todos los análisis.

La tabla de secuencias, o lista de análisis a realizar, se crea en una interfase de usuario del tipo hoja de cálculo y permite especificar los números de vial y los nombres de muestra, métodos de análisis, parámetros de cuantificación de muestras que incluyen la cantidad de muestra, un multiplicador y un factor de

dilución, especificaciones de calibración, el parámetro de intercambio de datos LIMSID y el número de inyecciones repetidas. Dependiendo de los instrumentos y módulos configurados, habrá más campos accesibles; por ejemplo, si un sistema LC Agilent 1100/1200 incluye un colector de fracciones, en la tabla de secuencias aparecerá la columna "Inicio fract.". El usuario puede configurar el aspecto de la tabla de secuencias. El usuario puede desplazarse por las celdas de la tabla y copiar, cortar o pegar cada celda, filas enteras o series de filas para crear secuencias de forma eficaz y rápida.

En la tabla de secuencias, las muestras se identifican como desconocidas, calibración o muestra de control. El tipo de muestra determina el tratamiento especial de la evaluación de los datos de la muestra:

- las muestras desconocidas se evalúan y se informan de acuerdo con la especificación del método,
- las muestras de calibración se utilizan para recalibrar el componente de cuantificación del método, tal y como se describe más adelante, y
- las muestras de control se evalúan según los límites de cada componente definido en el método. Si el resultado está fuera del rango de cualquiera de los parámetros especificados, la ejecución de la secuencia se detiene.

Las muestras de calibración se pueden definir como simples, cíclicas o agrupadas. En las recalibraciones simples, la recalibración se produce cada vez que se define una muestra de calibración en la secuencia. Las recalibraciones cíclicas se producen a intervalos definidos durante el análisis de una serie de muestras desconocidas. En la agrupación de una serie de muestras desconocidas, se analizan dos conjuntos de calibración. Después, se calculan los informes cuantitativos de las muestras desconocidas utilizando una tabla de calibración promediada con dos conjuntos de calibración.

La función de secuencia parcial permite a los usuarios ver el orden de ejecución de la secuencia y, además, seleccionar las muestras individuales para volver a analizarlas o a evaluarlas. Al volver a evaluar los datos ya adquiridos, los usuarios pueden especificar si en el reprocesamiento se utilizarán los datos de cuantificación de la muestra originales o los nuevos datos introducidos en la tabla de muestras de la secuencia.

Las secuencias se pueden poner en pausa para analizar muestras prioritarias de una sola inyección con otro método y, después, se pueden reiniciar sin interrumpir la automatización. Se puede añadir muestras a la tabla de secuencias durante la ejecución de la secuencia.

Tanto la secuencia como las tablas de secuencias parciales se pueden imprimir.

Para obtener más información sobre secuencias, consulte

Automatización

y el sistema de ayuda en línea ("[Automatización](#)" en la página 169).

Buenas prácticas de laboratorio

ChemStation se ha desarrollado según normas de desarrollo y diseño internacionalmente reconocidos y dispone de varias funciones específicas para ayudar a los usuarios a trabajar en un entorno regulado. Estas funciones del área de especificación de métodos completos y verificación de que los métodos son idóneos para el uso previsto, se usan para comprobar el funcionamiento del sistema y asegurar la trazabilidad, originalidad y calidad de los datos.

Proceso de desarrollo

El certificado de validación entregado con cada paquete de software documenta las fases de desarrollo y pruebas del software realizados como parte del proceso de desarrollo. El proceso de desarrollo está registrado según la norma de calidad ISO 9001. Está documentado, junto con los protocolos de revalidación in situ, en el *Cuaderno de validación de Agilent ChemStation para LC*.

Especificación y uso de métodos

- Métodos globales: toda la especificación de los análisis de datos y del instrumento se guarda en un lugar. Los métodos incluyen las especificaciones individuales de los rangos de los compuestos para comprobar que los resultados de cuantificación no se aplican fuera del rango calibrado.
- El registro histórico de cambios en los métodos permite a los usuarios de un método validado registrar automáticamente cómo y cuando se modificó un método. Opcionalmente, los usuarios pueden añadir al registro histórico un comentario con el motivo de la modificación. El registro histórico de cambios se guarda automáticamente como parte del método en formato binario. Para evitar el acceso no autorizado a los registros, está protegido por el esquema de acceso de usuarios, que se describe más adelante. El registro histórico de cambios se puede ver e imprimir.

- En cada método se pueden asignar límites por compuesto para varios parámetros de rendimiento cromatográficos o electroferográficos y del sistema, como se describe en la sección de cuantificación del análisis de datos. Los resultados que superan los rangos de estos parámetros se utilizan para controlar la ejecución de secuencias automatizadas, tal y como se describe en la sección de automatización. Se indican en el informe del análisis correspondiente.
- Los informes de rendimiento o idoneidad del sistema (consulte la sección Informes más arriba) proporcionan un análisis detallado de la calidad de la separación.

ChemStation se puede configurar para restringir el acceso a dos niveles, nivel de operador y nivel de gerente. El nivel de manager puede estar protegido por contraseña y permite el acceso a todas las funciones de ChemStation. El nivel de operador restringe el usuario a las funciones clave y a la ejecución de métodos analíticos definidos. El nivel de operador está previsto para su uso en laboratorios de rutina y evita específicamente que los usuarios modifiquen y creen nuevos métodos.

Solidez de los métodos

Los informes de resumen de secuencias (consulte [“Elaboración de informes de resumen de secuencias”](#) en la página 238) permiten probar la solidez de los métodos. Los informes de formato extendido para los criterios seleccionados por el usuario se envían como diagramas de tendencias que se pueden utilizar para determinar los límites realistas de operación. Estos límites se pueden incorporar al método para asegurar, mediante el análisis de muestras de control, que el método está funcionado según las especificaciones.

Funcionamiento del sistema

El kit de verificación de ChemStation, que forma parte del software estándar, comprueba automáticamente si la instalación es correcta y el funcionamiento de los componentes de evaluación de datos del software; para ello, compara los resultados generados cuando se ejecuta la prueba con los valores conocidos registrados previamente. El kit de verificación permite a los usuarios definir sus propios ficheros de datos y métodos que serán la base de la prueba.

Trazabilidad, originalidad y calidad de los datos

El libro de registro de tiempo de análisis ofrece un registro de transacciones de todo el sistema. También registra los eventos inusuales (como errores o cambios de parámetros realizados durante un análisis) así como las condiciones del instrumento antes y después de cada análisis. Con cada fichero de datos se guarda un extracto relevante del libro de registro.

También se registran las condiciones reales del instrumento, por ejemplo, presión, flujo y temperatura, ocurridas durante cada análisis si el instrumento configurado admite esta posibilidad. Después, estos datos se pueden presentar gráficamente con el cromatograma o electroferograma para mostrar las condiciones reales del instrumento durante ese análisis concreto y también se pueden incluir en el informe.

Los métodos guardados con el fichero de datos registran el método real en el momento del análisis y permite realizar posteriormente una reconstrucción completa de los datos del informe. El método se guarda cuando terminan todas las fases del análisis.

Todos los informes tienen marcas de hora y numeración de página trazable (estilo de numeración *página x de y*). El usuario puede seleccionar el nivel de detalle de cada informe, desde simples informes de resumen a detalles completos del sistema (consulte la sección Informes más arriba).

Los ficheros de registro de GLP Save, especificados como parte de la configuración del método, guardan todos los datos originales, incluida información de la muestra, el método de análisis de datos, las señales del cromatógrafo o electroferógrafo, las condiciones del instrumento, los resultados de integración y cuantificación, los datos del informe y el libro de registro del análisis en un archivo binario protegido por sumas de control. Este formato binario no editable garantiza la originalidad de los resultados. El archivo incluye un esquema de revisiones que indica si los datos han sido reprocesados.

En la tabla de secuencias se pueden definir los tipos de muestras de control y usarse para comprobar automáticamente el rendimiento del instrumento según los resultados de la muestra de control de calidad cuando el instrumento funciona desatendido. Los resultados que están fuera del rango aceptable definido por el usuario detendrán la ejecución automática del instrumento.

Instrument Control

La capacidad de control instrumental de ChemStation se puede ampliar adquiriendo módulos instrumentales adicionales para tener varias configuraciones de instrumentos con técnicas mixtas. Para obtener más información, consulte los manuales suministrados con los módulos ChemStation adicionales.

Trabajo en red

ChemStation dispone del software LanManager de Agilent y se ha probado su compatibilidad con los productos de Microsoft Windows XP Professional y Microsoft Windows Vista Business basados en la especificación IEEE 802.3 CSMA/CD. Debería ser compatible con cualquier software de red compatible con las normas de programación de Microsoft Windows.

Estos productos permiten a ChemStation compartir dispositivos físicos, por ejemplo, plotters e impresoras con otros ordenadores del laboratorio, además de compartir información como ficheros de datos y métodos.

Cliente/Servidor

El software ChemStation se puede instalar en un servidor de red apropiado y descargarse en los PC cliente cuando sea necesario. La configuración específica de cada cliente garantiza un entorno apropiado para las diferentes técnicas y usuarios individuales, mientras que la instalación centralizada del software evita tener que gestionar muchas copias de la misma instalación de ChemStation en un entorno de trabajo.

Control instrumental mediante LAN

El software ChemStation permite el control instrumental y la adquisición de datos mediante LAN para GC Agilent 7890, GC Agilent 6890, el módulo de control Agilent 35900E A/D y el sistema LC Agilent Serie 1100/1200. Para controlar y monitorizar fácilmente los instrumentos, conéctelos a la red LAN donde se encuentra el PC de ChemStation. De esta manera el PC de ChemStation se puede ubicar lejos de los instrumentos que controla.

Documentación

La documentación contiene secciones específicas acerca de:

- Instalación y aprendizaje del software ChemStation,
- Utilización del software ChemStation,
- Familiarización con los principios de funcionamiento del software, y
- Personalización de ChemStation.

Instalación y aprendizaje

Cada producto de software ChemStation se entrega con un manual de instalación que incluye detalles sobre los pasos clave de los requisitos de software y hardware del PC, la instalación de la interfase instrumental, instalación de ChemStation y cualificación de la instalación. El manual de instalación es específico de la configuración adquirida y puede incluir solución de problemas, registros del sistema y consejos sobre el mantenimiento del sistema.

Utilización del software

Existen dos categorías adicionales de información en línea para el usuario habitual.

ChemStation incluye un sistema de ayuda completo, contextual, indexado y con estilo de ventanas. El sistema ofrece explicaciones detalladas acerca de cada una de las pantallas y el significado de los parámetros de esa pantalla. Las explicaciones detalladas se amplían con gráficos y se pueden copiar al portapapeles de Windows para incorporarlas a la documentación del usuario o para imprimirlas.

El tutorial en línea incluido en la ayuda en línea permite aprender el software mientras trabaja con sus propios métodos y datos. Ofrece una visión general de los primeros pasos en la adquisición y análisis de datos.

La sección Cómo... de la ayuda en línea también incluye listas de control para las tareas de cromatografía comunes y de técnicas específicas más complejas que ayudan a los usuarios menos habituados que desean asegurarse de que el sistema está correctamente configurado. Estas listas de control están directamente vinculadas a la información detallada de la ayuda en línea.

Familiarización con los principios

El manual *Familiarización con ChemStation* documenta los principios de funcionamiento del software y los algoritmos utilizados en las manipulaciones de los datos.

Personalización

Los usuarios avanzados que desean personalizar el funcionamiento de ChemStation o que desean incorporar funciones adicionales, pueden hacerlo escribiendo macros.

El manual de referencia principal, *Guía de programación de macros*, disponible como ayuda en línea, contiene un amplio conjunto de ejemplos funcionales además de una descripción completa de los tipos y estructuras de datos internos.

El fichero de ayuda de comandos, al que se accede directamente desde el menú Ayuda o el cuadro de diálogo Mostrar comando de ChemStation, es la referencia funcional del programador. Contiene explicaciones sobre la sintaxis y los parámetros, con macros de ejemplo que ilustran el uso de muchos de sus comandos. Como están en línea, el usuario puede copiar los ejemplos y la sintaxis del comando directamente en sus propios ficheros fuente de macros.

Estructura de directorios de ChemStation

El siguiente ejemplo muestra la estructura de directorios de ChemStation. Comprende directorios genéricos compartidos por todos los instrumentos configurados y directorios específicos de los instrumentos. El programa de instalación del software crea un subdirectorio del directorio de ChemStation (por defecto, CHEM32) para cada instrumento configurado, con el número de instrumento. En este subdirectorio se guardan por defecto los datos, métodos y secuencias de este instrumento. Se puede añadir subdirectorios para datos, métodos y secuencias mediante Preferencias. Con ChemStation Explorer se puede ir hasta las ubicaciones recién añadidas para cargar datos, métodos y secuencias. Las nuevas ubicaciones también están disponibles en cada cuadro de selección de los elementos de menú de ChemStation (por ejemplo, para configurar la ruta en los parámetros de las secuencias).

Los subdirectorios de ChemStation son los siguientes:

1 Características de Agilent ChemStation

Estructura de directorios de ChemStation

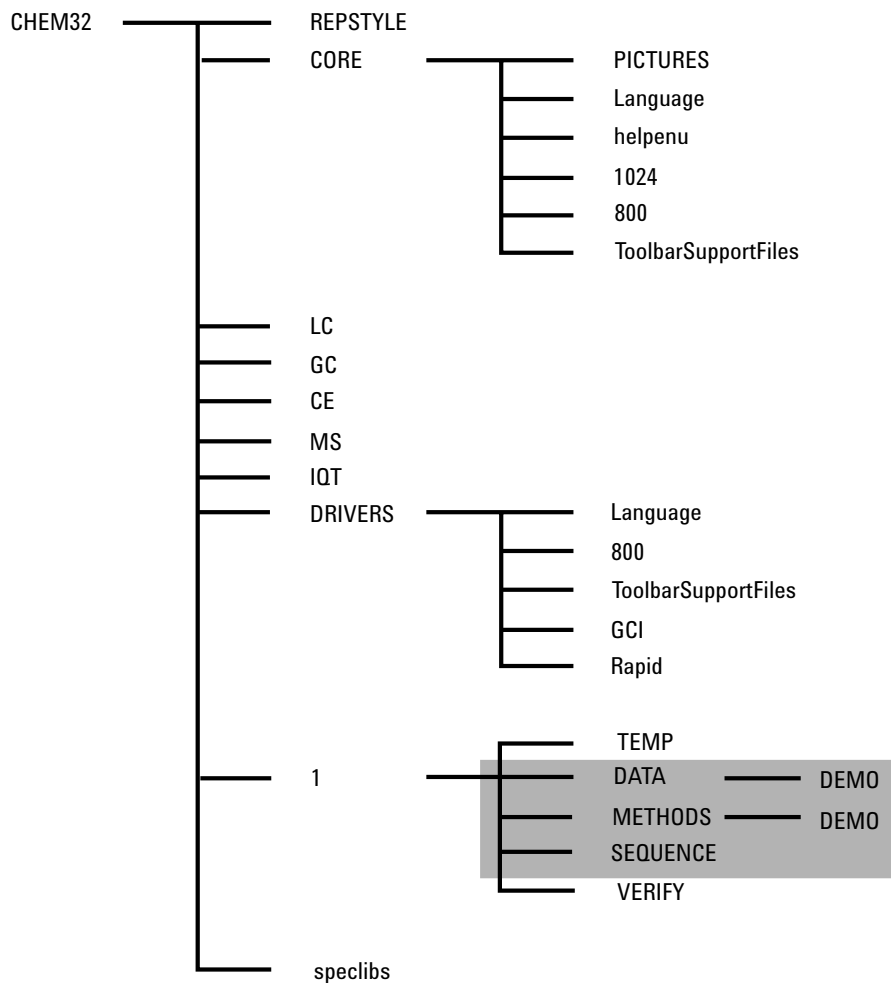


Figura 1 Estructura de directorios de ChemStation

Tabla 3 Subdirectorios de ChemStation

| Directorio | Contents |
|---------------------------------|--|
| Chem32 | El directorio comprende los programas necesarios para configurar e iniciar el software ChemStation. Debe formar parte de la variable PATH. Este directorio se añade automáticamente mediante el programa de instalación a menos que se indique una alternativa. |
| REPSTYLE | Se utiliza para plantillas de informe definidas mediante el Editor de plantillas de informe. |
| CORE | Se usa para los componentes principales del software que comparten todas las configuraciones de instrumentos cromatográficos o electroferográficos. Es el directorio de trabajo de ChemStation. |
| PICTURES | Comprende gráficos necesarios para ChemStation. |
| Language | Se utiliza para el código específico de idioma de este componente del software. |
| 1024, 800, ToolbarSupport Files | Comprenden ficheros de inicialización para la interfase gráfica de usuario. No debe modificarse. |
| helpenu | Se utiliza para la versión en inglés de EE.UU. de los ficheros de ayuda para el componente adecuado del software. |
| BACKUP | Se usa para realizar copias de seguridad de los ficheros antiguos durante la instalación. |
| DRIVERS | Comprende los controladores de los instrumentos. |
| 1 | Se usa para el instrumento configurado (de 1 a 4). Este subdirectorio comprende cinco subdirectorios adicionales: DATA, METHODS, SEQUENCE, VERIFY y TEMP. |
| DATA | Comprende los directorios de resultados predeterminados de los análisis. Puede incluir más subdirectorios si se estructura el disco con ellos mientras se trabaja, definiéndolos a través de los cuadros de diálogo Información de muestra o Parámetros de secuencia. Los directorios de resultados vienen identificados por un nombre con extensión .D. Para obtener más información sobre la estructura de los ficheros de datos, consulte “Adquisición de datos” en la página 61. Se pueden añadir rutas de datos adicionales a través de Preferencias. |

Tabla 3 Subdirectorios de ChemStation

| Directorio | Contents |
|----------------|--|
| METHODS | Comprende los directorios de métodos maestros predeterminados con extensión .M. Si desea obtener más información sobre el contenido, consulte “Estructura de los directorios de métodos” en la página 52. Se pueden añadir rutas de métodos adicionales a través de Preferencias. |
| SEQUENCE | Comprende la ruta predeterminada para las plantillas de secuencia. Las plantillas de secuencia de estos directorios tienen una extensión .S. Se pueden añadir rutas de secuencia adicionales a través de Preferencias, consulte “Preferencias: ficha Secuencia” en la página 173 y “Parámetros de secuencia” en la página 175. |
| VERIFY | Comprende ficheros de datos, métodos y los resultados del proceso de datos almacenado en ficheros (.REG) de registro. Estos ficheros ejecutan el procedimiento de verificación de ChemStation descrito en la ayuda en línea. Para cada test de verificación se utiliza un grupo de ficheros de datos, métodos y registro. |
| TEMP | El subdirectorio TEMP comprende ficheros de trabajo temporales y los ficheros del libro de registro. Por ejemplo, para Instrumento 1, el libro de registro en línea se llama INSTR1.LOG y el libro de registro fuera de línea se llama INSTR1-2.LOG. |
| LC, GC, CE, MS | Código específico de controlador de instrumentos como ficheros INI. |
| IQT | Comprende los ficheros necesarios para la creación de informes IQT. |
| speclibs | Comprende librerías espectrales. |

Panel de navegación

El panel de navegación, que se encuentra en el lado izquierdo de todas las ventanas de ChemStation, está diseñado para agilizar el acceso a los principales elementos de ChemStation y también permite cambiar rápidamente de una ventana a otra. El panel de navegación contiene ChemStation Explorer, con estructura de árbol, y un área de botones configurables. También dispone de una función de ocultación automática para no comprometer el espacio de trabajo de ChemStation y funciones estándar como cambiar el tamaño y reorganizar el área de los botones de navegación.

Botones de navegación

Los botones de navegación permiten cambiar la ventana de ChemStation haciendo clic en el botón de navegación específico. La sección botón de navegación se puede minimizar, expandir y reorganizar.

ChemStation Explorer

El contenido del panel de navegación depende de la ventana. En las ventanas Método y Control de análisis, Análisis de datos y Diseño del informe, ChemStation Explorer permite navegar a los diferentes elementos de ChemStation. Por defecto, estos elementos de datos, métodos y secuencias se basan en las opciones del editor de configuración. Las ubicaciones de estos elementos se pueden expandir y se pueden especificar nuevos nodos para métodos, secuencias y ubicación de datos mediante la opción "Preferencias" del menú.

Tabla 4 Elementos del panel de navegación

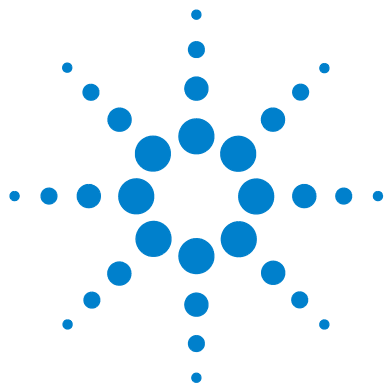
| Botones de navegación | Elementos de ChemStation Explorer |
|------------------------------|--|
| Método y Control de análisis | Plantillas de secuencias, Métodos maestros |
| Análisis de datos | Datos, Métodos maestros |
| Diseño del informe | Métodos maestros |

1 Características de Agilent ChemStation

Panel de navegación

Tabla 4 Elementos del panel de navegación

| Botones de navegación | Elementos de ChemStation Explorer |
|---------------------------|---|
| Verificación (LC y LC/MS) | Accesos directos específicos de la ventana Verificación |
| Diagnosís (LC y LC/MS) | Accesos directos específicos de la ventana Diagnosís |
| Sintonización (LC/MS) | Accesos directos específicos de la ventana Tune |



2 Métodos

| | |
|--|----|
| Definición de método | 42 |
| Partes de un método | 43 |
| Información del método | 43 |
| Control de instrumento | 43 |
| Análisis de datos | 43 |
| Lista de control del análisis | 45 |
| Estado de los métodos | 46 |
| Métodos almacenados | 46 |
| Método actual | 47 |
| Creación de métodos | 49 |
| Edición de métodos | 50 |
| Partes editables del método | 50 |
| Estructura de los directorios de métodos | 52 |
| ¿Qué sucede cuando se ejecuta un método? | 53 |
| Operación del método | 53 |
| Macro o comando de ejecución previa(Lista de control del análisis) | 54 |
| Adquisición de datos(Lista de control del análisis) | 54 |
| Análisis de datos(Lista de control del análisis) | 55 |
| Análisis personalizado de datos(Lista de control del análisis) | 56 |
| Salvar datos GLP(Lista de control del análisis) | 56 |
| Macro o comando post-análisis(Lista de control del análisis) | 57 |
| Guardar una copia del método con los datos(Lista de control del análisis) | 57 |
| Guardar una copia del método como DA.M con los datos (Chemstation por defecto) | 57 |
| Resumen de la operación del método | 58 |

En este capítulo se describe el concepto de métodos y su funcionamiento.



Definición de método

Un método comprende todos los parámetros para la adquisición y el análisis de datos, además de tareas previas y posteriores al análisis, para una muestra determinada, si son necesarios.

Los ficheros de métodos disponibles (*.m) se pueden ver en ChemStation Explorer. Para que la navegación sea rápida y sencilla, puede añadir ubicaciones adicionales para métodos al árbol de selección de ChemStation Explorer utilizando la ficha **Paths** del cuadro de diálogo **Preferences**.

Partes de un método

Los métodos se identifican mediante un nombre de hasta cuarenta caracteres alfanuméricos. El nombre del archivo siempre tiene la extensión .M que lo identifica como método. Los métodos se guardan como directorios que contienen ficheros individuales relacionados con los componentes del método.

Cada método está compuesto por cuatro componentes:

- información del método,
- control instrumental,
- análisis de datos, y
- lista de control del análisis.

Información del método

Esta sección se utiliza para definir información descriptiva acerca del método.

Control de instrumento

Define los parámetros que controlan el instrumento o sus componentes. Con un instrumento LC, los parámetros (composición de la fase móvil, velocidad de flujo, volumen de inyección, longitud de onda del detector, etc.) controlan la bomba, el inyector y el detector. Con un instrumento GC, los parámetros (temperatura del inyector, presión del inyector, ajuste del flujo de la columna empacutada, etc.) controlan el instrumento.

Análisis de datos

Define los parámetros que controlan el procesamiento de los datos.

Detalles de la señal

Define las señales y sus propiedades usadas para evaluación de datos.

Eventos de integración

Define los eventos programados que tendrán lugar en momentos de retención o migración específicos en un cromatograma o electroferograma. Estos eventos programados se pueden usar para cambiar la manera en que se integra una señal.

Identificación de picos

Define los parámetros del proceso de datos asociados a la identificación de picos en el cromatograma o electroferograma.

Cuantificación de picos

Define los parámetros de proceso de datos que afectan a los cálculos de cuantificación que determinan la cantidad o concentración del componente de la muestra correspondiente a cada pico.

Calibración y Recalibración

Define los parámetros de proceso de datos que afectan a la calibración y la frecuencia con que ésta se realiza.

Campos personalizados

Define las propiedades de campos personalizados relacionados de muestra o compuestos disponibles para el método. Estos campos permiten añadir información personalizada a una muestra o compuesto en una muestra.

Informe

Define el formato del informe que se imprime después de un análisis.

Lista de control del análisis

Define qué partes de un método se ejecutan.

La lista de control del análisis se usa para:

- adquirir, guardar y procesar datos para crear un informe,
- ejecutar sólo una parte del método,
- adquirir y guardar datos sin analizarlos,
- volver a analizar los ficheros de datos existentes,
- utilizar sus propias macros para análisis de datos, procesamiento previo y posterior al análisis, y
- guardar el resultado del análisis en un registro con fines de buenas prácticas de laboratorio.

Estado de los métodos

Un método puede tener dos estados: método almacenado o método cargado actual.

Métodos almacenados

Son métodos almacenados en el disco del ordenador. Los métodos almacenados tienen un nombre compuesto por hasta cuarenta caracteres alfanuméricos seguidos de la extensión .M. Los métodos se guardan en tres ubicaciones posibles de ChemStation:

- El método maestro se guarda en un subdirectorio de métodos, disponible en el nodo Métodos de ChemStation Explorer, y no está directamente asociado a ningún contenedor de datos.
- Cuando se ejecuta una secuencia (mediante la opción **“Unique Folder Creation ON”** (consulte **“Preferencias: ficha Secuencia”** en la página 173), se almacenan las copias de todos los métodos maestros utilizados en el contenedor de datos de secuencia junto con los ficheros de datos de secuencia. Estos métodos están directamente vinculados a la secuencia y también se usan cuando se reprocesa la secuencia. Los cambios realizados en estos métodos no se propagan a los métodos maestros. Los cambios se propagan al método del contenedor de secuencias, así como a los métodos individuales (DA.M) cuando se reprocesa la secuencia. Si, a continuación, desea utilizar el método del contenedor de secuencias actualizado para la adquisición de datos, debe realizar lo siguiente
 - copiar este método del contenedor de datos de secuencias a una de las rutas de métodos definidas, o bien
 - utilizar la opción “Guardar como” para guardar el método actualizado como método maestro.

El método nuevo o actualizado estará disponible en ChemStation Explorer, en la ventana de métodos, como método maestro.

- Además, con los ficheros de datos se guardan dos copias del método utilizado para analizar una muestra: los métodos individuales de ficheros de datos ACQ.M y DA.M ACQ.M son el método de adquisición, DA.M es el método

do de análisis de datos. DA.M es el método que se carga con los ficheros de datos si está seleccionada la casilla de verificación “Cargar método DA de fichero de datos” en la ficha Opciones de señal del cuadro de diálogo Preferencias. Los cambios de este método (por ejemplo, eventos de integraciones programados) son específicos del fichero de datos asociado y no se propagan al método de secuencias ni al método maestro.

La tabla de navegación proporciona una posibilidad de actualización para métodos individuales y métodos de secuencia a su secuencia o método maestro correspondiente haciendo clic en el botón derecho del ratón en el elemento de línea del método. Al ejecutar la actualización del método maestro o la actualización de la secuencia, se copian los parámetros del análisis de datos del método seleccionado al método maestro o de secuencia correspondiente. La actualización automática se reflejará en el historial del método objetivo.

Tabla 5 Disponibilidad de la actualización ... Función del método en la tabla de navegación y en el menú de método

| Método cargado | Opción de actualización disponible |
|---|--------------------------------------|
| Método de análisis de datos individual (DA.M) | Actualización de método maestro |
| | Actualización de método de secuencia |
| Método de secuencia | Actualización de método maestro |
| Método maestro | ---- |

Método actual

Cuando se vuelve a llamar a un método almacenado en el disco, se convierte en el método actual. Siempre hay un método actual en la memoria. Cuando se inicia ChemStation por primera vez, el método por defecto proporcionado por Agilent Technologies siempre se carga como parte del proceso de arranque. Por ejemplo, podría ser uno de los siguientes:

- DEF_LC.M para un instrumento LC
- DEF_GC.M para un instrumento GC
- DEF_CE.M para un instrumento CE

2 Métodos

Estado de los métodos

Se coloca en la memoria una copia del método por defecto que se convierte en el método actual. En cualquier momento se puede cargar un método diferente que se convierte en el método actual.

Creación de métodos

Crear un método nuevo siempre significa modificar el método actual y guardar las modificaciones con un nombre nuevo. Tenga en cuenta que cuando se modifica el método actual, la versión del disco permanece sin cambios hasta que estos se guardan.

Hay varias maneras de crear un método. Se puede crear un método para realizar una o todas las partes de un análisis. Por ejemplo, puede crear un método para realizar sólo la adquisición de datos. Cuando esté listo para analizar los datos y generar un informe de búsqueda de librerías, puede modificar el método de ejecución de estas tareas de proceso de datos.

NOTA

Cuando cargue un método para analizar una muestra, utilice siempre un método maestro de un nodo de métodos de ChemStation Explorer. Evite utilizar métodos de secuencias (de un contenedor de datos de secuencias) o métodos individuales asociados a ficheros de datos (ACQ.M o DA.M).

NOTA

No elimine el método predeterminado (DEF_LC.M, DEF_CE.M o DEF_GC.M). Estos ficheros de métodos se utilizan como plantillas para crear nuevos métodos.

Edición de métodos

Para editar un método se puede usar la opción Editar el método entero del menú Método. Se le guiará por todos los cuadros de diálogo del método y, al final, podrá guardarlo. Este proceso se muestra a continuación:

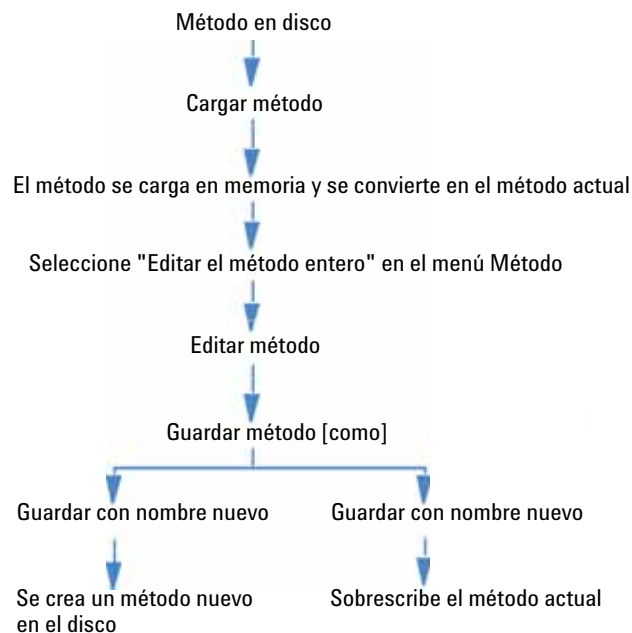


Figura 2 Edición de método

Partes editables del método

Cada método está compuesto por cuatro componentes que se pueden editar por separado.

Algunos de los siguientes apartados hacen referencia a cuadros de diálogo y otros son descripciones generales.

- La *Información del método* contiene:

- un texto que describe el método.
- *Instrument Control* depende de la configuración y puede contener, por ejemplo:
 - parámetros del horno,
 - parámetros del inyector, y
 - parámetros del detector.
- El *Análisis de datos* contiene:
 - detalles de las señales,
 - parámetros de integración,
 - parámetros de cuantificación,
 - parámetros de calibración,
 - parámetros de configuración de campos personalizados y
 - parámetros de informes.
- La *Lista de control del análisis* contiene:
 - las partes del método que se ejecutarán.

NOTA

Recuerde que los métodos se pueden guardar en tres ubicaciones de ChemStation. Asegúrese de que está editando el método correcto.

Estructura de los directorios de métodos

Un método está compuesto por un grupo de ficheros almacenados en el directorio de métodos.

El subdirectorio de métodos contiene todos aquellos que tienen una extensión .M. Se pueden añadir subdirectorios de métodos adicionales con la configuración de preferencias.

Los ficheros de método con la extensión .MTH contienen conjuntos de parámetros y tienen el formato UNICODE. El fichero INFO.MTH contiene los parámetros de control de métodos.

Los ficheros de métodos que contienen parámetros del instrumento tienen el nombre del módulo analítico correspondiente. Por ejemplo:

Tabla 6 Ejemplos de ficheros de métodos

| | |
|--------------|--|
| LC1090.MTH | Contiene el método de adquisición 1090. |
| GC5890.MTH | Contiene el método de adquisición 5890. |
| HPCE1.MTH | Contiene el método de adquisición para electroforesis capilar. |
| DAD1.MTH | Contiene el método de adquisición para el sistema HP 1090. |
| FLD1.MTH | Contiene el método de adquisición del detector de fluorescencia HP1046 |
| ECD1.MTH | Contiene el método de adquisición del detector electroquímico HP1049 |
| ADC1.MTH | Contiene el método de adquisición de Agilent 35900. Si se configuran dos instrumentos idénticos, los ficheros de método se denominan ADC1.MTH, ADC2.MTH. |
| DAMETHOD.REG | Para evaluación de datos. |
| LALS1.REG | Contiene los parámetros del inyector automático Agilent Serie 1100/1200. Los ficheros de método de los demás módulos Agilent Serie 1100/1200 siguen la misma convención lxxx1.reg donde xxx es el acrónimo del módulo. |

¿Qué sucede cuando se ejecuta un método?

El cuadro de diálogo Lista de control del análisis especifica las partes del método que se van a ejecutar al iniciar un análisis.

En Lista de control del análisis hay ocho partes:

- macro o comando de ejecución previa,
- adquisición de datos,
- análisis de datos estándar,
- método de análisis para una segunda señal (sólo GC),
- análisis de datos personalizado,
- guardar los datos GLP,
- macro o comando post-análisis, y
- guardar una copia del método con los datos (RUN.M).

Cuando se realiza un análisis, se ejecutan las partes del método especificadas en el cuadro de diálogo Lista de control del análisis.

Operación del método

La figura muestra una visión general del estado de ChemStation durante la operación del método, donde se han seleccionado *todas* las partes de la Lista de control del análisis.

NOTA

Tenga en cuenta que en el caso del modo "Desactivar creación de carpeta única" no se generan ACQ.M y DA.M. Para obtener más información, consulte ["Preferencias: ficha Secuencia"](#) en la página 173.

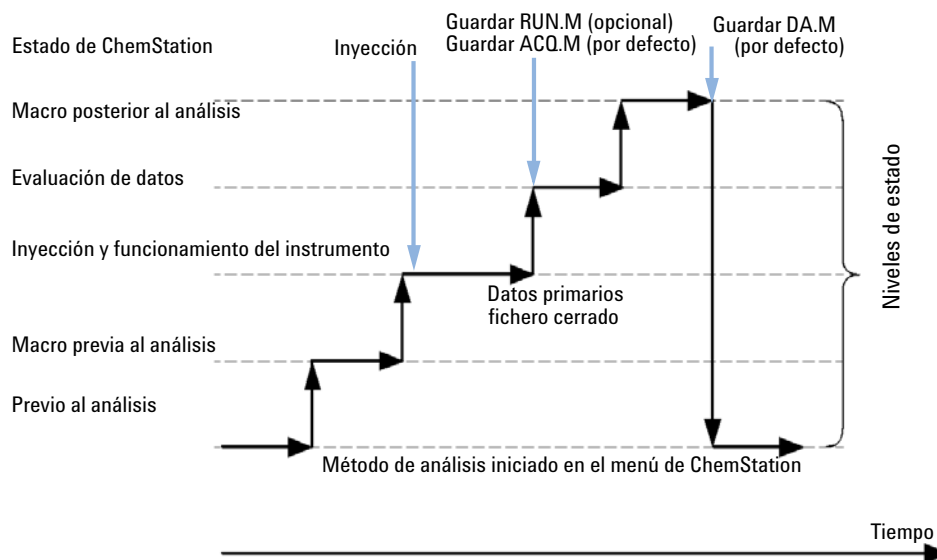


Figura 3 Operación del método

Macro o comando de ejecución previa(Lista de control del análisis)

Si se especifica una macro o un comando de ejecución previa, se ejecuta antes de iniciar el análisis. Este componente se utiliza normalmente para personalizar el sistema con otros paquetes de software.

Adquisición de datos(Lista de control del análisis)

- Todos los parámetros se configuran con las condiciones iniciales establecidas en el método actual.
- Si está especificado, se ejecuta el programa de inyección y se realiza la inyección desde el vial actualmente definido.
- La pantalla muestra el progreso del análisis, incluyendo información cromatográfica o electroferográfica, y datos espectrales, si los hubiera.
- Los datos se adquieren y se guardan en un fichero de datos.

- Cuando se termina la adquisición de datos, se guarda como ACQ.M una copia del método ejecutado para el fichero de datos de forma predeterminada.

Análisis de datos(Lista de control del análisis)

Cuando se alcanza el momento de parar, el análisis termina y todos los datos primarios se guardan en el disco duro del ordenador. El componente de análisis de datos del software comienza cuando se han guardado todos los datos primarios.

Integración

- Los objetos del cromatograma o electroferograma de la señal se integran según se indica en el cuadro de diálogo Eventos de integración.
- Se determinan el inicio y el máximo del pico, el tiempo de retención o migración y el final del pico.
- Se definen líneas base debajo de cada pico para determinar la altura y el área final del pico.
- Los resultados de integración se incluyen en la lista Resultados de integración.

Identificación y cuantificación de los picos

- Utilizando los tiempos de retención o migración y los cualificadores opcionales de picos, el software identifica los picos mediante referencias cruzadas con compuestos conocidos, definidos en la tabla de calibración.
- Mediante la altura o el área de los picos, el software calcula la cantidad de cada componente detectado usando los parámetros de calibración especificados en la tabla de calibración.

Búsqueda de librerías espectrales (ChemStations sólo para sistemas LC 3D, CE, CE/MS y LC/MS)

Para todos los picos que tengan un espectro UV visible, se puede realizar una búsqueda automatizada de una librería espectral predefinida para identificar los componentes de la muestra en función del espectro UV visible. Para obtener más detalles, consulte *Familiarización con el módulo espectral*.

Comprobación de la pureza del pico (ChemStations sólo para sistemas LC 3D, CE, CE/MS y LC/MS)

Para un pico con espectro UV visible, se puede calcular el factor de pureza de dicho pico y guardarlo en un registro. La pureza del pico se puede determinar automáticamente al final de cada análisis como parte del método, si la casilla Control de pureza está seleccionada cuando se especifica una búsqueda de librerías automatizada o al seleccionar un estilo de informe. Para obtener más detalles, consulte *Familiarización con el módulo espectral*.

Imprimir informe

Se genera un informe con la identidad y cantidad de los componentes detectados en el análisis.

Análisis personalizado de datos(Lista de control del análisis)

Le permiten ejecutar sus propias macros para evaluar los datos analíticos.

Salvar datos GLP(Lista de control del análisis)

Guarda el registro binario GLPSave.Reg junto con el método de análisis de datos en el subdirectorio por defecto de los ficheros de datos. Esta característica está diseñada para ayudar a comprobar la originalidad de los datos y la calidad de los análisis individuales.

El fichero binario GLPSave.Reg es un fichero de registro no editable y protegido que contiene la siguiente información:

- puntos de referencia de instrumentos clave (se puede revisar gráficamente),
- señales cromatográficas o electroferográficas,
- resultados de integración
- resultados de cuantificación,
- método de análisis de datos, y
- libro de registro.

Estos datos se guardan sólo si la función Save GLP Data está activada; para activarla, seleccione la casilla de verificación en Lista de control del análisis. Los datos GLP se pueden revisar, pero no editar, en el menú Análisis de datos de ChemStation.

Macro o comando post-análisis(Lista de control del análisis)

Si se especifica un comando o macro post-análisis, se ejecuta después de la evaluación de los datos, por ejemplo, al copiar los datos a un disco para una copia de seguridad.

Guardar una copia del método con los datos(Lista de control del análisis)

Se realiza después de la adquisición de los datos y sólo si la opción Adquisición de datos está seleccionada en Lista de control del análisis. Copia el método *actual* al directorio de datos, denominado RUN.M

Guardar una copia del método como DA.M con los datos (Chemstation por defecto)

Según los elementos marcados en la Lista de control del análisis, se guarda como DA.M una copia del método *actual* ejecutado junto con el fichero de datos. Esto se realiza con el análisis del último elemento marcado en la Lista de control del análisis, normalmente después del Análisis de datos estándar.

Resumen de la operación del método

La siguiente lista muestra el flujo del funcionamiento del método cuando se seleccionan todas las partes en Lista de control del análisis.

1 *Macro del comando previo del análisis*

Realiza una tarea antes de comenzar el análisis.

2 *Adquisición de datos*

Se lleva a cabo el programa del inyector.

Injecta la muestra.

Se adquieren los datos primarios.

Se guardan los datos.

3 *Se guarda una copia del método con los datos (RUN.M) - opcional por la Lista de control del análisis*

4 *Se guarda una copia del método con los datos (ACQ.M) - ChemStation por defecto*

5 *Análisis de datos (Proceso de datos)*

Se carga el fichero de datos.

Se integra el fichero de datos.

Se identifica y cuantifica el pico.

Se busca en la librería espectral, si estuviera disponible.

Se comprueba la pureza del pico, si estuviera disponible.

Se imprime el informe.

6 *Análisis personalizado de datos*

Se ejecutan las macros.

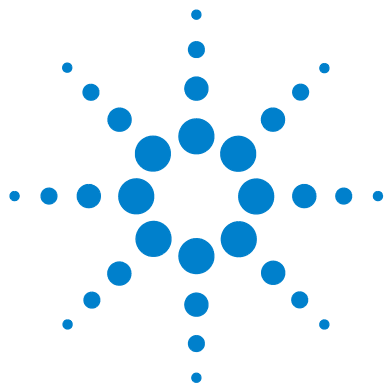
7 *Salvar datos GLP*

Se guarda el registro binario GLPSave.Reg

8 *Macro post-análisis*

Realiza una tarea después de terminar el análisis, por ejemplo, genera un informe personalizado.

- 9 *Se guarda una copia del método con los datos (DA.M) - ChemStation por defecto*



3

Adquisición de datos

Definición de la adquisición de datos 62

Ficheros de datos 63

Monitores en línea 65

Monitor de señales en línea 65

Monitor de espectros en línea 65

Libro de registro 66

Información del estado 67

Estado de ChemStation 67

Barra de estado 67

Diagrama del sistema 68

En este capítulo se describen los conceptos de adquisición de datos, ficheros de datos y libro de registro, entre otros.



Definición de la adquisición de datos

Durante la adquisición de datos, todas las señales adquiridas por el instrumento se convierten de señales analógicas a señales digitales en el detector. La señal digital se transmite a ChemStation electrónicamente y se guarda en el fichero de datos de la señal.

Los ficheros de datos disponibles (*.d) se pueden ver en ChemStation Explorer. Para que la navegación sea rápida y sencilla, puede añadir ubicaciones adicionales para ficheros de datos al árbol de selección de ChemStation Explorer utilizando la ficha Rutas del cuadro de diálogo Preferencias.

Ficheros de datos

Un fichero de datos comprende un grupo de ficheros guardados por defecto en el directorio DATA como un subdirectorio, con un nombre de fichero de datos y una extensión .D. Se puede definir manualmente un nombre de fichero de datos utilizando 40 caracteres incluida la extensión. Cada fichero del directorio sigue una convención de nombres. Se pueden añadir directorios de datos adicionales con las opciones de Preferencias.

Tabla 7 Ficheros de datos

| Nombre | Description |
|---------------------------|---|
| *.CH | Ficheros de datos de señales cromatográficas o electroferográficas. Un nombre de fichero está compuesto por el tipo de módulo o detector, el número de módulo y la identificación de la señal o del canal. Por ejemplo, ADC1A.CH, donde ADC es el tipo de módulo, 1 es el número de módulo, A es el identificador de la señal y .CH es la extensión cromatográfica. |
| *.UV | Ficheros de datos espectrales UV. El nombre del fichero está compuesto por el tipo de detector y el número de dispositivo (sólo con detectores de diodo-array y de fluorescencia). |
| REPORT.TXT, REPORT.PDF | Ficheros de datos de informes para los ficheros de datos de señal equivalentes. |
| SAMPLE.MAC | Macro de información de muestra. |
| SAMPLE.MAC.BAC | Copia de seguridad de la macro de información de muestra original. Este fichero se crea cuando se actualizan los parámetros de muestra originales (como multiplicadores) durante el reprocesamiento. |
| RUN.LOG | Entradas del libro de registro generadas durante un análisis. El libro de registro guarda un registro de los análisis. Todos los mensajes de error y los cambios de estado importantes de ChemStation se introducen en el libro de registro. |
| LCDIAG.REG | Sólo para LC. Contiene las curvas de los instrumentos (gradientes, temperatura, presión, etc.), el volumen de la inyección y la descripción de los solventes. |
| ACQRES.REG | Contiene información sobre las columnas. Para GC, también contiene el volumen de la inyección. |

Tabla 7 Ficheros de datos

| Nombre | Description |
|-------------|--|
| GLPSAVE.REG | Parte del fichero de datos cuando se especifica Save GLP Data. |
| M_INTEV.REG | Contiene eventos de integración manuales. |

El método se puede guardar con los ficheros de resultados (run.m). En estos casos, el directorio del método se guarda como un subdirectorío del directorío de ficheros de datos, mediante la opción “Guardar método con datos” de Lista de control del análisis.

Para los datos adquiridos con ChemStation B.02.01 y posteriores, cada carpeta de datos (*.D) contiene las dos carpetas de métodos siguientes

- método de adquisición (ACQ.M) para cada fichero de datos individual
- método de análisis de datos (DA.M) para cada fichero de datos individual

El método de adquisición individual ACQ.M está destinado a preservar los parámetros de adquisición, por lo que se recomienda no cambiar este método durante las tareas posteriores de revisión de datos. DA.M es el método de análisis de datos individual para el fichero de datos específico. Por ejemplo, en el caso de las actualizaciones de las tablas de calibración, los métodos DA.M difieren en cada ejecución. Con ChemStation B.03.01 o una versión posterior, este comportamiento puede desactivarse mediante la deshabilitación de la opción Creación de carpeta única.

Monitores en línea

Existen dos tipos de monitores en línea: el monitor de señales en línea y el monitor de espectros en línea.

Monitor de señales en línea

El monitor de señales en línea permite monitorizar varias señales y, si el instrumento asociado lo permite, los gráficos del rendimiento del instrumento en la misma ventana. Puede seleccionar las señales que desea ver y ajustar el tiempo y el eje de absorbancia. Para los detectores que dispongan de esta función, hay un botón de balance.

Para mostrar la respuesta absoluta de la señal en la línea de mensaje, mueva el cursor en forma de cruz de la pantalla.

Monitor de espectros en línea

El monitor de espectros en línea sólo está disponible para las ChemStations que admiten la evaluación de espectros. Muestra la absorbancia como una función de la longitud de onda. Puede ajustar el rango de las longitudes de onda mostradas y la escala de absorbancia.

Libro de registro

El libro de registro muestra los mensajes que genera el sistema analítico. Estos mensajes pueden ser de error, del sistema o de eventos de un módulo. El libro de registro registra estos eventos aunque no se hayan mostrado. Para obtener más información acerca de un evento del libro de registro, haga doble clic en la línea correspondiente para mostrar un texto de ayuda descriptivo.

Información del estado

Estado de ChemStation

La ventana ChemStation Status muestra un resumen del estado del software ChemStation.

Cuando se ejecuta un solo análisis:

- la primera línea de la ventana ChemStation Status muestra el análisis en curso,
- la segunda línea de la ventana muestra el estado del método actual, y
- la tercera línea muestra el nombre del fichero de datos primarios además del tiempo de análisis en minutos (para los instrumentos GC, también se muestran los ficheros de los inyectores delantero y posterior).

La ventana Instrument Status ofrece información sobre el estado de los módulos instrumentales y detectores. Muestra el estado de cada componente y las condiciones actuales cuando corresponda, por ejemplo, presión, gradiente y flujo.

Barra de estado

La ventana Método y Control de análisis de la interfase gráfica del usuario del sistema ChemStation está compuesta por barras de herramientas y barras de estado. La barra de estado contiene un campo de estado del sistema e información sobre el método y la secuencia actualmente cargados. Si se modificaron después de cargarlos, aparecen marcados con una rueda dentada amarilla. Para el módulo Agilent Serie 1100/1200 para LC, el símbolo EMF amarillo recuerda al usuario que se han excedido los límites de utilización establecidos para consumibles (por ejemplo, la lámpara).

Diagrama del sistema

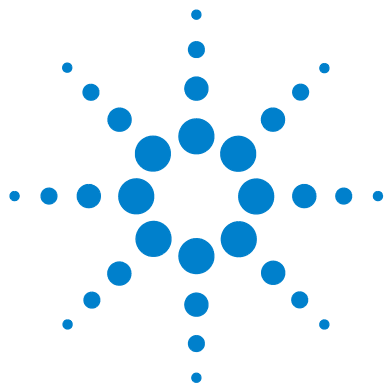
Si los instrumentos analíticos configurados lo admiten (por ejemplo, los módulos Agilent Serie 1100/1200 para LC o el GC Agilent Serie 6890), puede mostrar un diagrama gráfico del sistema ChemStation que le permite comprobar rápidamente el estado del sistema de un vistazo. Seleccione Diagrama del sistema en el menú Ver de la ventana Método y Control de análisis para activar el diagrama. Se trata de una representación gráfica del sistema ChemStation donde cada componente está representado por un icono. Se muestra el estado actual utilizando el código de color descrito a continuación.

Tabla 8 Código de color del diagrama del sistema

| Color | Status |
|----------|------------------------|
| gris | inactivo o desactivado |
| amarillo | no preparado |
| verde | listo |
| azul | en ejecución |
| rojo | error |

Además, puede mostrar la lista de los valores de los parámetros. Además de la presentación del estado, el diagrama permite tener acceso rápido a los cuadros de diálogo para configurar los parámetros de cada componente del sistema.

Consulte la parte relativa a instrumentos del sistema de ayuda en línea para obtener más información acerca del diagrama del sistema.



4 Integración

| | |
|--|----|
| Definición de la integración | 71 |
| Función de la integración | 72 |
| Algoritmos de integración de ChemStation | 73 |
| Capacidades del integrador | 73 |
| Introducción | 75 |
| Definición de la línea base inicial | 76 |
| Seguimiento de la línea base | 76 |
| Asignación de la línea base | 77 |
| Identificación de los puntos cardinales de un pico | 78 |
| Definición de términos | 80 |
| Puntos cardinales | 80 |
| Pico de disolvente | 80 |
| Hombro (frontal, trasero) | 81 |
| Pendiente | 81 |
| Principio de funcionamiento | 82 |
| Reconocimiento de picos | 83 |
| Anchura de pico | 83 |
| Filtros de reconocimiento de picos | 84 |
| Agrupamiento | 86 |
| El algoritmo de reconocimiento de picos | 87 |
| Cálculos no gaussianos | 90 |
| Asignación de la línea base | 93 |
| Construcción de la línea base por defecto | 93 |
| Inicio de la línea base | 94 |
| Marcas de señalización | 94 |
| Final de la línea base | 94 |
| Penetración de la línea base | 95 |



4 Integración

Información del estado

| | |
|-----------------------------------|-----|
| Relación pico/valle | 96 |
| División tangencial | 98 |
| Picos no asignados | 103 |
| Códigos de separación de picos | 104 |
| Medida del área de pico | 106 |
| Determinación del área | 106 |
| Unidades y factores de conversión | 108 |
| Eventos de integración | 109 |
| Eventos iniciales | 109 |
| Eventos programados | 113 |
| Integración automática | 113 |
| Integración manual | 115 |

En este capítulo se describen los conceptos de integración de los algoritmos de integración de ChemStation. Describe el algoritmo de integración, la integración y la integración manual.

Definición de la integración

La integración busca los picos en una señal y calcula su tamaño.

La integración es un paso necesario para:

- cuantificación,
- cálculo de la pureza del pico (ChemStations sólo para sistemas LC 3D, CE, CE/MS y LC/MS), y
- búsqueda de librerías espectrales (ChemStations sólo para sistemas LC 3D, CE, CE/MS y LC/MS).

Función de la integración

Cuando se integra una señal, el software:

- identifica un momento de inicio y final para cada pico y marca estos puntos con marcas de señalización verticales,
- encuentra el máximo de cada pico, es decir, el tiempo de retención o migración,
- construye una línea base, y
- calcula el área, la altura y la anchura de cada pico.

Este proceso se controla por medio de parámetros denominados eventos de integración.

Algoritmos de integración de ChemStation

El algoritmo de integración de ChemStation es la segunda revisión de una nueva generación que pretende mejorar la resistencia, fiabilidad y facilidad de uso.

Capacidades del integrador

Los algoritmos del integrador incluyen las siguientes capacidades clave:

- posibilidad de integración automática para configurar los parámetros iniciales del integrador,
- la capacidad de definir tablas individuales de eventos de integración para cada señal cromatográfica o electroferográfica si se usan varias señales o más de un detector,
- definición interactiva de eventos de integración que permite a los usuarios seleccionar gráficamente los tiempos de los eventos,
- integración gráfica manual o elástica de cromatogramas o electroferogramas que requieren la interpretación humana (estos eventos también se pueden registrar en el método y usarse como parte de la operación automatizada),
- presentación e impresión de los resultados de integración,
- capacidad de integración de al menos 1000 puntos por cromatograma o electroferograma,
- definiciones de parámetros del integrador para fijar o modificar los valores básicos de rechazo por área, rechazo por altura, anchura de pico y sensibilidad de pendiente,
- parámetros de control de línea base, como forzar línea base, mantener línea base, línea base en todos los valles, línea base en el siguiente valle, ajustar línea base hacia atrás, desde el final al pico actual,
- control de suma del área,
- reconocimiento de picos negativos,

- procesamiento de división tangencial, incluidos comandos de definición de picos de disolvente, y
- capacidad de definición de tablas de eventos individuales para cálculos de división tangencial frontal/de cola para toda la señal cromatográfica o electroferográfica,
- parámetros de corrección de la línea base (independientes de la señal),
- comandos de control del integrador que definen los rangos de tiempos de retención o migración para la operación de integración,
- la asignación de hombros de pico mediante el uso de la segunda derivada o cálculo del grado de curvatura,
- muestreo mejorado de puntos de datos no equidistantes para un mejor comportamiento con ficheros de datos LC-DAD reconstruidos a partir de espectros DAD.

Introducción

Para integrar un cromatograma o electroferograma, el integrador:

- 1 define la línea base inicial,
- 2 realiza un seguimiento de la línea base y la actualiza continuamente,
- 3 identifica el momento de inicio de un pico y señala ese punto con una marca vertical,
- 4 localiza el punto máximo de cada pico e imprime el tiempo de retención o migración correspondiente,
- 5 identifica el momento de finalización del pico y señala ese punto con una marca vertical,
- 6 construye una línea base, y
- 7 calcula el área, la altura y la anchura de pico correspondientes a cada pico.

Este proceso se controla por medio de *eventos de integración*. Los eventos más importantes son *sensibilidad de pendiente inicial*, *anchura de pico*, *rechazo por área* y *rechazo por altura*. El software permite al usuario fijar los valores iniciales de éstos y otros eventos. Los valores iniciales tienen vigencia al comienzo del cromatograma. De forma adicional, la función de integración automática proporciona un conjunto de eventos iniciales que el usuario puede optimizar posteriormente.

En la mayoría de los casos, los eventos iniciales darán buenos resultados de integración en todo el cromatograma, si bien habrá ocasiones en las que el usuario prefiera tener un mayor control sobre el progreso de la integración.

El software permite controlar el modo en que se lleva a cabo una integración mediante la programación de nuevos eventos de integración en determinados momentos del cromatograma.

Para obtener más información, consulte “[Eventos iniciales](#)” en la página 109.

Definición de la línea base inicial

Puesto que las condiciones de la línea base pueden variar en función de la aplicación y el detector, el integrador utiliza parámetros obtenidos de ficheros tanto de método como de datos para optimizar la línea base.

Para poder integrar los picos, el integrador debe establecer antes un *punto de línea base*. Al comienzo del análisis, el integrador establece un nivel de línea base inicial tomando el primer punto de datos como punto de línea base provisional. A continuación trata de redefinir ese punto de línea base inicial utilizando el promedio de la señal de entrada. Si no obtiene un punto de línea base inicial redefinido, mantiene el primer punto de datos como posible punto de línea base inicial.

Seguimiento de la línea base

El integrador muestrea los datos digitales a una velocidad determinada por la anchura de pico inicial o por la anchura de pico calculada a medida que progresa el análisis. Considera cada uno de los puntos de datos como posible punto de línea base.

El integrador determina una *zona de línea base* a partir de la pendiente de la línea base, utilizando un algoritmo de seguimiento de la línea base en el que la pendiente viene dada por la primera derivada y la curvatura por la segunda derivada. La zona de línea base se puede visualizar como un cono con la punta situada en el punto de datos actual. Los niveles superior e inferior de aceptación del cono se determinan como sigue:

- + pendiente ascendente + curvatura + desviación de la línea base debe dar un resultado inferior al nivel umbral,
- - pendiente ascendente - curvatura + desviación de la línea base debe dar un resultado más positivo (o menos negativo) que el nivel umbral.

A medida que se van aceptando nuevos puntos de datos, el cono se desplaza hacia adelante hasta que dejen de cumplirse las condiciones.

Para ser aceptado como punto de línea base, un punto de datos debe cumplir las condiciones siguientes:

- debe encontrarse dentro de la zona definida como de línea base,

- la curvatura de la línea base en el punto de datos (determinada por los filtros basados en derivadas) debe estar por debajo de un valor crítico determinado por el valor actual del parámetro de sensibilidad de la pendiente.

El punto de línea base inicial establecido al comienzo del análisis se restablece así de forma continua, a una velocidad determinada por la anchura de pico, como el promedio móvil de los puntos de datos que se encuentran dentro de la zona de línea base durante un período de tiempo determinado por la anchura de pico. El integrador realiza un seguimiento continuo de la línea base y la restablece periódicamente para compensar la deriva hasta que detecta la pendiente ascendente de un pico.

Asignación de la línea base

El integrador asigna durante el análisis la línea base cromatográfica o electroferográfica con una frecuencia determinada por el valor de anchura de pico. Cuando ha muestreado un número determinado de puntos de datos, restablece la línea base desde el punto de línea base inicial al punto de línea base actual. El integrador reanuda entonces el seguimiento de la línea base en el siguiente conjunto de puntos de datos para restablecer nuevamente la línea base. El proceso continúa hasta que el integrador identifica el inicio de un pico.

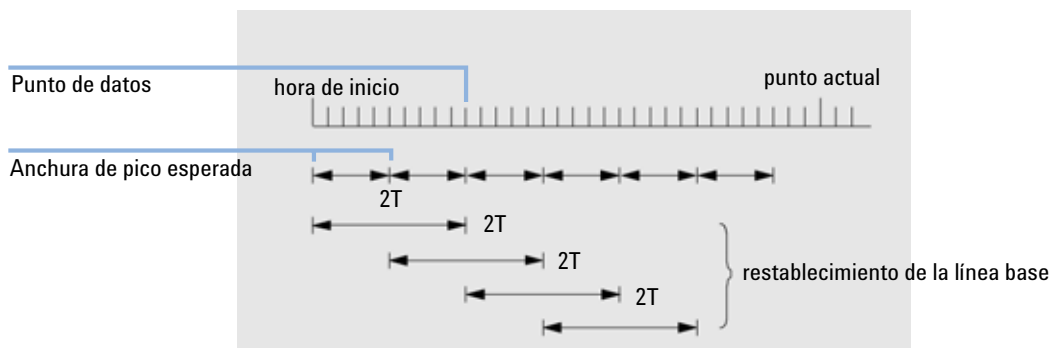


Figura 4 Línea base

Al comienzo del análisis, el valor del parámetro de línea base se utiliza como línea base inicial. Si no hay un valor fijado, se utiliza el primer punto de datos. El punto de línea base se restablece entonces periódicamente de acuerdo con la siguiente fórmula:

Se suman las áreas durante un tiempo T (anchura de pico esperada). Ese tiempo no puede ser inferior a un punto de datos. El proceso continúa mientras exista una condición de línea base. Se adquieren asimismo medidas de pendiente y curvatura. Si tanto la pendiente como la curvatura son inferiores al umbral, se combinan entre sí dos sumas de áreas y se comparan con la línea base previa. Si el nuevo valor es inferior a la línea base previa, pasa a reemplazar inmediatamente al valor antiguo. Si es superior al valor previo, se graba como nuevo valor provisional de la línea base y se confirmará si un valor más cumple los criterios de planaridad de la pendiente y la curvatura. Esta última limitación no tiene efecto cuando se permiten picos negativos. Durante la fase de línea base, es preciso realizar asimismo comprobaciones para examinar disolventes con rápida elevación de la señal; la elevación puede ser demasiado rápida para permitir la detección de una pendiente ascendente (para cuando se confirma la pendiente ascendente, el criterio de disolvente puede no ser ya válido). En el momento inicial, el primer punto de datos constituye la línea base. Ese valor se reemplaza por el promedio calculado sobre $2T$ si la señal está en base. La línea base se restablece entonces a cada intervalo T (consulte [Figura 4](#) en la página 77).

Identificación de los puntos cardinales de un pico

El integrador determina que puede estar comenzando a producirse un pico cuando los posibles puntos de línea base se encuentran fuera de la zona de línea base y la curvatura de la línea base excede un cierto valor determinado por el parámetro de sensibilidad de la pendiente del integrador. Si esta condición continúa, el integrador reconoce estar en la pendiente ascendente de un pico y éste se procesa.

Inicio

- 1 Pendiente y curvatura dentro del límite: prosigue el seguimiento de la línea base.
- 2 Pendiente y curvatura por encima del límite: posibilidad de un pico.
- 3 La pendiente permanece por encima del límite: se reconoce un pico, se define el punto cardinal correspondiente.
- 4 La curvatura se hace negativa: punto de inflexión frontal.

Máximo

- 1 La pendiente pasa por cero y se hace negativa: máximo del pico, se define el punto cardinal correspondiente.
- 2 La curvatura se hace positiva: punto de inflexión trasero.

Final

- 1 Pendiente y curvatura dentro del límite: se aproxima el final del pico.
- 2 La pendiente y la curvatura se mantienen dentro del límite: final del pico, se define el punto cardinal correspondiente.
- 3 El integrador vuelve al modo de seguimiento de la línea base.

Definición de términos

Puntos cardinales

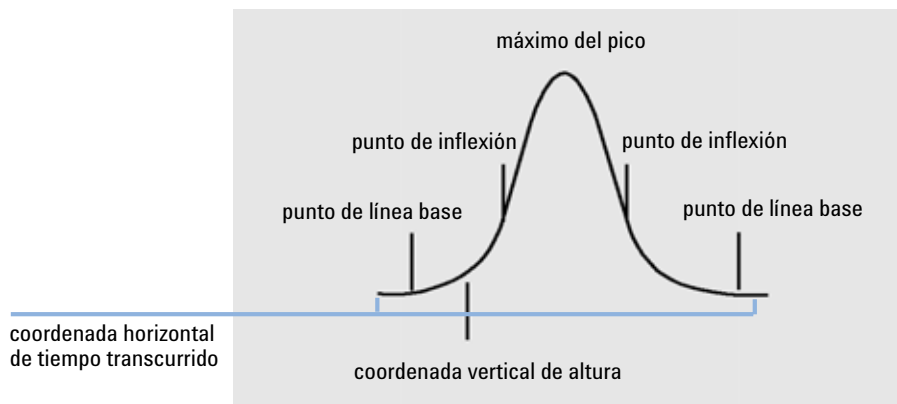


Figura 5 Puntos cardinales

Los puntos cardinales son los puntos elegidos por el integrador para definir y cuantificar un pico. Se designan como puntos cardinales y se graban los puntos de línea base, puntos de valle, máximos de pico y puntos de inflexión. A cada punto cardinal le corresponde una coordenada horizontal de tiempo transcurrido y una coordenada vertical de altura desde la línea base, además de otros parámetros tales como tipo de pico, códigos de separación, valores de inicio/final de picos potenciales y las correspondientes lecturas de altura, área y pendiente que el integrador utiliza para calcular las áreas de pico.

Pico de disolvente

El pico de disolvente, generalmente un pico de gran tamaño sin relevancia analítica, no suele integrarse. No obstante, cuando hay pequeños picos de interés analítico con elución cercana al pico de disolvente, por ejemplo en la cola del mismo, es posible establecer condiciones de integración especiales para calcular sus áreas corregidas teniendo en cuenta la contribución de la cola del pico de disolvente.

Hombro (frontal, trasero)

Se producen hombros cuando dos picos eluyen tan cerca el uno del otro que no llega a haber un valle entre ellos que permita resolverlos. Los hombros pueden aparecer en el avance del pico (hombro frontal) o en el rastro del mismo (hombro trasero). Cuando se detectan hombros, éstos pueden integrarse bien mediante división tangencial o mediante líneas de caída verticales.

Pendiente

La pendiente de un pico, que denota el cambio de concentración del componente en función del tiempo, se utiliza para determinar el inicio, el máximo y el final del pico.

Principio de funcionamiento

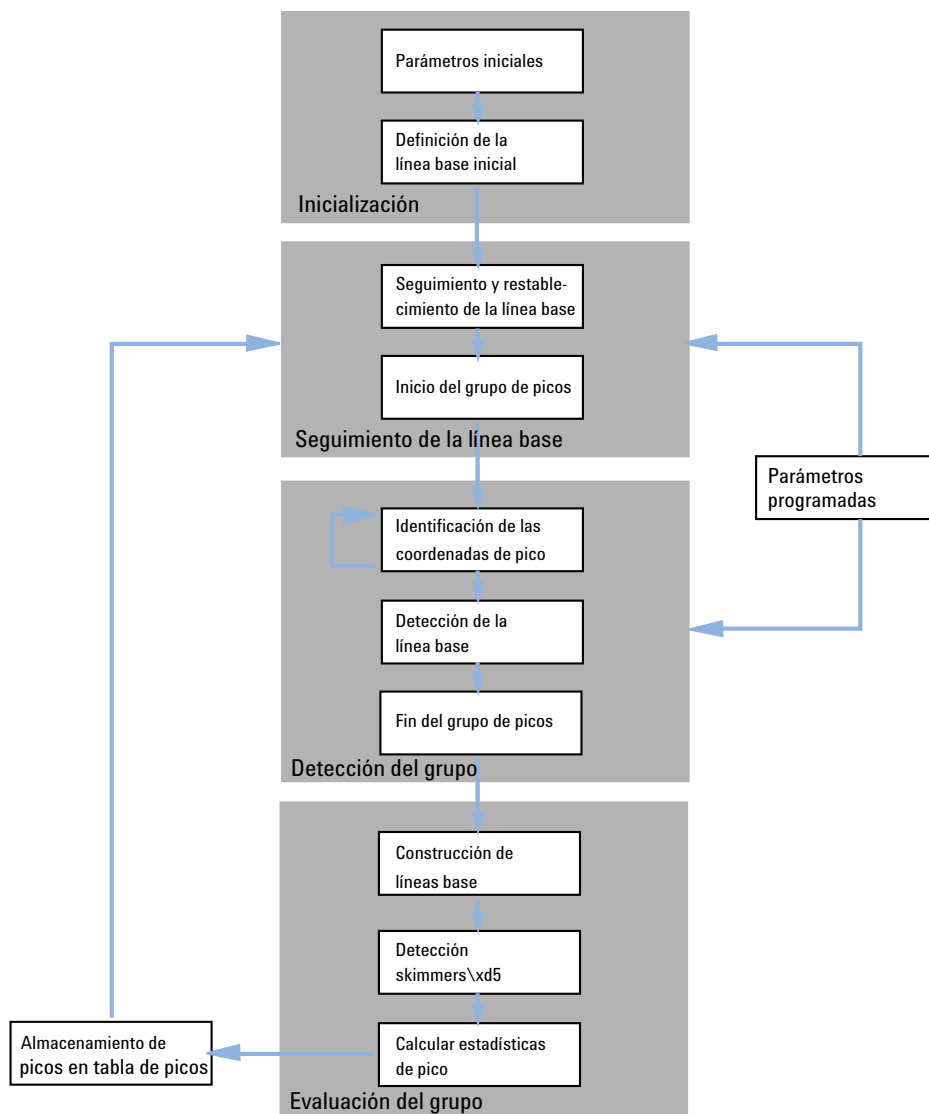


Figura 6 Diagrama de flujo del integrador

Reconocimiento de picos

El integrador utiliza varias herramientas para reconocer y caracterizar un pico:

- anchura de pico,
- filtros de reconocimiento de picos,
- agrupamiento,
- algoritmo de reconocimiento de picos,
- algoritmo de determinación del máximo de pico, y
- cálculos de efectos no gaussianos (por ejemplo colas, picos solapados).

Anchura de pico

Durante la integración, se calcula la anchura de pico a partir del área y la altura del pico:

$$\text{Anchura} = \text{Área} / \text{Altura}$$

o, si los puntos de inflexión están disponibles, a partir de la anchura entre los puntos de inflexión.

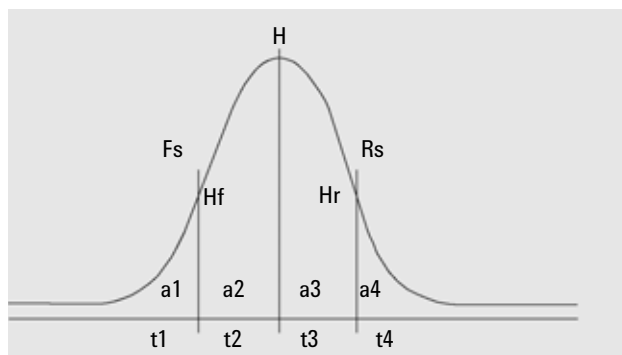


Figura 7 Cálculo de la anchura de pico

En el cálculo de la anchura de pico de la figura, el área total A es la suma de las áreas a1, a2, a3 y a4. Fs es la pendiente frontal en el punto de inflexión, Rs es la pendiente trasera en el punto de inflexión. En caso de no localizarse alguno de los puntos de inflexión, la anchura de pico se define como sigue:

$$\text{Anchura} = \text{Área ajustada} / \text{Altura ajustada}$$

El parámetro de anchura de pico controla la capacidad del integrador para distinguir los picos del ruido de la línea base. Para obtener buenos resultados, la anchura de pico debe ser cercana a la anchura de los picos cromatográficos o electroferográficos reales.

Hay tres modos de cambiar la anchura de pico:

- antes del análisis, el usuario puede especificar la anchura de pico inicial,
- durante el análisis, el integrador actualiza automáticamente la anchura de pico como corresponda para que coincida con los filtros de reconocimiento de picos,
- durante el análisis, el usuario puede restablecer o modificar la anchura de pico utilizando un evento programado en el tiempo.

Para obtener información acerca de las definiciones de anchura de pico utilizadas en los cálculos de idoneidad del sistema, consulte la sección “[Anchura de pico](#)” en la página 83.

Filtros de reconocimiento de picos

El integrador cuenta con tres filtros de reconocimiento de picos que puede utilizar para reconocer picos mediante la detección de cambios en los valores de pendiente y curvatura dentro de un conjunto de puntos de datos contiguos. Los filtros contienen la primera derivada (para medir la pendiente) y la segunda derivada (para medir la curvatura) de los puntos de datos examinados por el integrador. Los filtros de reconocimiento son los siguientes:

- Filtro 1** Pendiente (curvatura) de dos (tres) puntos de datos contiguos
- Filtro 2** Pendiente de cuatro puntos de datos contiguos y curvatura de tres puntos de datos no contiguos
- Filtro 3** Pendiente de ocho puntos de datos contiguos y curvatura de tres puntos de datos no contiguos

El filtro que se utiliza viene determinado por el valor del parámetro de anchura de pico. Por ejemplo: al comienzo del análisis puede utilizarse el Filtro 1. Si la anchura de pico aumenta durante el análisis, se pasará primero al Filtro 2 y en último término al Filtro 3. Para obtener buenos resultados del uso de los filtros de reconocimiento, los valores fijados para la anchura de pico deben ser cercanos a la anchura de los picos cromatográficos o electroferográficos reales. Durante el análisis, el integrador actualiza la anchura de pico como sea necesario para optimizar la integración.

El integrador calcula la anchura de pico actualizada de distintos modos según la configuración del instrumento:

Para configuraciones LC/CE, el cálculo de anchura de pico por defecto utiliza un cálculo compuesto:

$$0,3 \times (\text{punto de inflexión derecho} - \text{punto de inflexión izquierdo}) + 0,7 \times \text{Área/Altura}$$

Para configuraciones GC, el cálculo de anchura de pico por defecto utiliza el área/la altura. Este cálculo no sobreestima la anchura cuando los picos están solapados por encima del punto de media altura.

En determinados tipos de análisis, por ejemplo análisis GC isotérmicos y LC isocráticos, los picos se ensanchan de forma significativa a medida que progresa el análisis. Para compensar ese efecto, el integrador actualiza automáticamente la anchura de pico a medida que los picos se ensanchan durante el análisis. Lo hace de forma automática salvo que se haya deshabilitado la función de actualización o se haya fijado la anchura de pico en un valor específico por medio de un evento programado.

La actualización de la anchura de pico se pondera del modo siguiente:

$$0,75 \times (\text{anchura de pico existente}) + 0,25 \times (\text{anchura de pico de actual})$$

Si un evento de integración programado deshabilita la anchura de pico o la fija en un valor específico, se deshabilita el ajuste automático de la anchura de pico.

Agrupamiento

El agrupamiento es el medio que el integrador utiliza para ensanchar continuamente los picos dentro del rango de efecto de los filtros de reconocimiento de picos con el fin de mantener una buena selectividad.

Cuando los picos se ensanchan, el integrador no puede continuar aumentando la anchura de pico de forma indefinida. Llegaría un momento en que los picos fueran tan anchos que no pudieran ser identificados por los filtros de reconocimiento. Para superar esa limitación, el integrador agrupa los puntos de datos entre sí, estrechando en términos prácticos el pico sin que el área se vea alterada.

Cuando se agrupan datos, los puntos de datos se agrupan en dos elevado a la potencia de agrupamiento, o sea, sin agrupar = x1, agrupamiento realizado una vez = x2, realizado dos veces = x4, etc.

El agrupamiento se realiza basándose en la velocidad de datos y la anchura de pico. El integrador utiliza esos parámetros para fijar el factor de agrupamiento de modo que se obtenga el número de puntos de datos apropiado [Tabla 9](#) en la página 86.

El agrupamiento se realiza en potencias de dos en función de la anchura de pico esperada u obtenida. El algoritmo de agrupamiento se resume a continuación en [Tabla 9](#) en la página 86.

Tabla 9 Criterios de agrupamiento

| Anchura de pico esperada | Filtro(s) utilizado(s) | Agrupamiento realizado |
|--------------------------|------------------------|------------------------|
| 0 - 10 puntos de datos | Primero | Ninguno |
| 8 - 16 puntos de datos | Segundo | Ninguno |
| 12 - 24 puntos de datos | Tercero | Ninguno |
| 16 - 32 puntos de datos | Segundo | Una vez |
| 24 - 48 puntos de datos | Tercero | Una vez |
| 32 - 96 puntos de datos | Tercero, segundo | Dos veces |
| 64 - 192 puntos de datos | Tercero, segundo | Tres veces |

El algoritmo de reconocimiento de picos

El integrador identifica el inicio del pico con un punto de línea base determinado por el algoritmo de reconocimiento de picos. El algoritmo de reconocimiento de picos compara en primer lugar los valores de salida de los filtros de reconocimiento de picos con el valor de la sensibilidad de pendiente inicial para aumentar o disminuir el acumulador de pendiente ascendente. El integrador declara el punto en el que el valor del acumulador de pendiente ascendente es ≥ 15 como el punto que indica el inicio de un pico.

El algoritmo de reconocimiento de pico se muestra en [Figura 8](#) en la página 87.

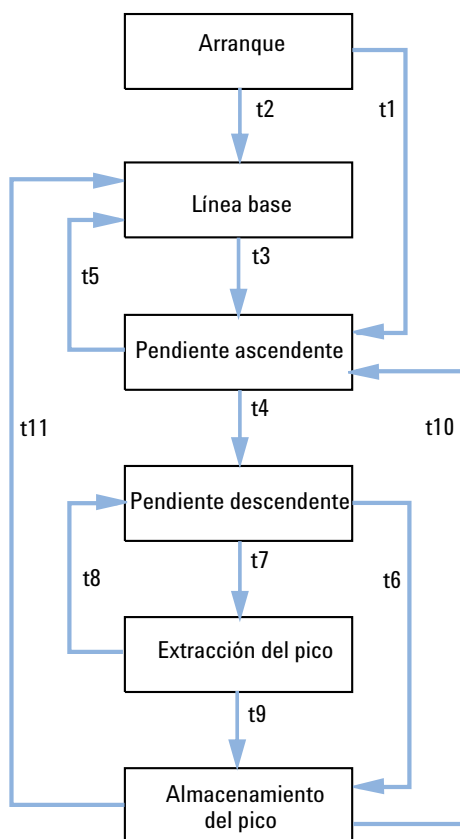


Figura 8 Reconocimiento de picos

Los criterios utilizados son los siguientes:

- t1** El contador de pendiente ascendente es mayor o igual a 1
- t2** El contador de pendiente ascendente es igual a 0
- t3** El contador de pendiente ascendente es mayor o igual a 2
- t4**
 - Se ha encontrado la cumbre del pico y se ha encontrado la anchura a medio pico o
 - Se ha encontrado la cumbre del pico y el contador de pendiente descendente es mayor o igual a 2
- t5**
 - Se ha abortado el pico o
 - Se ha restablecido la línea base
- t6**
 - Se ha encontrado el valle del pico y el contador de pendiente ascendente es mayor o igual a 2, o
 - El valor sigma de la pendiente descendente es más de dos veces el valor sigma del final del pico, o
 - Se ha restablecido la línea base, o
 - Se ha restablecido la línea base en el siguiente valle y se ha encontrado el valle del pico
- t7** Ya no se cumple el criterio de pendiente descendente
- t8** Se cumple nuevamente el criterio de pendiente descendente
- t9**
 - Se ha encontrado el valle del pico y el contador de pendiente ascendente es mayor o igual a 2, o
 - El contador de pendiente descendente es igual a 0, o
 - El valor sigma de la pendiente descendente es mayor que el valor sigma del final del pico, o
 - Se ha restablecido la línea base, o
 - Se ha restablecido la línea base en el siguiente valle
- t10** El contador de pendiente ascendente es mayor o igual a 2
- t11** El contador de pendiente ascendente es menor o igual a 1

Inicio del pico

En [Tabla 10](#) en la página 89, la anchura de pico esperada determina qué valores de pendiente y curvatura de filtro se comparan con la sensibilidad de pendiente. Por ejemplo, cuando la anchura de pico esperada es reducida, se añaden los números del Filtro 1 al acumulador de pendiente ascendente. Si la anchura de pico esperada aumenta, se utilizan entonces los números correspondientes al Filtro 2 y, en último término, al Filtro 3.

Cuando el valor del acumulador de pendiente ascendente es ≥ 15 , el algoritmo reconoce que se puede estar iniciando un pico.

Tabla 10 Valores de incremento del acumulador de pendiente ascendente

| Valores de salida de filtros de derivadas de 1 a 3 frente a sensibilidad de pendiente | Filtro 1 | Filtro 2 | Filtro 3 |
|---|----------|----------|----------|
| Pendiente > Sensibilidad de pendiente | +8 | +5 | +3 |
| Curvatura > Sensibilidad de pendiente | +0 | +2 | +1 |
| Pendiente < (-) Sensibilidad de pendiente | -8 | -5 | -3 |
| Pendiente > Sensibilidad de pendiente | -4 | -2 | -1 |
| Curvatura < (-) Sensibilidad de pendiente | -0 | -2 | -1 |

Fin del pico

En [Tabla 11](#) en la página 90, la anchura de pico esperada determina qué valores de pendiente y curvatura de filtro se comparan con la sensibilidad de pendiente. Por ejemplo, cuando la anchura de pico esperada es reducida, se añaden los números del Filtro 1 al acumulador de pendiente descendente. Si la anchura de pico esperada aumenta, se utilizan entonces los números correspondientes al Filtro 2 y, en último término, al Filtro 3.

Cuando el valor del acumulador de pendiente descendente es ≥ 15 , el algoritmo reconoce que puede estar finalizando un pico.

Tabla 11 Valores de incremento del acumulador de pendiente descendente

| Valores de salida de filtros de derivadas de 1 a 3 frente a sensibilidad de pendiente | Filtro 1 | Filtro 2 | Filtro 3 |
|---|----------|----------|----------|
| Pendiente > Sensibilidad de pendiente | +8 | +5 | +3 |
| Curvatura > Sensibilidad de pendiente | +0 | +2 | +1 |
| Pendiente < (-) Sensibilidad de pendiente | -11 | -7 | -4 |
| Pendiente > Sensibilidad de pendiente | -28 | -18 | -11 |
| Curvatura < (-) Sensibilidad de pendiente | -0 | -2 | -1 |

El algoritmo de determinación del máximo de pico

El máximo del pico se reconoce como el punto más alto del cromatograma mediante la construcción de una curva de ajuste parabólica que pase por los puntos de datos más altos.

Cálculos no gaussianos

Picos solapados

Los picos solapados se producen cuando un pico nuevo comienza antes de encontrar el final de otro pico. La figura ilustra cómo trata el integrador los picos solapados.

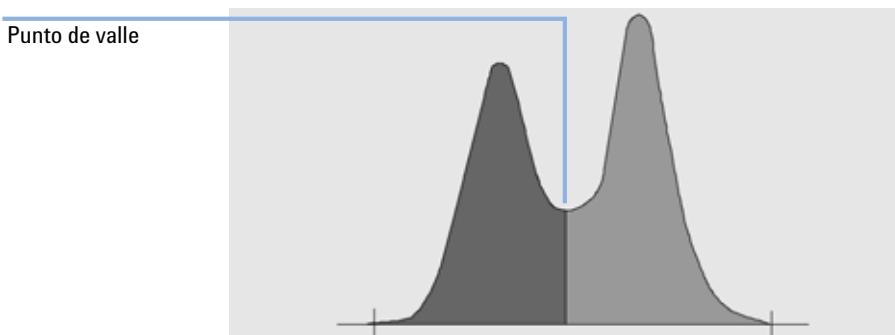


Figura 9 Picos solapados

El integrador procesa los picos solapados como sigue:

- 1 suma el área del primer pico hasta el punto de valle;
- 2 en el punto de valle, termina la suma del área correspondiente al primer pico e inicia la correspondiente al segundo pico;
- 3 cuando el integrador localiza el final del segundo pico, se detiene la suma del área. Este proceso se puede visualizar como la separación de los picos solapados trazando una perpendicular desde el punto de valle entre ambos picos.

Hombros

Los hombros son picos no resueltos ubicados en el avance o el rastro de un pico más grande. Cuando hay un hombro presente, no existe un verdadero valle en el sentido de una pendiente negativa seguida por otra positiva. Un pico puede tener cualquier número de hombros frontales y/o traseros.

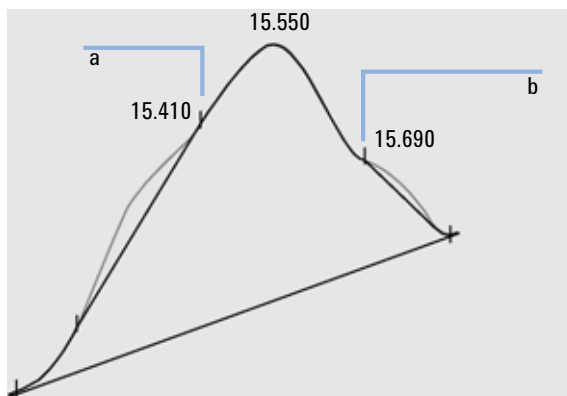


Figura 10 Hombros de pico

Los hombros se detectan a partir de la curvatura del pico, que viene dada por la segunda derivada. Cuando la curvatura cae a cero, el integrador identifica un punto de inflexión, como los puntos a y b en [Figura 10](#) en la página 91.

- Existe un posible hombro frontal cuando se detecta un segundo punto de inflexión antes del máximo del pico. Si se confirma la presencia de un hombro, el punto de inicio del mismo se fija en el punto de máxima curvatura positiva previo al punto de inflexión.

- Existe un posible hombro trasero cuando se detecta un segundo punto de inflexión antes del final o el valle del pico. Si se confirma la presencia de un hombro, el punto de inicio del mismo se fija en el punto tangente desde el punto inicial a la curva.

El tiempo de retención o migración se determina a partir del punto de máxima curvatura negativa del hombro. Con un evento de integración programado, el integrador puede calcular también áreas de hombro como picos normales con líneas de caída verticales en los puntos de inflexión del pico que presenta el hombro.

El área del hombro se resta del pico principal.

Los hombros de pico pueden tratarse como picos normales utilizando un parámetro de integración programado.

Asignación de la línea base

Una vez completado un grupo de picos y encontrada la línea base, el integrador solicita al algoritmo de asignación de la línea base la asignación de ésta mediante una técnica de "jalonamiento". El algoritmo utiliza correcciones de área trapezoidal y altura proporcional para normalizar la línea base y mantenerla lo más baja posible. Entre los valores de entrada al algoritmo de asignación de la línea base se incluyen también parámetros obtenidos de los ficheros de método y datos que identifican el detector y la aplicación y que el integrador utiliza para optimizar los cálculos.

Construcción de la línea base por defecto

En el caso más sencillo, el integrador construye la línea base como una serie de segmentos rectos entre:

- el inicio de la línea base,
- las marcas de señalización,
- el final del pico

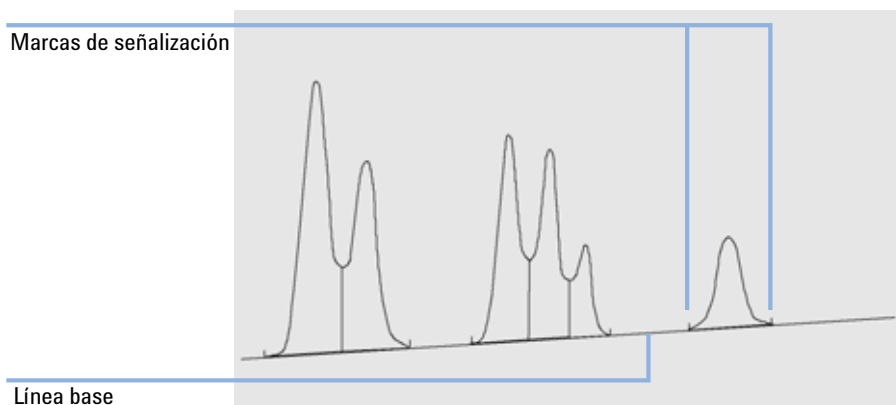


Figura 11 Construcción de la línea base por defecto

Inicio de la línea base

Si no se localiza una línea base al comienzo del análisis, el inicio de la línea base se establece de uno de los modos siguientes:

- desde el inicio del análisis al primer punto de línea base, si el punto de inicio del análisis es inferior al primer punto de línea base,
- desde el inicio del análisis al primer punto de valle, si el punto de inicio del análisis es inferior al primer valle,
- desde el inicio del análisis al primer punto de valle, si el primer valle penetra una línea imaginaria trazada desde el inicio del análisis a la primera línea base,
- desde el inicio del análisis a una línea base horizontal extrapolada al primer punto de línea base.

Marcas de señalización

Las marcas de señalización identifican el inicio y el final de un pico. Sus posiciones vienen determinadas por las horas de inicio y final de pico almacenadas en la tabla de picos.

Final de la línea base

El último punto de línea base válido se utiliza para designar el final de la línea base. En los casos en que un análisis no termine en la línea base, el final de la línea base se calcula desde el último punto de línea base válido a la deriva de línea base establecida.

Si un pico termina en lo que parece ser un valle pero el siguiente pico está por debajo del valor establecido para el rechazo por área, la línea base se proyecta desde el comienzo del pico al siguiente punto de línea base verdadero. Cuando un pico comience de modo similar, se aplicará la misma regla.

Penetración de la línea base

Se produce una penetración cuando la señal cae por debajo de la línea base construida (punto a en [Figura 12](#) en la página 95). En caso de penetración, por lo general se reconstruye esa parte de la línea base, tal como muestran los puntos b de [Figura 12](#) en la página 95.

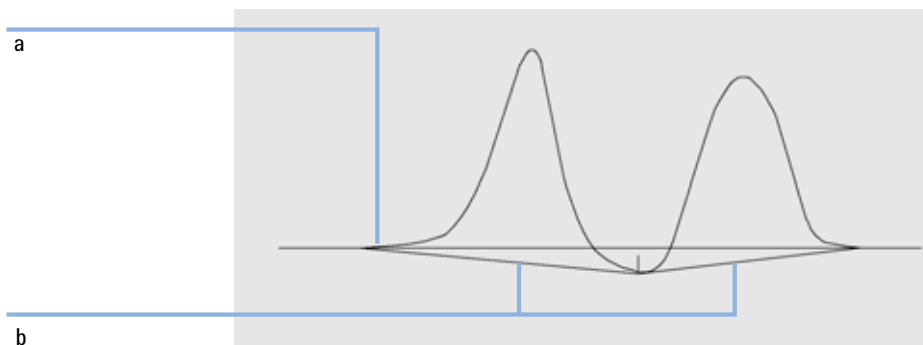


Figura 12 Penetración de la línea base

El usuario puede utilizar las siguientes opciones de seguimiento para eliminar todas las penetraciones de la línea base:

Seguimiento clásico de la línea base (sin penetraciones)

Cuando se selecciona esta opción, cada grupo de picos se examina en busca de posibles penetraciones de la línea base. Si se encuentran penetraciones, se desplazan los puntos de inicio y/o final del pico hasta eliminarlas por completo (compárense las líneas base de [Figura 12](#) en la página 95 y [Figura 13](#) en la página 96).

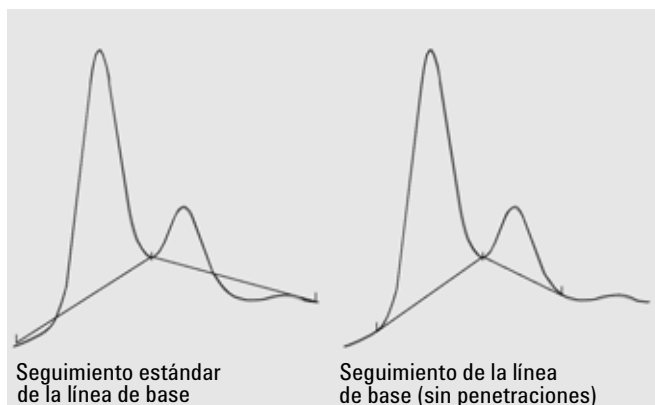


Figura 13 Seguimiento estándar de la línea base y seguimiento de la línea base (sin penetraciones)

NOTA

El seguimiento de la línea base (sin penetraciones) no está disponible para los picos de disolvente con sus hombros y picos secundarios.

Seguimiento avanzado de la línea base

En el modo de seguimiento avanzado de la línea base, el integrador trata de optimizar la ubicación del inicio y el final de los picos, restablece la línea base para un grupo de picos y elimina las penetraciones de la línea base (véase la sección [Figura 12](#) en la página 95). En muchos casos, con el modo de seguimiento avanzado se consigue una línea base más estable, menos dependiente de la sensibilidad de pendiente.

Relación pico/valle

Este parámetro especificado por el usuario forma parte del modo de seguimiento avanzado de la línea base. Se utiliza para decidir si dos picos que no muestran separación a nivel de la línea base deben separarse utilizando una línea de caída vertical o una línea base de valle. El integrador calcula la relación entre la altura corregida por la línea base del menor de los picos y la altura corregida por la línea base del valle. Cuando la relación pico a valle es inferior al valor especificado por el usuario, se utiliza una línea de caída verti-

cal; de lo contrario, se traza una línea base desde la línea base del inicio del primer pico al valle y desde el valle a la línea base del final del segundo pico (compárese [Figura 13](#) en la página 96 con [Figura 14](#) en la página 97).

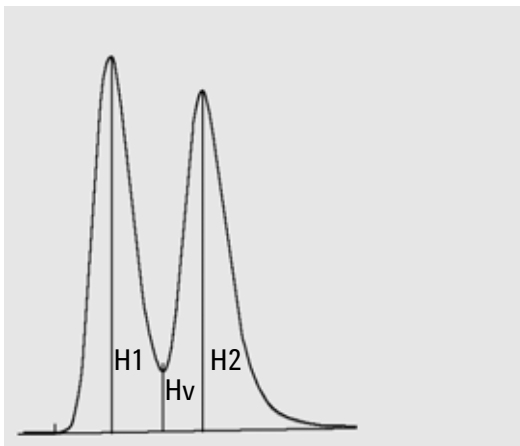


Figura 14 Relación pico/valle

La relación pico a valle se calcula por medio de las ecuaciones siguientes:

$$H1 \geq H2, \text{ relación pico/valle} = H2/Hv$$

y

$$H1 < H2, \text{ relación pico/valle} = H1/Hv$$

[Figura 15](#) en la página 98 muestra cómo el valor especificado por el usuario de la relación pico/valle influye en las líneas base.

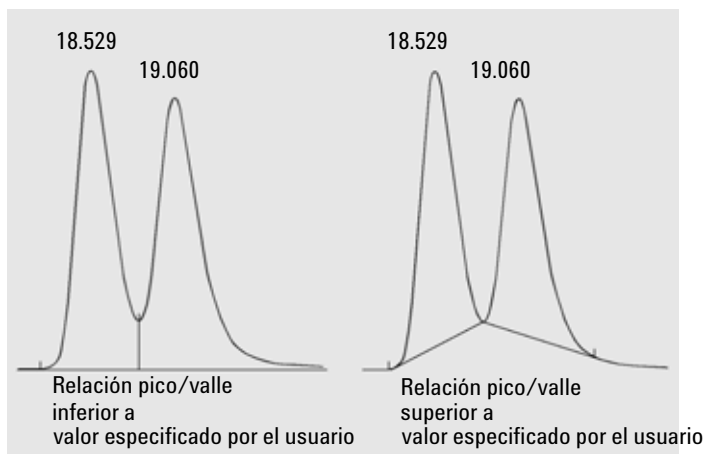


Figura 15 Efecto de la relación pico/valle sobre las líneas base

División tangencial

La división tangencial es una forma de línea base construida para picos que se encuentran en las pendientes ascendente o descendente de otro pico. Cuando está habilitada, hay cuatro modelos disponibles para el cálculo de las áreas de pico adecuadas:

- ajuste a una curva exponencial,
- nueva división exponencial
- división mediante línea recta,
- cálculos de recta y exponencial combinados para obtener el mejor ajuste (división estándar).

Ajuste a una curva exponencial

Este modelo de división traza una curva, utilizando una ecuación exponencial, que pasa por los puntos inicial y final del pico secundario (la altura del inicio del pico secundario se corrige por la pendiente del pico principal). La curva pasa bajo cada uno de los picos secundarios que siguen al principal; el área que queda por debajo de la curva de división se resta de los picos secundarios y se añade al pico principal (véase [Figura 17](#) en la página 99).

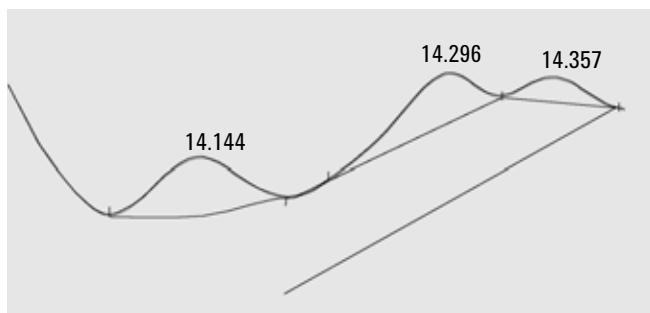


Figura 16 División exponencial

Ajuste de curva exponencial de modo nuevo

Este modelo de punto de contacto traza una curva mediante una ecuación exponencial para aproximar los flancos delantero y posterior del pico principal. La curva pasa por debajo de uno o más picos que siguen al pico principal (los picos secundarios). El área por debajo de la curva de punto de contacto se resta de los picos secundarios y se suma al pico principal. Puede utilizarse la técnica del punto de contacto en más de un pico secundario mediante el mismo modelo exponencial; todos los picos posteriores al primer pico secundario se separan con líneas verticales, comenzando al final del primer pico secundario, y se trazan sólo hasta el punto de contacto (consulte [Figura 17](#) en la página 99).

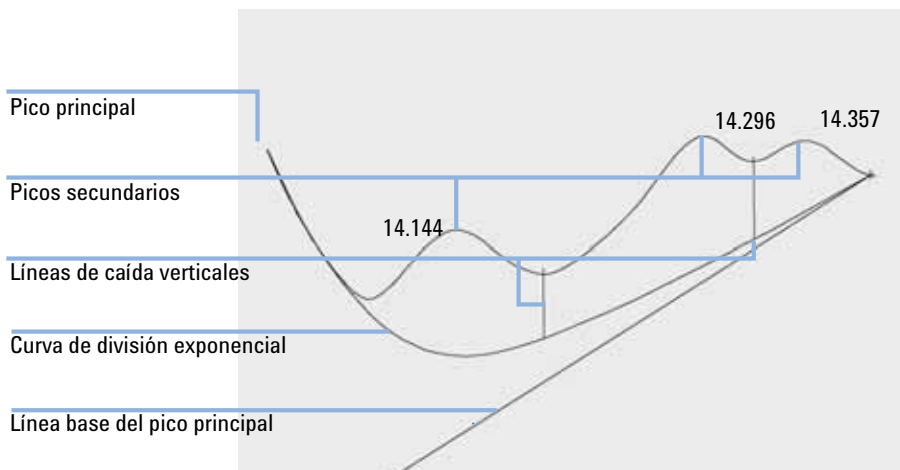


Figura 17 Nuevo modo de división exponencial

División mediante línea recta

Este modelo de división traza una línea recta a través de los puntos inicial y final del pico secundario. La altura del inicio del pico secundario se corrige por la pendiente del pico principal. El área que queda bajo la línea recta se resta del pico secundario y se añade al pico principal (consulte [Figura 18](#) en la página 100).

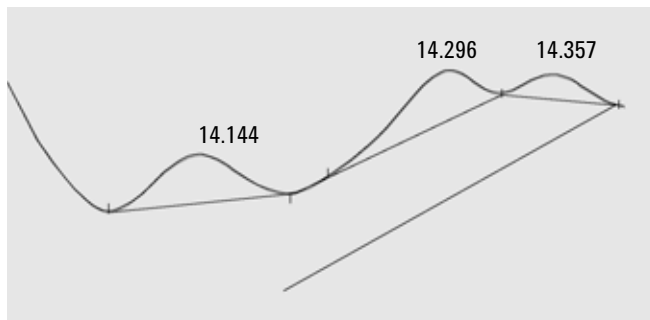


Figura 18 División mediante línea recta

Divisiones estándar

El método de cálculo apropiado se elige para cada aplicación particular; por defecto, el método elegido es una combinación de cálculos de curva exponencial y línea recta para obtener el mejor ajuste.

El paso de un cálculo exponencial a uno lineal se realiza de modo que no haya discontinuidades abruptas en las alturas o las áreas.

- Cuando la señal se encuentra apreciablemente por encima de la línea base, el cálculo para ajustar la cola es exponencial.
- Cuando la señal se encuentra en la zona de línea base, el cálculo para ajustar la cola es una línea recta.

Los cálculos combinados se muestran como división exponencial o tangencial.

Criterios de división

Dos son los criterios que determinan si se va a utilizar una línea de división para calcular el área de un pico secundario que eluye en el rastro de otro principal:

- relación de alturas para división de cola

- relación de altura con respecto al valle

Estos criterios no se utilizan si se está aplicando un evento programado para un cálculo exponencial o si el pico principal es en sí mismo un pico secundario de otro. El código de separación entre el pico principal y el secundario debe ser de tipo **Valley**.

La **Tail Skim Height Ratio** es la relación de la altura corregida por la línea base del pico principal (H_p en [Figura 19](#) en la página 101) con la altura corregida por la línea base del pico secundario (H_c). Para que se divida el pico secundario, esta relación debe ser superior al valor especificado.

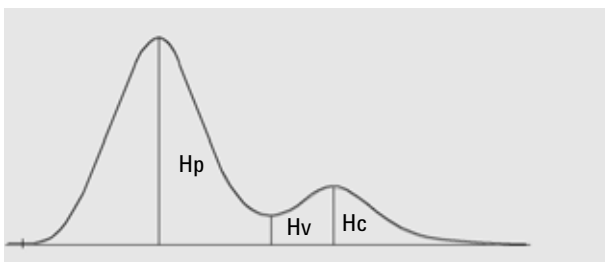


Figura 19 Criterios de división

El usuario puede deshabilitar la división exponencial durante el análisis fijando el valor de la relación de alturas para división de cola en un valor alto o en cero.

La **Valley Height Ratio** es la relación de la altura del pico secundario por encima de la línea base (H_c en [Figura 19](#) en la página 101) con la altura del valle por encima de la línea base (H_v en la misma figura). Para que se divida el pico secundario, esta relación debe ser inferior al valor especificado.

Cálculo de ajuste a curva exponencial empleado en las divisiones

Para calcular una división exponencial se utiliza la ecuación siguiente (consulte [Figura 22](#) en la página 103):

$$H_b = H_o \times \exp(-B \times (Tr - To)) + A \times Tr + C$$

donde

H_b = altura de la división exponencial en el momento Tr

H_o = altura (por encima de la línea base) del inicio de la división exponencial

4 Integración

Asignación de la línea base

B = factor de decaimiento de la función exponencial

T_0 = momento correspondiente al inicio de la división exponencial

A = pendiente de la línea base del pico principal

C = desplazamiento de la línea base del pico principal

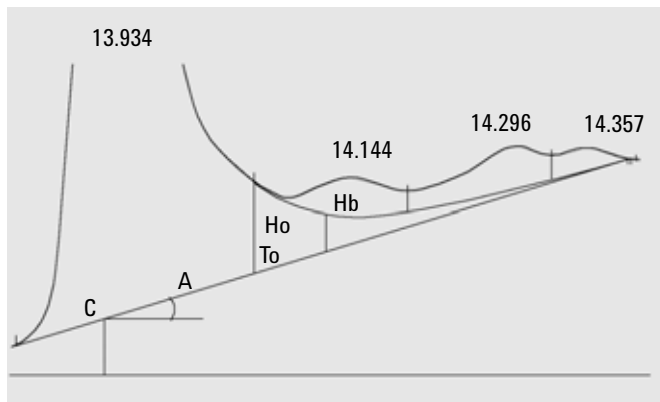


Figura 20 Valores utilizados en el cálculo de una división exponencial

El modelo exponencial se ajusta en el componente de la cola de pico principal justo antes del primer pico secundario. [Figura 21](#) en la página 102 muestra la curva corregida de un pico secundario después de una división tangencial.

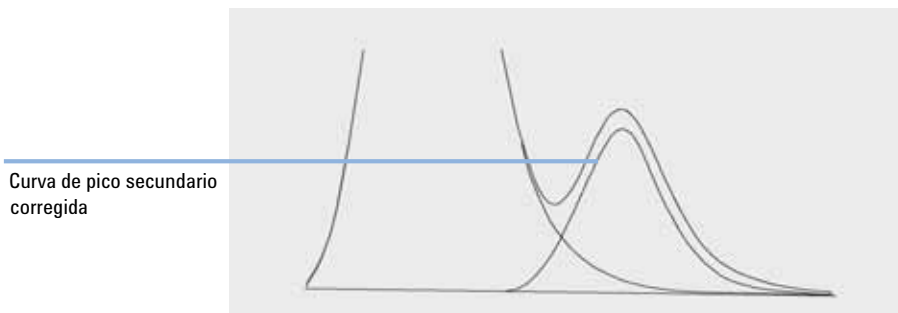


Figura 21 Pico secundario corregido por la cola

División de pico frontal

Al igual que para los picos secundarios ubicados en la cola de otro principal, la presencia de picos en el frente/la pendiente ascendente de otro pico requiere una integración especial, véase [Figura 22](#) en la página 103.

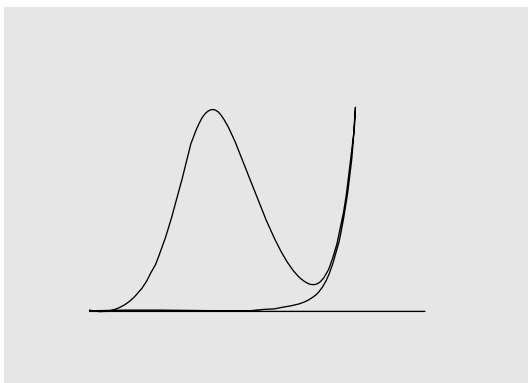


Figura 22 División de pico frontal

La división de picos frontales se trata del mismo modo que la de picos de cola, utilizando los mismos modelos de división.

Los criterios de división son los siguientes:

- relación de alturas para división frontal
- relación de altura con respecto al valle

La relación de altura con respecto al valle tiene el mismo valor para divisiones tanto de picos frontales como de picos de cola (véase la sección Relación de altura con respecto al valle); la relación de alturas para división frontal se calcula del mismo modo que la relación de alturas para división de cola (véase la sección Relación de alturas para división de cola) pero puede tener un valor diferente.

Picos no asignados

Con algunas construcciones de línea base, hay pequeñas áreas que quedan por encima de la línea base y por debajo de la señal y que no forman parte de ningún pico reconocido. Por lo general, estas áreas ni se miden ni se muestran. Si se habilita la función de picos no asignados, dichas áreas se miden y se mues-

tran como picos no asignados. El tiempo de retención o migración correspondiente a tales áreas es el punto medio entre el inicio y el final del área, tal como se muestra en [Figura 23](#) en la página 104.

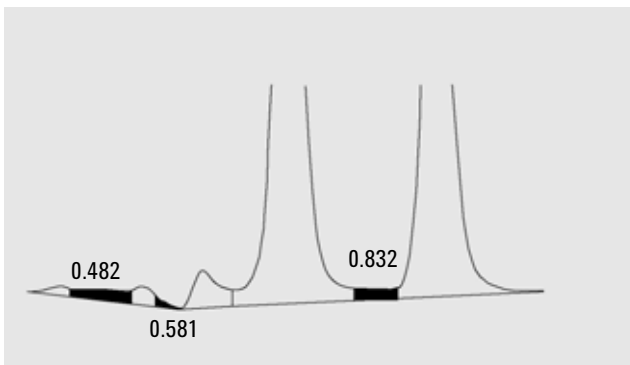


Figura 23 Picos no asignados

Códigos de separación de picos

En los informes, cada pico lleva asignado un código de dos, tres o cuatro caracteres que describe el modo en que se trazó la línea base de la señal.

Caracteres 1 y 2

El primer carácter describe la línea base al inicio del pico, mientras que el segundo carácter describe la línea base al final del pico.

- B** El pico se inició o se detuvo en la línea base.
- V** El pico se inició o se detuvo con una caída vertical en un valle.
- P** El pico se inició o se detuvo estando la línea base penetrada.
- H** El pico se inició o se detuvo en una línea base horizontal forzada.
- F** El pico se inició o se detuvo en un punto forzado.
- M** El pico se integró manualmente.
- U** El pico no ha sido asignado.

Pueden añadirse asimismo señalizadores adicionales (en orden de prioridad):

Carácter 3

- D** El pico estaba distorsionado.
- A** La integración fue abortada.
- U** Se produjo una condición de "por debajo del rango".
- O** Se produjo una condición de "por encima del rango".

Carácter 4

El cuarto carácter describe el tipo de pico:

- S** El pico es un pico de disolvente.
- N** El pico es un pico negativo.
- +** El pico es un pico de área sumada.
- T** Pico con división tangencial (división estándar).
- X** Pico con división tangencial (división con el modo exponencial antiguo).
- E** Pico con división tangencial (división con el nuevo modo exponencial).
- m** Pico definido por una línea base manual.
- n** Pico negativo definido por una línea base manual.
- t** Pico con división tangencial definido por una línea base manual.
- R** El pico es un pico de disolvente recalculado.
- f** Pico definido por una tangente de hombro frontal.
- b** Pico definido por una tangente de hombro trasero.
- F** Pico definido por una caída vertical de hombro frontal.
- B** Pico definido por una caída vertical de hombro trasero.
- U** Pico no asignado.

Medida del área de pico

El paso final de la integración de picos es determinar el área final del pico.

Las áreas de pico se calculan a partir del contenido del fichero de puntos cardinales. Los puntos cardinales son los puntos elegidos por el integrador para definir y cuantificar un pico (consulte [“Identificación de los puntos cardinales de un pico”](#) en la página 78). Entre ellos se incluyen los puntos de línea base, puntos de valle, máximo de pico y puntos a media altura del pico. Los puntos cardinales tienen una coordenada horizontal de tiempo transcurrido, una coordenada vertical de altura desde la línea base, un área y otros parámetros que el integrador utiliza para calcular las áreas de pico.

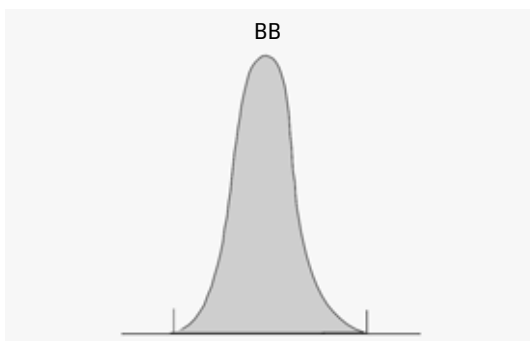


Figura 24 Medida del área para picos de línea base a línea base

En el caso de un simple pico aislado, el área de pico viene determinada por el área acumulada por encima de la línea base entre el inicio y el final del pico (identificados por marcas de señalización).

Determinación del área

El área que el integrador calcula durante la integración se determina como sigue:

- para picos de línea base a línea base (BB), el área por encima de la línea base entre las marcas de señalización, como se muestra en [Figura 24](#) en la página 106,

- para picos de valle a valle (VV), el área por encima de la línea base segmentada con líneas de caída verticales trazadas a partir de las marcas de señalización, como se muestra en [Figura 25](#) en la página 107,

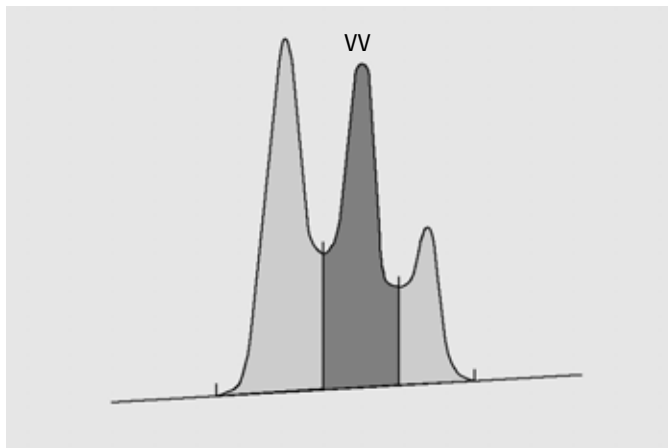


Figura 25 Medida del área para picos de valle a valle

- para picos tangenciales (T), el área por encima de la línea base restablecida,
- para picos de disolvente (S), el área por encima de la extrapolación horizontal desde el último punto de línea base encontrado y por debajo de la línea base restablecida asignada a picos tangenciales (T). Es posible que un pico de disolvente produzca una elevación de la señal demasiado lenta para el reconocimiento del pico o que en medio del análisis aparezca un grupo de picos que el usuario considere que deben ser tratados como un disolvente con una serie de picos montados. Ése suele ser el caso de un grupo de picos solapados en el que el primer pico es mucho mayor que el resto. El tratamiento más simple, el de la línea de caída vertical, exageraría los picos posteriores al estar éstos en realidad sobre la cola del primero. Forzando el reconocimiento del primer pico como pico de disolvente, es posible dividir de la cola el resto del grupo,
- los picos negativos que se dan bajo la línea base tienen un área positiva, como se muestra en [Figura 26](#) en la página 108.

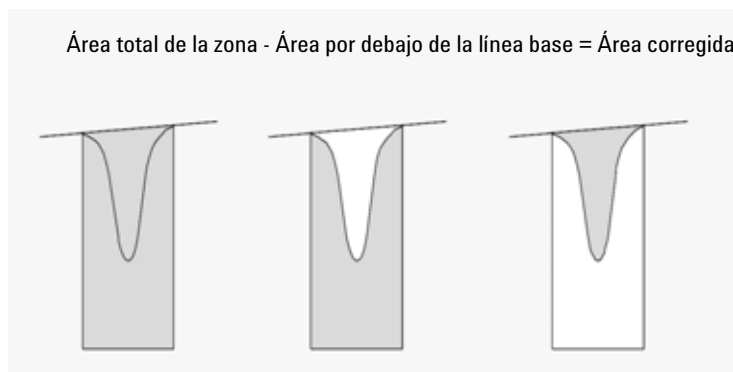


Figura 26 Medida del área para picos negativos

Unidades y factores de conversión

Externamente, los datos contienen un conjunto de puntos de datos, que pueden ser bien muestreados o integrados. En el caso de datos integrados, cada punto de datos corresponde a un área, que se expresa como *Altura x Tiempo*. En el caso de datos muestreados, cada punto de datos corresponde a una altura.

Por lo tanto, en el caso de los datos integrados, la altura es una entidad calculada, obtenida dividiendo el área por el tiempo transcurrido desde el punto de datos previo. En el caso de los datos muestreados, el área se calcula multiplicando el dato por el tiempo transcurrido desde el punto de datos previo.

El cálculo de integración hace uso de ambas entidades. Las unidades que el integrador utiliza internamente son las siguientes: *cuentas x milisegundos* para el área y *cuentas* para la altura. Se hace así con el fin de proporcionar una base común para los truncamientos a enteros cuando sea necesario. Las medidas de tiempo, área y altura se muestran en unidades físicas reales, con independencia de cómo se miden, calculan y almacenan en el software.

Eventos de integración

El integrador proporciona al usuario una serie de eventos de integración tanto iniciales como programados. Muchos eventos son parejas de tipo activado/des-activado o iniciar/detener.

Eventos iniciales

| | |
|----------------------------------|--|
| Anchura de pico inicial | Initial peak width establece el valor de anchura de pico que el integrador utiliza internamente al comienzo del análisis. Esta anchura de pico inicial se utiliza para escalar el acumulador que detecta pendientes ascendentes, pendientes descendentes y colas. El integrador actualiza la anchura de pico como sea necesario durante el análisis para optimizar la integración. El usuario especifica la anchura de pico en unidades de tiempo correspondientes a la anchura a media altura del primer pico esperado (excluido el pico de disolvente). |
| Sensibilidad de pendiente | Slope sensitivity establece el nivel de sensibilidad para la detección de picos. Es un parámetro que cambia en una escala lineal. |
| Rechazo por altura | Height reject establece el umbral de rechazo del pico por la altura final. Los picos con altura inferior al valor fijado como mínimo aceptable no se muestran. |
| Rechazo por área | Area reject establece el umbral de rechazo del pico por el área final. Los picos con área inferior al valor fijado como mínimo aceptable no se muestran. |
| Detección de hombros | Cuando shoulder detection está habilitada, el integrador detecta los posibles hombros utilizando la curvatura de pico dada por la segunda derivada. Cuando la curvatura se hace cero, el integrador identifica ese punto de inflexión como un posible hombro. Si el integrador identifica otro punto de inflexión antes del máximo del pico, se ha detectado un hombro. |

Anchura de pico

El parámetro anchura de pico controla la selectividad del integrador para distinguir los picos del ruido de la línea base. Para obtener buenos resultados, debe fijarse un valor cercano a la anchura a media altura de los picos cromatográficos o electroferográficos reales. El integrador actualiza la anchura de pico como sea necesario durante el análisis para optimizar la integración.

Selección de la anchura de pico

Debe elegirse el valor que proporcione el nivel de filtro justo y suficiente para evitar interpretar el ruido como picos pero sin llegar a distorsionar la información que porta la señal.

- Para seleccionar una anchura de pico inicial adecuada para un determinado pico de interés, utilice como base de referencia la anchura en tiempo del pico.
- Para seleccionar una anchura de pico inicial adecuada cuando hay varios picos de interés, fije la anchura de pico inicial en un valor igual o inferior a la anchura del pico más estrecho con el fin de obtener una selectividad de pico óptima.

Si la anchura de pico inicial seleccionada es demasiado reducida, puede darse el caso de que el ruido se interprete como picos. Si hay una mezcla de picos anchos y estrechos, puede ser conveniente utilizar eventos programados en función del tiempo de análisis para ajustar la anchura para determinados picos. En ocasiones, los picos se ensanchan de forma significativa a medida que el análisis progresa, como ocurre por ejemplo con los análisis GC isotérmicos y LC isocráticos. Para compensar ese efecto, el integrador actualiza automáticamente el valor de anchura de pico a medida que los picos se ensanchan durante el análisis salvo que se haya deshabilitado la función o se haya fijado el valor de anchura por medio de un evento programado.

La actualización de la anchura de pico se pondera del modo siguiente:

$$0,75 \times (\text{anchura de pico existente}) + 0,25 \times (\text{anchura de pico de actual})$$

Si un evento de integración programado deshabilita la anchura de pico o la fija en un valor específico, se deshabilita el ajuste automático de la anchura de pico.

Rechazo por altura y anchura de pico

Ambos parámetros, **peak width** y **height reject** son sumamente importantes en el proceso de integración. Modificando estos valores se pueden obtener distintos resultados.

- Eleve los valores de ambos parámetros, rechazo por altura y anchura de pico, cuando deban detectarse y cuantificarse componentes relativamente dominantes en un entorno de alto ruido. Una mayor anchura de pico mejora el filtrado del ruido y un mayor rechazo por altura asegura que se ignore el ruido aleatorio.
- Reduzca los valores de los parámetros rechazo por altura y anchura de pico para detectar y cuantificar componentes traza, cuyas alturas se aproximan a la del propio ruido. La disminución de la anchura de pico tiene como efecto un menor filtrado de la señal, mientras que la disminución del rechazo por altura asegura que no se rechacen picos pequeños por no tener la altura suficiente.
- Cuando un análisis incluya picos de distintas anchuras, fije el valor de la anchura de pico para los más estrechos y reduzca el valor del rechazo por altura para asegurar que no se ignoren los picos anchos debido a su reducida altura.

Refinamiento de la integración

Con frecuencia resulta útil modificar los valores de sensibilidad de pendiente, anchura de pico, rechazo por altura y rechazo por área para personalizar así la integración.

Figura 27 en la página 112 muestra cómo afectan esos parámetros a la integración de cinco picos de una señal.



Figura 27 Uso de eventos iniciales

Un pico se integra únicamente si se satisfacen los requisitos de los cuatro parámetros de integración. Utilizando la anchura de pico correspondiente al pico 3, el rechazo por área y la sensibilidad de pendiente que se muestran en [Figura 27](#) en la página 112, sólo los picos 1, 3, 5 y 7 resultan integrados.

- Pico 1** se integra puesto que se satisfacen los requisitos de los cuatro parámetros de integración.
- Pico 2** se rechaza por estar el área por debajo del valor fijado para el rechazo por área.
- Pico 3** se integra puesto que se satisfacen los requisitos de los cuatro parámetros de integración.
- Pico 4** no se integra al estar la altura de pico por debajo del valor fijado para el rechazo por altura.
- Pico 5** se rechaza por estar el área por debajo del valor fijado para el rechazo por área.
- Pico 6** no se integra; el filtrado y el agrupamiento hacen el pico indetectable.
- Pico 7** se integra.

Tabla 12 Valores de rechazo por altura y área

| Parámetro de integración | Pico 1 | Pico 2 | Pico 3 | Pico 4 | Pico 5 | Pico 7 |
|--------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Rechazo por altura | Por encima | Por encima | Por encima | Por debajo | Por encima | Por encima |
| Rechazo por área | Por encima | Por debajo | Por encima | Por debajo | Por debajo | Por encima |
| Pico integrado | Sí | No | Sí | No | No | Sí |

Eventos programados

El usuario puede utilizar eventos programados para personalizar la construcción de la línea base de la señal cuando la construcción por defecto no resulte apropiada. Dichos eventos pueden resultar útiles para sumar áreas de pico finales y para corregir aberraciones a corto y largo plazo de la línea base. Para obtener información adicional acerca de los eventos de integración, consulte la sección “[Eventos iniciales](#)” en la página 109.

Integración automática

La función **Autointegrate** proporciona un punto de partida para el establecimiento de valores de los eventos iniciales. Eso resulta particularmente útil durante la implantación de un nuevo método. El usuario parte de una tabla de eventos de integración por defecto que no contiene eventos programados y optimiza entonces los parámetros propuestos para uso general por la función Integración automática.

Principios de funcionamiento

La función **Autointegrate** lee los datos cromatográficos y calcula los valores óptimos de los parámetros de integración iniciales para cada señal del cromatograma.

El algoritmo examina un 1% al inicio y el final del cromatograma y determina el ruido y la pendiente de esas zonas. El ruido se determina como 3 veces la desviación estándar de la regresión lineal dividida por la raíz cuadrada del

porcentaje de puntos utilizados en la regresión. Los resultados se utilizan para asignar valores apropiados de los parámetros de rechazo por altura y sensibilidad de pendiente para la integración. El algoritmo asigna entonces un valor temporal de anchura de pico dependiendo de la longitud del cromatograma, utilizando un 0,5% para LC y del 0,3% al 0,2% para GC. Se fija en cero el parámetro de rechazo por área inicial y se lleva a cabo una integración de prueba. La prueba se repite varias veces si es necesario, ajustándose en cada intento los valores de los parámetros hasta conseguir detectar al menos 5 picos o hasta que la integración se lleve a cabo con un valor de rechazo por altura inicial de 0. De no cumplirse las condiciones citadas después de 10 intentos, se da por terminada la integración de prueba.

Se examinan los resultados de la integración y se ajusta la anchura de pico en función de las anchuras de los picos detectados, sesgándose el cálculo a favor de los picos iniciales. Se utiliza la simetría de los picos detectados para incluir en el cálculo de la anchura de pico únicamente aquellos picos con simetría entre 0,8 y 1,3. Si no se encuentran suficientes picos simétricos, esos límites se relajan para permitir una *simetría mínima*/1,5 y una *simetría máxima*×1,5. Se examina entonces la línea base entre los picos para refinar los valores previos de rechazo por altura y sensibilidad de pendiente. El rechazo por área se fija en el 90% del área mínima del pico más simétrico de los detectados durante la integración de prueba.

El cromatograma se integra nuevamente utilizando esos valores finales de los parámetros de integración y los resultados de la integración se almacenan.

Parámetros de la integración automática

La función Integración automática establece valores para los siguientes parámetros:

- Sensibilidad de pendiente inicial
- Altura inicial
- Anchura de pico inicial
- Rechazo por área inicial

Integración manual

Este tipo de integración permite al usuario integrar determinados picos o grupos de picos. A excepción del valor de rechazo por área inicial, los eventos de integración del software se ignoran dentro del rango especificado para la integración manual. Si uno o varios de los picos resultantes de la integración manual están por debajo del umbral de rechazo por área, esos picos se desechan. Los eventos de integración manual utilizan valores de tiempo absoluto. No se ajustan por la deriva de la señal.

La integración manual permite al usuario definir los puntos de inicio y final del pico para después incluir las áreas recalculadas en las rutinas de cuantificación e informes. Los picos integrados manualmente se etiquetan en los informes con el código de separación de picos M.

La integración manual ofrece las siguientes funciones:

| | |
|----------------------------|---|
| Dibujar línea base | Especifica dónde se van a trazar las líneas base para un pico o un conjunto de picos. El usuario puede especificar también si se debe producir o no la separación automática en los puntos de valle de los picos incluidos en el rango dado. |
| Picos negativos | Picos negativos especifica cuándo considerar las áreas por debajo de la línea base como picos negativos. El usuario puede especificar también si se debe producir o no la separación automática en los puntos de valle de los picos incluidos en el rango dado. |
| División tangencial | División tangencial calcula las áreas de picos divididos tangencialmente de un pico principal. El área del pico dividido tangencialmente se resta del área del pico principal. |
| División de pico | División de pico especifica el punto donde dividir un pico con una línea de caída vertical. |
| Eliminar pico(s) | Elimina uno o varios picos de los resultados de integración. |

Códigos de separación de picos para picos integrados manualmente

Los eventos de integración manual, por ejemplo, una línea de base trazada manualmente, son todavía más específicos de cada archivo de datos que los eventos de integración cronometrados. En el caso de cromatogramas complejos, es muy recomendable poder utilizar estos eventos para el reprocesamiento.

Por lo tanto, en ChemStation B.04.01 y versiones posteriores, los eventos de integración manual pueden almacenarse directamente en el archivo de datos en lugar del método. En el momento en el que se recibe o vuelve a procesarse el archivo de datos, los eventos manuales del archivo de datos se aplican de forma automática. Los análisis que contienen eventos de integración manual se marcan en la columna correspondiente de la **tabla Navegación**.

Además de las herramientas para dibujar una línea de base y eliminar manualmente un pico, existen tres herramientas adicionales disponibles en la interfase de usuario para:

- Guardar en el archivo de datos eventos manuales de los cromatogramas que se están visualizando,
- Eliminar todos los eventos de los cromatogramas que se están visualizando,
- Deshacer los últimos eventos de integración manual (disponibles hasta que se guarda el evento).

Al continuar con el siguiente archivo de datos durante una revisión en la **tabla Navegación**, ChemStation realizará una revisión en busca de eventos de integración manual sin guardar y preguntará al usuario si desea guardarlos.

Los eventos manuales guardados en el archivo de datos durante una revisión en la **tabla Navegación** no interfieren con los eventos de integración manual almacenados durante una revisión en el modo **Lote**. Estas dos formas de revisión son completamente independientes con respecto a los eventos manuales de un archivo de datos.

En las revisiones de ChemStation anteriores a la B.04.01, los eventos de integración manual sólo podían guardarse en el método. En la revisión B.04.01, todavía se puede utilizar este flujo de trabajo. El menú **Integración** de la vista **Análisis de datos** proporciona los siguientes elementos para gestionar eventos de integración manual con el método:

Actualizar eventos manuales del método: Guardar eventos manuales extraídos recientemente en el método.

Aplicar eventos manuales del método: Aplicar los eventos manuales guardados actualmente en el método al archivo de datos cargado en ese momento.

Eliminar eventos manuales del método: Eliminar los eventos manuales del método.

Para convertir eventos manuales almacenados en un método para guardarlos en el archivo de datos, aplique los eventos del método y guarde los resultados en el archivo de datos. Si lo desea, elimine los eventos del método.

En el caso de que la casilla **Eventos manuales** de la tabla **Eventos de integración** de un método esté marcada, los eventos manuales del método se aplican siempre al cargar un archivo de datos utilizando este método. Si el archivo de datos contiene eventos manuales adicionales, éstos se aplican después de los eventos del método. Cuando la casilla **Eventos manuales** está marcada, nunca se le pide al usuario que guarde los eventos en el archivo de datos

Conversión de eventos de integración manual guardados en un método

En las versiones de ChemStation anteriores a B.04.01, los eventos de integración manual se guardaban en el método en lugar de en cada fichero de datos. A fin de guardar los eventos manuales en una forma específica de fichero de datos, lo más cómodo era utilizar el método DA.M independiente de cada fichero de datos.

El menú **Integración** en la vista Análisis de datos proporciona los siguientes elementos para convertir eventos de integración manual del método en eventos almacenados en el fichero de datos, o seguir trabajando con eventos manuales guardados en el método:

- **Actualizar eventos manuales de método:** Se guardan eventos manuales nuevos en el método.
- **Aplicar eventos manuales desde el método:** Se aplican los eventos guardados en el método al fichero de datos actualmente cargado.
- **Eliminar eventos manuales del método:** Se borran los eventos manuales del método.

4 Integración

Integración manual



5 Cuantificación

| | |
|---|-----|
| Definición de la cuantificación | 120 |
| Cálculos de cuantificación | 121 |
| Factores de corrección | 122 |
| Factor de respuesta absoluta | 122 |
| Multiplicador | 122 |
| Factor de dilución | 122 |
| Cantidad de muestra | 123 |
| Procedimientos de cálculo no calibrados | 124 |
| % de área y % de altura | 124 |
| Procedimientos de cálculo calibrados | 125 |
| Cálculo ESTD | 126 |
| Cálculo de % Norm | 129 |
| Cálculo ISTD | 130 |
| Análisis 1: Calibración | 131 |
| Análisis 2: Muestra desconocida | 132 |
| Cálculo ISTD de picos calibrados | 132 |
| Cálculo ISTD de picos no calibrados | 133 |

En este capítulo se describe cómo ChemStation lleva a cabo la cuantificación. Proporciona detalles sobre los cálculos de % de área y % de altura, el cálculo por estándar externo o ESTD (External Standard), el cálculo de % Norm, el cálculo por estándar interno o ISTD (Internal Standard) y la cuantificación de picos no identificados.



Definición de la cuantificación

Una vez integrados e identificados los picos, el paso siguiente del análisis es la cuantificación. La cuantificación utiliza el área o la altura de pico para determinar la concentración de un compuesto en una muestra.

Un análisis cuantitativo incluye varios pasos que se resumen a continuación:

- Conocimiento del compuesto que se analiza.
- Establecimiento de un método para analizar muestras que contengan este compuesto.
- Análisis de una o varias muestras que contengan una o varias concentraciones conocidas del compuesto para obtener la respuesta debida a dicha concentración.

Alternativamente, se puede analizar una serie de estas muestras con distintas concentraciones de los compuestos de interés si el detector genera una respuesta no lineal. Este proceso se conoce como *calibración multinivel*.

- Análisis de la muestra que contiene una concentración desconocida del compuesto para obtener la respuesta debida a la concentración desconocida.
- Comparación de la respuesta de la concentración desconocida con la respuesta de la concentración conocida para determinar la cantidad del compuesto que está presente.

Para obtener una comparación válida para la respuesta de muestra desconocida a la de la muestra conocida, se deben adquirir y procesar los datos en condiciones idénticas.

Cálculos de cuantificación

ChemStation ofrece los procedimientos de cálculo siguientes para determinar la concentración de cada componente presente en una mezcla:

- Porcentaje
- Normalización
- Estándar externo o ESTD (External Standard)
- % de ESTD
- Estándar interno o ISTD (Internal Standard)
- % de ISTD

Los cálculos utilizados para determinar la concentración de un compuesto en una muestra desconocida dependen del tipo de cuantificación. Cada procedimiento de cálculo utiliza el área o la altura de pico para el cálculo y genera un tipo de informe distinto.

Factores de corrección

Los cálculos de cuantificación utilizan cuatro factores de corrección: el *factor de respuesta absoluta*, el *multiplicador*, el *factor de dilución* y la *cantidad de muestra*. Estos factores se utilizan en los procedimientos de calibración para compensar las variaciones de la respuesta del detector a distintos componentes de muestra, concentraciones, diluciones de muestra, cantidades de muestra y para convertir unidades.

Factor de respuesta absoluta

El factor de respuesta absoluto de un componente de muestra representa la cantidad del componente dividida por el área o la altura medida del pico del componente en el análisis de una mezcla de calibración. El factor de respuesta absoluto, que se utiliza en cada procedimiento de cálculo calibrado, corrige la respuesta del detector para los componentes individuales de las muestras.

Multiplicador

El multiplicador se utiliza en cada fórmula de cálculo para multiplicar el resultado de cada componente. El multiplicador se puede utilizar para convertir unidades en cantidades expresadas.

Factor de dilución

El factor de dilución es un número por el que se multiplican todos los resultados calculados antes de imprimir el informe. Se puede utilizar para cambiar la escala de los resultados o corregir los cambios de una composición de muestra durante el trabajo previo al análisis. También se puede utilizar el factor de dilución para cualquier otra finalidad que requiera la utilización de un factor constante.

Cantidad de muestra

Si se seleccionan los cálculos % de ESTD o % de ISTD, los informes de ESTD e ISTD ofrecen valores relativos en lugar de absolutos, es decir, la cantidad de cada componente se expresa como un porcentaje de la cantidad de muestra. La cantidad de muestra se utiliza en los informes de % de ESTD y % de ISTD para convertir la cantidad absoluta de los componentes analizados en valores relativos dividiendo por el valor especificado.

Procedimientos de cálculo no calibrados

Los procedimientos de cálculo no calibrados no requieren una tabla de calibración.

% de área y % de altura

El procedimiento de cálculo de % de área proporciona el área de cada pico del análisis como un porcentaje del área total de todos los picos del análisis. El % de área no requiere una calibración previa y no depende de la cantidad de muestra inyectada dentro de los límites del detector. No se utiliza ningún factor de respuesta. Si todos los componentes responden del mismo modo al detector y son eluidos, el % de área ofrecerá una aproximación adecuada de las cantidades relativas de los componentes.

El % de área se utiliza por rutina cuando los resultados cualitativos son de interés y para obtener información a fin de crear la tabla de calibración necesaria para otros procedimientos de calibración.

El procedimiento de cálculo de % de altura proporciona la altura de cada pico del análisis como un porcentaje de la altura total de todos los picos del análisis.

Procedimientos de cálculo calibrados

Los procedimientos de cálculo de estándar externo o ESTD (External Standard), de normalización y el cálculo de estándar interno o ISTD (Internal Standard) requieren factores de respuesta y, por lo tanto, una tabla de calibración. En la tabla de calibración se especifica la conversión de respuestas en las unidades seleccionadas mediante el procedimiento seleccionado.

Cálculo ESTD

El procedimiento ESTD es el procedimiento de cuantificación básico en el que se analizan tanto las muestras de calibración como las desconocidas en las mismas condiciones. A continuación, se comparan los resultados de la muestra desconocida con los de la muestra de calibración para calcular la cantidad en la desconocida.

En el procedimiento ESTD, a diferencia del procedimiento ISTD, se utilizan factores de respuesta absolutos. Los factores de respuesta se obtienen a partir de una calibración y luego se almacenan. En los análisis de muestras siguientes, se calculan las cantidades de los componentes aplicando estos factores de respuesta a las cantidades de muestra medidas. Asegúrese de que el tamaño de la inyección de muestra se puede reproducir entre análisis, puesto que no hay ningún estándar en la muestra para corregir las variaciones del tamaño de la inyección o la preparación de la muestra.

Al preparar un informe ESTD, el cálculo de la cantidad de un compuesto determinado de una muestra desconocida se realiza en dos pasos:

- 1** Se calcula una ecuación para la curva que pasa por los puntos de calibración de este compuesto utilizando el tipo de ajuste especificado en el cuadro de diálogo Configuración de calibración o Curva de calibración.
- 2** La cantidad del compuesto en la muestra desconocida se calcula mediante la ecuación que se describe más abajo. Puede que esta cantidad aparezca en el informe o que se utilice en otros cálculos requeridos por los valores Multiplicador, Factor de dilución o Cantidad de muestra antes de que se informe sobre ellos.

Si se selecciona el ESTD, la ecuación utilizada para calcular la cantidad absoluta del componente x es la siguiente:

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

donde:

Response_x es la respuesta del pico x

RF_x es el factor de respuesta del componente x, que se calcula del modo siguiente:

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

M es el multiplicador.

D es el factor de dilución.

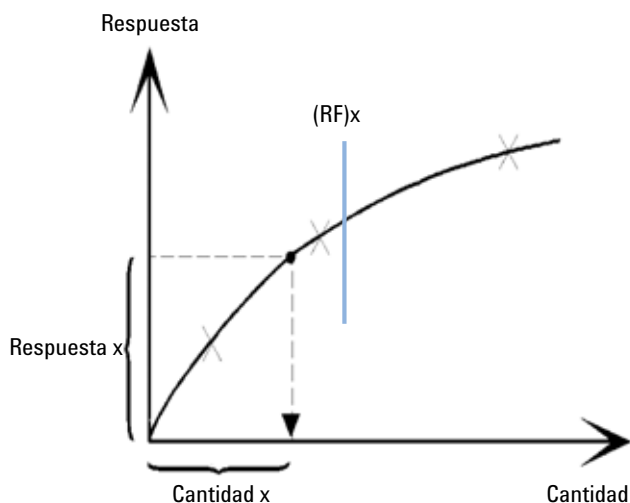


Figura 28 Factor de respuesta

El multiplicador y el factor de dilución se obtienen del cuadro de diálogo **Calibration Settings** o **Sample Information**.

Si se selecciona el informe % de ESTD y la cantidad de muestra es distinta de cero, la cantidad relativa (%) de un componente x se calculará del modo siguiente:

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

donde:

La *cantidad absoluta de x* se calcula tal como se muestra más arriba en el cálculo de ESTD.

5 Cuantificación

Cálculo ESTD

La *cantidad de muestra* se obtiene del cuadro de diálogo Información de muestra o Configuración de calibración para análisis individuales. Si la cantidad de la muestra es cero, se calculará el ESTD.

Cálculo de % Norm

En el método de normalización, se aplican los factores de respuesta a las áreas de picos (o alturas) para compensar los cambios que se producen en la sensibilidad del detector para los distintos componentes de las muestras.

El informe % Norm se calcula del mismo modo que un informe ESTD, con la diferencia de que hay un paso adicional para calcular las cantidades relativas de los compuestos en lugar de las absolutas.

El informe % Norm tiene el mismo inconveniente que los informes % de área y % de altura. Cualquier cambio que afecte al área de pico total afectará al cálculo de concentración de cada pico individual. El informe de normalización sólo debe utilizarse si todos los componentes de interés son eluidos e integrados. Si se excluyen determinados picos de un informe de normalización, cambiarán los resultados del informe de la muestra.

La ecuación utilizada para calcular el % Norm de un componente x es la siguiente:

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

donde:

| | |
|------------------------------------|--|
| Respuesta_x | es el área (o la altura) del pico x, |
| RF_x | es el factor de respuesta, |
| $\sum (\text{Respuesta} \cdot RF)$ | es el total de todos los productos ($\text{Respuesta} \cdot RF$) para todos los picos, incluido el pico x, |
| M | es el multiplicador, |
| D | es el factor de dilución. |

El multiplicador y el factor de dilución se obtienen del cuadro de diálogo **Calibration Settings** o **Sample Information**.

Cálculo ISTD

El procedimiento ISTD elimina los inconvenientes del método ESTD añadiendo una cantidad conocida de un componente, que sirve como factor de normalización. Este componente, el *estándar interno*, se añade tanto a las muestras de calibración como a las desconocidas.

El software recupera los factores de respuesta apropiados obtenidos de una calibración anterior almacenada en el método. El software calcula las concentraciones de componentes mediante la concentración y las áreas de pico o alturas del estándar interno del análisis.

El compuesto utilizado como estándar interno debe ser similar al compuesto calibrado, tanto químicamente como en su tiempo de retención/migración, pero debe ser cromatográficamente distinguible.

Tabla 13 Procedimiento ISTD

| Ventajas | Inconvenientes |
|--|--|
| La variación del tamaño de la muestra no es crítica. | Se debe añadir el estándar interno a todas las muestras. |
| La deriva del instrumento se compensa con el estándar interno. | |
| Los efectos de las preparaciones de muestra se minimizan si el comportamiento químico del ISTD y la muestra desconocida son similares. | |

Si se utiliza el procedimiento ISTD para calibraciones con una característica no lineal, se debe tener cuidado para que los errores resultantes del principio de cálculo no provoquen errores sistemáticos. En las calibraciones multinivel, la cantidad del compuesto ISTD debe mantenerse constante, es decir, la misma para todos los niveles si la curva de calibración del compuesto es no lineal.

En el análisis de estándar interno, la cantidad del componente de interés está relacionada con la cantidad del componente estándar interno por la relación de las respuestas de los dos picos.

En una calibración ISTD de dos análisis, el cálculo de la relación de cantidad corregida de un determinado compuesto de una muestra desconocida se realiza en las fases siguientes:

Análisis 1: Calibración

- 1 Los puntos de calibración se crean calculando una relación de cantidad y una relación de respuesta para cada nivel de un pico determinado de la tabla de calibración.

La relación de cantidad es la cantidad del compuesto dividida por la cantidad del estándar interno a este nivel.

La relación de respuesta es el área del compuesto dividida por el área o la altura del estándar interno a este nivel.

- 2 Una ecuación para la curva que pasa por los puntos de calibración se calcula utilizando el tipo de ajuste de curva especificado en el cuadro de diálogo Configuración de calibración o Curva de calibración.

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

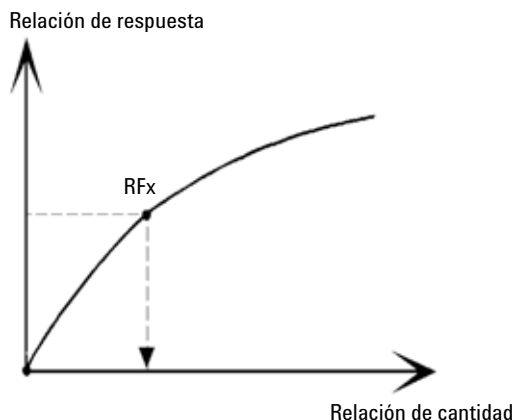


Figura 29 Relación de cantidad

Análisis 2: Muestra desconocida

- 1 Se divide la respuesta del compuesto de la muestra desconocida por la respuesta del estándar interno de la muestra desconocida a fin de proporcionar una relación de respuesta para la muestra desconocida.
- 2 Se calcula una relación de cantidad para la muestra desconocida utilizando la ecuación de ajuste de curva determinada en el paso 2 anterior y la cantidad real de ISTD de la muestra.

Cálculo ISTD de picos calibrados

Las ecuaciones utilizadas para calcular la cantidad real de un componente calibrado para una calibración de un único nivel son las siguientes:

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

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

donde:

RF_x es el factor de respuesta para el compuesto x .

La *cantidad real* de ISTD es el valor indicado en el cuadro de diálogo Configuración de calibración o Información de muestra para el estándar interno añadido a la muestra desconocida.

M es el multiplicador.

D es el factor de dilución.

Si se selecciona el tipo de informe % de ISTD, se utilizará la ecuación siguiente para calcular la cantidad relativa (%) del componente x :

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

Cálculo ISTD de picos no calibrados

Existen dos formas de definir el factor de respuesta que se utiliza para calcular la cantidad para los picos no identificados.

- 1 Se puede utilizar el factor de respuesta fija seleccionado en la casilla Con factor de respuesta del cuadro de diálogo Configuración de calibración. Se puede optar por corregir el factor de respuesta fija especificando una corrección de ISTD.

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

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

RF_x es el factor de respuesta seleccionado en el cuadro de diálogo **Calibration Settings**.

Observará en estas fórmulas que las variaciones de la respuesta ISTD se utilizan para corregir la cuantificación del componente desconocido.

- 2 Utilice un pico calibrado. De este modo, se asegurará de que se utiliza el mismo factor de respuesta para la cuantificación de todos los picos. El factor de respuesta del compuesto seleccionado y los picos no calibrados se corrige durante todas las recalibraciones. Si el factor de respuesta del pico calibrado cambia, el factor de respuesta de los picos no identificados también cambiará con la misma cantidad. Si ya se ha creado una tabla de calibración, se puede seleccionar un compuesto en el cuadro combinado Uso de compuesto del cuadro de diálogo Configuración de calibración.

Las ecuaciones utilizadas para calcular la cantidad real de un pico no calibrado x se indican más arriba.



6 Identificación de picos

| | |
|--|-----|
| Definición de la identificación de picos | 136 |
| Reglas de asignación de picos | 137 |
| Tipos de identificación de picos | 138 |
| Tiempo de retención o migración absoluto | 138 |
| Tiempo de retención o migración corregido | 138 |
| Cualificadores de pico | 138 |
| Límites de cantidad | 139 |
| Tiempo de retención o migración absoluto | 140 |
| Tiempos de retención/migración corregidos | 142 |
| Picos de referencia sencillos | 142 |
| Picos de referencia múltiples | 143 |
| Cualificadores de pico | 144 |
| Correlación de la señal | 145 |
| Verificación del cualificador | 145 |
| Cálculo de la relación de cualificadores | 145 |
| El proceso de identificación | 147 |
| Búsqueda de los picos de referencia | 147 |
| Búsqueda de los picos ISTD | 147 |
| Búsqueda de los picos calibrados restantes | 148 |
| Clasificación de picos no identificados | 148 |

En este capítulo se describen los conceptos de identificación de picos.



Definición de la identificación de picos

Esta función identifica a los componentes de una muestra desconocida basándose en sus características cromatográficas o electroferográficas, determinadas por el análisis de una muestra de calibración bien definida.

La identificación de estos componentes es un paso necesario en la cuantificación si el método analítico la requiere. Las características de la señal de cada componente de interés se guardan en la tabla de calibración del método.

La función del proceso de identificación de picos es comparar cada pico de la señal con los picos guardados en la tabla de calibración.

La tabla de calibración contiene los tiempos de retención o migración esperados de los componentes de interés. Un pico que coincida con el tiempo de retención o migración de uno de los picos de la tabla de calibración recibe los atributos de ese componente, por ejemplo, el nombre y el factor de respuesta. Los picos que no coinciden con ninguno de los picos de la tabla de calibración se clasifican como desconocidos. El proceso se controla mediante:

- el tiempo de retención o migración en la tabla de calibración para los picos designados como picos de referencia de tiempo,
- las ventanas del tiempo de retención o migración especificadas para los picos de referencia,
- los tiempos de retención o migración en la tabla de calibración para los picos calibrados que no son picos de referencia de tiempo,
- la ventana del tiempo de retención o migración especificada para estos picos que no son de referencia, y
- la presencia de otros picos de cualificación en la relación correcta.

Reglas de asignación de picos

Al proceso de asignación de picos se aplican las siguientes reglas:

- si el pico de la muestra aparece dentro de la ventana de asignación de picos de un componente de la tabla de calibración, al pico se le asignan los atributos de ese componente,
- si dentro de la ventana de asignación de picos aparece más de un pico de la muestra, entonces el pico más cercano al tiempo de retención o migración esperado es el identificado como ese componente,
- si un pico es una referencia de tiempo o un patrón interno, el mayor pico de la ventana se identifica como ese componente,
- si también se utilizan cualificadores de picos, se usa la relación del pico combinada con la ventana de asignación de picos para identificar el pico del componente,
- si el pico es un pico cualificador, se identifica el pico medido más próximo al pico principal del compuesto, y
- si un pico de muestra no aparece en ninguna ventana de asignación de picos, se presenta como componente desconocido.

Tipos de identificación de picos

Se pueden utilizar diferentes técnicas para asignar picos de muestras a los de la tabla de calibración del software ChemStation.

Tiempo de retención o migración absoluto

Se compara el tiempo de retención o migración del pico de muestra con el tiempo de retención o migración esperado especificado para cada componente en la tabla de calibración.

Tiempo de retención o migración corregido

Los tiempos de retención o migración esperados de los picos de los componentes se corrigen utilizando los valores de tiempo de retención o migración reales de uno o varios picos de referencia, y el proceso de asignación se realiza utilizando estos tiempos corregidos (relativos). Los picos de referencia deben estar especificados en la tabla de calibración.

Cualificadores de pico

Además de identificar picos por su tiempo de retención o migración, pueden utilizarse cualificadores de picos para obtener resultados más precisos. Si más de un pico aparece en una ventana de tiempo de retención o migración, deben utilizarse los cualificadores para identificar el compuesto correcto.

Límites de cantidad

Los límites de cantidad que se definen en el cuadro de diálogo Detalles de compuesto se utilizan para cualificar la identificación de los picos. Si la cantidad del compuesto identificado está dentro de los límites, la identificación del pico se indica en el informe.

Tiempo de retención o migración absoluto

En el proceso de asignación de picos se utiliza una ventana de tiempo de retención o migración. La ventana de tiempo de retención o migración está centrada en el tiempo de retención o migración de un pico esperado. Cualquier pico de muestra que aparezca en esta ventana se puede considerar candidato para la identificación del componente.

Figura 30 en la página 140 muestra una ventana de tiempo de retención o migración para el pico 2 que está entre 1,809 y 2,631 minutos, cuando el tiempo de retención o migración esperado es de 2,22 minutos. Hay dos posibilidades para el pico 2. Uno es en 1,85 minutos y otro en 2,33 minutos. Si el pico esperado no es de referencia, se selecciona el pico más cercano al tiempo de retención o migración esperado de 2,22 minutos.

Si el pico esperado es una referencia de tiempo o un patrón interno, se selecciona el mayor pico de la ventana.

En ambos casos, ChemStation selecciona el pico en 2,33 minutos. Si los dos picos tuvieran el mismo tamaño, se elige el pico más próximo al centro de la ventana.

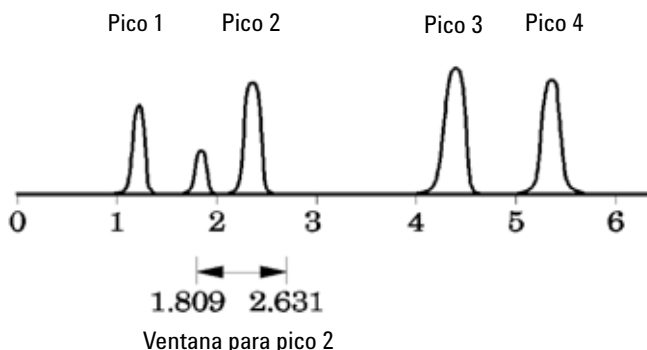


Figura 30 Ventanas de tiempo de retención o migración

Para tratar de localizar picos se utilizan tres tipos de ventanas.

- ventanas de picos de referencia, que se aplican sólo a los picos de referencia,

- ventana de picos que no son de referencia, que se aplican a todos los demás picos calibrados, y
- valores de ventana específicos para componentes individuales que se establecen en el cuadro de diálogo **Compound Details**.

Los valores por defecto de estas ventanas se introducen en el cuadro de diálogo Configuración de calibración. La anchura a ambos lados del tiempo de retención o migración que define la ventana de asignación de picos es la suma de las ventanas absoluta y porcentaje.

Una ventana del 5% significa que el pico debe tener un tiempo de retención o migración por debajo del 2,5% y por encima del 2,5% del tiempo de retención calibrado para ese pico. Por ejemplo, un pico con un tiempo de retención o migración de 2,00 en el análisis de calibración debe aparecer entre 1,95 y 2,05 minutos en los análisis siguientes.

Por ejemplo, una ventana absoluta de 0,20 minutos y una relativa del 10% producen una ventana de tiempo de retención o migración de entre 1,80 y 2,20 minutos.

$1,80 \text{ min} = 2,00 \text{ min} - 0,10 \text{ min} (0,20 \text{ min}/2) - 0,10 \text{ min} (10\% \text{ de } 2,00 \text{ min}).$

$2,20 \text{ min} = 2,00 \text{ min} + 0,10 \text{ min} (0,20 \text{ min}/2) + 0,10 \text{ min} (10\% \text{ de } 2,00 \text{ min}).$

Tiempos de retención/migración corregidos

La asignación de picos por sus tiempos de retención/migración absolutos puede ser sencilla, pero no siempre es fiable. Cada tiempo de retención/migración puede variar ligeramente debido a pequeños cambios en las condiciones o en la técnica. Como resultado, los picos pueden darse fuera de la ventana de asignación de picos y, por tanto, no identificarse.

Una técnica para intentar resolver las inevitables fluctuaciones que ocurren cuando se utilizan los tiempos de retención/migración absolutos, es expresar los tiempos de retención/migración de los componentes en relación a uno o varios picos de referencia.

Los picos de referencia se identifican en la tabla de calibración con una entrada en la columna de referencia de ese pico. La técnica de asignación relativa de picos utiliza el pico o los picos de referencia para modificar la posición de las ventanas de asignación de picos y poder compensar las derivas en los tiempos de retención/migración de los picos de la muestra.

Si no se definen picos de referencia en el método o ChemStation no se puede identificar al menos un pico de referencia durante el análisis, el software utilizará los tiempos de retención/migración absolutos para la identificación.

Picos de referencia sencillos

Se crea una ventana de tiempo de retención o migración para el pico de referencia en torno a su tiempo de retención o migración. El pico mayor que aparece en esta ventana se identifica como el pico de referencia. Se corrigen los tiempos de retención o migración esperados del resto de los picos en la tabla de calibración, en proporción a la relación del tiempo de retención o migración esperado con el tiempo de retención o migración real del pico de referencia.

Picos de referencia múltiples

La corrección de los tiempos de retención o migración con un solo pico de referencia se basa en la suposición de que la desviación del tiempo de retención o migración real respecto a los tiempos de retención o migración esperados cambia de un modo uniforme y lineal según progresa el análisis. A menudo, durante un análisis largo, el tiempo de retención o migración no cambia de manera uniforme. En estos casos se obtienen mejores resultados usando múltiples picos de referencia a intervalos durante el análisis. De esta manera la señal se divide en zonas separadas. Dentro de cada zona se supone que la desviación entre los tiempos de retención o migración cambia linealmente, pero la velocidad del cambio se determina independientemente para cada zona.

NOTA

El algoritmo de corrección del tiempo puede fallar si los tiempos de retención de varios picos de referencia están demasiado próximos entre sí y no se distribuyen en el tiempo total del análisis.

Cualificadores de pico

Puede detectarse un componente con más de una señal. Aunque sea aplicable a todos los formularios de cromatografía con detectores múltiples o detectores capaces de producir señales múltiples, la detección multiseñal se utiliza principalmente en cromatografía de líquidos con varios detectores de longitud de onda y diodo-array. Estos detectores se configuran normalmente de forma que la longitud de onda más próxima al área de absorción mayor se utiliza para definir el pico principal en la tabla de calibración. En [Figura 31](#) en la página 144 es λ_1 .

Las otras dos longitudes de onda adquiridas como señales pueden utilizarse como cualificadores de pico. En la figura, son λ_2 y λ_3 .

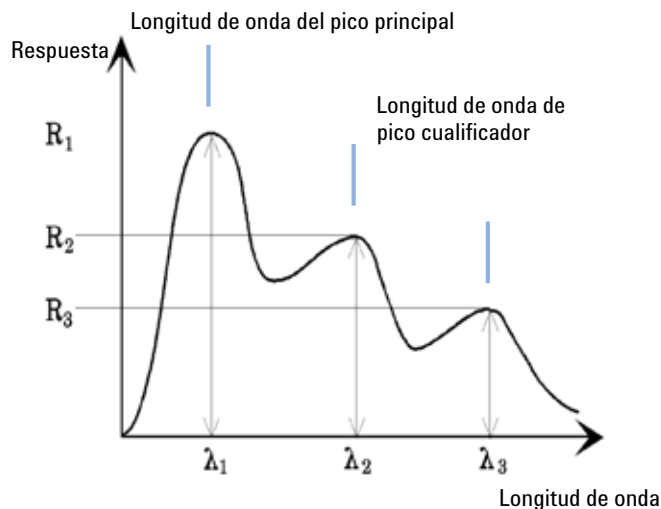


Figura 31 Cualificadores de pico

Los picos de un compuesto tienen una relación de respuesta constante sobre longitudes de onda diferentes.

La respuesta del pico del cualificador es un porcentaje determinado de la respuesta del pico principal. Los límites que determinan el rango aceptable de la respuesta esperada se configuran en la tabla de calibración al seleccionar la

opción Detalles de identificación. Si la relación entre el cualificador del pico principal λ_1 y el pico del cualificador, por ejemplo, λ_3 se encuentra entre los límites permitidos, entonces se puede confirmar la identidad del compuesto.

Correlación de la señal

Correlación de la señal significa que dos picos medidos en señales de detector diferentes en una ventana de tiempo definido están asignados al mismo compuesto. La ventana de correlación de la señal se puede controlar con el parámetro **SignalCorrWin** en la tabla **QuantParm** del registro **_DaMethod**. La correlación de la señal se deshabilita cuando se ajusta la ventana de correlación de la señal a **0.0** minutos (para obtener más información, consulte la *Guía de programación de macros*). Cuando está desactivada la correlación de la señal, los picos que eluyen al mismo tiempo de retención/migración se tratan como componentes diferentes.

La ventana de correlación de la señal predeterminada para datos LC, CE, CE/MS y LC/MS es 0,03 minutos y para datos GC es 0,0 minutos.

Verificación del cualificador

Si se habilita la correlación de la señal, la verificación del cualificador está activa por defecto para todos los tipos de fichero de datos. Puede deshabilitarse fijando el señalizador **UseQualifiers** en la tabla **Quantification Parameters** del método (consulte la guía de programación de macros para ver más detalles). La verificación del cualificador también se deshabilita al desactivar la correlación de la señal.

Cálculo de la relación de cualificadores

Cuando se habilita la verificación de cualificadores de un compuesto, la relación del tamaño del cualificador y del tamaño del pico principal se verifica en relación a los límites calibrados. El tamaño puede ser la altura o el área en función de los ajustes de la base de cálculo del Informe específico.

Los picos del cualificador pueden calibrarse del mismo modo que los compuestos objetivo. El usuario no necesita especificar la relación de cualificador esperada. La relación de cualificador esperada se calcula de forma automática:

ambos se miden en el tiempo de retención del compuesto.

El parámetro QualTolerance define el rango aceptable de la relación del cualificador, por ejemplo, $\pm 20\%$.

La tolerancia es un porcentaje absoluto y puede ajustarse en la interfase de usuario de la tabla de calibración (Detalles de identificación).

Para calibraciones multinivel, ChemStation calcula una tolerancia de cualificador mínima basada en las relaciones del cualificador medidas en cada nivel de calibración. La tolerancia mínima del cualificador se calcula con la ecuación siguiente:

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

donde q_i es la relación del cualificador medido en el nivel i .

El proceso de identificación

Cuando intentamos identificar picos, el software realiza tres pasos a través de los datos de integración.

Búsqueda de los picos de referencia

El primer paso identifica los picos de referencia del tiempo. El software busca, en los tiempos de retención/migración de picos del análisis, correspondencias en las ventanas de retención/migración de los picos de referencia de la tabla de calibración. Un pico del análisis se identifica como pico de referencia en la tabla de calibración si el tiempo de retención/migración del pico del análisis está dentro de la ventana construida para el pico de la tabla de calibración.

Si se encuentra más de un pico en una ventana, el pico con mayor área o altura seguido de una asignación de cualificador de la señal positiva, si se configura, se elige como pico de referencia.

Después de encontrar un pico de referencia, la diferencia entre su tiempo de retención/migración y el proporcionado en la tabla de calibración se utiliza para ajustar los tiempos de retención/migración esperados del resto de los picos de la tabla de calibración.

Búsqueda de los picos ISTD

El segundo paso identifica los picos estándar internos definidos. Si un pico no ha sido ya identificado como ISTD, puede serlo como pico de referencia de tiempo. Los picos ISTD son identificados por ventanas de tiempo de retención/migración y cualificadores de picos. Si se encuentra más de un pico en la misma ventana ISTD, se escoge el pico más grande.

Búsqueda de los picos calibrados restantes

El tercer paso identifica todos los picos restantes enumerados en la tabla de calibración. Los picos de no referencia de la tabla de calibración se asignan a los picos de análisis restantes utilizando la ventana RT.

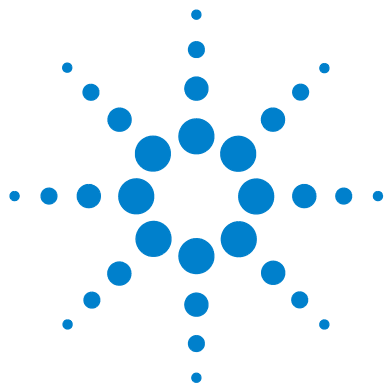
Cada pico calibrado que no sea de referencia tiene su propio tiempo de retención/migración en la tabla de calibración que se ajusta para el análisis concreto en función de la preidentificación de los picos de referencia de tiempo. La ventana de tiempo de retención/migración del pico calibrado se ajusta en función del tiempo de retención/migración corregido del pico calibrado.

Si en la misma ventana se encuentra más de un pico, se escoge aquel con el tiempo de retención/migración más cercano al esperado y que además cumpla las especificaciones del cualificador opcional.

Clasificación de picos no identificados

Si quedan picos sin identificar, hay que clasificarlos como desconocidos. ChemStation intenta agrupar los picos desconocidos que pertenecen a un mismo compuesto. Si se ha detectado un pico en más de una señal, los picos que tengan el mismo tiempo de retención/migración en todas las señales se agrupan en un compuesto.

Se informa sobre los picos desconocidos si se ha realizado la selección correspondiente en el cuadro de diálogo Configuración de calibración.



7 Calibración

| | |
|---|-----|
| Definición de términos | 150 |
| Tabla de calibración | 151 |
| Curva de calibración | 152 |
| Muestras desconocidas | 154 |
| Tipos de calibración | 155 |
| Calibración de un único nivel | 155 |
| Calibración multinivel | 156 |
| Rangos de calibración | 158 |
| Ajustes de la curva de calibración | 158 |
| Tratamiento del origen | 159 |
| Calibración de grupo | 162 |
| Suma de picos | 163 |
| Recalibración | 164 |
| Definición de la recalibración | 164 |
| ¿Por qué recalibrar? | 164 |
| Recalibración manual | 164 |
| Recalibraciones con suma de picos | 165 |
| Opciones de recalibración | 165 |
| Formas de recalibrar | 166 |
| Recalibración de picos no identificados | 166 |

En este capítulo se describe la calibración de ChemStation.



Definición de términos

| | |
|-------------------------------|--|
| Calibración | La calibración es el proceso de determinar los factores de respuesta que se utilizan para calcular las concentraciones absolutas de componentes mediante la inyección de estándares de calibración especialmente preparados. La tabla de calibración se utiliza también para la identificación. Consulte “Identificación de picos” en la página 135. |
| Compuesto | Un compuesto químico incorpora varios picos en una calibración de múltiples señales, normalmente, uno por señal. En calibraciones de una sola señal, un compuesto se refiere a un pico. |
| Nivel de calibración | El nivel de calibración comprende los puntos de calibración de una concentración de muestras de calibración. En una calibración multiseñal, los puntos de calibración pueden distribuirse entre varias señales. |
| Punto de calibración | Un punto de calibración corresponde a una relación cantidad/respuesta de un pico en la curva de calibración. |
| Muestra de calibración | <p>Una muestra de calibración, también llamada estándar de calibración o mezcla estándar, es una muestra que contiene una cantidad conocida del compuesto que se va a cuantificar. En el software, se hace referencia a la muestra de calibración como una inyección desde el vial de la muestra.</p> <p>Las muestras de calibración pueden comprarse a distribuidores de productos químicos o pueden prepararse con una cantidad exactamente medida de un compuesto puro. La cantidad de compuesto en la muestra de calibración se expresa normalmente como una concentración, es decir, en unidades ng/μl.</p> |

Tabla de calibración

La tabla de calibración especifica las conversiones de las áreas o alturas de picos en las unidades elegidas, de acuerdo con el procedimiento de cálculo seleccionado. Contiene una lista de tiempos de retención/migración de un análisis de calibración. Estos tiempos de retención/migración se comparan con los de los picos en un análisis de muestra. Donde se produce una coincidencia, se asume que el pico de la muestra representa el mismo componente que el de la tabla de calibración; consulte [“Identificación de picos”](#) en la página 135. Durante un análisis o mientras se genera un informe, las cantidades que se introducen para cada pico se utilizan para calcular las cantidades del procedimiento de cálculo seleccionado para el informe. El tipo y la cantidad de información requerida para crear una tabla de calibración varía en función del tipo de procedimiento de cálculo seleccionado.

Para crear una tabla de calibración, se necesita la siguiente información:

- el tiempo de retención/migración para el pico de cada componente de una mezcla de calibración, y
- la cantidad de cada componente utilizada para hacer la mezcla de calibración, expresada en unidades coherentes.

Curva de calibración

Una curva de calibración es una presentación gráfica de los datos de cantidad y respuesta de un compuesto obtenidos de una o varias muestras de calibración.

Normalmente se inyecta una porción alícuota de la muestra de calibración, se obtiene una señal y la respuesta se determina calculando el área o la altura del pico, similar a [Figura 32](#) en la página 152.

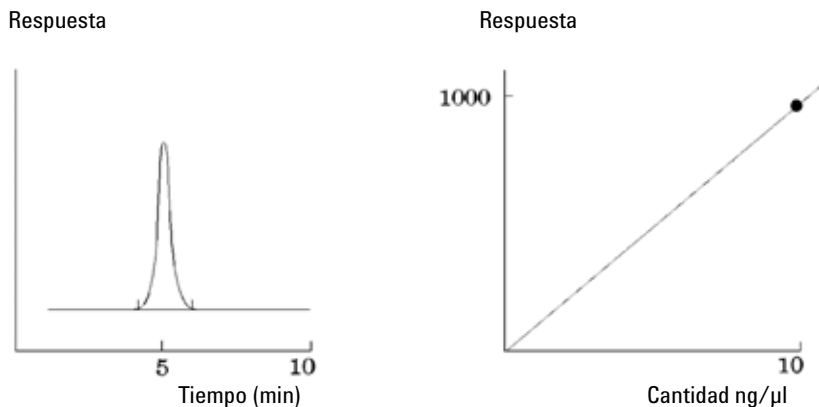


Figura 32 Señal de la muestra de calibración (10 ng/μl) y curva de calibración

El *coeficiente de correlación* se muestra con el gráfico de la curva de calibración. El coeficiente de correlación es la raíz cuadrada del coeficiente de regresión y proporciona la medida del ajuste de la curva de calibración entre los puntos de datos. El valor del coeficiente se da a tres cifras decimales en el rango:

0,000 a 1,000

donde:

0,000 = no hay ajuste

1,000 = ajuste perfecto

Para cada nivel de calibración, se muestra el *resto relativo*, que se calcula con la siguiente fórmula:

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

donde:

relRES = porcentaje de resto relativo

La respuesta calculada representa el punto de la curva de calibración.

La *desviación estándar residual*, que se imprime en algunos informes y cuando se calculan las curvas y tabla de calibración de la impresión utiliza la siguiente fórmula:

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

donde:

rResSTD = desviación estándar residual

Respcalibratedi = respuesta calibrada del punto i

Respcalculatedi = respuesta calculada del punto i

n = número de puntos de calibración

Muestras desconocidas

Una muestra desconocida es una muestra que contiene una cantidad desconocida de un compuesto para cuantificar.

Para descubrir qué cantidad de compuesto hay en la muestra desconocida, es necesario:

- crear una curva de calibración para el compuesto,
- inyectar una porción alícuota de la muestra desconocida y analizarla del mismo modo que la muestra de calibración,
- determinar la respuesta a partir de la señal, es decir, el área o la altura del pico causada por la cantidad desconocida de compuesto y
- utilizar la curva de calibración para calcular la cantidad de compuesto existente en la muestra desconocida.

Por ejemplo, si el área del pico de la muestra desconocida es 500, se puede determinar que la cantidad es 5 ng/μl utilizando la curva de calibración que se muestra en [Figura 33](#) en la página 154.

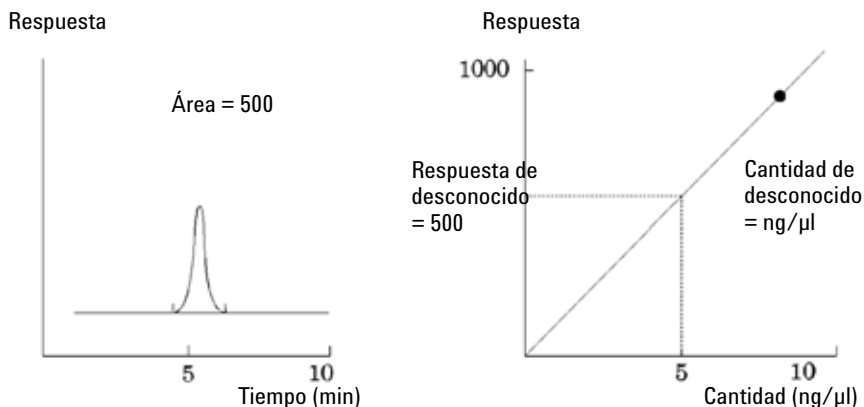


Figura 33 Señal de muestra desconocida y curva de calibración

Tipos de calibración

ChemStation ofrece dos tipos de calibraciones, calibraciones de un único nivel y calibraciones multinivel.

Calibración de un único nivel

La curva de calibración que se muestra en [Figura 34](#) en la página 155 contiene un punto, es decir, un nivel. Para la curva de calibración de un único nivel, se asume que la respuesta del detector es lineal sobre el rango de trabajo de concentraciones para las muestras de interés. El factor de respuesta del pico de un componente dado se obtiene de la inversa de la pendiente de la línea de la curva de calibración entre el punto y el origen. Una desventaja de la calibración de un único nivel es que la respuesta del detector a la concentración de muestra es lineal y pasa a través del origen en un gráfico de concentración frente a respuesta. Esto no siempre es verdad y puede conducir a resultados imprecisos.

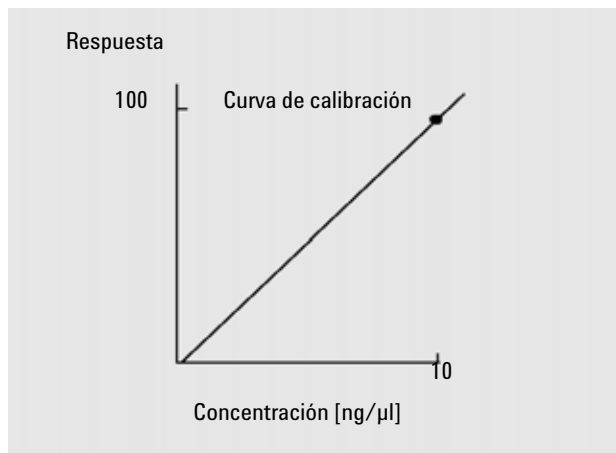


Figura 34 Curva de calibración de un único nivel

Para obtener resultados cuantitativos precisos, la curva de calibración debe tener al menos dos niveles. Estos niveles tendrían que agrupar las cantidades que se esperan encontrar en las muestras desconocidas.

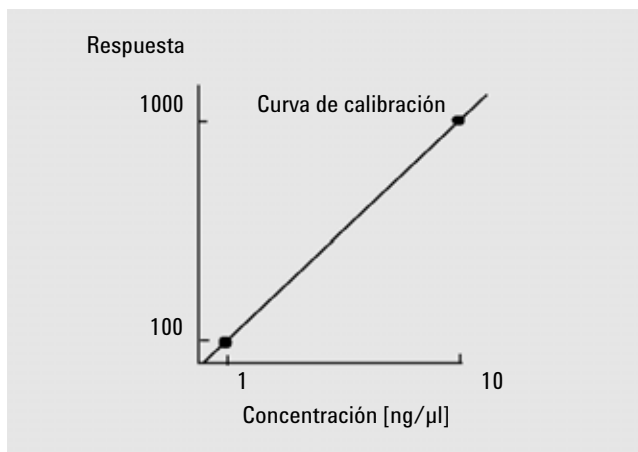


Figura 35 Curva de calibración de dos niveles

Por ejemplo, si desea cuantificar un compuesto y las muestras desconocidas se estiman en un rango de 1 a 10 ng/μl, entonces la curva de calibración tendría que tener al menos dos niveles tal y como se muestra en [Figura 35](#) en la página 156.

Límites de cantidad

ChemStation le permite definir los rangos de cuantificación válidos en términos de cantidades absolutas de cada compuesto.

Calibración multinivel

Se puede utilizar la calibración multinivel cuando no sea lo suficientemente exacta como para asumir que un componente tiene una respuesta lineal o confirmar la linealidad del rango de calibración. Cada nivel de calibración corresponde a una muestra de calibración con una concentración particular de componentes. Las muestras de calibración se prepararán de forma que la concentración de cada componente varíe dentro del rango de concentraciones

esperadas en los ejemplos desconocidos. De este modo es posible permitir un cambio en la respuesta del detector con concentración y calcular los factores de respuesta en consecuencia.

La curva de calibración multinivel tiene tres niveles y muestra un ajuste lineal desde el origen. Este método de ajuste lineal desde el origen es similar a la calibración del método de un único punto. Se asume que la respuesta del detector a la concentración es lineal. La diferencia entre los dos tipos de calibración es que, con el ajuste lineal la pendiente de la respuesta del detector puede determinarse con un mejor ajuste a través de un número de puntos, uno para cada nivel.

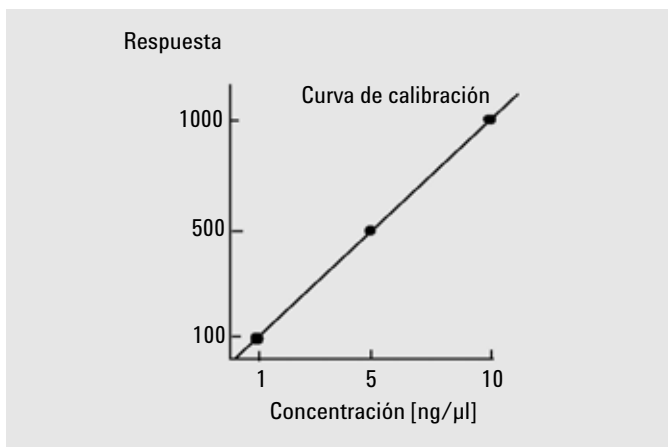


Figura 36 Curva de calibración multinivel con tres niveles

La tabla de calibración correspondiente, que es la tabulación de la información utilizada para generar esta curva, puede parecer similar a la mostrada en [Tabla 14](#) en la página 157.

Tabla 14 Tabla de calibración

| Nivel | Cantidad (ng/μl) | Respuesta (cuentas de área) |
|-------|------------------|-----------------------------|
| 1 | 1 | 100 |
| 2 | 5 | 500 |
| 3 | 10 | 1000 |

En este ejemplo, las muestras de calibración utilizadas para generar los tres niveles se han identificado como 1, 2 y 3.

Rangos de calibración

Cada calibración multinivel es válida para el rango de concentraciones utilizadas en las muestras de calibración. La mejor aproximación es la extrapolación de una curva de calibración, especialmente si no es lineal. El rango de calibración de cada componente puede definirse en el cuadro de diálogo Detalles de compuesto. Cada entrada de ese compuesto puede expresarse como límites inferiores y superiores. Si se exceden estos límites, se anota en el informe.

Ajustes de la curva de calibración

Hay varios cálculos de ajuste de curva disponibles para usar en calibraciones multinivel.

- Lineal de trazos
- Lineal
- Registro
- Alimentación de corriente
- Exponente
- Cuadrático
- Cúbico
- Promedio (respuesta/cantidad)

Ajuste no lineal

En algunos casos, la respuesta del detector a los cambios en la concentración de muestra no es lineal. Para estos tipos de análisis, no es apropiado el método de calibración de regresión lineal y habría que utilizar un cálculo de la calibración multinivel.

Tratamiento del origen

Existen cuatro formas de tratar el origen cuando se representa gráficamente la curva de respuesta:

- ignorar el origen,
- incluir el origen,
- forzar el origen, o
- conectar el origen.

Para forzar la inclusión del origen en la curva de calibración, los puntos de calibración se reflejan sobre el origen desde el primer cuadrante hasta el tercero. La utilización de todos los puntos para el cálculo de la regresión asegura que la curva de calibración resultante pase por el origen. Esto también se describe en [Figura 37](#) en la página 159.

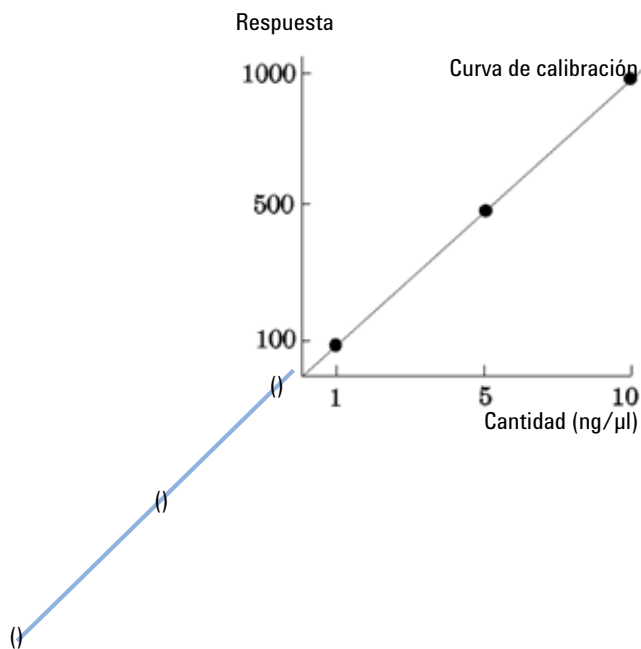


Figura 37 Forzar el origen para incluirlo

Para obtener más información sobre los ajustes de la curva de calibración y tratamiento del origen, consulte el fichero de *ayuda en línea*.

Ponderación del punto de calibración

Cuando se configura la curva de calibración predeterminada, puede especificarse la ponderación relativa (o importancia) de varios puntos de calibración utilizados para generar la curva.

Se pueden seleccionar las siguientes opciones de ponderación:

| Peso | Descripción |
|--------------------|--|
| Igual | Todos los puntos de calibración tienen el mismo peso en la curva. |
| Lineal (Ctd.) | Un punto de calibración con la cantidad x tiene una ponderación $1/x$ normalizada a la cantidad más pequeña, de forma que el factor de peso mayor es 1. La normalización se calcula multiplicando el peso por la cantidad más pequeña. Por ejemplo, el peso de un punto de calibración con la cantidad x es $(1/x) \times a$ donde a es la cantidad menor del compuesto calibrado preparado en los estándares de calibración. Si se incluye el origen se asigna la media de las ponderaciones de otros puntos de calibración. |
| Lineal (Rpta.) | Un punto de calibración con la respuesta x tiene una ponderación $1/y$ normalizada a la respuesta más pequeña, de forma que el factor de peso mayor es 1. La normalización se calcula multiplicando el peso por la respuesta más pequeña. Por ejemplo, el peso de un punto de calibración con la cantidad y es $(1/y) \times b$ donde b es la respuesta correspondiente a la cantidad menor del compuesto calibrado preparado en los estándares de calibración. Si se incluye el origen se asigna la media de las ponderaciones de otros puntos de calibración. |
| Cuadrático (Ctd.) | Un punto de calibración con la cantidad x tiene una ponderación $1/x^2$ normalizada a la cantidad más pequeña de forma que el factor de peso mayor es 1. La normalización se calcula multiplicando el peso con la cantidad más pequeña. Por ejemplo, el peso de un punto de calibración con la cantidad x es $(1/x^2) \times a^2$ donde a es la cantidad menor del compuesto calibrado preparado en los estándares de calibración. |
| Cuadrático (Rpta.) | Un punto de calibración con la respuesta x tiene una ponderación $1/y^2$ normalizada a la respuesta más pequeña de forma que el factor de peso mayor es 1. La normalización se calcula multiplicando el peso con la respuesta más pequeña. Por ejemplo, el peso de un punto de calibración con la respuesta y es $(1/y^2) \times b^2$ donde b es la respuesta correspondiente a la cantidad menor del compuesto calibrado preparado en los estándares de calibración. |
| Nº Calibraciones | Un punto de calibración se pondera según el número de recalibraciones del punto. No se efectúa ninguna normalización |

Las ponderaciones cuadráticas del punto de calibración pueden utilizarse, por ejemplo, para ajustar la dispersión de los puntos de calibración. De esta forma, se asegura que los puntos de calibración más cercanos al origen, que pueden normalmente medirse con más exactitud, tengan mayor peso que los puntos de calibración alejados del origen, que pueden dispersarse.

La decisión de qué tipo de ponderación del punto de calibración utilizar, debería basarse en los requisitos del método.

Calibración de grupo

La calibración de grupo puede aplicarse a compuestos en los que no se conocen las concentraciones de forma individual, sino que se conoce la suma de concentraciones del grupo de compuestos. Un ejemplo son los isómeros para los que se calibran los grupos completos de compuestos. Para ello, se utilizan las siguientes fórmulas:

Calibración

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

donde:

$Conc_{AB}$ es la concentración del grupo de compuestos formada por un compuesto A y uno B

$Respuesta_A$ es el área o altura de un compuesto A

RF_A es el factor de respuesta

Para compuestos pertenecientes a un grupo de compuestos se asumen factores de respuesta iguales:

$$RF_A = RF_B$$

Por tanto, la concentración de un compuesto perteneciente a un grupo se calcula del siguiente modo:

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

Suma de picos

La tabla de suma de picos se proporciona para ciertas aplicaciones de las industrias petroquímica y farmacéutica que pueden realizarse de manera más eficaz con las siguientes funciones:

- Suma de las áreas de picos que se encuentran en un rango especificado por el usuario.
- Suma de las áreas de un rango de picos y cálculos con un solo multiplicador.
- Suma de las áreas de todos los picos con el mismo nombre.

La tabla de suma de picos es similar, con ciertas diferencias, a la tabla de calibración estándar. Como la tabla de calibración, se asocia con el método actual.

NOTA

Es necesario crear una tabla de calibración para un análisis antes de crear la tabla de suma de picos.

Recalibración

Definición de la recalibración

La recalibración es el proceso utilizado para actualizar un nivel de una curva de calibración. Cuando se recalibra se analiza otra muestra que contiene los mismos compuestos de calibración que la original y, lo más importante, la misma cantidad de éstos. Cuando se analiza la muestra de calibración, se obtienen los factores de respuesta y los tiempos de retención/migración actualizados. Puede elegirse realizar la media de los factores de respuesta de un número determinado de análisis de calibración de forma que los factores de respuesta se ponderen por igual.

¿Por qué recalibrar?

La mayoría de las calibraciones tienen una vida limitada debido a los cambios en la cromatografía. La recalibración es necesaria para mantener la exactitud de los análisis. Por ejemplo, se ha creado una tabla de calibración para el compuesto cafeína que se usa cuando es necesario cuantificar muestras que contienen cafeína. En algún momento será necesario reemplazar la columna/capilar. Aunque la columna/capilar se reemplace con una exactamente del mismo tipo, no se comportará exactamente de la misma manera que la columna/capilar anterior cuando se creó por primera vez la tabla de calibración para la cafeína. Por tanto, para asegurar la coherencia, se deben recalibrar los niveles de la tabla de calibración antes de utilizar la nueva columna/capilar para analizar las muestras que contengan cantidades desconocidas de cafeína. De este modo se cuantifican muestras analizadas bajo las mismas condiciones de sistema.

Recalibración manual

Puede introducir manualmente la información de calibración del pico y normalizar la tabla de calibración con la opción Configuración manual del cuadro de diálogo Nueva tabla de calibración. Generalmente, se produce un nuevo

método de calibración analizando una mezcla de calibración estándar, creando una tabla de calibración e introduciendo los picos calibrados para obtener factores de respuesta. Este enfoque no es eficaz para algunas aplicaciones, como en la industria petroquímica, donde se han analizado los mismos compuestos durante muchos años y los factores de respuesta de varios compuestos y detectores están ya disponibles.

Puede crear una tabla de calibración de forma manual introduciendo los picos y los factores de respuesta en la tabla de calibración, recalibrando el método con un estándar que contenga al menos un pico de respuesta de referencia y seleccionando la actualización %Delta.

Recalibraciones con suma de picos

Cuando se realiza una recalibración, los rangos de tiempo de retención/migración en la tabla de suma de picos del método se actualizarán antes de que se proceda con la recalibración real. Las recalibraciones de la suma de picos se realizan de este modo para asegurar que se incorpora el delta en los cálculos de tiempo.

Opciones de recalibración

Existen diferentes formas de actualizar las respuestas en la tabla de calibración con los nuevos datos de calibración.

Promedio

El promedio de los análisis de calibración se calcula con la siguiente fórmula:

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

Promedio flotante

Se calcula la media ponderada de los análisis de calibración. El peso actualizado se fija en el cuadro de diálogo Configuración de recalibración.

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

Sustituir

Los nuevos valores de respuesta reemplazan a los anteriores.

Formas de recalibrar

La recalibración se puede efectuar de dos formas con el software ChemStation. Puede recalibrar de forma interactiva o automática durante una secuencia de análisis automatizados. En la recalibración interactiva el proceso de recalibración se realiza utilizando el software ChemStation después de inyectar una o varias muestras de calibración. En la recalibración con secuencia se debe especificar cuándo se llevará a cabo el proceso, pero la recalibración en sí la sigue realizando el software de automatización. Para obtener más información, consulte [“Recalibración automática”](#) en la página 190.

Si desea información sobre cómo realizar la recalibración con el software, consulte el apartado Cómo... de la ayuda.

Recalibración de picos no identificados

Hay tres formas de recalibrar picos no identificados.

Sin recalibración

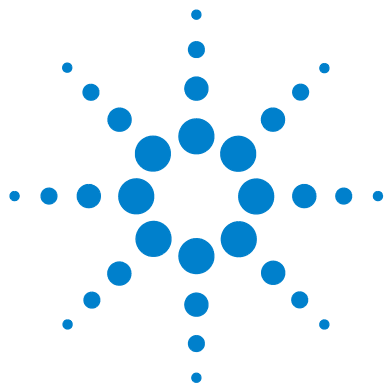
Si un pico de la tabla de calibración no se puede identificar en los resultados de integración, se aborta la calibración. Si esto sucede en una secuencia, también se aborta la secuencia.

Recalibración parcial

Esta función permite la recalibración sólo de los picos identificados. Si faltan picos, no se aborta la calibración pero se anota en el informe que faltan picos.

Recalibración de todos los tiempos de retención/migración

Esta función permite la recalibración del tiempo de retención/migración de todos los picos identificados y no identificados. Para ello se utilizan los tiempos de retención/migración de los picos identificados. Los factores de respuesta de los picos no identificados no se actualizan.



8 Automatización

| | |
|---|-----|
| Definición de la automatización | 171 |
| Definición de una secuencia o plantilla de secuencia | 172 |
| Preferencias: ficha Secuencia | 173 |
| Parámetros de secuencia | 175 |
| Tabla de secuencias | 176 |
| Creación de secuencias(Secuencias y plantillas de secuencias) | 177 |
| Utilización del editor de tablas de secuencias | 177 |
| Utilización del botón de inserción de rango de viales | 177 |
| Utilización del botón de adición de líneas | 177 |
| Utilización del botón de campos personalizados | 178 |
| Uso de secuencias (secuencias y plantillas de secuencias) | 179 |
| Muestras prioritarias | 179 |
| Secuenciación con muestras de control | 179 |
| Interrupción de una secuencia | 179 |
| Cancelación de una secuencia | 180 |
| Pausa de una secuencia | 180 |
| Análisis de una secuencia parcial | 180 |
| Archivo de registro de secuencias | 182 |
| ¿Qué ocurre cuando se analiza una secuencia? | 183 |
| Estructura del fichero de datos de la secuencia (Activar creación de carpeta única) | 185 |
| Asignación de nombres a ficheros de datos en una secuencia | 186 |
| Asignación automática de nombre al fichero de datos durante una secuencia | 186 |
| Introducción manual de nombres de ficheros de datos | 187 |
| Operación postsecuencia | 188 |
| Tiempo de espera para instrumento no listo (sólo LC y CE) | 188 |



| | |
|---|-----|
| Tiempo de espera (sólo LC y CE) | 189 |
| Recalibración automática | 190 |
| Especificación de recalibraciones | 191 |
| Parámetros de recalibración de la tabla de secuencia | 191 |
| Tipos de secuencia | 194 |
| Secuencias de calibración explícita | 195 |
| Secuencias de calibración cíclicas de un único nivel | 196 |
| Secuencias de calibración cíclicas multinivel | 197 |
| Orden de análisis del método A | 198 |
| Orden de análisis del método B | 199 |
| Calibraciones explícitas y cíclicas juntas | 201 |
| Ejemplo | 201 |
| Orden de análisis SimpReg | 202 |
| Secuencias de calibración cíclica con agrupamiento | 203 |
| Ejemplo | 203 |
| Operación de secuencia agrupada | 204 |
| Ejemplo | 204 |
| Secuencias de recalibración cíclica con múltiples viales que contienen la misma dilución de un estándar | 207 |
| Secuencia de recalibración cíclica con uso del vial de calibración "Round-Robin" | 207 |
| Recalibraciones cíclicas en las que cada calibración utiliza un vial diferente | 209 |
| Secuencia de agrupamiento que utiliza viales diferentes para grupo de apertura y cierre | 209 |

En este capítulo se describen los conceptos de automatización. Se explica cómo utilizar secuencias en ChemStation, qué ocurre cuando se analiza una secuencia y cómo personalizar secuencias.

Definición de la automatización

La automatización es el análisis desatendido de más de una inyección.

La parte de secuencias del software ChemStation le permite automatizar la adquisición, evaluar datos y generar informes.

Definición de una secuencia o plantilla de secuencia

Una secuencia es una serie de instrucciones que automatizan el análisis de muestras.

Una secuencia puede utilizarse para inyectar automáticamente cada muestra, obtener los datos y analizarlos según el método especificado para esa muestra. Cada vial de muestra de una secuencia puede analizarse con un método analítico diferente y, por lo tanto, utilizar diferentes conjuntos de condiciones cromatográficas/electroferográficas y parámetros de evaluación.

ChemStation introduce dos modos de almacenamiento de datos que le permiten elegir el modelo de almacenamiento de datos que corresponda a su flujo de trabajo. Estos modos influyen en el uso de la secuencia:

- Activar creación de carpeta única
- Desactivar creación de carpeta única

La activación de la creación de carpeta única para la coherencia de datos de muestra utiliza secuencias como "plantillas de secuencia" que se pueden utilizar para ejecutar la adquisición varias veces; sin embargo, no se utilizan para reprocesar en Método y Control de análisis. Cuando la plantilla de secuencia está activa, se crea un contenedor de datos de secuencia que contiene todos los archivos relacionados. Si se reutiliza la plantilla de secuencia, se crea un nuevo contenedor de datos de secuencias para cada reutilización.

La desactivación de la creación de carpeta única almacena todos los datos en un directorio. Los archivos de secuencia *.s no se utilizan como plantillas de secuencia, con lo que volver a ejecutar la secuencia puede sobrescribir los datos si no se modifica el directorio de datos desde el usuario.

Las secuencias y plantillas de secuencia disponibles (*.s) están visibles en ChemStation Explorer. Para navegar fácil y rápidamente, puede añadir ubicaciones de secuencia o de plantilla de secuencia adicionales al árbol de selección de ChemStation Explorer utilizando la ficha Rutas del cuadro de diálogo Preferencias.

Preferencias: ficha Secuencia

En la ficha Secuencia, el usuario puede escoger dos modelos de almacenamiento de datos diferentes. Estos modos definen la forma en que los datos de la secuencia se almacenan en ChemStation.

Activar creación de carpeta única

En este modo de almacenamiento de datos, existe un vínculo fuerte y permanente entre los datos primarios y el método. Cada fichero de datos, ya se adquiera en una secuencia o en un análisis único, tiene vínculos a, al menos, dos métodos: el método utilizado para adquirir los datos y el utilizado para el análisis de los datos.

Los datos de secuencias se almacenan en un contenedor de datos con un nombre de contenedor de secuencia definido. Puede especificar las convenciones de nomenclatura para los contenedores de secuencias en la ficha Secuencia del cuadro de diálogo Preferencias. Si no se especifica ninguna estructura de nombre, se utiliza una estructura de nombre de secuencia predeterminada. La ficha Secuencia se utiliza sólo para la adquisición de datos y, por tanto, está presente sólo en los sistemas en línea.

La estructura del nombre de secuencia puede contener varias secciones. El sistema crea un nombre para el contenedor de la secuencia de datos determinado por las secciones de estructura del nombre de secuencia que elija. Todos los ficheros de datos, métodos, el libro de registro de secuencias, el archivo nombre_secuencia.s y el archivo nombre_secuencia.b de la secuencia se almacenan en el contenedor de datos de secuencias. El contenedor de datos de secuencias se crea cuando se inicia la secuencia.

Los archivos de secuencias (.s) se utilizan como plantillas de secuencia, concepto que permite ejecutar cualquier secuencia.s varias veces sin sobrescribir los datos existentes y sin cambiar los parámetros de las secuencias. Si no se utiliza ni contador ni tiempo en la estructura del nombre de la secuencia, el sistema introduce un contador de forma automática para evitar que los datos se sobrescriban. A la segunda, tercera y siguientes secuencias que usen la misma plantilla se les añadirá un contador al nombre del contenedor de secuencias.

Desactivar creación de carpeta única

En este modo de almacenamiento de datos, el nombre del método es el único vínculo que existe entre el fichero de datos y el método utilizado para adquirirlo y procesarlo. No se guardan copias del método con la secuencia o el fichero de datos; si se modifica el método o se crea otro con el mismo nombre, no se puede reproducir la secuencia con exactitud. Los ficheros de datos de la secuencia se almacenan según los parámetros especificados en el grupo Fichero de datos del cuadro de diálogo Parámetros de la secuencia; en este modo se desactiva la función de asignación de nombres de secuencia de la ficha Secuencia del cuadro de diálogo Preferencias. Este modo de almacenamiento de datos es idéntico a las revisiones de ChemStation anteriores a B.02.01, por lo que no puede beneficiarse completamente de las últimas funciones de revisión y reprocesamiento de datos de la ventana Análisis de datos de ChemStation.

NOTA

Los datos de la secuencia adquiridos mediante la opción "Desactivar creación de carpeta única" deben reprocesarse con la opción de reproceso de la ventana Método y Control de análisis.

NOTA

Los módulos de expansión G2189BA opción ChemStation OpenLAB y G2181BA ChemStore requieren el modo de preferencia "Activar creación de carpeta única". En cuanto se instala el módulo de expansión en ChemStation, se desactiva la opción "Desactivar creación de carpeta única".

Parámetros de secuencia

El cuadro de diálogo Parámetros de secuencia contiene información común a todos los viales de muestra en una secuencia. Utilice este cuadro de diálogo para:

- seleccionar el directorio de datos del cuadro combinado **Path** e introducir la información del nombre del operador (se muestra el nombre del operador en el cuadro de diálogo del nivel de acceso), y
- especificar cómo debería realizarse el proceso de secuencias escogiendo parámetros específicos de Parte de los métodos que analizar.

Por ejemplo, puede elegir entre:

- ejecutar la lista de control del análisis,
- adquirir sólo, o bien
- realizar sólo el reprocesamiento - para datos adquiridos hasta la Rev. B.01.03 de ChemStation - para datos adquiridos con la opción "Desactivar creación de carpeta única"

NOTA

Los datos de secuencia adquiridos en las revisiones de ChemStation hasta la B.01.03, o bien adquiridos mediante la opción "Desactivar creación de carpeta única", deben ser reprocesados con la opción de reproceso de la ventana Método y Control de análisis.

Los datos de secuencia adquiridos con las revisiones de ChemStation B.02.01 o posteriores deben ser reprocesados con la opción de reproceso en la tabla Navegación de análisis de datos.

Si se selecciona la opción de reproceso (puede utilizar los datos de la muestra definidos en el análisis original) o se activa la casilla de verificación de información de la tabla Secuencia de uso, puede utilizar los datos de muestra actualizados introduciendo nuevos datos en la tabla de secuencias:

- especifique qué ocurre cuando se finaliza la secuencia con los parámetros de desconexión y
- especifique si hay que utilizar códigos de barras en las secuencias y cómo actuar frente a un error en el código de barras (partiendo de que haya un sistema de código de barras instalado en el sistema).

Tabla de secuencias

La tabla de secuencias determina los métodos que se utilizan para analizar los viales de muestra y el orden en el que se analizan. Esta tabla también contiene información de cada muestra, incluyendo el nombre, los parámetros de cuantificación y los parámetros de recalibración.

El cuadro del grupo de inyectores se muestra en los instrumentos que admiten muestreo doble (GC). Si selecciona Delante o Atrás se muestran las líneas de la tabla de secuencia y el estado del inyector en ese momento.

Para describir las columnas de la tabla y el modo en que interactúan con la información almacenada con el método, consulte la ayuda en línea.

Creación de secuencias(Secuencias y plantillas de secuencias)

Utilice la tabla de secuencia para especificar las muestras, métodos y viales que analizar en la secuencia. La tabla de secuencia recoge cada muestra de la secuencia en el orden en que se analizarán y contiene la información de viales, métodos y calibración necesaria para cada muestra.

Utilización del editor de tablas de secuencias

Si desea modificar la visualización y el contenido de su tabla de secuencias, puede abrir el editor de tablas de secuencias pulsando sobre el símbolo de lista que aparece en la esquina inferior derecha de la tabla de secuencias. Una vez abierto, el editor le permitirá especificar si una determinada columna debe aparecer o no en la tabla de secuencias. También permite definir las anchuras correspondientes a cada una de las columnas de la tabla. Dependiendo de las opciones de software instaladas se añadirán campos de columna adicionales, como el campo "Masa de destino" cuando haya un módulo LC/MS instalado o el campo "Estudio" para la instalación adicional de ChemStore.

Utilización del botón de inserción de rango de viales

Si tiene muchas muestras que utilizan el mismo método, puede introducir rápidamente esas muestras en la tabla de secuencias con la función Insertar rango de viales. Esta función copia el nombre del método, el rango de viales, el número de inyecciones por vial y, si especifica la cantidad de muestras, la cantidad ISTD, el multiplicador y la dilución. El sistema introduce entonces la información de cada vial en el rango de la tabla de secuencia.

Utilización del botón de adición de líneas

Para añadir una línea en blanco nueva al final de la tabla de secuencia, pulse el botón Agregar línea.

Utilización del botón de campos personalizados

Si se han configurado campos personalizados en los métodos utilizados en la tabla de secuencias, seleccione Campos personalizados para editar los valores de estos campos para cada muestra (campos personalizados relacionados de muestras) o para cada compuesto en el método de una muestra (campos personalizados relacionados de compuestos).

Uso de secuencias (secuencias y plantillas de secuencias)

Desde el menú Secuencia se pueden crear secuencias y acceder a secuencias (y a plantillas de secuencias). Las secuencias pueden crearse y guardarse del mismo modo que los métodos. Al guardar una secuencia, se crea un fichero con extensión .S. Si desea editar o utilizar una secuencia de nuevo, puede acceder a ésta, por ejemplo, con la opción Cargar secuencia del menú Secuencia.

Muestras prioritarias

Se puede pausar una secuencia que está siendo analizada cuando se haya finalizado el método actual para permitir el análisis de una muestra prioritaria por el mismo o por otro método. Después, la secuencia se puede reanudar y continúa con la muestra en la que se pausó.

Secuenciación con muestras de control

Las muestras de control se pueden especificar en el campo Tipo de muestra de la tabla de secuencia. El método que se utiliza para analizar las muestras de control debe contener una tabla de calibración donde estén especificados los límites de muestras de control de uno de los compuestos. Si se exceden estos límites especificados, la secuencia se interrumpe y se escribe un mensaje en el libro de registros. Si usa uno de los estilos de informe ChemStation, los límites de muestras de control también se imprimen en los informes generados para estos análisis. Para obtener más información sobre cómo definir una secuencia con muestras de control, consulte la sección Cómo... de la ayuda en línea.

Interrupción de una secuencia

El análisis activo se completará antes de que se interrumpa la secuencia. Nunca se puede reanudar una secuencia interrumpida.

Cancelación de una secuencia

Con la función de cancelación finaliza de forma inmediata una secuencia activa.

Pausa de una secuencia

Durante la pausa de una secuencia, no se puede cambiar el nombre del archivo de la tabla de secuencia ni el nombre del fichero de datos. Sólo es posible cambiar en la tabla de secuencia las líneas de secuencia que no se hayan ejecutado y el número de viales en la línea de secuencia actual. Puede añadir, borrar o cambiar las líneas de secuencia para análisis futuros.

Por ejemplo, será necesario editar una secuencia activa para añadir un nuevo lote de muestras. Puede editar la secuencia de modo que los viales sean la siguiente muestra que procese ChemStation después de las muestras de la línea de secuencia que se esté analizando en el momento.

Análisis de una secuencia parcial

Una tabla de secuencia ya configurada puede ejecutarse parcialmente seleccionando Secuencia parcial en el menú Secuencia. El sistema abre el cuadro de diálogo Secuencia parcial y le permite seleccionar muestras individuales de la tabla para analizarlas.

En cada línea del cuadro de diálogo Secuencia parcial se muestra un solo análisis. En cada análisis se proporciona el nombre del vial, del método y del fichero de datos. Además, se muestra la información codificada de la tabla de secuencia y las muestras de calibración en las columnas Tabla de secuencias y Calib:RF:RT respectivamente. Consulte la ayuda en línea para ver una explicación de estos códigos.

Puede obtener una copia en papel de la secuencia parcial seleccionando el botón de impresión.

El cuadro de diálogo Secuencia parcial aparece cuando el método SimpReg y la tabla Secuencia, que se mostrarán después en la [Tabla 20](#) en la página 201 y en la [Tabla 21](#) en la página 202, están en uso. Se marcan las muestras 1, 2, 4, 5 y 8 para procesarlas.

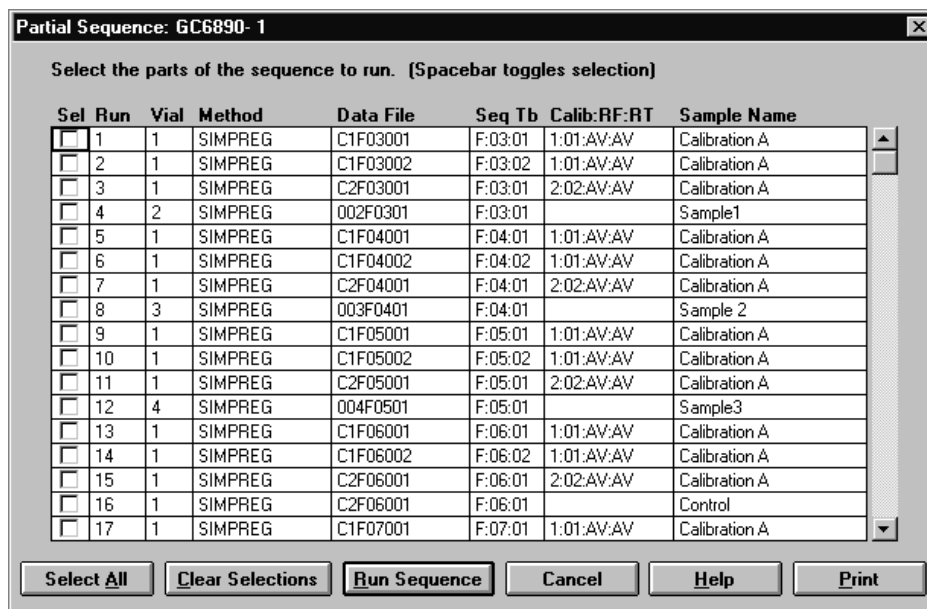


Figura 38 Cuadro de diálogo Secuencia parcial

Secuencia parcial en el modo de preferencia "Activar creación de carpeta única"

Los datos de secuencias se almacenan en un contenedor de datos con un nombre de contenedor de secuencia definido. Si analiza una secuencia parcial, el sistema creará un nuevo contenedor de datos de secuencias basado en la configuración de preferencias cada vez que se analice una parte de esa secuencia. De modo que es posible crear, por ejemplo, tres contenedores de datos de la misma secuencia analizando tres veces una secuencia parcial basada en una secuencia.

Secuencia parcial en el modo de preferencia "Desactivar creación de carpeta única"

Los ficheros de datos de secuencia se almacenan según los parámetros especificados en el grupo de Fichero de datos del cuadro de diálogo Parámetros de la secuencia. Aunque la secuencia se analice parcialmente, todos los ficheros de datos se almacenarán en el mismo subdirectorio.

Archivo de registro de secuencias

Un archivo de registro de secuencias indica qué ha sucedido durante el análisis de secuencias. Resulta útil para identificar cuando se producen errores si la secuencia se analiza de forma desatendida o por la noche. El nombre del archivo de registro tiene siempre extensión .log. El archivo de registro se encuentra en el directorio en el que se almacenan los datos de la secuencia.

¿Qué ocurre cuando se analiza una secuencia?

Inicio de una secuencia mediante "Activar creación de carpeta única",

el sistema crea un contenedor de datos de secuencia basado en la definición de la ruta de los parámetros y en la configuración de preferencias de la secuencia. La plantilla de secuencia *.s. y todos los métodos definidos en la tabla de secuencias que pertenecen a esta secuencia específica se copian al contenedor de datos. El sistema continúa utilizando estos archivos durante la adquisición. Al iniciar la secuencia se carga el método de la línea de secuencia correspondiente en ChemStation desde este contenedor de datos.

Inicio de una secuencia mediante "Desactivar creación de carpeta única"

Al iniciar una secuencia, el sistema carga y se basa en el fichero de secuencia *.s, el método correspondiente de la línea de secuencia de ChemStation se carga en la entrada, en la tabla de secuencias. A diferencia del segundo modo de almacenamiento de datos "Activar creación de carpeta única", no se crea un contenedor de datos. La secuencia y los métodos permanecerán en su directorio maestro.

Otros pasos ejecutados durante el análisis de la secuencia:

Los pasos siguientes se repetirán para cada línea de secuencia analizada:

- Si dispone de inyector automático, el software ChemStation busca en primer lugar la muestra en el inyector automático de acuerdo con el número introducido en la columna de viales
- El instrumento se carga con los parámetros del método.
- Se ejecuta la macro de preanálisis.
- Se inyecta la muestra en el instrumento (manual o automáticamente).
- Se procede con la evaluación de datos del método. Integración, cuantificación y generación de informe, incluyendo cualquier macro específica del usuario. En el caso de que se utilice el modo "Activar creación de carpeta única", el sistema almacena dos métodos adicionales, ACQ.M y DA.M durante el análisis.
- Se ejecuta la macro de post-análisis.

8 Automatización

¿Qué ocurre cuando se analiza una secuencia?

- Durante todo el proceso, ChemStation realiza el seguimiento del progreso de la secuencia en tiempo real y produce un fichero de registro de la secuencia.

Estado de ChemStation

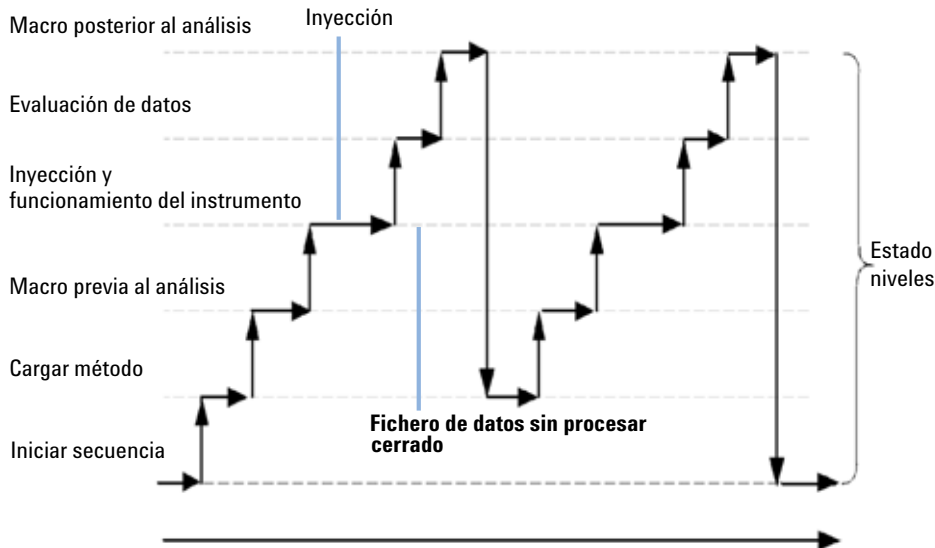


Figura 39 Estado de la secuencia

Estructura del fichero de datos de la secuencia (Activar creación de carpeta única)

En la revisión B.02.01 de ChemStation y posteriores, se ha reforzado el enlace entre los datos no procesados y el método, tal y como se muestra en la figura Estructura del fichero de datos de la secuencia “Activar creación de carpeta única”.

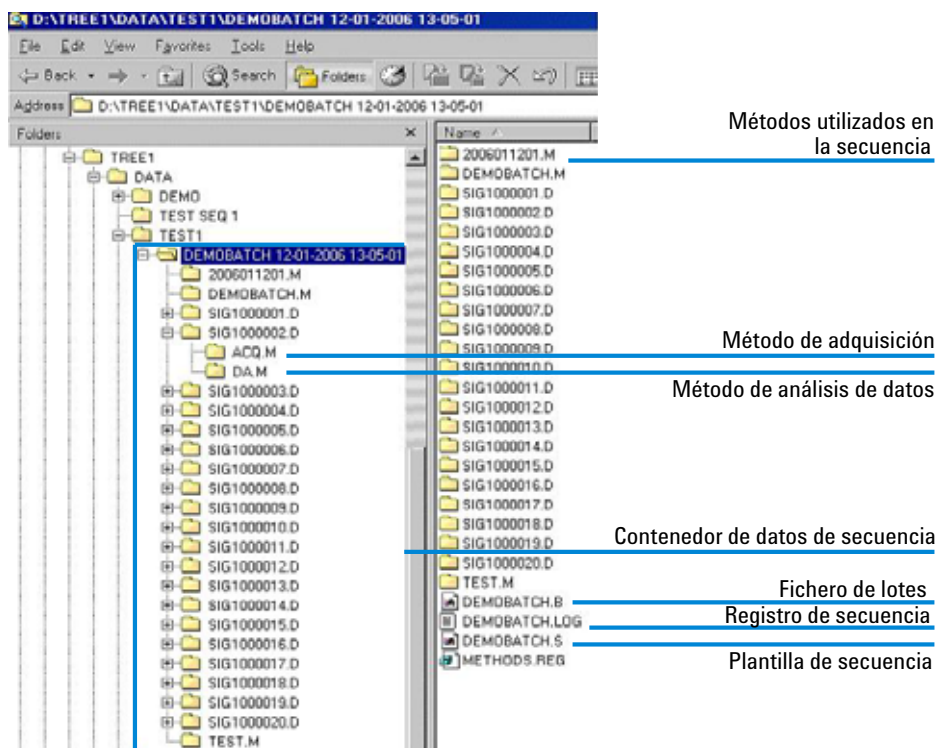


Figura 40 Estructura del fichero de datos de la secuencia

Asignación de nombres a ficheros de datos en una secuencia

Se puede asignar nombres a ficheros de datos en una secuencia de las siguientes formas:

- automática,
- manual o
- prefijo/contador.

Asignación automática de nombre al fichero de datos durante una secuencia

Viales de ejemplo

Por ejemplo 017-0103.D

donde:

- Los tres primeros dígitos son el número del vial, por ejemplo, 017.
- El cuarto dígito en cromatografía de líquidos y electroforesis capilar es un guión de separación (-); en un cromatógrafo de gases, puede ser una (F) para delante o una (B) para atrás.
- Los dígitos quinto y sexto son la línea de secuencia que define el método utilizado, por ejemplo 01 para la primera línea de la secuencia.
- Los dígitos séptimo y octavo son el número de inyección del vial para el método, por ejemplo, 03 para la inyección tercera.

Análisis en blanco

Por ejemplo NV--0499.D

donde:

- NV no se refiere a ningún vial.
- - es un guión de separación.
- 0499 es el análisis en blanco 99 de la línea 4 de la secuencia.

Introducción manual de nombres de ficheros de datos

Una de las columnas de la tabla de secuencia se denomina Fichero de datos. Cuando no contiene entradas, se utiliza el esquema de denominación del fichero de datos especificado (automático o contador de prefijos) para crear el nombre del fichero de datos. Si se introduce un texto en la columna Fichero de datos, ChemStation utiliza este texto como el nombre del fichero de datos para el análisis.

Si se especifica más de una inyección por vial en una línea con nombre del fichero de datos introducido de forma manual, ChemStation automáticamente trunca los caracteres desde el final del nombre introducido por el usuario y añade el número de inyección. De este modo se evita la reutilización del mismo nombre del fichero de datos en varias inyecciones.

Utilización de un prefijo/contador para asignar nombre a ficheros de datos

Si utiliza un prefijo/contador para asignar nombre a ficheros de datos, ChemStation genera un nombre para cada análisis. Para un instrumento que soporta análisis de doble señal como GC, ChemStation genera un nombre para cada señal.

La configuración de las secuencias permite el uso de nombres de fichero largos para el prefijo/contador. El nombre de fichero de datos definido mediante prefijo/contador puede tener hasta quince caracteres más la extensión .d, lo que hace un total de diecisiete caracteres.

El campo de prefijo/contador está sujeto a las reglas siguientes:

- el contador en sí puede tener un máximo de 6 caracteres
- si un prefijo contiene menos de nueve caracteres, el contador se amplía automáticamente a 6 dígitos
- el número que se da al contador es el número de partida incrementado

Tabla 15

| Prefijo | Contador | Nombre de fichero resultante |
|-----------------|----------|------------------------------|
| long | 000001 | long000001 |
| longname | 000001 | longname000001 |
| testwithalongna | 1 | testwithalongna1 |

Operación postsecuencia

Es posible especificar qué ocurre cuando se finaliza una secuencia en una ejecución normal o cuando se produce un error en ChemStation durante la operación de la secuencia. Para la operación LC, esto se realiza activando la casilla de verificación Cmd/Macro postsecuencial de los parámetros de la secuencia, donde puede elegir entre:

- Configurar el sistema en estado STANDBY, en el que la bomba y la lámpara están desactivadas.
- Configurar el sistema en estado LAMPOFF, en el que todas las lámparas están apagadas (sólo LC y CE).
- Configurar el sistema en estado PUMPOFF en el que todas las bombas están apagadas (sólo LC y CE).
- Utilizar la macro SHUTDOWN o modificar SHUTDOWN.MAC para determinar una operación concreta.

Por ejemplo, si desea apagar el sistema antes de finalizar una secuencia. La macro SHUTDOWN podría utilizarse también para configurar el flujo a cero o reducirlo lentamente.

En los parámetros de la secuencia puede especificar la macro personalizada que desea ejecutar incluyendo su nombre en el campo Cmd/Macro postsecuencial y marcando la casilla.

Tiempo de espera para instrumento no listo (sólo LC y CE)

Esta opción de los parámetros de la secuencia es el tiempo que el sistema esperará hasta que un instrumento esté listo; pasado este tiempo, el sistema se apagará.

Tiempo de espera (sólo LC y CE)

Es posible especificar un tiempo de espera que se ejecuta después de cargar el método y antes de inyectar con ese método. Esto puede resultar de utilidad para que la columna/capilar se reequilibre si se utilizan nuevas condiciones de análisis.

Recalibración automática

La calibración se hace normalmente después de producirse un cambio en las condiciones de funcionamiento, por ejemplo, después de cambiar una columna o capilar. La recalibración automática se hace normalmente al inicio de una secuencia de análisis o a intervalos regulares durante una secuencia como parte del programa para compensar los factores que afectan el rendimiento analítico.

Existen dos formas para especificar la recalibración automática de secuencias:

- secuencias de calibración explícita o
- secuencias de calibración cíclica.

Recalibración mediante el modo de preferencia "Activar creación de carpeta única"

Mientras se realiza una recalibración, la tabla de recalibración del método utilizado se actualiza de acuerdo con la configuración del método definido. Al utilizar el modo de almacenamiento de datos "Activar creación de carpeta única", los métodos recalibrados están disponibles en el contenedor de datos. La tabla de calibración del método de secuencia se actualiza durante el proceso. Además, el método DA.M de los ficheros de datos individuales contiene la calibración actualizada utilizada para la creación de resultados.

Recalibración mediante el modo de preferencia "Desactivar creación de carpeta única"

Mientras se realiza una recalibración, la tabla de recalibración del método utilizado se actualiza según la configuración del método definido. Al utilizar el modo de almacenamiento de datos "Desactivar creación de carpeta única", la tabla de calibración del método maestro se actualiza durante la recalibración.

Especificación de recalibraciones

Los parámetros de recalibración de la secuencia se introducen directamente en la tabla de secuencia. Estos parámetros definen cómo se recalibra el método durante una secuencia.

Parámetros de recalibración de la tabla de secuencia

El factor de respuesta y los tiempos de retención/migración pueden actualizarse de varias formas. Las instrucciones utilizadas en el análisis de datos al recalibrar la tabla de calibración son el nivel de calibración, actualizar el factor de respuesta y actualizar los tiempos de retención/calibración.

Cuando se introduce la calibración en la columna Tipo de muestra de la tabla de muestras, se activan y pueden editarse las siguientes columnas:

- Nivel calibr.
- Actualizar RT
- Actualizar RF
- Intervalo

Los posibles valores de cada una de estas columnas se muestran en la tabla.

Tabla 16 Parámetros de recalibración de la tabla de secuencia

| Nivel calibración | Actualizar RT | Actualizar RF | Intervalo |
|---|---------------|---------------|---|
| Nivel de la tabla de calibración nº (1-999) | No actualizar | No actualizar | Intervalo de recalibración cíclica nº (1-999) |
| | Promedio | Promedio | En blanco |
| | Sustituir | Sustituir | |
| | | Agrupar | |
| | | % Delta | |

La tabla muestra las columnas de la tabla de secuencia que contienen los parámetros de recalibración y los valores que pueden introducirse.

No actualizar

No cambia el factor de respuesta ni el tiempo de retención/migración.

Sustituir

Sustituye los tiempos de retención/migración y la respuesta previos (áreas o alturas) por aquéllos sólo del análisis actual. No se cambia la respuesta de picos que no se hayan encontrado en el análisis de recalibración.

Promedio

Promedia los tiempos de retención/migración y las respuestas (áreas o alturas) para cada pico, basándose en el análisis de calibración original y todas las recalibraciones promediadas desde entonces. Si falta un pico de una de las recalibraciones, la respuesta promedio del pico no se verá afectada.

Agrupar

Las muestras se agrupan en calibraciones previas y posteriores a la muestra. La evaluación se efectúa cuando la última muestra de calibración del grupo de cierre se ha analizado. Los datos de calibración existentes se reemplazan por los datos del resultado del análisis de calibración del grupo de apertura. Las calibraciones del grupo de cierre se promedian en la tabla de calibración.

Intervalo

El intervalo determina la frecuencia con la que se realiza una calibración durante una secuencia. La frecuencia de calibración corresponde al número de inyecciones de muestras que se realizan antes de proceder con el siguiente grupo de calibración. Al inicio del análisis, se realiza una calibración y los resultados (factores de respuesta) se introducen en la tabla de calibración. Estos resultados se utilizan en cálculos cuantitativos siguientes. Después de haberse aplicado el número de inyecciones especificado, se realiza otra calibración y los resultados se introducen en la tabla de calibración sobrescribiendo los resultados de los análisis de calibración anteriores.

% Delta

El cálculo % delta permite comparar los factores de respuesta de un análisis con los factores de respuesta que se introducen de forma manual en la tabla de calibración. El % delta se aplica entonces a todos los picos calibrados de la tabla. Puede identificar varios estándares internos, y las mediciones de sus factores de respuesta se utilizarán para calcular los nuevos factores de respuesta de otros picos. Identifique qué estándar interno va a utilizarse para el cálculo de % delta de cada pico en la tabla de calibración.

Tipos de secuencia

Existen los siguientes tipos de secuencia:

- secuencias de calibración explícita,
- secuencias de calibración explícita de un único nivel,
- secuencias de calibración cíclica multinivel,
- calibraciones explícitas y cíclicas juntas en una secuencia y
- secuencias de calibración cíclica con calibraciones agrupadas.

Secuencias de calibración explícita

Este tipo de secuencia recalibra a intervalos definidos especificados por el usuario en la tabla de secuencia.

Para secuencias de calibración explícita, se introducen las muestras de calibración en la secuencia sin una entrada de intervalo en la tabla de secuencia. Se realiza una recalibración una vez para cada entrada de muestra de calibración de la tabla de secuencia.

Secuencias de calibración cíclicas de un único nivel

Este tipo de secuencia utiliza el mismo vial, es decir, la muestra de calibración a intervalos regulares de la secuencia.

La entrada de intervalos de la tabla de secuencias determina cómo se va a realizar la recalibración. Por ejemplo, un valor 2 de intervalo recalibrará cada dos viales de muestra en la secuencia.

Secuencias de calibración cíclicas multinivel

Este tipo de secuencia utiliza muestras de calibración diferentes para recalibrar un método calibrado multinivel.

El ejemplo siguiente describe una secuencia de dos métodos, que comprende el método A y el método B, para analizar dos grupos de muestras. Los dos métodos son de calibración multinivel que se recalibrarán automáticamente en los intervalos definidos.

Para cada método la tabla de secuencia tiene tres entradas:

- Dos niveles de calibración:
 - Líneas de secuencia 1 y 2 en el método A.
 - Líneas de secuencia 8 y 9 en el método B.
- Cinco entradas para las muestras:
 - Líneas de secuencia 3 a 7 en el método A.
 - Líneas de secuencia 10 a 14 en el método B.

Las calibraciones se especifican a intervalos regulares con la entrada del intervalo de recalibración de la tabla Recalibración de secuencias.

- El método A recalibrará cada dos muestras.
- El método B recalibrará cada tres muestras.

La siguiente tabla de secuencia se ha truncado para simplificar el ejemplo.

Tabla 17 Tabla de secuencia para el método A y el método B

| Línea | Vial | Nombre del método | Iny./Vial | Tipo de muestra | Nivel calibr. | Actualizar RF | Actualizar RT | Intervalo |
|-------|------|-------------------|-----------|-----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| 1 | 1 | Método A | 1 | Calibración | 1 | Promedio | No actualizar | 2 |
| 2 | 2 | Método A | 1 | Calibración | 2 | Promedio | No actualizar | 2 |
| 3 | 10 | Método A | 1 | | | | | |
| 4 | 11 | Método A | 1 | | | | | |

Tabla 17 Tabla de secuencia para el método A y el método B

| Línea | Vial | Nombre del método | Iny./Vial | Tipo de muestra | Nivel calibr. | Actualizar RF | Actualizar RT | Intervalo |
|-------|------|-------------------|-----------|-----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| 5 | 12 | Método A | 1 | | | | | |
| 6 | 13 | Método A | 1 | | | | | |
| 7 | 14 | Método A | 1 | | | | | |
| 8 | 3 | Método B | 1 | Calibración | 1 | Promedio | No actualizar | 3 |
| 9 | 5 | Método B | 2 | Calibración | 2 | Promedio | No actualizar | 3 |
| 10 | 20 | Método B | 1 | | | | | |
| 11 | 21 | Método B | 1 | | | | | |
| 12 | 22 | Método B | 1 | | | | | |
| 13 | 23 | Método B | 1 | | | | | |
| 14 | 24 | Método B | 1 | | | | | |

Orden de análisis del método A

En esta sección se describe el orden de análisis del método A, la primera parte de la secuencia de dos métodos.

Tabla 18 Orden de análisis del método A

| Nº iny. | Método | Vial | Operación |
|---------|----------|------|----------------------------------|
| 1 | Método A | 1 | Nivel de calibración 1 e informe |
| 2 | Método A | 2 | Nivel de calibración 2 e informe |
| 3 | Método A | 10 | Análisis de muestras e informe |
| 4 | Método A | 11 | Análisis de muestras e informe |
| 5 | Método A | 1 | Nivel de calibración 1 e informe |
| 6 | Método A | 2 | Nivel de calibración 2 e informe |

Tabla 18 Orden de análisis del método A

| | | | |
|----|----------|----|----------------------------------|
| 7 | Método A | 12 | Análisis de muestras e informe |
| 8 | Método A | 13 | Análisis de muestras e informe |
| 9 | Método A | 1 | Nivel de calibración 1 e informe |
| 10 | Método A | 2 | Nivel de calibración 2 e informe |
| 11 | Método A | 14 | Análisis de muestras e informe |

Orden de análisis del método B

En esta sección se describe el orden de análisis del método B, la segunda parte de la secuencia de dos métodos.

El método B tiene las siguientes diferencias comparado con el Método A:

- Hay dos inyecciones por vial para el nivel de calibración 2. La entrada de intervalo está en 3.

Tabla 19 Orden de análisis del método B

| Nº iny. | Método | Vial | Operación |
|---------|----------|------|----------------------------------|
| 12 | Método B | 3 | Nivel de calibración 1 e informe |
| 13 | Método B | 5 | Nivel de calibración 2 e informe |
| 14 | Método B | 5 | Nivel de calibración 2 e informe |
| 15 | Método B | 20 | Análisis de muestras e informe |
| 16 | Método B | 21 | Análisis de muestras e informe |
| 17 | Método B | 22 | Análisis de muestras e informe |
| 18 | Método B | 3 | Nivel de calibración 1 e informe |
| 19 | Método B | 5 | Nivel de calibración 2 e informe |
| 20 | Método B | 5 | Nivel de calibración 2 e informe |
| 21 | Método B | 23 | Análisis de muestras e informe |
| 22 | Método B | 24 | Análisis de muestras e informe |

Tenga en cuenta que los resultados que se muestran en la [Tabla 18](#) en la página 198 y en la [Tabla 19](#) en la página 199 pueden obtenerse con la opción Secuencia parcial para previsualizar el orden de análisis antes de configurar la tabla de secuencia.

Calibraciones explícitas y cíclicas juntas

- Este tipo de secuencia comprende las calibraciones explícitas y cíclicas en la misma secuencia.
- Esta función permite recalibrar el método completamente al principio de una secuencia (*recalibración explícita*) y actualizar entonces la calibración (*recalibración cíclica*) durante la secuencia.
- Hay que especificar dos líneas de calibración para cada nivel de calibración en la tabla de secuencia. Una línea de calibración es para la entrada de recalibración explícita y la otra es para la entrada de recalibración cíclica.
 - La tabla de secuencia debe tener entradas para cada línea de calibración y todos los viales de recalibración cíclica deben aparecer antes de la recalibración explícita y las entradas de muestra.

Ejemplo

La siguiente tabla de secuencia ilustra un método calibrado de un único nivel denominado SimReg. La tabla está truncada para simplificar el ejemplo.

Tabla 20 Tabla de secuencia para SIMREG

| | | | | | | | | |
|---|---|---------|---|-------------|---|-----------|-----------|---|
| 1 | 1 | SimpReg | 1 | Calibración | 1 | Promedio | Promedio | 3 |
| 2 | 1 | SimpReg | 1 | Calibración | 1 | Sustituir | Sustituir | |
| 3 | 2 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 4 | 3 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 5 | 4 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 6 | 5 | SimpReg | 1 | | | | | |
| 7 | 6 | SimpReg | 1 | | | | | |

Hay dos entradas en un único nivel de calibración.

- La primera línea de calibración es para mismo nivel aunque promedia los parámetros de calibración. La entrada del intervalo especifica que la calibración se realiza cada tres muestras.
- La segunda entrada sustituye todos los parámetros de recalibración, es decir, se realiza una recalibración completa. *No* hay intervalo de recalibración.

Tabla de secuencia

La tabla de secuencia contiene siete líneas. La primera línea especifica la muestra de recalibración cíclica. La segunda línea especifica la recalibración explícita que se realiza sólo una vez al principio de la secuencia. Las líneas de la tercera a la séptima especifican las muestras que hay que analizar.

El orden de las entradas en la tabla de secuencia es muy importante. Las entradas del vial de recalibración cíclica que especifican la recalibración cíclica *deben* aparecer *antes* que las entradas de muestras o de recalibraciones explícitas para el método.

Orden de análisis SimpReg

En esta sección se describe el orden de análisis del método SimReg.

Tabla 21 Orden de análisis SimpReg

| Línea sec. | Nº iny. | Método | Vial | Operación |
|------------|---------|---------|------|----------------------|
| 2 | 1 | SimpReg | 1 | Calibración simple |
| 1 | 2 | SimpReg | 1 | Calibración regular |
| 3 | 3 | SimpReg | 2 | Análisis de muestras |
| 3 | 4 | SimpReg | 3 | Análisis de muestras |
| 4 | 5 | SimpReg | 4 | Análisis de muestras |
| 5 | 6 | SimpReg | 1 | Calibración regular |
| 6 | 7 | SimpReg | 5 | Análisis de muestras |
| 7 | 8 | SimpReg | 6 | Análisis de muestras |

Secuencias de calibración cíclica con agrupamiento

En una secuencia calibrada cíclica con agrupamiento, la tabla de calibración utilizada para calcular resultados cuantitativos desconocidos se genera haciendo el promedio de resultados calibrados ahora con los de la calibración anterior. La tabla de calibración nueva es una representación más exacta de la respuesta del instrumento en el momento de analizar la muestra.

Ejemplo

Considere la situación siguiente:

- La respuesta del instrumento deriva.
- Se especifican tres inyecciones con idéntica mezcla de dos componentes.
- Dos inyecciones están especificadas como muestras de calibración, y la tercera como una muestra.
- La primera y la tercera son ejemplos de calibración.
- La segunda inyección es una muestra.

Para obtener un resultado cuantitativo preciso para la inyección dos (la muestra), deben interpolarse las dos muestras de calibración (consulte la figura). El proceso se conoce como agrupamiento.

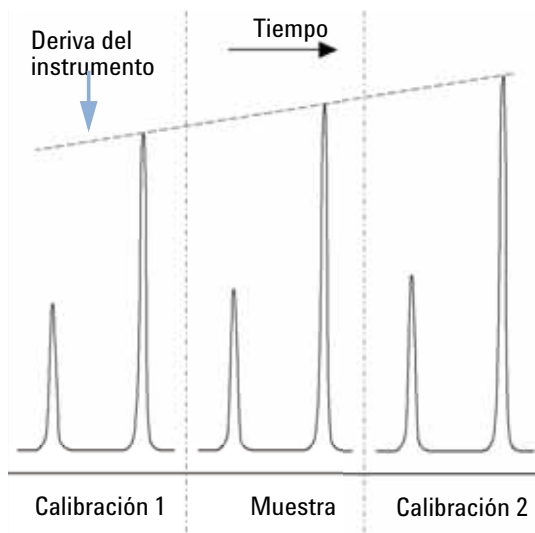


Figura 41 Agrupamiento

Operación de secuencia agrupada

- Se analizan los viales de la primera calibración.
- Se analizan los viales de muestra.
- Se analizan los viales de la siguiente calibración.
- Se crea la tabla de calibración reemplazando los factores de la respuesta existente por otros nuevos y realizando el promedio de los análisis de calibración siguientes en una tabla de calibración nueva.
- Se evalúan los ficheros de datos del vial de la muestra y se generan informes.
- Si hay más viales de muestras que analizar, la secuencia vuelve al paso 2.

Ejemplo

En esta sección se explica un ejemplo de agrupamiento de secuencia que comprende un método llamado Brack.M. El método Brack.M es un método estándar interno de dos niveles que utiliza calibración cíclica.

Tabla de secuencia

La tabla de secuencia de Brack.M (página siguiente) se ha truncado para simplificar el ejemplo. Consta de siete líneas. Las dos primeras líneas definen las condiciones de recalibración de cada nivel. Las líneas restantes corresponden a las muestras que hay que analizar.

Más concretamente, la tabla de secuencia del método Brack.M tiene:

- Una entrada Agrupamiento en la columna Actualizar factor de respuesta que especifica el agrupamiento de muestras con las muestras de calibración.
- Una entrada Sustituir en la columna Actualizar tiempos de retención/migración que especifica una sustitución de los tiempos de retención.
- Una entrada de 3 en la columna Recalibrar intervalo que especifica la recalibración cada tres muestras.

Tabla 22 Tabla de secuencia para BRACK-M

| | | | | | | | | |
|---|----|---------|---|-------------|---|---------|-----------|---|
| 1 | 1 | BRACK-M | 2 | Calibración | 1 | Agrupar | Sustituir | 3 |
| 2 | 2 | BRACK-M | 2 | Calibración | 2 | Agrupar | Sustituir | 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 | | | | | |

Orden del análisis de la secuencia agrupada

| 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

Secuencias de recalibración cíclica con múltiples viales que contienen la misma dilución de un estándar

Secuencia de recalibración cíclica con uso del vial de calibración "Round-Robin"

Cuando analiza una secuencia larga que realiza recalibraciones cíclicas, es decir, realiza una recalibración automática cada cierto número fijado de inyecciones de muestra, existe el riesgo potencial de vaciar el volumen del vial de calibración durante el proceso de la secuencia. La tabla de secuencia de ChemStation proporciona una manera de utilizar una serie de viales que contienen la misma dilución de un estándar que debe utilizarse en un modelo *"round-robin"*.

Con esta funcionalidad, pueden definirse secuencias largas con calibraciones automáticas a intervalos fijos utilizando múltiples viales de calibración para cada nivel y consumiendo de cada vial de calibración la misma proporción.

Si se define un número apropiado de viales de calibración; es posible incluso garantizar que cada vial de calibración se utilice una sola vez. Esto es importante en aquellos casos en los que se requiere un vial de calibración fresco para cada recalibración, por ejemplo, porque el analito se evapora cuando se pincha el septum o comienza a degradarse cuando entra en contacto con la aguja de acero. En la sección siguiente se describe cómo debe definirse la tabla de secuencia de ChemStation para cumplir estos requisitos.

Determine el número total de viales de calibración para cada nivel basándose en el uso estimado de calibrante a lo largo de toda la secuencia.

Configure una línea de recalibración cíclica distinta para cada vial de calibración. Las líneas definidas en el mismo nivel de calibración deben estar en líneas de secuencia adyacentes, y las posiciones de los viales definidas deben ser también adyacentes. Seleccione el mismo intervalo de recalibración para todas las líneas de calibración. Por ejemplo, si tiene que recalibrar la secuencia cada seis inyecciones de muestras, configure el intervalo de recalibración a 6.

Tabla 23 Secuencia de recalibración cíclica con 3 viales definidos para cada nivel

| Vial nº | Nombre de la muestra | Tipo de muestra | Nombre del método | Nº de iny. | Nvl | Act. RT | Act. RF | Intervalo |
|---------|----------------------|-----------------|-------------------|------------|-----|---------|---------|-----------|
| 1 | Cal1a | Calib. | Método A | 1 | 1 | Prom. | Prom. | 6 |
| 2 | Cal1b | Calib. | Método A | 1 | 1 | Prom. | Prom. | 6 |
| 3 | Cal1c | Calib. | Método A | 1 | 1 | Prom. | Prom. | 6 |
| 5 | Cal2a | Calib. | Método A | 1 | 2 | Prom. | Prom. | 6 |
| 6 | Cal2b | Calib. | Método A | 1 | 2 | Prom. | Prom. | 6 |
| 7 | Cal2c | Calib. | Método A | 1 | 2 | Prom. | Prom. | 6 |
| 10 | Muestra10 | Muestra | Método A | 6 | | | | |
| 11 | Muestra11 | Muestra | Método A | 6 | | | | |
| 12 | Muestra12 | Muestra | Método A | 6 | | | | |
| 13 | Muestra13 | Muestra | Método A | 6 | | | | |
| 14 | Muestra14 | Muestra | Método A | 6 | | | | |

El orden de ejecución es:

- Vial 1 (Cal1a)
- Vial 5 (Cal2a)
- 6 inyecciones del vial 10 (Muestra10)
- Vial 2 (Cal1b)
- Vial 6 (Cal2b)
- 6 inyecciones del vial 11 (Muestra11)
- Vial 3 (Cal1c)
- Vial 7 (Cal2c)
- 6 inyecciones del vial 12 (Muestra12)
- Vial 1 (Cal1a)
- Vial 5 (Cal2a)
- 6 inyecciones del vial 13 (Muestra13)
- Vial 2 (Cal1b)
- Vial 6 (Cal2b)
- etc.

Recalibraciones cíclicas en las que cada calibración utiliza un vial diferente

Para garantizar que cada vial de calibración se inyecta una sola vez, la secuencia debe definir un número suficiente de viales de calibración diferentes, de forma que el orden *"round-robin"* descrito en el ejemplo anterior no se aplique. Por ejemplo, si la secuencia procesa 80 viales de muestra con recalibraciones requeridas cada 10 muestras, la tabla de secuencia debe contener $80/10 + 1 = 9$ líneas de calibración en cada nivel.

Como en el ejemplo anterior, las líneas de calibración deben ser líneas de secuencia adyacentes que informan de posiciones de viales adyacentes.

Secuencia de agrupamiento que utiliza viales diferentes para grupo de apertura y cierre

La misma funcionalidad está disponible para las secuencias de agrupamiento. Al definir el rango de viales de calibración aproximado, puede definirse una secuencia de agrupamiento de forma que los distintos viales de calibración se utilicen para los grupos de apertura y cierre. En este caso también las líneas de calibración en la secuencia deben ser adyacentes como las posiciones de los viales de calibración.

La utilización del agrupamiento de viales de calibración en modo *"round-robin"* o para una sola inyección sólo depende del número total de viales de calibración para cada nivel y el número de recalibraciones necesarias para la secuencia.

El siguiente ejemplo define 3 inyecciones de muestra que se agrupan por calibración. El grupo de apertura utiliza un vial de calibración diferente que el grupo de cierre. Se requieren recalibraciones tras cada inyección de muestra, de forma que el intervalo de recalibración sea 1. El número de líneas de calibración por nivel es el número de muestras más una.

Tabla 24 Viales diferentes para los grupos de apertura y cierre

| Vial nº | Nombre de la muestra | Tipo de muestra | Nombre del método | Nº de iny. | Nvl | Act. RT | Act. RF | Intervalo |
|---------|----------------------|-----------------|-------------------|------------|-----|---------|---------|-----------|
| 1 | Cal1a | Calib. | Método A | 1 | 1 | Grp | Grp | 1 |
| 2 | Cal1b | Calib. | Método A | 1 | 1 | Grp | Grp | 1 |
| 3 | Cal1c | Calib. | Método A | 1 | 1 | Grp | Grp | 1 |
| 4 | Cal1d | Calib. | Método A | 1 | 1 | Grp | Grp | 1 |
| 10 | Muestra10 | Muestra | Método A | 1 | | | | |
| 11 | Muestra11 | Muestra | Método A | 1 | | | | |
| 12 | Muestra12 | Muestra | Método A | 1 | | | | |

El orden de ejecución de esta secuencia es:

- Vial 1 (Cal1a), grupo de apertura 1
- Vial 10 (Sample10)
- Vial 2 (Cal1b), grupo de cierre 1 y grupo de apertura 2
- Vial 11 (Muestra11)
- Vial 3 (Cal1c), grupo de cierre 2 y grupo de apertura 3
- Vial 12 (Muestra12)
- Vial 4 (Cal1d), grupo de apertura 3



9

Revisión de datos, reprocesamiento y revisión por lotes

| | |
|--|-----|
| Tabla de navegación de Análisis de datos | 212 |
| Configuración de la tabla de navegación | 212 |
| Barra de herramientas de la tabla de navegación | 213 |
| Revisión de datos con la tabla de navegación | 214 |
| Reprocesamiento de secuencias con la tabla de navegación | 215 |
| Definición de la revisión por lotes | 217 |
| Habilitación de la función de revisión por lotes con la opción ChemStation OpenLAB instalada | 218 |
| Configuración de lotes | 219 |
| Tabla de lotes | 219 |
| Tabla de compuestos | 220 |
| Informe de lotes | 220 |
| Interfase de usuario | 220 |
| Funciones de revisión | 222 |
| Calibración en la revisión por lotes | 222 |
| Informes de lotes | 223 |
| Historial de lotes | 223 |

Este apartado describe las opciones para revisar datos y cómo reprocesar datos de secuencia. Asimismo, se detallan los conceptos de Revisión por lotes, Configuración de lotes, funciones de revisión e informes de lotes.



Tabla de navegación de Análisis de datos

La ventana Análisis de datos incluye una tabla de navegación diseñada para facilitar la navegación por los ficheros de datos. La tabla de navegación muestra los análisis de un subdirectorio de datos seleccionados o de datos de secuencia. Puede utilizar la tabla de navegación para cargar ejecuciones individuales de acceso o para desplazarse automáticamente a través de las señales cargadas. Para obtener más detalles, consulte el manual "Getting Started With New ChemStation Workflow" (Primeros pasos con el nuevo flujo de trabajo de ChemStation).

Configuración de la tabla de navegación

La tabla de navegación muestra la información del fichero de datos en función de los conjuntos de datos disponibles. La tabla de navegación es de solo lectura y no se pueden sobrescribir los valores que contiene.

Tabla 25 Columnas de la tabla de navegación

| Columnas de análisis individuales | Columnas de análisis de secuencias |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Superposición | Superposición |
| Fecha/hora | Línea |
| Operador | Iny. (inyección) |
| Vial | Vial |
| Fichero de datos | Nombre de la muestra |
| Nombre de la muestra | Nombre del método |
| Nombre del método | Tipo de muestra |
| Eventos manuales | Eventos manuales |
| Información de muestra | Nivel Calib. (nivel de calibración) |
| Cantidad de muestra | Información de muestra |
| Cantidad ISTD | Cantidad de muestra |

Tabla 25 Columnas de la tabla de navegación

| Columnas de análisis individuales | Columnas de análisis de secuencias |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| Multiplicador | Cantidad ISTD |
| Dilución | Multiplicador |
| --- | Dilución |
| --- | Fichero de datos |

La tabla de navegación incluye funciones estándar de configuración de tablas, como clasificación y selección y arrastre para mover columnas a lugares diferentes. También es posible seleccionar las columnas que se muestran en la tabla de navegación.

Además, la agrupación específica por columnas es posible; por ejemplo, los análisis individuales de un operador concreto pueden mostrarse agrupando los ficheros cargados por el "operador" columna.

En la tabla de navegación, haciendo clic con el botón derecho del ratón, están disponibles las funciones de carga de una señal, superposición de una señal, exportación de datos, impresión de informes, visualización de los parámetros del método de adquisición, etc. Cada línea de la tabla se puede expandir haciendo clic en el signo más (+) situado a la izquierda de la línea para configurar las opciones específicas de señales:

- *Señal*: enumera las señales adquiridas y permite especificar las señales para cargar. La selección de la señal se aplica a los análisis de forma individual.
- *Información general*: muestra los detalles del título del análisis.
- *Curvas de instrumentos*: permite seleccionar las curvas de datos de instrumentos que mostrar junto con el cromatograma/electroferograma y en la impresión.

Barra de herramientas de la tabla de navegación

La tabla de navegación incluye dos conjuntos de herramientas que le permiten revisar un solo análisis, los datos de una secuencia o reprocesar estos datos.

Conjunto de herramientas de revisión de datos

La función de revisión de la tabla de navegación le permite revisar de forma automática o manual las señales cargadas. En función de la selección especificada en Opciones de preferencias/señal/revisión, el sistema puede integrar de forma automática la señal e imprimir un informe de cada fichero conforme se carga. El método que se aplica al fichero de datos se muestra en el menú superior.

Conjunto de herramientas de reprocesamiento de secuencias

El conjunto de herramientas de reprocesamiento de secuencias sólo está disponible cuando se carga una secuencia adquirida con ChemStation B.02.01 o con una versión posterior adquirida con la opción "Creación de carpeta única" habilitada. Es posible iniciar, detener y poner en pausa el reprocesamiento de la secuencia. Además, con la barra de herramientas puede acceder a los cuadros de diálogo para cambiar el parámetro de reprocesamiento de secuencias e impresión:

- Tabla de secuencia (copia de la plantilla original *.s ubicada en el contenedor de datos de secuencia)
- Cuadro de diálogo Parámetros de secuencia
- Cuadro de diálogo Salida de secuencias
- Cuadro de diálogo Parámetros de resumen de secuencias
- Cuadro de diálogo Parámetros de estadística ampliada
- Guardar secuencia actual
- Imprimir secuencia actual

Revisión de datos con la tabla de navegación

En función del volumen de trabajo que tenga, puede revisar los datos de tres formas:

- 1 Revise los datos de la secuencia utilizando el método individual de cada fichero de datos (datos de secuencia B.02.01 o posterior). Utilice la opción "Método individual de fichero de datos (DA.M)" en Opciones de preferencias/señal/revisión para que el sistema cargue el método de análisis de datos individual (DA.M) almacenado con el fichero de datos antes de cargar los datos de la secuencia. Puesto que durante el proceso de revisión de

datos se accede a cada línea de la tabla de navegación, el DA.M vinculado al fichero de datos seleccionado se carga y se utiliza para revisar y generar el informe. El nombre del método está visible en la barra de estado; el sistema añade datos del fichero de datos entre paréntesis para indicar que el método cargado es el método individual del fichero de datos.

- 2 Revise los datos utilizando el método de secuencia. Utilice la opción “Método de secuencia” en Opciones de preferencias/señal/revisión para que el sistema cargue el método de secuencia correspondiente a la línea actual de la tabla de navegación. Este método se carga siempre que se cargue un fichero de datos y se utilice para revisar y generar el informe. El nombre del método está visible en la barra de estado; el sistema añade la secuencia entre paréntesis (secuencia) para indicar que el método cargado es el método de secuencia correspondiente a la línea actual de la tabla de navegación.
- 3 Revise los datos utilizando un método diferente. Si desea utilizar un método diferente del método de análisis de datos individual (DA.M) almacenado con el fichero de datos o el método de secuencia para revisar los datos, deberá estar seleccionada la opción de método actual en Opciones de preferencias/señal/revisión. En este caso, el sistema utiliza el método cargado en el momento para revisar y generar el informe. El nombre del método está visible en la barra de estado.

NOTA

Para sistemas LC, CE, LC/MS y CE/MS, la opción “Método individual de fichero de datos (DA.M)” está seleccionada por defecto.

Para sistemas GC, la opción “Método actual” está seleccionada por defecto.

Reprocesamiento de secuencias con la tabla de navegación

NOTA

Los datos de secuencia adquiridos en las revisiones hasta la B.01.03 deben volver a procesarse con la opción de reproceso de la ventana Método y Control de análisis. Lo mismo sucede con los datos adquiridos en B.03.01 cuando la creación de carpeta única está desactivada.

Los datos de secuencia adquiridos con las revisiones de ChemStation B.02.01 o posteriores deben ser reprocesados con el conjunto de herramientas de reprocesamiento de la tabla Navegación de análisis de datos.

Para reprocesar con la tabla de navegación de Análisis de datos, todos los ficheros necesarios están en el contenedor de datos de la secuencia:

- ficheros de datos de secuencia (*.d)
- todos los ficheros de métodos (*.m) que se utilizan en la secuencia
- copia de la plantilla de secuencias original (*.s)
- fichero de lotes relacionados con la secuencia (*.b)
- fichero de libro de registro relacionado con la secuencia (*.log)

Durante el reprocesamiento, se actualizan los métodos individuales DA.M de los ficheros de datos, así como el fichero de lotes (*.b).

Con las funciones de reprocesamiento de análisis de datos es posible modificar la plantilla de secuencias (*.s) del contenedor de datos para cambiar el multiplicador, la dilución, etc. o utilizar un método de reprocesamiento diferente. Por defecto, el parámetro de secuencia de reprocesamiento de análisis de datos "parte del método que analizar" está fijado en "Sólo reprocesar" y la opción "Información de la tabla de secuencia de uso" está activada. Los valores predefinidos por defecto le permiten cambiar los parámetros de la plantilla de secuencia y ejecutar un reproceso sin necesidad de volver a editar los parámetros de la secuencia de Análisis de datos.

Si no ha cambiado explícitamente el método en la plantilla de secuencias, el sistema utiliza los métodos de secuencias almacenados en el contenedor de datos de secuencias para reprocesar la secuencia. Estos métodos son los originales utilizados durante la adquisición de datos. Tenga en cuenta que, incluso si se selecciona la opción "Cargar método DA desde fichero de datos" en las Opciones de preferencias/señal/revisión, el sistema utiliza el método del contenedor de secuencias para reprocesar y no el método DA.M de los distintos ficheros de datos.

Si es necesario cambiar los parámetros de un método concreto (por ejemplo, especificar la impresión en un archivo *.xls), hay que modificar y guardar los métodos del contenedor de secuencias. Este cambio general se aplica a todos los ficheros de datos durante el reprocesamiento.

Si desea utilizar el método del contenedor de secuencias actualizado para la adquisición de más datos, es necesario copiar este método del contenedor de datos de secuencias a una de las rutas de métodos definidas. El método nuevo o actualizado estará disponible en ChemStation Explorer, en la ventana de métodos, como método maestro.

Definición de la revisión por lotes

La revisión por lotes es una funcionalidad del análisis de datos diseñada para ayudar a un analista a realizar rápida y fácilmente la primera revisión de los resultados de una secuencia o una selección de análisis. Esta funcionalidad le permitirá ahorrar tiempo, especialmente con el reprocesamiento de grandes cantidades de muestras. Cuando se analiza una secuencia, se genera de forma automática un archivo de lotes (con extensión.b) y se coloca en el directorio de datos junto con los ficheros de datos. Este fichero de datos contiene indicadores de los ficheros de datos de la revisión del lote. Cuando se carga un lote, el analista sólo tiene que seleccionar el método que vaya a utilizar con el lote y después seleccionar uno por uno los ficheros de datos que quiere analizar en el lote. Antes de aprobar los resultados, es posible comprobar la exactitud de la calibración, el rendimiento del instrumento y las diferentes integraciones. Cualquier parámetro de integración específico del cromatograma que se modifique, puede almacenarse con el fichero de datos para la trazabilidad de datos. Este entorno interactivo permite también acceder a todas las funciones de análisis de datos como pureza del pico, búsqueda de librerías, etc.

La revisión por lotes utiliza los mismos registros de análisis de datos (ChromReg y ChromRes) que los análisis de datos estándares y no debería utilizarse en sesiones en línea que estén analizando en ese momento.

Habilitación de la función de revisión por lotes con la opción ChemStation OpenLAB instalada

Cuando la opción ChemStation OpenLAB está instalada, la función Revisión por lotes no estará disponible de forma predeterminada. Para poder utilizar la revisión por lotes, se deberá habilitar dicha función mediante una entrada en la sección [PCS] del fichero ChemStation.ini. El archivo se ubica en el directorio de Windows c:\WINDOWS.

[PCS]

_BatchReview=1

La entrada predeterminada, *_BatchReview=0* desactiva la función.

Configuración de lotes

Un lote es una serie de ficheros de datos que ha seleccionado el usuario y que se procesa según el método definido también por el usuario. Todos los ficheros de datos del lote se procesan con el mismo método. Los pasos de proceso que se realizan cada vez que se carga una nueva muestra para revisar se pueden seleccionar (integración, identificación/cuantificación e informe).

Todos los análisis de calibración del lote se utilizan para generar una sola tabla de calibración con factores de respuesta promediados que se utiliza después para la cuantificación.

Tabla de lotes

Los análisis se muestran en una tabla de lotes que el usuario puede configurar:

- puede especificarse el número y el contenido de las columnas de la tabla;
- los análisis pueden clasificarse por
 - índice de análisis (el orden en el que se adquieren los análisis) independientemente de otros criterios,
 - tipo de muestra (muestras de control primero, luego muestras de calibración, después muestras normales) y por índice de análisis dentro de cada tipo,
 - método (si se utilizó más de un método para adquirir los análisis) y por índice de análisis dentro de cada método,
- muestras, muestras de calibración y muestras de control que se visualizan en la tabla o están ocultas.

Cada análisis seleccionado ocupa una línea en la tabla de lotes. Puede excluir un análisis en la tabla de lotes (por ejemplo, desde la calibración) cambiando el tipo de muestra a Retirada.

Tabla de compuestos

Los resultados de compuestos se muestran en la tabla de compuestos, que el usuario puede configurar, aunque su contenido depende del tipo de muestras de la tabla de lotes:

- La lista de compuestos contiene todos los compuestos del método cargado para la revisión por lotes.
- Si en la tabla de lotes sólo se visualizan las muestras de calibración (se ocultan las muestras y las muestras de control), la tabla de compuestos muestra columnas adicionales con información relacionada con la calibración (cantidad esperada, error relativo y error absoluto).
- Si en la tabla de lotes sólo se muestran los análisis de control (se ocultan las muestras y las muestras de calibración), la tabla de compuestos muestra columnas adicionales de los límites de control definidos).

Para las columnas que contengan información específica del compuesto, es posible incluir el nombre del compuesto en el título de la tabla añadiendo %s a las especificaciones de la columna.

Informe de lotes

El informe de lotes contiene dos tablas generalmente análogas a la tabla de lotes y a la de compuestos; el usuario puede configurar estas tablas.

Para las columnas que contengan información específica del compuesto, es posible incluir el nombre del compuesto en el título de la tabla añadiendo %s a las especificaciones de la columna. Se permiten títulos multilínea; inserte el carácter ‘|’ para introducir un salto de línea.

Interfase de usuario

La revisión por lotes le permite elegir entre dos interfaces de usuario:

- la interfase estándar incluye una barra con los botones que representan la mayoría de las opciones del menú Lote, junto con las tablas de lotes y compuestos.

- una interfase mínima con una barra de botones similar a la interfase estándar, que reemplaza la tabla de lotes y compuestos con un cuadro combinado que contiene sólo la información especificada en la tabla de lotes. La barra de botones de esta interfase mínima no contiene los botones relacionados con la tabla de lotes ni con la tabla de compuestos.

Funciones de revisión

Los ficheros de datos se pueden mostrar de dos formas:

- manualmente, seleccionando un análisis de la tabla para mostrar,
- automáticamente, con un intervalo predefinido entre cada fichero de datos. Durante la visualización automática, sólo aparecen los tipos de muestras visualizados en la tabla; los análisis se muestran en el orden en el que aparecen en la tabla. La revisión automática puede pausarse y reanudarse después, o detenerse.

Las funciones estándar de ChemStation están disponibles con la revisión por lotes. Esto incluye la calibración, la manipulación manual de cromatogramas, por ejemplo con el suavizado o la integración manual. Los cambios realizados en un fichero de datos se pueden marcar y guardar con el fichero de lotes. Los cromatogramas que se han revisado se marcan con un asterisco en la tabla de lotes. También es posible descartar los cambios que se han realizado sólo al cromatograma actual o todos los cambios realizados a todos los cromatogramas del lote.

Cuando se carga un análisis, las opciones de proceso seleccionadas se ejecutan; si ya se ha procesado el análisis y se han guardado los cambios, se carga el análisis procesado. Este proceso es más rápido que cargar un análisis sin procesar, porque no hay que procesar nada.

Calibración en la revisión por lotes

La calibración en las revisiones por lotes trabaja de forma independiente de la configuración de recalibración de la tabla de secuencia. El primer paso en la calibración de lotes siempre sustituye las entradas de los tiempos de respuesta y retención de la tabla de calibración. En los siguientes estándares de calibración, tanto los valores de respuesta como de retención se promedian.

Informes de lotes

La “[Tabla de lotes](#)” en la página 219, que puede configurar el usuario, puede imprimirse directamente por impresora, mostrarse en pantalla o imprimirse en un fichero con el prefijo que el usuario especifique en uno de los siguientes formatos:

- Archivo de texto UNICODE con extensión .TXT.
- Formato de intercambio de datos con extensión .DIF.
- Valores separados por comas con extensión .CSV.
- Formato de Microsoft Excel con extensión .XLS.

Las opciones de generación de informes también ofrecen la posibilidad de ordenar las muestras (por índice de análisis, tipo de muestra o método) independientemente del método de clasificación de la tabla de lotes. Las prioridades de clasificación son las mismas que las de “[Tabla de lotes](#)” en la página 219.

Historial de lotes

La revisión por lotes mantiene un registro de todas las acciones relacionadas con el lote actual. Cualquier acción que cambie el lote (como por ejemplo, cambiar el cromatograma de la pantalla, el tipo de muestra o cargar y guardar el lote) añade una línea al historial de lotes con el nombre y la fecha, el nombre del operador y una descripción de la acción.

También puede añadir sus propios comentarios al historial de lotes. No se pueden editar las entradas del historial de lotes existentes y no se puede acceder a la lista del historial excepto a través de la opción de menú Historial de lotes.

9 **Revisión de datos, reprocesamiento y revisión por lotes**

Informes de lotes



10 Utilización de los informes de ChemStation

| | |
|--|-----|
| Definición de un informe | 226 |
| Elaboración de informes de resultados | 227 |
| Informes no calibrados | 227 |
| Informes calibrados | 227 |
| Informe estándar externo | 227 |
| Informe estándar interno | 228 |
| Informe de los gráficos de control | 228 |
| Resultados cuantitativos | 229 |
| Informes de valores de campos personalizados | 231 |
| Estilos de informe | 232 |
| Adición de un informe personalizado a los estilos de informe | 234 |
| Otros parámetros de estilo del informe | 235 |
| Tabla de picos sumados | 235 |
| Diseño del informe de picos no calibrados | 235 |
| Destino del informe | 236 |
| Formatos del fichero de informes | 236 |
| Elaboración de informes de resumen de secuencias | 238 |
| Introducción | 238 |
| Configuración de un informe de resumen de secuencias | 238 |

En este capítulo se describe qué es un informe. Proporciona detalles de los resultados de la elaboración de informes, resultados cuantitativos, estilos de informe y elaboración de informes del resumen de secuencias.



Definición de un informe

Un informe puede incluir información cuantitativa y cualitativa de las muestras que se analizan. El informe puede ser una copia impresa, información en pantalla o un archivo electrónico. El informe puede incluir detalles de los picos detectados durante el análisis y gráficos de las señales adquiridas.

Elaboración de informes de resultados

Existen dos tipos de informes disponibles:

- Un informe no calibrado que no corrige la respuesta del detector, y
- Un informe calibrado que muestra los resultados corregidos de la diferencia en la respuesta del detector a varios compuestos de la muestra.

Informes no calibrados

Entre los informes no calibrados se incluyen informes de % Área y % Altura. Estos informes se utilizan principalmente para preparar informes calibrados. Pueden resultar de utilidad como informe final si las cantidades de compuesto necesarias para generar el área de una unidad o la respuesta de altura de los compuestos de interés son similares.

Informes calibrados

Los informes calibrados corrigen la diferencia en la respuesta del detector a los compuestos informados. Una o varias muestras de calibración que contengan cantidades conocidas de los compuestos informados deben analizarse en las mismas condiciones que la muestra desconocida. Los datos de integración de estas muestras de calibración se utilizan para preparar una tabla de calibración. Ésta no es más que una lista de los tiempos de retención/migración, cantidades y respuestas que se utilizan en la generación del informe. Los informes calibrados se basan en dos procedimientos de calibración llamados estándar interno y estándar externo.

Informe estándar externo

El informe ESTD (estándar externo) enumera los resultados con las unidades seleccionadas o con cada compuesto como porcentaje de los compuestos presentes. El procedimiento estándar externo requiere que se conozca con exacti-

tud el volumen relativo inyectado de las muestras de calibración y las muestras desconocidas. La fiabilidad del informe estándar externo está limitada por la reproducibilidad de la inyección y otros factores que pueden variar de una muestra a otra.

Informe estándar interno

Las limitaciones del procedimiento estándar externo se pueden superar con el método del estándar interno. Se añade una cantidad exacta conocida de un estándar interno (no necesariamente la misma cantidad), a las muestras de calibración y a la muestra desconocida. La respuesta de cada compuesto de interés se divide por la respuesta de un estándar interno para proporcionar una relación de respuesta. Las curvas de calibración son un gráfico de la relación de respuesta frente a relación de cantidad y esta información se utiliza en el cálculo de los resultados informados. De este modo se anulan los errores inadvertidos en el volumen de la inyección o los cambios ligeros en el sistema cromatográfico/electroferográfico que afectan a los compuestos similares. El informe ISTD enumera los resultados de las unidades seleccionadas.

Informe de los gráficos de control

El Informe de los gráficos de control realiza el seguimiento de un solo resultado a partir de los diferentes análisis de un compuesto calibrado específico. La opción Gráfico de control se instala una vez que ChemStation está en funcionamiento. Los métodos que utilizan esta funcionalidad pasan el seguimiento del resultado a una hoja de cálculo de Microsoft Excel después de cada análisis. Una vez hecho esto, se utiliza Excel para imprimir.

Resultados cuantitativos

El tipo de informe se identifica por el nombre del método de cálculo utilizado para prepararlo, por ejemplo, un informe ISTD. Más adelante se facilita una breve descripción de cada tipo. Los cálculos de cada informe se expresan como “**Resultados cuantitativos**” en la página 229.

El **Area%** genera un informe más sencillo y no requiere datos de calibración puesto que no se realiza la corrección de la diferencia en la respuesta del detector de los componentes de las muestras. El informe % Área es particularmente útil para desarrollar la tabla de calibración que va a utilizarse con otras opciones de los informes. El informe es adecuado para análisis en los que la diferencia en la respuesta del detector de los componentes no es importante.

El informe **Height%** es similar al informe % Área excepto en que se utiliza la altura del pico para los cálculos en vez del área de picos.

En el informe **Norm%** cada componente se indica como un porcentaje de todos los componentes presentes. Los picos de la respuesta del detector se corrigen antes del cálculo del porcentaje de cada uno de ellos.

El informe **ESTD** presenta la cantidad real de cada sustancia presente en las unidades seleccionadas. Las cantidades se calculan con la tabla de calibración previamente establecida. El uso de un estándar externo requiere que se conozca el volumen inyectado de la mezcla de calibración.

El informe **ESTD%** presenta la cantidad relativa de cada sustancia como porcentaje de la muestra inyectada. Las cantidades se calculan con la tabla de calibración previamente establecida. El uso de un estándar externo requiere que se conozca el volumen inyectado de la mezcla de calibración.

El informe **ISTD** presenta la cantidad real de cada sustancia. Las cantidades se calculan con la curva de calibración previamente establecida. El uso de un estándar interno tanto en la muestra como en la mezcla de calibración elimina la necesidad de conocer y controlar el volumen de muestra inyectada. De este modo, también se corrige cualquier variación del rendimiento del instrumento entre los análisis.

10 Utilización de los informes de ChemStation

Resultados cuantitativos

El informe **ISTD%** presenta la cantidad relativa de cada sustancia como porcentaje de muestra inyectada. El uso de un estándar interno tanto en la muestra como en la mezcla de calibración elimina la necesidad de conocer y controlar el volumen de muestra inyectada. De este modo, también se corrige cualquier variación del rendimiento del instrumento entre los análisis.

Informes de valores de campos personalizados

Se pueden añadir al informe los valores de los campos personalizados adjuntos a una muestra determinada de acuerdo con su método de adquisición. Los campos personalizados de muestra se enumeran al final de la cabecera del informe que contiene la información general de la muestra. Los campos personalizados de compuesto aparecen al final del informe.

Estilos de informe

Están disponibles los siguientes estilos de informe:

Para añadir una señal a cualquier estilo de informe, marque la casilla correspondiente en el cuadro de diálogo Especificar informe.

- **None** : no se incluirá ningún texto. Se informará del cromatograma sólo si se selecciona la opción Agregar salida de cromatograma.
- **Short**: contiene resultados de texto cuantitativos de todas las señales integradas configuradas en el cuadro de diálogo Detalles de la señal (sólo LC) o Señal (sólo GC). La anchura de pico del informe breve se calcula con la fórmula más compleja utilizada por el integrador: $PW = 0,3 (IPRight - ILeft) + 0,7 (\text{Área}/\text{Altura})$ donde IPRight y ILeft son los puntos de inflexión.
- **Detail**: consta de cabecera, resultados cuantitativos y curvas de calibración. La cabecera se almacena en un fichero llamado RPTHEAD.TXT en el directorio del método. Puede cambiar la cabecera con un editor de texto para incluir un texto específico de método.
- **Header + Short**: contiene el fichero de cabecera y los resultados de texto cuantitativos. La cabecera se almacena en un fichero llamado RPTHEAD.TXT en el directorio del método. Puede cambiar la cabecera con un editor de texto para incluir un texto específico de método.
- **GLP + Short**: contiene cabecera, información de la muestra, condiciones del instrumento, libro de registro, señal y resultados cuantitativos. La cabecera se almacena en un fichero llamado RPTHEAD.TXT en el directorio del método. Puede cambiar la cabecera con un editor de texto para incluir un texto específico de método.
- **GLP + Detail**: contiene cabecera, información de la muestra, condiciones del instrumento, libro de registro, señal, resultados cuantitativos y curvas de calibración. La cabecera se almacena en un fichero llamado RPTHEAD.TXT en el directorio del método. Puede cambiar la cabecera con un editor de texto para incluir un texto específico de método.
- **Full**: contiene cabecera, información de la muestra, condiciones del instrumento, libro de registro, señales y resultados cuantitativos. La cabecera se almacena en un fichero llamado RPTHEAD.TXT en el directorio del método. Puede cambiar la cabecera con un editor de texto para incluir un texto específico de método.

- **Performance:** genera un informe de acuerdo con los límites especificados en el cuadro de diálogo Editar límites de rendimiento del menú Idoneidad del sistema.

Para métodos no calibrados, los parámetros del informe incluyen el número del pico, el tiempo de retención/migración, el área del pico, la altura del pico, la descripción de la señal, la anchura de pico a media altura (consulte también “[Achura verdadera de pico Wx \[min\]](#)” en la página 258), la simetría, k' , la eficacia (platos) y la resolución de cada pico.

Para métodos calibrados, los parámetros incluyen el número del pico, el tiempo de retención/migración, el nombre del compuesto, la cantidad, la descripción de la señal, la anchura verdadera del pico a media altura, la simetría, k' , la eficacia (platos) y la resolución para cada pico.

La fórmula de anchura del pico más compleja que usa el integrador no es la misma para el cálculo del pico a media altura. Los valores de eficacia y resolución se basan en la anchura del pico calculada. La cabecera del informe comprende toda la información relevante del método, incluyendo instrumentos, columna/capilar, muestra y parámetros de adquisición. La señal se representa también gráficamente.

- **Performance + Noise:** combina el estilo del informe de rendimiento con los cálculos de rangos de ruido definidos en el cuadro de diálogo Editar rango de ruido del menú Idoneidad del sistema. Además, el ruido se da como seis veces la desviación estándar, pico a pico y como ruido ASTM; también se determinan la deriva y la desviación.
- **Performance + Extended:** genera un informe ampliado con todos los parámetros desde los cálculos de rendimiento de pico y los gráficos individuales de cada pico. Los gráficos incluyen la línea base, las tangentes y las anchuras del pico en las alturas definidas. Este tipo de informe incluye sólo picos calibrados.

Además de los parámetros impresos para el estilo del informe de rendimiento, se determinan más parámetros de rendimiento del pico: se imprimen las horas de inicio y fin del pico, sesgo, exceso, anchura del pico, factor de cola USP, intervalo de tiempo entre los puntos de datos, número de puntos de datos, momentos estadísticos, platos, platos por metro, selectividad y resolución de cada pico. Se calculan la anchura de pico, los platos, los platos por metro, la selectividad y la resolución por la anchura media verdadera, 5 sigma, la tangente y los métodos de colas (si desea más información consulte “[Definiciones del test de rendimiento](#)” en la página 256).

La cabecera comprende toda la información relevante del método, como instrumento, columna/capilar, muestra y parámetros de adquisición y un gráfico de la señal. Para ver una lista completa de los algoritmos del parámetro de rendimiento del pico, consulte [“Definiciones del test de rendimiento”](#) en la página 256.

Los estilos de informe espectrales (**Short + Spectrum**, **Detail + Spectrum**, **Performance + Library Search**) se describen en *Familiarización con el módulo de espectros*.

Adición de un informe personalizado a los estilos de informe

Es posible añadir una plantilla de informe personalizada creada en la ventana Diseño del informe de ChemStation a la lista de estilos de informe disponibles.

NOTA

Todos los informes, excepto los de rendimiento, enumeran las anchuras de picos calculadas con una fórmula más compleja por el integrador (para obtener más detalles sobre el cálculo de la anchura del pico, consulte [“Anchura de pico”](#) en la página 83).

Otros parámetros de estilo del informe

Tabla de picos sumados

La tabla de suma de picos se proporciona para ciertas aplicaciones de las industrias petroquímica y farmacéutica que pueden realizarse de manera más eficaz con las siguientes funciones:

- Suma de las áreas de picos que se encuentran en un rango especificado por el usuario.
- Suma de las áreas de un rango de picos y cálculos con un solo multiplicador.
- Suma de las áreas de todos los picos con el mismo nombre.

Cuando se genera el informe, ChemStation utiliza la tabla de sumas de picos para generar un informe que se imprime tras los cálculos del informe estándar a excepción de % Norm, que se reemplaza por el informe de suma de picos.

Diseño del informe de picos no calibrados

Para cambiar el diseño del informe de picos no calibrados elija una opción de las siguientes en el cuadro de diálogo Especificar informe.

- Informar por separado de los picos no calibrados en una tabla diferente si se selecciona la clasificación por retención/migración, o tablas separadas si se selecciona la clasificación por señal.
- Con la opción Picos calibrados puede informar de los picos no calibrados junto con los picos calibrados.
- Utilice Sin informe para eliminar del informe los picos no calibrados.

Destino del informe

El informe se puede enviar a:

- Pantalla

El informe, incluido el texto y los gráficos, se muestra en pantalla en la ventana de previsualización del informe desde la que se puede imprimir.

- Impresora

El informe con el texto y los gráficos se imprime en la impresora seleccionada.

- Fichero

El informe se graba en un fichero. Si los datos se graban en un fichero, es posible volver a procesarlos con otro programa, por ejemplo, Microsoft Windows EXCEL.

Formatos del fichero de informes

Un informe se puede guardar en diferentes formatos. Cada uno de estos formatos tiene una extensión concreta. Es posible seleccionar más de un formato para un informe.

.TXT El texto del informe se imprime como un fichero de texto UNICODE.

.EMF Cada gráfico del informe (curva de señales o de calibración) se guarda en un metaarchivo de Microsoft Windows (WMF). Puede haber más de un fichero .WMF para un informe. El formato del fichero generado es el formato estándar de metaarchivos de Microsoft según se define en la documentación de desarrollo de software de Windows. Estos ficheros son compatibles con el formato APM (Aldus Placeable Metafile) que utilizan muchos paquetes de software propietario.

.DIF Los datos del informe tabulado se guardan en el formato de intercambio de datos (DIF). Los programas de hojas de cálculo utilizan este formato como, por ejemplo, Microsoft Windows EXCEL. Independientemente del estilo de informe que seleccione, sólo se guardará la información contenida en el informe tipo Short.

.CSV El informe en formato de valores separados con comas (CSV). Es un formato muy sencillo para datos tabulados que muchos programas de hojas de cálculo y bases de datos aceptan. Independientemente del estilo de informe que seleccione, sólo se guardará la información contenida en el informe de tipo "Short".

Pueden existir varios archivos .DIF y .CSV para un único informe. Para cada bloque de informes, el primer fichero, por ejemplo REPORT00.CSV, contiene información de la cabecera del informe. Los ficheros siguientes contienen los resultados tabulados.

Si los resultados se clasifican por el tiempo de retención/migración, sólo se requiere un fichero para la tabla completa, por ejemplo, REPORT01.CSV.

Si se clasifican los resultados por señal, se requiere una tabla diferente para cada señal. En este caso, los nombres asignados a los ficheros son Report01.CSV hasta ReportNN.CSV, donde NN es el número de la señal.

.XLS El informe se transfiere a una hoja de cálculo de Microsoft Excel en formato XLS. Los datos, por lo general, requieren procesamiento adicional.

.PDF El informe se imprime en un fichero .pdf. Para los informes en .pdf ChemStation utiliza la impresora PDF novaPDF Pro Server v5. La licencia de esta impresora sólo es válida para imprimir desde ChemStation. Si desea utilizar la impresora para otras aplicaciones, deberá comprar la licencia pertinente para tal fin.

Elaboración de informes de resumen de secuencias

Introducción

ChemStation puede imprimir una variedad de informes estándar para el análisis de muestras individuales. La elaboración de informes de resumen de secuencias es una forma adicional de elaborar informes que le permite calcular e informar de los parámetros de un número de análisis diferentes. Es útil, por ejemplo, comprobar la estabilidad de un instrumento y la robustez de un método nuevo.

Un informe de resumen de secuencias incluye:

- Una página de título
- La configuración del instrumento, incluyendo los números de revisión del instrumento y detalles acerca de la columna/capilar empleada
- Las listas de la tabla de secuencia que describen lo que haría una secuencia automatizada de análisis
- Descripciones del libro de registros de lo que hizo la secuencia y de los resultados inesperados que ocurrieron en la secuencia
- Listas de métodos
- Informes individuales de cada ejemplo
- Estadísticas de los análisis basadas en los criterios seleccionados (*sólo se calculan las estadísticas de los compuestos calibrados*) y
- Un índice general con las referencias del número de páginas de las secciones detalladas del informe.

Configuración de un informe de resumen de secuencias

Cuando se configura un informe de resumen de secuencias, es posible seleccionar una combinación de las nueve categorías siguientes activando las casillas de verificación correspondientes y, si lo cree conveniente, seleccionando un estilo para el informe de las plantillas existentes. Cada plantilla tiene unos contenidos y diseño diferentes de las distintas secciones del informe de resumen de secuencias entero.

Puede elegir cualquiera de los estilos del informe de resumen de secuencias siguientes:

Una página de cabecera

La plantilla GLP imprime GLP en letras grandes como una página de título para el informe siguiente. Se incluye la fecha y se destina un lugar para la firma.

Configuración

Seleccione Configuración si desea incluir la configuración del instrumento y las especificaciones de la columna/capilar en el informe.

Tabla de secuencia

Seleccione la tabla de secuencia para incluir una lista de las secuencias, parámetros de cuantificación de muestras y nombres de los métodos en el informe. La lista muestra los análisis efectuados por el sistema.

Libro de registro

Seleccione Libro de registro para obtener una lista de los análisis que ha realizado el sistema, incluyendo las condiciones del instrumento y los hechos inusuales que ocurrieron mientras se analizaban las muestras.

Métodos

Seleccione Métodos para realizar una lista de los métodos analíticos que se utilizaron en la serie de análisis automatizados.

Informes de análisis

Seleccione Informes de análisis para realizar informes de los diferentes análisis con el estilo de informe que configuró para el método.

Los informes de análisis individuales pueden imprimirse después de cada análisis según el estilo de informe que especificó para el método en cuestión y las secciones de informe especificadas en Informes de resumen de secuencias. Véase "Salida de secuencias".

SUILabel Type = "Application">Estadísticas de análisis calibrados y de muestras

Si selecciona Análisis estadísticos de calibración se realizarán análisis de tendencias estadísticas de las muestras de calibración. Si selecciona Análisis estadísticos de muestras, se realizarán análisis de tendencias estadísticas de los análisis de muestras (desconocidas). Para estas selecciones están disponibles los estilos de plantilla Estadística estándar y Estadística ampliada. Estadística ampliada imprime las estadísticas de los análisis como gráficos, mientras que si selecciona Estadística estándar se imprime sólo el texto. Las selecciones que realice en los cuadros de diálogo Elementos y Límites de estadística ampliada se utilizan sólo cuando elija la opción Estadística ampliada en el cuadro de diálogo Parámetros de resumen de secuencias.

Si selecciona la opción Estadística estándar en el cuadro de diálogo Parámetros de resumen de secuencias, las estadísticas de las que se informa son:

- tiempo de retención/migración,
- área,
- altura,
- cantidad,
- anchura de pico (basada en el estilo del informe; consulte [“Estilos de informe”](#) en la página 232)
- y simetría.

El cálculo de estadísticas no distingue entre niveles de calibración diferentes en una secuencia que utiliza métodos de calibración multinivel. Esto significa que las opciones dependientes de la concentración como, por ejemplo, el área, la altura o la cantidad (consulte el cuadro de diálogo Elementos y Límites de estadística ampliada) se aúnan, independientemente del nivel de calibración. Los valores de las estadísticas de análisis de calibración no son útiles para los métodos de calibración multinivel en secuencias.

Resumen

La selección Resumen imprimirá una introducción de la serie de muestras analizada y de los métodos utilizados. Si se selecciona la opción Resumen junto con otras selecciones de resumen de secuencias, se incluyen los números de página con información de otras partes del informe de resumen de secuencias. Existen dos estilos de resumen disponibles:

Los detalles tabulados del Resumen de muestra de los análisis de muestras de la secuencia con alguna información de las muestras como el nombre de la muestra, el nombre del fichero de datos, el método y el número de vial.

La información de Resumen compuesto tabula los análisis de muestras con los resultados de cuantificación básicos de cada compuesto calibrado o de cada pico, dependiendo del tipo de informe que se especifique en el método.

Salida de secuencias

Puede definir también en el cuadro de diálogo Salida de secuencias donde va a imprimir el informe de resumen.

Seleccione Informe en archivo e introduzca en nombre del fichero para imprimir el informe en el fichero seleccionado. Viene configurado por defecto que los datos se guarden en el fichero GLPrprt.txt. En sistemas GC con inyección dual los datos se guardan en GLPrptF.txt y GLPrptB.txt, para el inyector delantero y el inyector trasero respectivamente.

Si selecciona Informe a impresora, el informe se imprime en la impresora del sistema. Si imprime uno por uno los informes de los análisis se activa también la impresión de los informes de muestras de cada análisis. Estos informes se imprimen junto con los especificados en el informe de resumen de secuencias que se crean al final de la secuencia entera. Puede especificar un destino nuevo para esos informes en el cuadro de diálogo Salida de secuencias o utilizar el destino especificado en los métodos.

10 Utilización de los informes de ChemStation

Elaboración de informes de resumen de secuencias



11

Evaluación de la idoneidad del sistema

| | |
|--|-----|
| Determinación del ruido | 247 |
| Cálculo del ruido utilizando seis veces la desviación estándar | 247 |
| Cálculo del ruido con la fórmula pico a pico | 248 |
| Cálculo del ruido con el método ASTM | 249 |
| Cálculo señal-ruido | 251 |
| Deriva y desviación | 251 |
| Cálculo de la simetría de picos | 252 |
| Fórmulas y cálculos de idoneidad del sistema | 254 |
| Definiciones generales | 255 |
| Volumen nulo | 255 |
| Tiempo de retención del compuesto no retenido $t(m)$ [minutos] | 255 |
| Definiciones del test de rendimiento | 256 |
| Momentos estadísticos | 256 |
| Momentos estadísticos, sesgo y exceso | 257 |
| Achura verdadera de pico W_x [min] | 258 |
| Factor de capacidad (USP), índice de capacidad (ASTM) k' | 258 |
| Factor de cola USP (USP) t | 258 |
| Número de platos teóricos por columna (USP, ASTM) n | 259 |
| Número de platos teóricos por metro N [1/m] | 260 |
| Retención relativa (USP, ASTM), selectividad α | 260 |
| Resolución (USP, ASTM) R | 261 |
| Definiciones de reproducibilidad | 262 |
| Media de muestra M | 262 |
| Desviación estándar de la muestra S | 262 |
| RelativaDesviación estándar $RSD[\%]$ (USP) | 263 |
| Desviación estándar de la media SM | 263 |
| Intervalo de confianza CI | 264 |
| Análisis de regresión | 265 |



Coeficiente de regresión 265

Desviación estándar (S) 266

Acceso al número de doble precisión almacenado internamente 267

En este capítulo se describe lo que puede hacer ChemStation para evaluar el rendimiento tanto del instrumento analítico antes utilizado para el análisis de muestras como el método analítico antes de que se utilice por rutina y comprobar el rendimiento de los análisis antes y durante los análisis rutinarios.

La evaluación del rendimiento tanto del instrumento analítico antes de su uso en análisis de muestras como del método antes de su uso diario, es una buena práctica analítica. También es recomendable comprobar el rendimiento de los sistemas de análisis antes y durante los análisis rutinarios. El software ChemStation proporciona las herramientas para realizar los tres tipos de tests de forma automática. La comprobación del instrumento incluye la sensibilidad del detector, la precisión de los tiempos de retención y migración y la precisión de las áreas de picos. Un test de métodos incluye la precisión de los tiempos y cantidades de retención y migración, la selectividad y la robustez del método en las variaciones día a día mientras está en funcionamiento. La comprobación del sistema afecta a la precisión de la cantidad, la resolución entre dos picos específicos y las colas de picos.

Los laboratorios tienen que cumplir:

- la Normativa de Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP, Good Laboratory Practice regulations),
- la Normativa de Buenas Prácticas de Fabricación (GMP, good Manufacturing Practice regulations) y la Normativa actual de Buenas Prácticas de Fabricación (cGMP) y
- la de Buenas Prácticas Automatizadas de Laboratorio (GALP, good Automated Laboratory Practice).

Se aconseja que los laboratorios realicen estas pruebas y documenten los resultados exhaustivamente. Los laboratorios que formen parte de un sistema de control de la calidad, por ejemplo para cumplir con la ISO9000, tendrán que demostrar el buen funcionamiento de sus instrumentos.

ChemStation coteja los resultados de diferentes análisis y los evalúa de forma estadística en el informe de resúmenes de secuencias.

Los tests se documentan en un formato aceptado generalmente por las autoridades apropiadas y por auditores independientes. Las estadísticas incluyen:

- tiempo de retención/migración del pico,

- área de pico,
- cantidad,
- altura de pico
- Anchura de pico a media altura
- Simetría de pico
- Cola de pico
- Factor de capacidad (k')
- Números de placa
- Resolución entre picos
- Selectividad relativa al pico anterior
- Sesgo y
- Exceso

Se calcula el valor medio, la desviación estándar, la desviación estándar relativa y el intervalo de confianza. Puede configurar los límites para la desviación estándar, la desviación estándar relativa o el intervalo de confianza de estos parámetros. Si los valores superan los límites, el informe le indica que les preste atención.

La calidad de los datos analíticos se sostiene manteniendo los registros de las condiciones reales en el momentos en el que las mediciones se realizaron. Los libros de registro de ChemStation recogen las condiciones del instrumento antes y después de los análisis. La información se almacena con los datos e incluye los datos de muestras. Las curvas de rendimiento del instrumento se registran durante el análisis entero como señales y se almacenan en el fichero de datos. Si el instrumento lo admite, estos registros, superpuestos en el cromatograma, pueden recuperarse cuando se desee, por ejemplo durante una auditoría.

El ruido y la deriva de la línea de base se pueden medir de forma automática. Un nivel mínimo detectable puede calcularse con los datos de altura de pico para cada componente calibrado en el método.

Finalmente, puede incluirse la configuración del instrumento, los números de serie del instrumento, la identificación de columnas/capilares y sus propios comentarios en el informe impreso.

11 Evaluación de la idoneidad del sistema

Elaboración de informes de resumen de secuencias

Los resultados de rendimiento ampliados se calculan sólo para los componentes calibrados en el método, asegurando la caracterización en las horas de retención/migración y los nombres de los componentes.

Un informe típico de comprobación del rendimiento del sistema contiene los siguientes resultados de rendimiento:

- Detalles del instrumento
- Detalles de la columna/capilar
- Método analítico
- Información de muestras
- Información de adquisición
- Descripción de la señal y determinación del ruido de la línea de base y
- Señal etiquetada con tiempos de retención/migración o nombres de compuestos

Además, se genera la siguiente información para cada compuesto calibrado en el cromatograma:

- tiempo de retención/migración
- k' ,
- simetría
- Anchura de pico
- Número de placa
- Resolución
- Relación señal-ruido, y
- Nombre del compuesto

Determinación del ruido

El ruido puede determinarse a partir de los valores de los puntos de datos de un rango de tiempo seleccionado de una señal. El ruido se trata de tres formas diferentes:

- Como seis veces la desviación estándar (sd) de la regresión lineal de la deriva,
- Como pico a pico (deriva corregida) y
- Como determina el método ASTM (ASTM E 685-93).

El ruido puede calcularse para un máximo de siete rangos de señal; los rangos se especifican como parte de la configuración de idoneidad del sistema en los parámetros de información.

Cálculo del ruido utilizando seis veces la desviación estándar

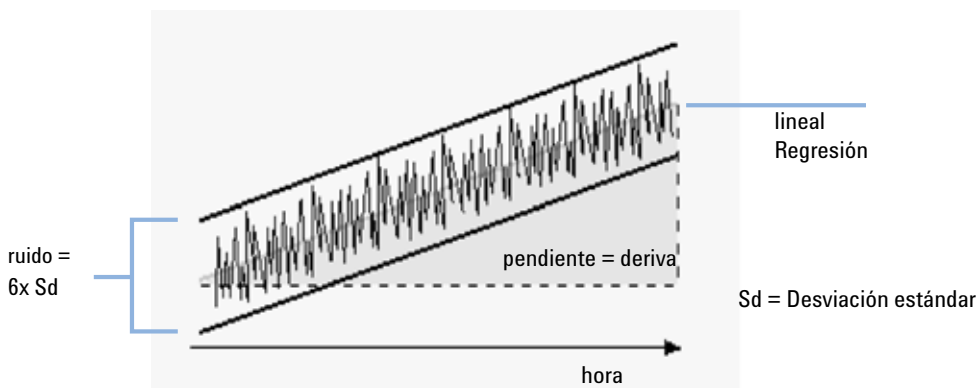


Figura 42 Cálculo del ruido utilizando seis veces la desviación estándar

Se calcula la regresión lineal con todos los puntos de datos en el rango de tiempo indicado (véase “[Análisis de regresión](#)” en la página 265). El ruido se calcula con la fórmula:

$$N = 6 \times Std$$

11 Evaluación de la idoneidad del sistema

Determinación del ruido

donde

N es el ruido según el método de desviación estándar por seis y

Std es la desviación estándar de la regresión lineal de todos los puntos de datos en el rango de tiempo.

Cálculo del ruido con la fórmula pico a pico

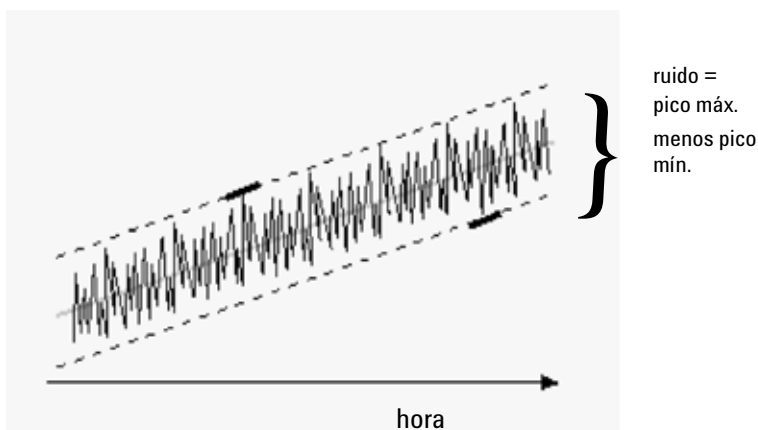


Figura 43 El ruido va del pico máximo al pico mínimo (distancia)

Se calcula la deriva en primer lugar determinando la regresión lineal con todos los puntos de datos en el rango de tiempo (véase “[Análisis de regresión](#)” en la página 265). Se resta la línea de regresión lineal de todos los puntos de datos en el rango de tiempo para proporcionar la señal de deriva corregida. Entonces se calcula el ruido pico a pico con la fórmula:

$$N = I_{\max} - I_{\min}$$

donde

N es el ruido pico a pico,

I_{\max} es el pico de intensidad más alta (máxima) y

I_{\min} es el pico de menos intensidad (mínima) en el rango de tiempo.

Cálculo del ruido con el método ASTM

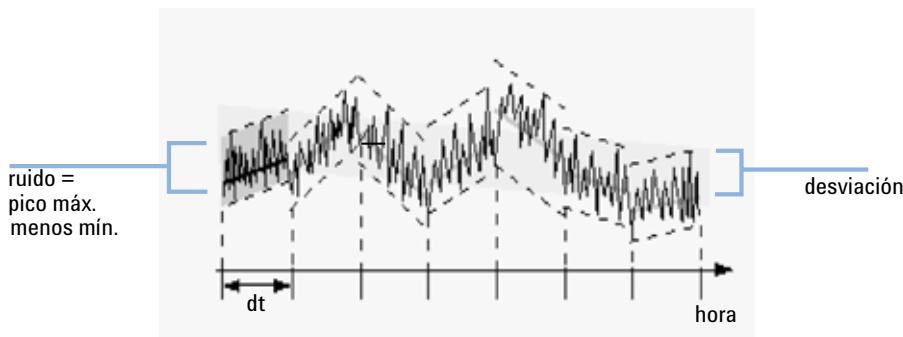


Figura 44 Ruido determinado con el método ASTM

El cálculo del ruido ASTM (ASTM E 685-93) se basa en una práctica estándar para comprobar los detectores fotométricos de la longitud de onda variable que se utilizan en cromatografía de líquidos, según define la Sociedad Americana para Ensayos y Materiales (American Society for Testing and Materials). Se pueden distinguir tres tipos diferentes de ruido en función del tamaño del rango de tiempo. La determinación del ruido se basa en las mediciones pico a pico en los rangos de tiempo definidos.

Tiempo del ciclo, t

Ruido a largo plazo, la amplitud máxima de las variaciones aleatorias de la señal del detector de frecuencias entre 6 y 60 ciclos por hora. El ruido a largo plazo se determina cuando el rango de tiempo seleccionado se supera en una hora. El rango de tiempo de cada ciclo (dt) se define en 10 minutos que serán al menos seis ciclos en el rango de tiempo seleccionado.

Ruido a corto plazo, la amplitud máxima de las variaciones aleatorias de la señal del detector de una frecuencia superior a un ciclo por minuto. El ruido a corto plazo se determina para un rango de tiempo seleccionado entre 10 y 60 minutos. El rango de tiempo de cada ciclo (dt) se establece en un minuto que tendrá al menos 10 ciclos en el rango de tiempo seleccionado.

Ruido a muy corto plazo (no lo trata la ASTM E 685-93), este término se introduce para describir la amplitud máxima de todas las variaciones aleatorias de la señal del detector de una frecuencia superior a un ciclo por 0,1 minutos.

11 Evaluación de la idoneidad del sistema

Determinación del ruido

El ruido a muy corto plazo se determina para un rango de tiempo seleccionado entre 1 y 10 minutos. El rango de tiempo de cada ciclo (dt) se establece en 0,1 minuto que será al menos 10 ciclos en el rango de tiempo seleccionado.

Determinación del número de ciclos, n

$$n = \frac{t_{tot}}{t}$$

donde t es el tiempo de ciclo y t_{tot} es el tiempo total sobre el que se calcula el ruido.

Cálculo del ruido pico a pico en cada ciclo

Se calcula la deriva en primer lugar determinando la regresión lineal con todos los puntos de datos en el rango de tiempo (véase “[Análisis de regresión](#)” en la página 265). Se resta la línea de regresión lineal de todos los puntos de datos en el rango de tiempo para proporcionar la señal de deriva corregida. Entonces se calcula el ruido pico a pico con la fórmula:

$$N = \frac{I_{max}}{I_{min}}$$

donde N es el ruido pico a pico, I_{max} es el pico de intensidad más alta (máxima) y I_{min} es el pico de menos intensidad (mínima) en el rango de tiempo.

Cálculo del ruido ASTM

$$N_{ASTM} = \frac{\sum_{i=1}^n N}{n}$$

donde N_{ASTM} es el ruido basado en el método ASTM.

El cálculo del ruido ASTM no se realiza si el rango de tiempo seleccionado es inferior a un minuto. En función del rango, si el rango de tiempo seleccionado es mayor o igual a un minuto, el ruido se determina con uno de los métodos ASTM descritos con anterioridad. Al menos se calculan siete puntos de datos por ciclo. Los ciclos de cálculo automático del ruido se solapan en un 10%.

Cálculo señal-ruido

Para el cálculo señal-ruido, ChemStation utiliza seis veces la desviación estándar (sd) de la regresión lineal de la deriva para calcular el ruido. El rango más cercano al pico se selecciona de los rangos que se especifican en la configuración de idoneidad del sistema. El cálculo señal-ruido se realiza con la fórmula:

$$\text{Signal-to-Noise} = \frac{\text{Height of the peak}}{\text{Noise of closest range}}$$

El cálculo señal-ruido se realiza para cada pico de la señal. Si ChemStation no encuentra el valor del ruido, señal-ruido se representa con "-".

Deriva y desviación

La deriva se calcula por la pendiente de la regresión lineal (consulte la figura Cálculo del ruido utilizando seis veces la desviación estándar) y la desviación se determina por el ruido pico a pico y los valores de los datos medios en los ciclos de ruido ASTM (consulte Ruido determinado con el método ASTM).

Cálculo de la simetría de picos

ChemStation no determina la relación de asimetría de un pico, normalmente obtenida comparando las anchuras medias de picos al 10% de la altura del pico o al 5% según recomienda la FDA.

La simetría de picos se calcula como un pseudomomento por el integrado utilizando las siguientes ecuaciones de momentos:

$$m_1 = a_1 \left(t_2 + \frac{a_1}{1.5H_f} \right)$$

$$m_2 = \frac{a_2^2}{0.5H_f + 1.5H}$$

$$m_3 = \frac{a_3^2}{0.5H_r + 1.5H}$$

$$m_4 = a_4 \left(t_3 + \frac{a_4}{1.5H_r} \right)$$

$$\text{Peak symmetry} = \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_3 + m_4}}$$

Si no se encuentran puntos de inflexión o sólo se informa de un punto de inflexión, entonces la simetría del pico se calcula del siguiente modo:

$$\text{Peak symmetry} = \frac{a_1 + a_2}{a_3 + a_4}$$

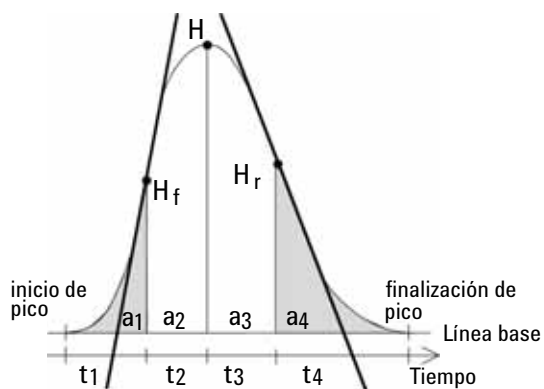


Figura 45 Cálculo del factor de simetría del pico

donde:

a_i = área de corte

t_i = tiempo de corte

H_f = altura del punto de inflexión delantero

H_r = altura del punto de inflexión trasero

H = altura en el punto máximo

Fórmulas y cálculos de idoneidad del sistema

ChemStation utiliza las fórmulas siguientes para obtener los resultados de varios tests de idoneidad del sistema. Se informa de los resultados con los estilos de informe Rendimiento, Rendimiento + Ruido y rendimiento + Ampliado.

Cuando se especifica ASTM o USP para una definición dada, la definición cumple las facilitadas en la referencia correspondiente. Sin embargo, los símbolos que aquí se utilizan no son los mismos que los utilizados en la referencia.

Las dos referencias que se utilizan en este contexto son:

- *ASTM: Sección E 682 - 93, Annual Book of ASTM Standards, vol. 14.01*
- *USP: The United States Pharmacopeia, XX. Revision, pp. 943 - 946*

Definiciones generales

Volumen nulo

$$V = d^2 \pi l \{f/4\}$$

donde:

d = diámetro de columna [cm]

π = constante, relación de circunferencia al diámetro de un círculo.

l = longitud de columna [cm]

f = fracción del volumen de la columna que no ocupa la fase estacionaria pero que están disponibles para la fase móvil; valor predeterminado de f = 0.68 (para Hypersil)

Tiempo de retención del compuesto no retenido t (m) [minutos]

(También denominado tiempo muerto o tiempo nulo)

$$T_m = V/F$$

donde:

F = velocidad de flujo de LC [ml/min]

Definiciones del test de rendimiento

Momentos estadísticos

$$M0 = d_t \cdot X$$

$$M1 = t_0 + d_t \cdot \frac{X}{Y}$$

$$M2 = \frac{d_t^2}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^2 \cdot A_i \right)$$

$$M3 = \frac{d_t^3}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^3 \cdot A_i \right)$$

$$M4 = \frac{d_t^4}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\left(i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^4 \cdot A_i \right)$$

donde:

| | |
|----------------|---|
| N | Número de cortes de área |
| A _i | Valor del corte del área indexado por i |
| d _t | Intervalo de tiempo entre los cortes de área adyacentes |
| t ₀ | Tiempo del primer corte de área |

$$\sum_{i=1}^N$$

Suma del índice de inicio 1 al índice final N para observaciones discretas

$$X = \sum_{i=1}^N (A_i)$$

$$Y = \sum_{i=1}^N ((i-1)A_i)$$

Momentos estadísticos, sesgo y exceso

Los momentos estadísticos se calculan como una alternativa para describir figuras de picos asimétricas. Hay un número de momentos de picos infinito, pero sólo se utilizan los cinco primeros en conexión con los picos cromatográficos. Éstos se denominan momento 0, momento 1 , ... momento 4.

El momento 0 representa el área de picos.

El momento 1 es el tiempo medio de retención o el tiempo de retención medido en el centro de gravedad del pico. Es diferente del tiempo de retención cromatográfico medido en el máximo del pico, a menos que el pico sea simétrico.

El momento 2 es la varianza del pico, una medida de la dispersión lateral. Es la suma de la varianza contribuida por partes diferentes del sistema de instrumentos.

El momento 3 describe la simetría vertical o sesgo. Es la medida del inicio del pico a partir del estándar Gaussiano. El sesgo que se produce de forma adicional en el informe Rendimiento y ampliado no tiene dimensiones. Un pico simétrico tiene un sesgo cero. Los picos con cola tienen sesgo positivo y el momento 1 es mayor que el tiempo de retención. Los picos con frente tienen sesgo negativo y el momento 1 es menor que el tiempo de retención.

El momento 4 o exceso es la medición de la compresión o estrechamiento del pico en el eje vertical y cómo se compara a un estándar gaussiano para el que el momento 4 es cero. Se puede visualizar moviendo o apartando los lados del pico gaussiano en un área constante. Si se comprime o aplasta el pico en la comparación, el exceso es negativo. Si es más alto, el exceso es positivo. Además el exceso se indica en el informe Rendimiento y ampliado en su forma sin dimensiones.

Achura verdadera de pico W_x [min]

W_x = width of peak at height x % of total height

W_B anchura de la base, 4 sigma, obtenida insertando tangentes en los puntos de inflexión con la línea base (anchura del pico tangente)

$W_{4,4}$ anchura a 4,4% de altura (anchura 5 sigma)

$W_{5,0}$ anchura al 5% de altura (anchura de pico con cola), para el factor de cola USP

$W_{50,0}$ anchura al 50% de altura (anchura de pico a media altura verdadera o sigma 2,35).

Factor de capacidad (USP), índice de capacidad (ASTM) k'

$$k' = \frac{T_R - T_0}{T_0}$$

donde:

T_R = tiempo de retención del pico [min]

T_0 = tiempo nulo [min]

Factor de cola USP (USP) t

$$t = \frac{W_{5,0}}{t_w \cdot 2}$$

donde:

t_w = distancia en minutos entre el frente del pico y T_R , medida al 5% de la altura de pico

$W_{5,0}$ = anchura de pico al 5% de la altura de pico [min]

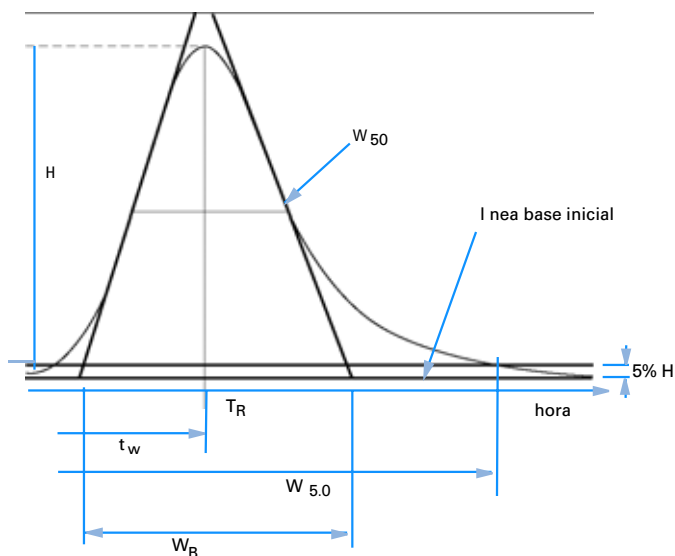


Figura 46 Parámetros de rendimiento

Número de platos teóricos por columna (USP, ASTM) n

Método tangente (USP, ASTM):

$$n = 16 \left(\frac{T_R}{W_B} \right)^2$$

donde:

W_B = anchura de base [min]

Método de media anchura (ASTM):

$$n = 5.54 \left(\frac{T_R}{W_{50}} \right)^2$$

donde:

W_{50} = anchura de pico a media altura [min]

Método 5 sigma

$$n = 25 \left(\frac{T_R}{W_{4.4}} \right)^2$$

donde:

$W_{4.4}$ = anchura de pico al 4,4% de la altura de pico [min]

Método de varianza:

$$n = \frac{M1^2}{M2}$$

donde:

$M_x = x^{\text{th}}$ momento estadístico (consulte también [“Momentos estadísticos”](#) en la página 256)

Número de platos teóricos por metro N [1/m]

$$N = 100 \times \frac{n}{l}$$

donde:

n = número de platos teóricos

l = longitud de columna [cm]

Retención relativa (USP, ASTM), selectividad alpha

(Perteneiente a los picos a y b, T_R del pico a < T_R del pico b)

$$\alpha = \frac{k'_{(b)}}{k'_{(a)}}, \alpha \geq 1$$

donde:

$k'_{(x)}$ = factor de capacidad del pico x

Resolución (USP, ASTM) R

(Perteneciente a los picos a y b, T_R del pico a < T_R del pico b; T_R en minutos)

Método tangente (USP, ASTM):

$$R = \frac{2(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{B(b)} + W_{B(a)}}$$

Método 5 sigma

$$R = \frac{2.5(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{4.4(b)} + W_{4.4(a)}}$$

Método de media anchura (resolución en el informe de rendimiento):

$$R = \frac{(2.35/2)(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{50(b)} + W_{50(a)}}$$

Método estadístico:

$$R = \frac{M1_{(b)} - M1_{(a)}}{W_{S(b)} + W_{S(a)}}$$

donde:

$M1_{(x)}$ = tiempo de retención medio del pico x (momento estadístico 1) [min]

$W_{B(x)}$ = anchura de la base del pico x [min]

$W_{4,4(x)}$ = anchura al 4,4% de altura del pico x [min]

$W_{50(x)}$ = anchura al 50% de altura del pico x [min]

$W_S(x)$ = anchura derivada de momentos estadísticos (véase también “[Momentos estadísticos](#)” en la página 256)

Definiciones de reproducibilidad

Para la revisión estadística de los datos analíticos en cuando a la reproducibilidad, se considera una secuencia como una muestra aleatoria pequeña extraída de un número infinito de resultados experimentales posibles. Para lograr un conjunto de resultados completos, se requiere una cantidad sin límite de material de muestras así como tiempo. Estrictamente los datos estadísticos no sólo se aplican a un conjunto completo autocontenido o población de datos. Por consiguiente constituye un requisito previo para este tratamiento que la muestra seleccionada sea representativa de todos los datos.

Media de muestra M

El valor medio M de una muestra aleatoria consistente en N medidas, se calcula a partir de un número limitado de valores X_i únicos observados de N indexados con un contador consecutivo y según la fórmula:

$$M = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

donde:

N = número de observaciones discretas

X_i = valor de observaciones discretas indexadas por i

Desviación estándar de la muestra S

Considere una muestra aleatoria de tamaño N. La desviación estándar S de la muestra para la muestra finita seleccionada de una gran cantidad de datos se determina por

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - M)^2}{N - 1}}$$

La desviación estándar S de la muestra difiere en dos puntos de la desviación estándar s del resto de datos:

- En vez del valor medio real sólo el valor medio de la muestra M se utiliza
- División por $N-1$ en vez de N .

Relativa Desviación estándar RSD[%] (USP)

La desviación estándar relativa se define como

$$RSD = 100 \frac{S}{M}$$

Desviación estándar de la media S_M

M es la media de la muestra y S la desviación estándar [o $(N-1)$] de la muestra. La desviación estándar S_M de la media de la muestra M se determina por

$$S_M = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Se puede ilustrar además con un ejemplo:

Mientras que el tiempo de retención de un componente dado puede desviarse ligeramente del valor medio calculado en una secuencia, los datos de otra secuencia pueden diferir mucho más por, como ejemplo, cambios de temperatura ambiental, degradación del material de la columna con el tiempo, etc. Para determinar esta desviación, la desviación estándar de la media de la muestra S_M se calcula con la fórmula anterior.

Intervalo de confianza CI

El intervalo de confianza se calcula para proporcionar información sobre si es bueno el valor medio de cálculo, cuando se aplica a todos los datos y no sólo a la muestra.

El intervalo de confianza en $100 \times (1 - \alpha) \%$ para la media global se calcula con

$$CI = t_{(\alpha/2); N-1} \cdot S_M$$

donde:

$$t_{(\alpha/2); N-1}$$

el punto de porcentaje de la tabla de distribución t con una probabilidad de riesgo de α)

Para las estadísticas extendidas en el informe de resúmenes de secuencias puede utilizarse el 95% del intervalo de confianza ($\alpha = 0,05$).

Conviene utilizar la distribución t (o "distribución del estudiante") para volúmenes de muestras pequeños. En caso de grandes volúmenes de muestras, los resultados de la distribución t y la distribución normal (gaussiana) no difieren en nada. Por tanto, para 30 o más muestras, puede utilizarse la distribución normal (sería muy difícil calcular la distribución t para grandes números; la distribución normal es la mejor forma de aproximación).

Intervalo de confianza del 95% para 6 muestras:

$$1 - \alpha = 0.95$$

$$N = 6$$

El valor correcto de t se extrae de la tabla de distribución t con 5 (N-1) grados de libertad y con el valor $\alpha/2$, siendo 0,025. Se da la siguiente fórmula de cálculo de CI:

$$CI = 2.571 \cdot \frac{1}{\sqrt{6}} \cdot S_M$$

Análisis de regresión

Dada

Función lineal:

$$y_{(X)} = a + bX$$

Coefficientes:

$$a = \frac{1}{\Delta_X} \left(\sum_{i=1}^N X_i^2 \cdot \sum_{i=1}^N Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i \right) \right)$$

$$b = \frac{1}{\Delta_X} \left(N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right) \right)$$

donde:

$$\Delta_X = N \cdot \sum_{i=1}^N X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N X_i \right)^2$$

Coefficiente de regresión

$$r = \frac{\left(N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right)}{\sqrt{\Delta_X \cdot \Delta_Y}}$$

donde:

$$\Delta_Y = N \cdot \sum_{i=1}^N Y_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N Y_i \right)^2$$

Desviación estándar (S)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N \{Y_i - a - bX_i\}^2}{N - 2}}$$

Acceso al número de doble precisión almacenado internamente

Para propósitos de validación, sería necesario calcular manualmente los resultados de ChemStation como curvas de calibración, coeficientes de correlación, platos teóricos, etc. Al realizar esta operación, hay que tener en cuenta el formato de números que utiliza ChemStation.

Para todos los números que ChemStation almacene internamente se utiliza el tipo de datos "C" DOBLE. Esto quiere decir que se almacenan 14 dígitos para cada número. La puesta en práctica de este tipo de datos se adhiere a la de Microsoft de la normativa IEEE para datos de tipo C y las reglas que implican (consulte los documentos de Microsoft Q42980, Q145889 y Q125056).

Debido al número ilimitado de parámetros que se utilizan en el cálculo de la tabla de calibración, no es posible calcular el error exacto que posiblemente se introduzca por la propagación y acumulación de errores relacionados. Las comprobaciones exhaustivas con las distintas construcciones de las curvas de calibración muestran, en cambio, que se puede garantizar la exactitud hasta 10 dígitos. Mientras que en la repetición del área, de la altura y del tiempo de retención de análisis cromatográficos tiene normalmente tres dígitos, son suficientes 10 dígitos importantes de los cálculos. Por esta razón, la calibración, y otras tablas, muestran un máximo de 10 dígitos importantes.

Si se requiere un cálculo externo (manual) para validación, se recomienda que se utilicen todos los dígitos para los cálculos internos. Con los datos mostrados o relacionados de los cálculos externos puede obtenerse resultados que difieran de ChemStation por errores de redondeo.

En el párrafo siguiente se describe cómo acceder a los dígitos almacenados internos para números que normalmente se requieren para cálculos manuales. En todos los casos, es preciso cargar e informar sobre el fichero de datos con el estilo de informe apropiado antes de ejecutar el comando de la lista. Todos los comandos se introducen en la línea de comandos de ChemStation, disponible en el menú de visualización. La información del fichero "C:\CHEM32\TEMP.TXT" puede visualizarse en el Bloc de notas o en un editor de texto apropiado.

Información del pico sin procesar:

- Tiempo de retención

11 Evaluación de la idoneidad del sistema

Acceso al número de doble precisión almacenado internamente

- Área
- Altura
- Anchura (integrador)
- Simetría
- Tiempo de inicio del pico
- Tiempo de fin del pico

Utilice la entrada de la línea de comandos:

```
DUMPTABLE CHROMREG, INTRESULTS,"C:\CHEM32\1\TEMP\  
INTRES.TXT"
```

Información del pico procesada:

- Tiempo de retención calculado
- Tiempo de retención esperado
- Área
- Altura
- Anchura (integrador)
- Simetría
- Anchura media - Altura pico medio (Rendimiento y Rendimiento ampliado)
- Factor de cola (Rendimiento y Rendimiento ampliado)
- Selectividad (Rendimiento y Rendimiento ampliado)
- K' (Rendimiento ampliado)
- Anchura del pico tangente (Rendimiento ampliado)
- Sesgo (Rendimiento ampliado)
- Platos teóricos - Anchura media (Rendimiento y Rendimiento ampliado)
- Platos teóricos - Tangente (Rendimiento ampliado)
- Platos teóricos - Sigma 5 (Rendimiento ampliado)
- Platos teóricos - Estadística (Rendimiento ampliado)
- Resolución - Anchura media (Rendimiento y Rendimiento ampliado)
- Resolución - Tangente (Rendimiento ampliado)
- Resolución - Sigma 5 (Rendimiento ampliado)
- Resolución - Estadística (Rendimiento ampliado)

Utilice la entrada de la línea de comandos:

```
DUMPTABLE CHROMRES, PEAK,"C:\CHEM32\1\TEMP\PEAK.TXT"
```

Información del componente procesado:

- Cantidad calculada

Utilice la entrada de la línea de comandos:

```
DUMPTABLE CHROMRES, COMPOUND,"C:\CHEM32\1\TEMP\COM-  
POUND.TXT"
```

Información de la tabla de calibración:

- Número del nivel
- Cantidad
- Área
- Altura

Utilice la entrada de la línea de comandos:

```
DUMPTABLE _DAMETHOD, CALPOINT,"C:\CHEM32\1\TEMP\CALIB.TXT"
```

Información de regresión lineal:

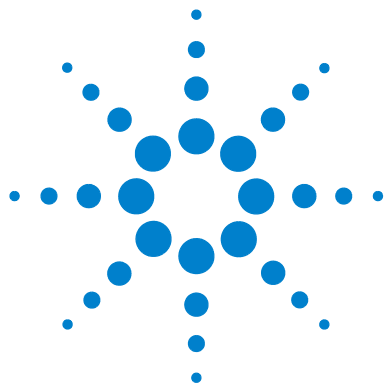
- Interceptación Y (CurveParm1)
- Pendiente (CurveParm2)
- Coeficiente de correlación

Utilice la entrada de la línea de comandos:

```
DUMPTABLE _DAMETHOD, PEAK,"C:\CHEM32\1\TEMP\REGRESS.TXT"
```

11 Evaluación de la idoneidad del sistema

Acceso al número de doble precisión almacenado internamente



12 Verificación del sistema

Ventanas de verificación y diagnóstico 272

Verificación del sistema 272

Registro GLPsave 275

Función del test del DAD 277

Función de Review DAD Test 277

En este capítulo se describen la función de verificación y las funciones de verificación GLP de ChemStation.



Ventanas de verificación y diagnóstico

Si el instrumento configurado las admite, por ejemplo, los módulos LC de la Agilent Serie 1100/1200, ChemStation contiene dos ventanas adicionales para la verificación de los instrumentos y las tareas de diagnóstico. Para obtener más información, consulte el sistema de ayuda en línea.

Verificación del sistema

La verificación del sistema es un componente clave en la utilización diaria de instrumento analítico en un laboratorio regulado. Las opciones de verificación GLP están diseñadas para ayudarle a probar que el software o componentes importantes de éste funcionan correctamente o funcionaban correctamente cuando se realizó un análisis concreto.

La función de verificación de secuencias de ChemStation le permite verificar el funcionamiento correcto del software ChemStation. Puede hacerlo reprocessando ficheros de datos según los métodos específicos y comparando los resultados con un estándar predefinido. La función de verificación es particularmente importante para probar la integridad de los resultados de integración y cuantificación.

Puede utilizar el test de verificación estándar o definir sus propios tests con su propio método y ficheros de datos para comprobar las combinaciones de software algorítmicas utilizadas en los métodos de análisis. El test de verificación es un archivo protegido que no puede cambiarse ni borrarse.

La opción Verificación en la ventana Análisis de datos le permite escoger cualquiera de las siguientes opciones:

- realizar un test de verificación en la base de datos,
- definir un nuevo test de verificación y añadirlo a la base de datos y
- borrar un test de verificación de la base de datos.

La sección Cómo... del sistema de ayuda en línea describe cómo realizar estas tareas. Cuando ejecuta un test de verificación, puede seleccionar entre realizar todo el test o seleccionar una combinación de partes.

Los resultados del test de verificación se guardan en formato binario en el subdirectorío predeterminado: c:\CHEM32\1\Verify, junto con los archivos del método y de datos. El subdirectorío Verify está al mismo nivel que la secuencia, métodos y subdirectoríos de datos. Puede enviar los resultados a una impresora o a un archivo. Los resultados del test, incluyendo el resultado de un test de verificación combinado, se consideran como aprobados o suspensos.

Los siguientes componentes del test de verificación están disponibles:

Electrónica digital (sólo DAD Agilent Serie 1100/1200)

Un cromatograma de comprobación se almacena en el detector de diodo-array. Este cromatograma se envía a ChemStation después de que haya superado los mismos pasos de preprocesamiento como datos primarios normales de los fotodiodos. Los datos resultantes se comparan con los datos del resultado original almacenados en ChemStation para el cromatograma del test. Si no coinciden, el test fracasa. Este test asegura que la electrónica del DAD, que se encarga del preprocesamiento de los datos, funciona todavía correctamente. Se utiliza un cromatograma del test guardado; la lámpara y el diodo-array no forman parte de este test. Se pueden comprobar con la [“Función del test del DAD”](#) en la página 277.

Integración del pico

Se integra de nuevo el fichero de datos con un método original. Se comparan los resultados con los resultados de integración originales que se guardan en el registro de verificación. Si no coinciden, el test fracasa.

Cuantificación de compuestos

Se cuantifican de nuevo los compuestos del fichero de datos. Se comparan los resultados con los resultados de cuantificación originales que se guardan en el registro de verificación. Si no coinciden, el test fracasa.

Impresión de informes

Se imprime de nuevo el informe original.

En la página siguiente se muestra un ejemplo del test de verificación completado con éxito.

12 Verificación del sistema

Ventanas de verificación y diagnóstico

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

Registro GLPsave

El registro GLPsave se guarda al final de cada análisis cuando se selecciona la lista de control del análisis. Contiene la siguiente información:

- señales,
- libro de registro,
- tabla de resultados de integración,
- tabla de resultados de cuantificación,
- datos de rendimiento del instrumento y
- método de análisis de datos.

Es un registro protegido completo, generado en el momento del análisis. Puede consultarlo en cualquier momento del futuro como prueba de los métodos analíticos.

La opción Registro GLPsave en la ventana Análisis de datos le permite revisar el fichero de registro GLPsave en cualquier momento. El fichero está protegido por una clave y se codifica en binario para asegurar que no se cambia.

En el cuadro de diálogo que utilizó para seleccionar el registro GLPsave para revisión, puede seleccionar una de las opciones de revisión de las siguientes:

- cargar el método original,
- cargar las señales originales,
- cargar los datos de rendimiento del instrumento,
- imprimir el método original,
- imprimir los resultados de integración originales,
- imprimir los resultados de cuantificación originales y
- generar un informe original del método y las señales originales.

Puede utilizar la función de revisión GLP para mostrar que los datos cromatográficos son originales, probar la calidad del análisis de los datos de rendimiento del instrumento y demostrar la autenticidad de la interpretación de los datos.

Por ejemplo puede:

12 Verificación del sistema

Registro GLPsave

- volver a cargar e imprimir el análisis de datos con parte del método utilizado en el momento de análisis de la muestra para probar que la evaluación de datos, presentada como resultados de los análisis, no se ha modificado de ninguna forma y
- revisar sin volver a calcular los resultados de integración y cuantificación para probar la autenticidad del informe.

Función del test del DAD

Se pueden utilizar los test del detector como un paso en la validación del sistema rutinario de un instrumento analítico en un laboratorio regulado.

El test del DAD evalúa el rendimiento del detector de diodo-array. Cuando selecciona el test del DAD del menú Instrument (sólo para LC3D y CE) se comprueba la intensidad y calibración de la longitud de onda del instrumento. Si presiona Save, los resultados del test se guardan de forma automática en la base de datos DADTest, en un fichero de registro llamado DADTest.Reg en el directorio de instrumentos predeterminados.

Función de Review DAD Test

Esta función del menú **View** de Análisis de datos le permite revisar el fichero DADTest.Reg en cualquier momento. El fichero está protegido por una clave y se codifica en binario para asegurar que no se cambia.

Puede seleccionar cualquiera de las siguientes partes del test del DAD para revisar:

| | |
|-------------------------------|---|
| Show Holmium Spectra | Se expresan en gráficos los espectros del holmio que se enumeran en la tabla de Review DAD Test . Se etiqueta el espectro activo. |
| Show Intensity Spectra | Se expresan en gráficos los espectros de intensidad que se enumeran en la tabla de Review DAD Test . Se etiqueta el espectro activo. |
| Save as New Database | Si cambia la lámpara del DAD puede reiniciar el DADTest borrando los resultados del test no deseados de la tabla y utilizando la función Save as New Database . |
| Show Selected Spectra | Muestra los espectros seleccionados en la tabla. |
| Show Intensity Graph | Puede representar un gráfico de intensidad para dar indicaciones de la vida de la lámpara en el detector de diodo-array. El gráfico proporciona la función de intensidad máxima de la lámpara frente al tiempo. |

Glosario de opciones de software

A

Area reject
Rechazo por área
Area%
% Área
Autointegrate
Integración automática

C

Calibration Settings
Configuración de calibración
Character
Carácter
Compound Details
Detalles de compuesto
Contents
Contenido

D

Description
Descripción
Detail
Detalle
Detail + Spectrum
Detalle + Espectro

E

ESTD%
% ESTD
Extended Performance
Rendimiento ampliado

F

Full
Completo

G

GLP + Short
GLP + Breve
GLP + Detail
GLP + Detalle

H

Header + Short
Cabecera + Breve
height reject
Rechazo por altura
Height reject
Rechazo por altura
Height%
% Altura

I

Initial peak width
Anchura de pico inicial
ISTD%
% ISTD

N

None
Ninguno
Norm%
% Norm

P

Path
Ruta
Paths
Rutas
peak width
Anchura de pico
Performance
Rendimiento
Performance + Extended
Rendimiento + Ampliado
Performance + Library Search
Rendimiento + Búsqueda de librerías
Performance + Noise
Rendimiento + Ruido
Performance and Noise style
estilo de rendimiento y ruido
Preferences
Preferencias

Q

Quantification Parameters
Parámetros de cuantificación

R

Review DAD Test
revisión del test del DAD

S

Sample Information
Información de muestra
Save as New Database
Guardar como nueva base de datos
Short

Glosario de opciones de software

Breve

Short + Spectrum

Breve + Espectro

shoulder detection

Detección de hombros

Slope sensitivity

Sensibilidad de pendiente

Standard Performance report

informe de rendimiento estándar

Status

Estado

T

Tail Skim Height Ratio

Relación de alturas para división de cola

U

Unique Folder Creation ON

Activar creación de carpeta única

V

Valley

Valle

Valley Height Ratio

Relación de altura con respecto al valle

View

Ver

Índice

A

adquisición de datos
definición 62

agrupamiento
calibración cíclica 203

ajustes de curva de
calibración 159

ajustes de
curva de calibración 159
curva 159, 159

análisis de datos
informes especializados 24

anchura de pico inicial 109

anchura de pico
a altura x% 258
tangencial 258

Á

área de pico 106

A

asignación de la línea base 77, 93

automatización 169

B

buenas prácticas de laboratorio 29

C

cálculo de
%Norm 129

cálculo de
simetría de picos 252

cálculo

%Norm 129

ESTD 126, 126

calibración cíclica
agrupamiento 203

calibración multinivel 156

calibración
multinivel 156, 156

CI 264

compuesto de
calibración 150

compuesto 150

conectar el
origen 159

configuración de
calibración 133
tabla de lotes 219

configuración 15

construcción de la línea base 93

control instrumental
trabajo en red 32

cualificadores de
picos 144

cualificadores 144

cuantificación de
picos 120

cuantificación
definición 120
procedimiento de ESTD 126

curva de calibración
definición 152
descripción de 152
forzada a través de cero
(origen) 159
multinivel 156

ponderación del punto de
calibración 160
único nivel 155

curva de
calibración 152

curva
calibración 152

D

definiciones del test de
rendimiento 256

derivada 84

desviación estándar
residual 153

detalles de
la señal 44

detección de hombros 109

Determinación de ruido ASTM 249

determinación de ruido 249

directorio de
método 52

directorio
método 52

distribución del t 264

división tangencial 98

E

edición de
método 50

estándar externo 126

estándar
externo 126

estilo de
informe 232

Índice

estructura de
 directorios 35
eventos de integración 75, 109

F

factor de cola USP 258
factor de cola 258
factor de dilución 127
fichero de método
 parámetros de instrumentos 52
fichero
 método 52
filtro de
 reconocimiento de picos 84, 84
formatos de ficheros
 informe de lotes 223
 informe de resultados 236
fórmulas de idoneidad del sistema
 anchura de pico 258
 factor de cola USP 258
 número de platos 259
fórmulas
 definiciones del test de
 rendimiento 256
fuerza del
 origen 159

H

hombro 91
hora de inicio 75

I

idoneidad del sistema
 estadísticas incluidas 244
 límites 245
ignorar el
 origen 159
incluir el
 origen 159

informe de idoneidad del sistema
 estilo de rendimiento y ruido 24
 informe de rendimiento 24
 rendimiento ampliado 25

informe
 %Norm 129
 diagrama de control 26
 formatos de ficheros 236
 personalizado 25
 resumen de secuencias 25
informes de diagramas de control 26
informes de idoneidad del sistema 24
informes de lotes
 formatos de salida 223
informes
 idoneidad del sistema 24
 personalizados 25
integración manual 115
intervalo de confianza 264

L

límites de cantidad 156
línea base inicial 75, 76

M

marcas de señalización de
 integración 72
marcas de señalización 72
máximo del pico 90
método
 definición 42
momento de finalización 75
muestra de
 calibración 150
muestra desconocida 154
muestra
 calibración 150
 desconocida 154
multiplicador 127

N

nivel de
 calibración 150
número de platos 259

O

operación del
 método 53

P

penetración de la línea base 95
Personalización de
 ChemStation 27
peso
 cuadrático 160
 igual 160
 lineal 160
 puntos de calibración 160
pico de disolvente 107
pico negativo 78
picos de referencia
 múltiples 144, 144
picos no asignados 103
precisión de
 análisis 166
precisión
 análisis 166
Preferencias 35
procedimiento de
 ESTD 126
punto de
 calibración 150
punto máximo 75

R

recalibración
 definición 166
 por qué 166

Índice

- rechazo por altura 109, 111
- rechazo por área 109
- refinamiento de la integración 111
- relación de
 - respuesta 144
- respuesta del detector 155
- respuesta de
 - picos 144
- respuesta
 - detector 155
- resto
 - relativo 153

S

- secuencia
 - crear 179
 - definición 172
 - editar 179
 - guardar 179
- señal analógica 62
- señal digital 62
- señal
 - analógica 62
 - digital 62
- sensibilidad de pendiente 109
- simetría de
 - picos 252

T

- tabla de lotes
 - informes 223
 - tipo de muestra eliminado 219
- tiempo de retención
 - absoluto 140, 140
- tratamiento del
 - origen 159

V

- ventana de referencia 141

- ventana de tiempo de retención de
 - pico 141
- ventana de tiempo
 - retención/migración 140
- ventanas de tiempo de retención 141
- visión general del software
 - configuración del sistema 15
 - métodos y secuencias 15
 - sistema operativo 15

En este manual

Se describen varios conceptos de Agilent ChemStation. El objetivo es ampliar su comprensión sobre el funcionamiento de ChemStation.

Para obtener más información acerca de cómo utilizar ChemStation, consulte el sistema de ayuda general y el "Tutorial" de la ayuda en línea.

© Agilent Technologies 2004, 2005-2008

Printed in Germany
07/08



G2070-95125



Agilent Technologies