

Agilent ChemStation für LC-Systeme

Sequence:
DEF_LC.S



LC Parameters



Erste Schritte



Agilent Technologies

Hinweise

© Agilent Technologies, Inc. 2004

Die Vervielfältigung, elektronische Speicherung, Anpassung oder Übersetzung dieses Handbuchs ist gemäß den Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes ohne vorherige schriftliche Genehmigung durch Agilent Technologies verboten.

Handbuch-Teilenummer

G2170-92220

Ausgabe

08/2004

Gedruckt in Deutschland

Agilent Technologies, Deutschland GmbH
Hewlett-Packard-Strasse 8
76337 Waldbronn

Microsoft® ist ein eingetragenes
Warenzeichen der Microsoft Corporation.

Softwareversion

Dieses Handbuch ist gültig für alle B.01.xx Versionen der Agilent ChemStation Software, wobei xx kleinere Versionsänderungen der Software kennzeichnen, die keinen Einfluss auf die technische Richtigkeit dieses Handbuchs haben.

Gewährleistung

Agilent Technologies behält sich vor, die in diesem Handbuch enthaltenen Informationen jederzeit ohne Vorankündigung zu ändern. Agilent Technologies übernimmt keinerlei Gewährleistung für die in diesem Handbuch enthaltenen Informationen, insbesondere nicht für deren Eignung oder Tauglichkeit für einen bestimmten Zweck. Agilent Technologies übernimmt keine Haftung für Fehler, die in diesem Handbuch enthalten sind, und für zufällige Schäden oder Folgeschäden im Zusammenhang mit der Lieferung, Ingebrauchnahme oder Benutzung dieses Handbuchs. Falls zwischen Agilent und dem Benutzer eine schriftliche Vereinbarung mit abweichenden Gewährleistungsbedingungen hinsichtlich der in diesem Dokument enthaltenen Informationen existiert, so gelten diese schriftlich vereinbarten Bedingungen.

Technologielizenzen

Die in diesem Dokument beschriebene Hardware und/oder Software wird/werden unter einer Lizenz geliefert und dürfen nur entsprechend den Lizenzbedingungen genutzt oder kopiert werden.

Nutzungsbeschränkungen

Wenn Software für den Gebrauch durch die US-Regierung bestimmt ist, wird sie als „kommerzielle Computer-Software“ gemäß der Definition in DFAR 252.227-7014 (Juni 1955), als „kommerzielle Komponente“ gemäß der Definition in FAR 2.101(a), als „nutzungsbeschränkte Computer-Software“ gemäß der Definition in FAR 52.227-19 (Juni 1987) (oder einer vergleichbaren Agentur- oder Vertragsregelung) ausgeliefert und lizenziert. Nutzung, Vervielfältigung oder Weitergabe von Software unterliegt den standardmäßigen Bestimmungen für kommerzielle Lizenzen von Agilent Technologies.

US-Regierung und -Behörden (außer Verteidigungsministerium) erhalten keine Rechte, die über die Rechte an „nutzungsbeschränkter Computer-Software“ gemäß FAR 52.227-19(c)(1-2) (Juni 1987) hinausgehen. Zur US-Regierung zählende Benutzer erhalten keine Rechte, die über die Rechte an „nutzungsbeschränkter Computer-Software“ gemäß FAR 52.227-14 (Juni 1987) oder DFAR 252.227-7015 (b)(2) (November 1995) hinausgehen, soweit in irgendwelchen technischen Daten anwendbar.

Sicherheitshinweise

VORSICHT

Ein **VORSICHT**-Hinweis macht auf Arbeitsweisen, Anwendungen o. ä. aufmerksam, die bei falscher Ausführung zur Beschädigung des Produkts oder zum Verlust wichtiger Daten führen können. Wenn eine Prozedur mit dem Hinweis **VORSICHT** gekennzeichnet ist, dürfen Sie erst fortfahren, wenn Sie alle angeführten Bedingungen verstanden haben und diese erfüllt sind.

WARNUNG

Ein **WARNUNG**-Hinweis macht auf Arbeitsweisen, Anwendungen o. ä. aufmerksam, die bei falscher Ausführung zu Personenschäden, u. U. mit Todesfolge, führen können. Wenn eine Prozedur mit dem Hinweis **WARNUNG** gekennzeichnet ist, dürfen Sie erst fortfahren, wenn Sie alle angeführten Bedingungen verstanden haben und diese erfüllt sind.

In diesem Handbuch...

Im Leitfaden Erste Schritte sind die ersten Schritte mit Ihrer Agilent ChemStation genau beschrieben. Wenn Sie die einzelnen Abschnitte der Reihe nach bearbeiten, erhalten Sie genug Informationen zu den grundlegenden Arbeiten, um eigene Proben zu analysieren. Sie können auch einzelne Abschnitte bearbeiten, um mehr über eine spezielle Aufgabe zu erfahren oder um Ihre Kenntnisse aufzufrischen.

1 Gleichgewichtseinstellung des Systems

Diese Übung führt Sie durch die ersten Schritte in der Bedienung Ihres Agilent Systems der Serie 1100 mit der ChemStation.

2 Erstellen einer Methode für eine Testprobe

Diese Übung vermittelt, wie das System zur chromatographischen Einzelanalyse eingerichtet wird.

3 Signalintegration

Wenn Sie ein gutes Chromatogramm erhalten haben, können Sie mit diesen Anweisungen das Signal laden und integrieren.

4 Einrichten der Kalibrierung

In dieser Übung richten Sie mit Hilfe von Beispieldatendateien verschiedene Kalibrierungsarten ein.

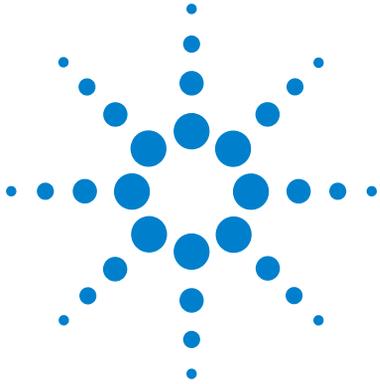
5 Automatisierte Analysen

Diese Übung hilft Ihnen bei der Erstellung einer Sequenz zur automatischen Analyse.

Inhalt

1	Gleichgewichtseinstellung des Systems	7
	Bevor Sie beginnen	8
	Konfiguration der Benutzeroberfläche	9
	Aufrufen der Standardmethode	11
	Konfiguration der Online-Grafikanzeige	11
	Spülen der Pumpe	13
	Einstellen der Gleichgewichtsbedingungen	14
2	Erstellen einer Methode für eine Testprobe	15
	Bevor Sie beginnen	16
	Einstellen des Injektors	17
	Einstellen der Pumpe	18
	Einstellen des Säulenthermostats	19
	Einstellen des Detektors	20
	DAD und MWD	20
	VWD	20
	Speichern der Methode	21
	Analysieren mit der Methode	22
3	Signalintegration	23
	Bevor Sie beginnen	24
	Integration eines Signals	25
	Ändern der Initial Events	26
	Vergrößern eines gewählten Signalbereichs	26

	Einstellen der Timed Events	27
4	Einrichten der Kalibrierung	29
	Bevor Sie beginnen	30
	Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung	31
	Quantifizierung einer unbekanntes Substanz	34
	Hinzufügen einer zweiten und dritten Stufe zur ESTD-Kalibrierung	35
	Quantifizierung einer unbekanntes Substanz	36
	Ändern des Kalibrierkurventyps	37
	Rekalibrierung einer Stufe	38
	Einrichten einer einstufigen ISTD-Kalibrierung	39
5	Automatisierte Analysen	41
	Bevor Sie beginnen	42
	Einstellen der Sequenzparameter	43
	Einrichten der Sequenztabelle	46
	Analysieren mit der Sequenz	48



1 Gleichgewichtseinstellung des Systems

- Bevor Sie beginnen 8
- Konfiguration der Benutzeroberfläche 9
- Konfiguration der Online-Grafikanzeige 11
- Aufrufen der Standardmethode 11
- Spülen der Pumpe 13
- Einstellen der Gleichgewichtsbedingungen 14

In dieser Übung werden Sie durch die Einstellung des Gleichgewichtes in Ihrem Agilent 1100 LC System geleitet.



1 Gleichgewichtseinstellung des Systems

Bevor Sie beginnen

Bevor Sie beginnen

HINWEIS

Diese Anleitung beschreibt die Gleichgewichtseinstellung für die Analyse der Agilent Isokratische Probe, Bestellnummer 01080-68702. Wenn Sie eine andere Probe verwenden wollen, müssen Sie die Bedingungen entsprechend anpassen.

Bevor Sie mit der Übung beginnen, prüfen Sie, ob

- Ihr Agilent 1100 Modul korrekt angeschlossen und betriebsbereit ist. Einzelheiten finden Sie im Hardware-Handbuch zu Ihrem System.
- eine entsprechende Säule installiert ist. Wir empfehlen für die Agilent Isokratische Probe eine Sorbax Eclipse XDB C-8, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm, Bestellnummer 993967-906.
- alle Module eingeschaltet sind.
- die ChemStation richtig konfiguriert ist. Sehen Sie in der Online-Hilfe unter Konfigurationseditor und ChemStation nach.
- die Lösungsmittelflaschen gefüllt sind (Wasser in Kanal A, Acetonitril in Kanal B).

Konfiguration der Benutzeroberfläche

In der Ansicht **Method and Run Control** der ChemStation ([Abbildung 1](#)) werden die Geräte- und Analysenparameter angezeigt und eingestellt.

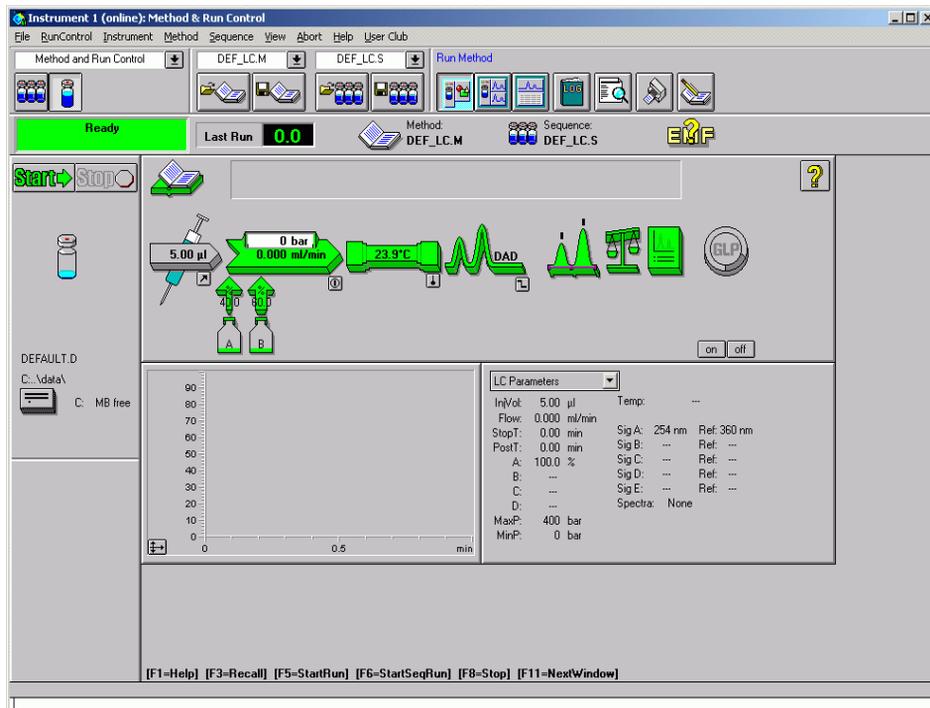


Abbildung 1 Die Ansicht Method and Run Control der ChemStation

1 Schalten Sie bei Bedarf in die Ansicht **Method and Run Control**:

View > Method and Run Control (siehe [Abbildung 2](#) auf Seite 10)

1 Gleichgewichtseinstellung des Systems

Konfiguration der Benutzeroberfläche

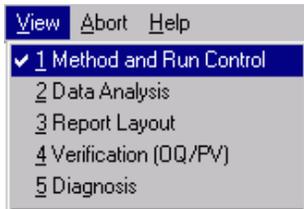


Abbildung 2 Umschalten zur Ansicht Method and Run Control

- 2 Klicken Sie in der Symbolleiste Run Method auf .
- 3 Schalten Sie bei Bedarf auf die vollständige Menüanzeige um:

View > Full Menu

HINWEIS

Dieser Punkt im Menü View schaltet abhängig von der aktuellen Anzeige zwischen vollständigem und kurzem Menü um.

- 4 Rufen Sie das Sampling Diagram auf, wenn es noch nicht angezeigt wird:
View > Sampling Diagram
- 5 Rufen Sie das System Diagram auf, wenn es noch nicht angezeigt wird:
View > Sampling Diagram

Aufrufen der Standardmethode

- 1 Öffnen Sie das Dialogfeld **Load Method**:
File > Load > Method
- 2 Wählen Sie `def_lc.m` aus der Methodenliste.
- 3 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen und die Methode zu laden.

HINWEIS

Der Name der aktiven (geladenen) Methode wird im mittleren Kombinationsfeld oben in der Symbolleiste angezeigt.

Konfiguration der Online-Grafikanzeige

- 1 Rufen Sie das Signalfenster auf:
View > Online Signals > Signal Window 1
- 2 Klicken Sie im Fenster Online Plot auf **Change**, um das Dialogfeld **Edit Signal Plot** aufzurufen (siehe [Abbildung 3](#)):

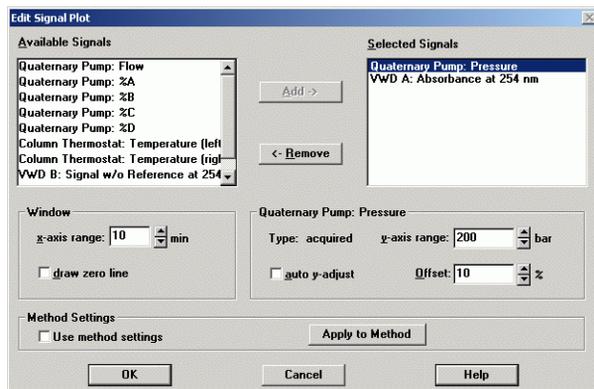


Abbildung 3 Das Dialogfeld Edit Signal Plot

1 Gleichgewichtseinstellung des Systems

Konfiguration der Benutzeroberfläche

- 3 Wählen Sie im Fenster **Available Signals** abhängig vom konfigurierten Detektor DAD 1A, MWD 1A oder VWD A, und klicken Sie auf **Add**.
- 4 Im Fenster **Available Signals** wählen Sie abhängig von der konfigurierten Pumpe Binary/Quaternary Pump Pressure, und klicken Sie auf **Add**.
- 5 Wählen Sie im Fenster **Selected Signals** den Pumpendruck.
 - a Setzen Sie in der Gruppe **Window x-axis range** auf 10 min.
 - b In der Gruppe **Pump Pressure** setzen Sie **Range** auf 200 bar.
- 6 Wählen Sie im Fenster **Selected Signals** das Detektorsignal.
 - a Setzen Sie den **y-axis range** auf 1000 mAU
- 7 Klicken Sie auf **OK**.

Spülen der Pumpe

- 1 Öffnen Sie manuell das Spülventil der Pumpe. Einzelheiten finden Sie im Hardware-Handbuch zu Ihrem System.
- 2 Klicken Sie im System Diagram auf die Pumpe  und wählen Sie aus dem Menü **Set up Pump**.
- 3 Setzen Sie in der Gruppe **Control Flow** auf 5 ml/min.
- 4 In der Gruppe **Solvents** setzen Sie 50% B (für binäre und quaternäre Pumpen).
- 5 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.
- 6 Klicken Sie im Systemdiagramm auf on, und lassen Sie die Pumpe 10 Minuten lang spülen.

HINWEIS

Falls Sie die Schaltflächen On und Off nicht sehen, verschieben Sie das Fenster Online Plot, bis die Schaltflächen sichtbar werden.

- 7 Beenden Sie nach 10 Minuten das Spülen, indem Sie auf off klicken.

Einstellen der Gleichgewichtsbedingungen

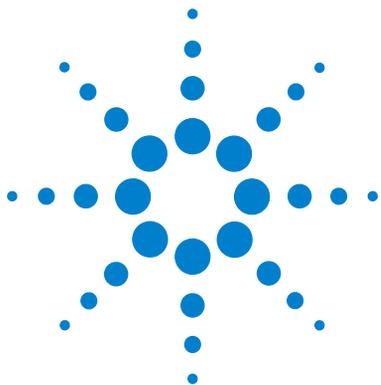


- 1 Klicken Sie im Systemdiagramm auf die Pumpe,  und wählen Sie aus dem Menü **Set up Pump**.
 - a Setzen Sie in der Gruppe **Control Flow** auf 1 ml/min.
 - b Setzen Sie in der Gruppe **Solvents** 80% B (für binäre und quaternäre Pumpen).

HINWEIS

Wenn Sie eine andere Probe als die Agilent Isokratische Probe (Bestellnummer 01080-68702) verwenden, müssen Sie die Anfangsparameter der Analyse anpassen.

- c Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.
- 2 Prüfen Sie nach 5 Minuten, ob in der Online-Grafikanzeige ein Pumpendruck angezeigt wird.
- 3 Beobachten Sie die Online-Grafikanzeige, nachdem sich die Basislinie stabilisiert hat, und lassen Sie die Pumpe noch mindestens 15 Minuten arbeiten, um das Gleichgewicht herzustellen.



2 Erstellen einer Methode für eine Testprobe

Bevor Sie beginnen	16
Einstellen des Injektors	17
Einstellen der Pumpe	18
Einstellen des Säulentermostats	19
DAD und MWD	20
VWD	20
Einstellen des Detektors	20
Speichern der Methode	21
Analysieren mit der Methode	22

Anhand dieses Vorgangs können Sie eine Methode zur Datenakquisition einer Standardprobe erstellen.



2 Erstellen einer Methode für eine Testprobe

Bevor Sie beginnen

Bevor Sie beginnen

HINWEIS

Diese Anleitungen beschreiben die Einrichtung einer Methode zur Analyse der Agilent Isokratischen Probe, Bestellnummer 01080-68702. Wenn Sie eine andere Probe verwenden wollen, müssen Sie die Bedingungen entsprechend anpassen.

Bevor Sie beginnen, müssen Sie prüfen, ob

- eine entsprechende Säule installiert ist. Wir empfehlen für die Agilent Isokratische Probe eine Sorbax Eclipse XDB C-8, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm, Bestellnummer 993967-906.
- Ihr System gespült ist und sich im Gleichgewicht befindet; siehe [Kapitel 1](#), "Gleichgewichtseinstellung des Systems".
- die Lösungsmittelflaschen gefüllt sind (Wasser in Kanal A, Acetonitril in Kanal B).
- Sie eine Probe in einem mit Septum verschlossenen 2 ml Probenfläschchen vorbereitet haben.
- die Standardmethode def_lc.m geladen ist.

Einstellen des Injektors



- 1 Klicken Sie im Systemdiagramm auf Injektor, und wählen Sie aus dem Menü **Set up Injektor**.
 - a In der Gruppe **Injection** wählen Sie **Standard Injection** und setzen **Injection Volume** auf 5,0 µl.
 - b Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld **Set up Injektor** zu schließen.

Einstellen der Pumpe

- 1 Klicken Sie im Systemdiagramm auf Pumpe,  und wählen Sie aus dem Menü **Set up Pump**.
- 2 Setzen Sie in der Gruppe **Control Flow** auf 1 ml/min.
- 3 Stellen Sie **Stoptime** auf 6min.
- 4 Stellen Sie **Posttime** auf 2min.
- 5 Setzen Sie in der Gruppe **Solvents %B** auf 80 (für binäre und quaternäre Pumpen).
- 6 Klicken Sie unter **Timetable** auf **Append**.
- 7 Setzen Sie **Time** auf 2,0 min und **%B** auf 80.
- 8 Klicken Sie erneut auf **Append** und setzen Sie **Time** auf 6 min und **%B** auf 100.

HINWEIS

Wenn Sie eine andere als die Agilent Isokratische Probe (Bestellnummer 01080-68702) verwenden, müssen Sie die Anfangsparameter der Analyse anpassen.

- 9 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.
- 10 Klicken Sie unter System Diagram auf die Lösungsmittelflaschen,  und wählen Sie aus dem Menü **Solvent Bottles Filling**.
- 11 Tragen Sie die tatsächlichen Volumina der Lösungsmittel in A und B ein.
- 12 Prüfen Sie, ob **Prevent analysis if level falls below** und **Turn pump off if running out of solvent** markiert sind.
- 13 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

Einstellen des Säulenthmostats

- 1 Klicken Sie im Systemdiagramm auf die Säule,  und wählen Sie aus dem Menü **Column Thermostat Method**.

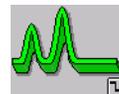
HINWEIS

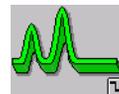
Wenn ein Säulenschaltventil installiert ist, muss das Ventil die entsprechende Säule benutzen.

- 2 Stellen Sie **Temperature** auf 25°C.
- 3 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

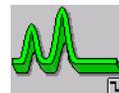
Einstellen des Detektors

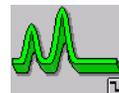
DAD und MWD



- 1 Klicken Sie im Systemdiagramm auf den Detektor,  und wählen Sie aus dem Menü **Set up DAD Signals** oder **Set up MWD Signals**.
- 2 In der Gruppe **Signals** wählen Sie **Store** für die Wellenlängen A und B.
- 3 Setzen Sie in der Zeile A **Sample** auf 205 nm, **Bw** auf 10 nm, **Reference** auf 400 nm, **Bw** auf 80 nm.
- 4 Setzen Sie in der Zeile B **Sample** auf 280 nm, **Bw** auf 10 nm, **Reference** auf 400 nm, **Bw** auf 80 nm.
- 5 In der Gruppe **Required Lamps** wählen Sie beide: **UV** und **Vis**.
- 6 In der Gruppe **Peakwidth (Responsetime)** öffnen Sie die Pulldown-Liste und wählen **>0.1 min (2 s)**.
- 7 Öffnen Sie in der Gruppe **Slit** die Pulldown-Liste und wählen Sie **4 nm**.
- 8 Wählen Sie in der Gruppe **Autobalance Prerun**.
- 9 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

VWD



- 1 Klicken Sie im Systemdiagramm auf den Detektor,  und wählen Sie aus dem Menü **Set up VWD Signals**.
- 2 Setzen Sie in der Gruppe **Signals** **Wavelength** auf 254 nm.
- 3 In der Gruppe **Peakwidth (Responsetime)** öffnen Sie die Pulldown-Liste und wählen **>0.1 min (2 s)**.
- 4 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

Speichern der Methode

- 1 Öffnen Sie das Dialogfeld **Save Method as**:
File > Save As > Method
- 2 Tragen Sie in das Feld **Name** den Namen `testmeth` ein und klicken auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.
- 3 Tragen Sie in das Dialogfeld **Save Method** einen Kommentar ein (zum Beispiel: `Methode für die Testprobe`), und klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

Analysieren mit der Methode

- 1 Stellen Sie das Probefläschchen in die Position 11 des Probentellers.

HINWEIS

Verwenden Sie bei einem Wellplate-Probengeber eine geeignete Position, zum Beispiel 1A1. Weitere Einzelheiten finden Sie in der Online-Hilfe.

- 2 Klicken Sie auf die Schaltfläche **Single Sample**  in der Symbolleiste.

- 3 Öffnen Sie das Dialogfeld **Sample Info**:

RunControl > Sample Info

- 4 Tragen Sie Ihren Namen in das Feld **Operator Name** ein.

- 5 In der Gruppe **Data File**:

- a Wählen Sie **Prefix/Counter**.

- b Öffnen Sie das **Subdirectory** `test` und drücken Sie die Eingabetaste. Falls das Unterverzeichnis nicht existiert, erscheint eine Warnmeldung.

- 6 In der Gruppe **Sample Parameters**:

- a Geben Sie in das Feld **Location** 11 ein.

- b Geben Sie in das Feld **Sample Name** Testprobe ein.

- c Tragen Sie einen Kommentar zur Testprobe in dem Feld **Comment** ein.

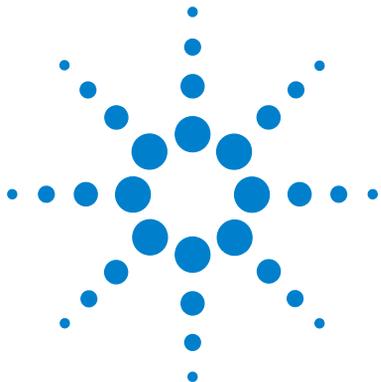
- 7 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

- 8 Klicken Sie im Sampling Diagram auf .

HINWEIS

Sie können die Methode auch starten, indem Sie auf im Dialogfeld Sample Info auf **Run Method** klicken oder die Taste **F5** auf der Tastatur drücken.

- 9 Wenn der Lauf beendet ist, klicken Sie im System Diagram auf , um das Gerät abzuschalten. Klicken Sie auf **Yes**, um die Abschaltung zu bestätigen.



3 Signalintegration

- Bevor Sie beginnen 24
- Integration eines Signals 25
- Vergrößern eines gewählten Signalbereichs 26
- Ändern der Initial Events 26
- Einstellen der Timed Events 27

Diese Übung begleitet Sie bei der Signalintegration.



3 Signalintegration

Bevor Sie beginnen

Bevor Sie beginnen

Diese Übung verwendet die Datendatei aus [Kapitel 2](#), “Erstellen einer Methode für eine Testprobe”. Sie können aber auch die Beispieldatei DEMODAD.D aus dem Ordner CHEM32\n\DATA\DEMO verwenden (n steht für die Gerätenummer).

Integration eines Signals

- 1 Schalten Sie bei Bedarf in die Ansicht **Data Analysis**:
View > Data Analysis (siehe [Abbildung 4](#))

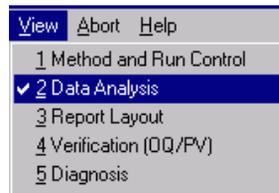


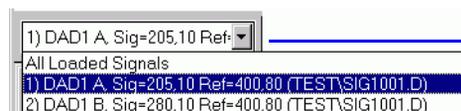
Abbildung 4 Wechsel zur Ansicht Data Analysis

- 2 Klicken Sie in der Symbolleiste Data Analysis auf , um in den Arbeitsbereich Integration zu wechseln.
- 3 Laden Sie die Datendatei aus der Übung [Kapitel 2](#), "Erstellen einer Methode für eine Testprobe":

File > Load Signal

- 4 Wechseln Sie in dem Dialogfeld **Load Signal** zum Ordner **TEST**, und wählen Sie die Datei.
- 5 Klicken Sie in der Symbolleiste Integration/Report auf , um zur Tabelle der Integrationsereignisse zu wechseln.
- 6 Klicken Sie oberhalb der Tabelle mit den Integrationsereignissen auf den Abwärtspfeil, um die Liste der verfügbaren Signale anzuzeigen und wählen Sie dann, abhängig vom verwendeten Detektor, das Signal **VWD1 A**, **DAD1 A** oder **MWD1 A**.

Weitere Informationen zu den verfügbaren Signalen finden Sie in der Online-Hilfe.



Der Abwärtspfeil Signalauswahl

Abbildung 5 Auswahl des Signals

Ändern der Initial Events

- 1 Überprüfen Sie in der Tabelle der Integrationsergebnisse unterhalb des Signalfensters die Flächenwerte der integrierten Peaks.
- 2 Ermitteln Sie die Fläche des kleinsten Peaks, den Sie integrieren möchten.
- 3 Klicken Sie in der Tabelle der Integrationsergebnisse in die Spalte **Value** des Ereignisses **Area Reject**, und tragen Sie einen Wert knapp unterhalb der Fläche des kleinsten Peaks, den Sie integriert haben wollen, ein.
- 4 Klicken Sie in der Integration/Report Symbolleiste auf , um das Signal zu reintegrieren.

Vergrößern eines gewählten Signalbereichs

Sie können die Basislinie der Integration durch Vergrößern eines gewählten Signalbereichs überprüfen.

- 1 Klicken Sie in der Symbolleiste auf , um zum Vergrößerungszeiger zu wechseln.
- 2 Positionieren Sie im Signalfenster das Fadenkreuz des Zeigers auf die untere linke Ecke des zu vergrößernden Bereiches (zum Beispiel unterhalb der Signalbasislinie links vom kleinsten Peak).
- 3 Klicken Sie mit der linken Maustaste und halten Sie diese gedrückt, während Sie das Fadenkreuz zur oberen rechten Ecke des gewählten Bereiches bewegen.
- 4 Wenn Sie die Maustaste loslassen, wird der gewählte Bereich im Signalfenster angezeigt.
- 5 Klicken Sie in der Symbolleiste auf , um zur ursprünglichen Vergrößerung zurückzukehren.

HINWEIS

Sie können die Zoom-Funktion mehrfach benutzen, um einen bestimmten Signalbereich zu erreichen. Jedes Mal, wenn Sie auf den Schalter Zoom out klicken, erscheint die jeweilige vorherige Vergrößerung.

Einstellen der Timed Events

- 1 Klicken Sie in der Symbolleiste auf den Abwärtspfeil zur Anzeige der Liste der Integrationsereignisse (siehe [Abbildung 6](#)).

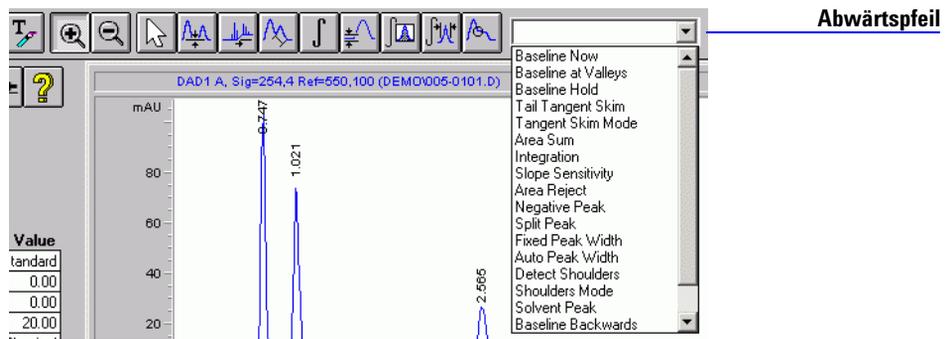


Abbildung 6 Anzeige der Liste der Integrationsereignisse

- 2 Wählen Sie Integration aus der Liste.
- 3 Setzen Sie im Signalfenster den Cursor links vom Lösungsmittelpeak und klicken Sie mit der linken Maustaste.
Der Tabelle der Integrationsereignisse wird eine Zeile mit dem Ereignis Integration, dem Wert **OFF** und der mit dem Cursor gewählten Zeit hinzugefügt.
- 4 Verschieben Sie den Cursor auf eine Position rechts vom Lösungsmittelpeak und klicken Sie mit der linken Maustaste.
Der Tabelle der Integrationsereignisse wird ein Integrationsereignis mit dem Wert **ON** und der durch den Cursor gewählten Zeit hinzugefügt.
- 5 Klicken Sie in der Symbolleiste Integration/Report auf , um das Signal zu reintegrieren.

HINWEIS

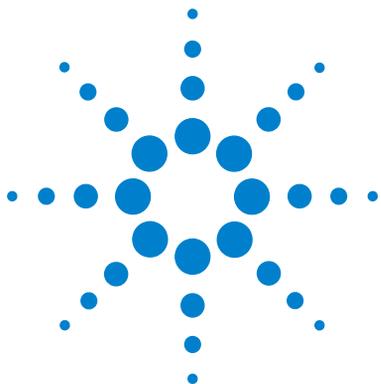
Beachten Sie, dass nun der Lösungsmittelpeak nicht mehr integriert wird und nicht mehr in der Tabelle der Integrationsergebnisse erscheint.

3 Signalintegration

Einstellen der Timed Events

Alle Einzelheiten zu den verfügbaren Integrationsereignissen finden Sie in der Online-Hilfe.

- 6 Klicken Sie in der Symbolleiste des Arbeitsbereichs Integration auf , um die geänderte Tabelle der Integrationsereignisse zu speichern und den Arbeitsbereich Integration zu verlassen.
- 7 Klicken Sie in der Symbolleiste auf , um das Dialogfeld **Save Method** aufzurufen.
- 8 Tragen Sie in das Dialogfeld **Save Method** einen Kommentar ein (zum Beispiel: Geänderte Integrationsereignisse), und klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.



4 Einrichten der Kalibrierung

- Bevor Sie beginnen 30
- Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung 31
- Quantifizierung einer unbekanntes Substanz 34
- Hinzufügen einer zweiten und dritten Stufe zur ESTD-Kalibrierung 35
- Quantifizierung einer unbekanntes Substanz 36
- Ändern des Kalibrierkurventyps 37
- Rekalibrierung einer Stufe 38
- Einrichten einer einstufigen ISTD-Kalibrierung 39

Richten Sie eine Kalibrierung ein.



4 Einrichten der Kalibrierung

Bevor Sie beginnen

Bevor Sie beginnen

Für den Vorgang werden Beispieldateien aus dem Ordner CHEM32\n\DATA\ DEMO verwendet (wobei n die Gerätenummer darstellt).

Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung

- 1 Schalten Sie bei Bedarf in die Ansicht **Data Analysis**:
View > Data Analysis (siehe [Abbildung 7](#))

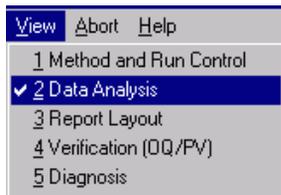


Abbildung 7 Wechsel zur Ansicht Data Analysis

- 2 Klicken Sie in der Symbolleiste Data Analysis auf , um in den Arbeitsbereich Kalibrierung zu wechseln.
- 3 Laden Sie das Signal A der ersten Datendatei, 005-0101.D:
 - a **File > Load Signal**
 - b Wechseln Sie in dem Dialogfeld **Load Signal** zu dem Ordner **CHEM32\n\DATA\DEMO**, wobei **n** die Gerätenummer ist.
 - c Wählen Sie die Datendatei 005-0101.D.
 - d Klicken Sie auf die Schaltfläche **Full >>**, um die Signalangaben anzuzeigen (siehe [Abbildung 8](#) auf Seite 32).
 - e Wählen Sie das erste Signal, DAD1 A und klicken Sie auf **OK**.
 - f **Integrate after load** muss ausgewählt sein.

Dies ist eine Kalibrierprobe mit jeweils 100 ng je Substanz.

4 Einrichten der Kalibrierung

Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung

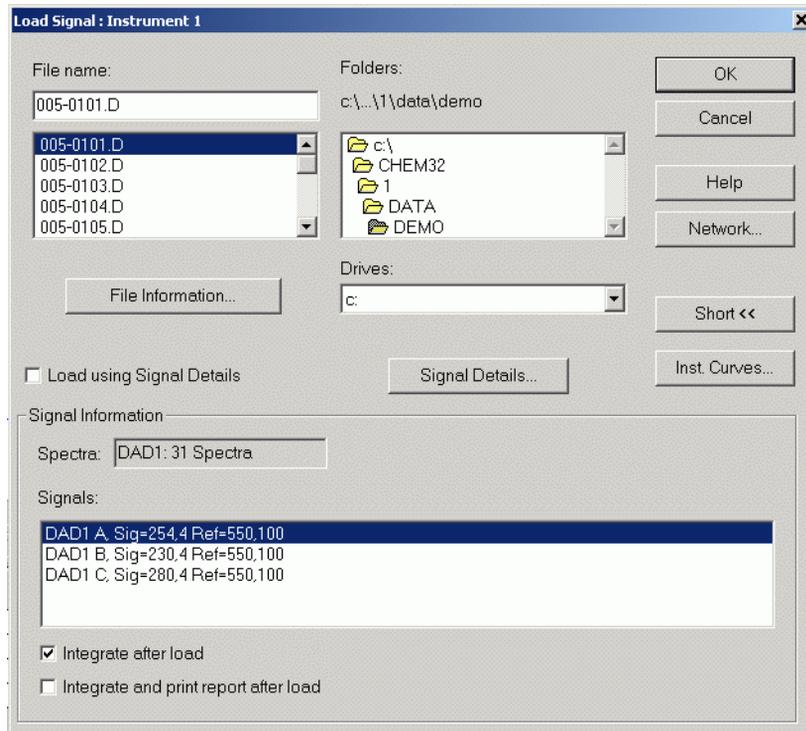


Abbildung 8 Das Dialogfeld Load Signal

- Öffnen Sie das Dialogfeld **Calibrate** (siehe [Abbildung 9](#) auf Seite 33):
Calibration > New Calibration Table

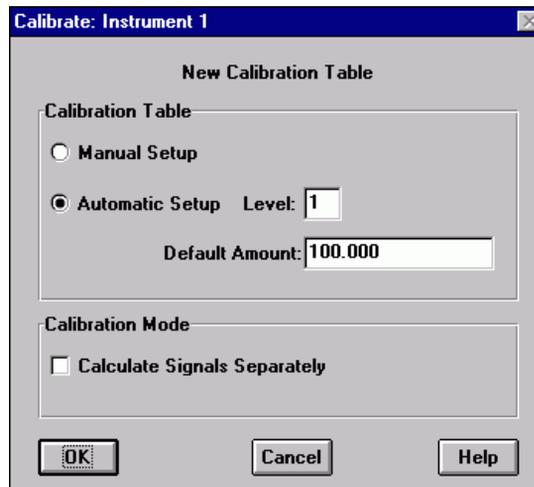


Abbildung 9 Das Dialogfeld Calibrate für eine neue Kalibriertabelle

- 5 In der Gruppe **Calibration Table**:
 - a Wählen Sie die Option **Automatic Setup**.
 - b Stellen Sie **Level** auf 1 ein.
 - c Stellen Sie **Default Amount** auf 100 ein.
- 6 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen und die Kalibriertabelle einzurichten.
- 7 Tragen Sie in die Spalte **Compound** der Kalibriertabelle die Substanznamen der vier Substanzen ein (zum Beispiel: Substanz 1, Substanz 2, Substanz 3 und Substanz 4) ein.
- 8 Klicken Sie auf **OK**, um die Kalibriertabelle zu schließen.

Quantifizierung einer unbekanntes Substanz

- 1 Öffnen Sie das Dialogfeld **Specify Report**:
Report > Specify Report
- 2 Wählen Sie in der **Destination** Gruppe **Printer** und **Screen**.
- 3 In der Gruppe **Quantitative Results**:
 - a Klicken Sie auf den Abwärtspfeil des Kombinationsfeldes **Calculate** und wählen Sie **ESTD** aus der Liste aus.
 - b **Based On** muss auf **Area** und **Sorted By** auf **Signale** eingestellt sein.
 - c Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.
- 4 In der Gruppe **Style** muss **Add Chromatogram Output** gewählt sein.
- 5 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld **Specify Report** zu schließen.
- 6 Speichern Sie die Methode unter `testcal.m`:
File > Save As > Method
- 7 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 005-0102.D aus dem Ordner **DEMO**.

Siehe [Schritt 3](#) von [“Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung”](#) auf Seite 31 für genaue Anweisungen.
- 8 Geben Sie einen quantitativen Report am Bildschirm und am Drucker aus:
Report > Specify Report

Hinzufügen einer zweiten und dritten Stufe zur ESTD-Kalibrierung

- 1 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 006-0201.D aus dem Ordner **DEMO**.

Siehe [Schritt 3](#) von ["Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung"](#) auf Seite 31 für genaue Anweisungen.

Dies ist eine Kalibrierprobe mit jeweils 200 ng je Substanz.

- 2 Öffnen Sie das Dialogfeld **Calibrate** und fügen Sie eine neue Stufe hinzu (siehe [Abbildung 10](#)):

Calibration > Add Level

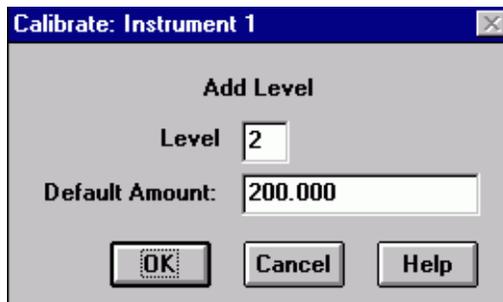


Abbildung 10 Das Dialogfeld Calibrate zum Hinzufügen einer neuen Stufe

- 3 **Level** muss auf 2 gesetzt sein.
- 4 Geben Sie 200 in das Feld **Default Amount** ein.

HINWEIS

Die Kalibriertabelle wird automatisch mit einer neuen Stufe für jede Substanz aktualisiert.

- 5 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 007-0301.D aus dem Ordner **DEMO**.

4 Einrichten der Kalibrierung

Hinzufügen einer zweiten und dritten Stufe zur ESTD-Kalibrierung

Siehe [Schritt 3](#) von “[Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung](#)” auf Seite 31 für genaue Anweisungen.

Dies ist eine Kalibrierprobe mit jeweils 300 ng je Substanz.

- 6 Öffnen Sie das Dialogfeld **Calibrate** und fügen Sie eine neue Stufe hinzu (siehe [Abbildung 10](#)):

Calibration > Add Level

- 7 **Level** muss auf 3 gesetzt sein.

- 8 Geben Sie 300 in das Feld **Default Amount** ein.

- 9 Speichern Sie die Methode

File > Save As > Method

Quantifizierung einer unbekannt Substanz

- 1 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 005-0102.D aus dem Ordner **DEMO**.

Siehe [Schritt 3](#) von “[Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung](#)” auf Seite 31 für genaue Anweisungen.

- 2 Geben Sie einen quantitativen Report am Bildschirm und am Drucker aus:

Report > Specify Report

Ändern des Kalibrierkurventyps

- 1 Öffnen Sie das Dialogfeld **Calibration Settings** (siehe [Abbildung 11](#)):

Calibration > Calibration Settings

Calibration Settings: Instrument 1

Title: _____

Use Sample Data: **From Data File**

Sample Defaults

Amount	0.000	I#	Compound	ISTD Amount
Amount Units	ng/ul			
Multiplier	1.000			
Dilution	1.000			

Enter

Default RT Windows

	Minutes		%
Reference Peaks	0.00	+	5.00
Other Peaks	0.00	+	5.00

Default Calibration Curve

Type: **Linear**

Origin: **Include**

Weight: **Equal**

Calculate Uncalibrated Peaks

For Signal: **DAD1 A, Sig=254.4 Ref=55**

Using Compound **None**

With Rsp Factor **0.000**

Use ISTD **None**

No

If Peaks Missing

Partial Calibration

Correct All RTs

ISTD Correction

Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

OK Cancel Help

Abbildung 11 Das Dialogfeld Calibration Settings

- 2 In der Gruppe **Default Calibration Curve** setzen Sie **Type** auf **Power**.

Beachten Sie die Änderung der Kalibrierkurve.

- 3 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.

- 4 Requantifizieren Sie die unbekannt Substanzen und beachten Sie die Ergebnisänderungen.

Report > Specify Report

Rekalibrierung einer Stufe

- 1 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 005-0103.D aus dem Ordner **DEMO**.

Siehe [Schritt 3](#) von “[Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung](#)” auf Seite 31 für genaue Anweisungen.

- 2 Öffnen Sie das Dialogfeld **Recalibrate** (siehe [Abbildung 12](#)):

Calibration > Calibration Settings

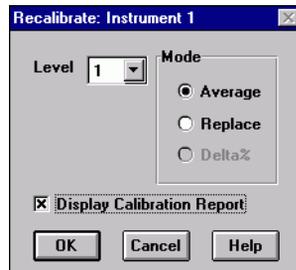


Abbildung 12 Das Dialogfeld Recalibrate

- 3 Im Dialogfeld **Recalibrate** setzen Sie **Level** auf 1 und **Mode** auf **Average**.
- 4 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen.
- 5 Wählen Sie **Display Calibration Report**.
- 6 Beachten Sie bei dem angezeigten Report die Änderungen, schließen den Report und übernehmen Sie die Rekalibrierung.
- 7 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 005-0102.D aus dem Ordner **DEMO**.

Siehe [Schritt 3](#) von “[Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung](#)” auf Seite 31 für genaue Anweisungen.

- 8 Geben Sie einen quantitativen Report am Bildschirm und am Drucker aus:

Report > Specify Report

Einrichten einer einstufigen ISTD-Kalibrierung

Für diesen Vorgang werden die gleichen Datendateien wie für die ESTD-Kalibrierung verwendet, wobei jedoch der zweite Peak den internen Standard darstellt.

1 Laden Sie die Standardmethode def_lc.m:

File > Load > Method

2 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 005-0101.D aus dem Ordner **DEMO**.

Siehe [Schritt 3](#) von “[Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung](#)” auf Seite 31 für genaue Anweisungen.

3 Öffnen Sie das Dialogfeld **Calibrate** (siehe [Abbildung 9](#) auf Seite 33):

Calibration > New Calibration Table

4 In der Gruppe **Calibration Table**:

a Wählen Sie die Option **Automatic Setup**.

b Stellen Sie **Level** auf 1.

c Stellen Sie **Default Amount** auf 100.

5 Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld zu schließen und die Kalibriertabelle einzurichten.

6 Geben Sie in die Spalte **Compound** der Kalibriertabelle die Namen der drei Substanzen und des internen Standards ein (zum Beispiel: Substanz 1, IntStd, Substanz 2 und Substanz 3).

4 Einrichten der Kalibrierung

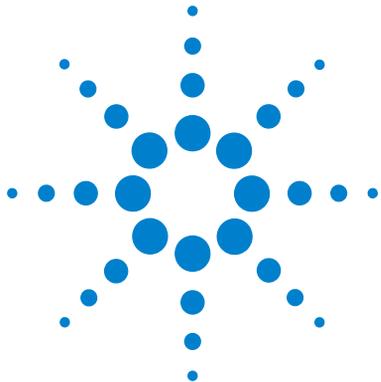
Einrichten einer einstufigen ISTD-Kalibrierung

- 7 Klicken Sie in die Spalte **ISTD** des 2. Peaks, wählen den Abwärtspfeil und anschließend **Yes**, und klicken Sie auf eine andere Stelle in der Kalibriertabelle, um das Dialogfeld **Calibration Table** aufzurufen (siehe [Abbildung 13](#)).



Abbildung 13 Das Dialogfeld Calibration Table

- 8 Im Dialogfeld **Calibration Table**,
 - a Stellen Sie **ISTD #** auf 1.
 - b Stellen Sie **ISTD Amount** auf 200.
 - c Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld **Calibration Table** zu schließen.
- 9 Setzen Sie in der Spalte **Amt** des 2. Peaks die Menge des Internen Standards auf 200.
- 10 Öffnen Sie das Dialogfeld **Specify Report**:
Report > Specify Report
- 11 Wählen Sie in der **Destination** Gruppe **Printer** und **Screen**.
- 12 In der Gruppe **Quantitative Results**:
 - a Klicken Sie auf den Abwärtspfeil des Kombinationsfeldes **Calculate** und wählen **ISTD** aus der Liste.
 - b **Based On** muss auf **Area** und **Sorted By** auf **Signal** gestellt sein.
- 13 Speichern Sie die Methode unter testcal2.m:
File > Save As > Method
- 14 Laden Sie das Signal DAD1 A der Datendatei 005-0102.D aus dem Ordner **DEMO**.
Siehe [Schritt 3](#) von "Einrichtung einer einstufigen ESTD-Kalibrierung" auf Seite 31 für genaue Anweisungen.
- 15 Geben Sie einen quantitativen Report am Bildschirm und am Drucker aus:
Report > Specify Report



5 Automatisierte Analysen

Bevor Sie beginnen	42
Einstellen der Sequenzparameter	43
Einrichten der Sequenztabelle	46
Analysieren mit der Sequenz	48

Diese Übung betrifft die Erstellung einer Sequenz.



Bevor Sie beginnen

Bevor Sie mit der Übung beginnen, prüfen Sie, ob:

- Sie mehrere Proben haben, die sie automatisch analysieren möchten,
- die Proben mit den gleichen analytischen Bedingungen (Säule, Lösungsmittelsystem) analysiert werden können.

Einstellen der Sequenzparameter

- 1 Schalten Sie bei Bedarf in die Ansicht **Method and Run Control**:
View > Method and Run Control (siehe [Abbildung 14](#))

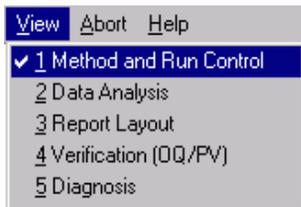


Abbildung 14 Umschalten zur Ansicht Method and Run Control

- 2 Klicken Sie auf  in der Hauptsymbolleiste, um zum Fenster Sequence zu gelangen.
- 3 Laden Sie die Standardsequenz def_lc.s:
File > Load > Sequence
- 4 Öffnen Sie das Dialogfeld **Sequence Parameters** (siehe [Abbildung 15](#) auf Seite 44):
Sequence > Sequence Parameters

5 Automatisierte Analysen

Einstellen der Sequenzparameter

Sequence Parameters: Instrument 1

Operator Name:

Data File

Auto Prefix/Counter

Prefix: Counter:

Subdirectory:

Path: C:\Chem32\1\DATA\

Bar Code Reader

Use In Sequence

On a bar code mismatch

Inject anyway

Don't inject

Part of methods to run

Use Sequence Table Information

WaitTime: min
(after loading a new method)

Shutdown

Post-Sequence Cmd / Macro

nRdy Timeout: min

Sequence Comment:

OK Cancel Help

Abbildung 15 Das Dialogfeld Sequence Parameters

- 5 Tragen Sie im Dialogfeld **Sequence Parameters** Ihren Namen in das Feld **Operator Name** ein.
- 6 In der Gruppe **Data File**:
 - a Wählen Sie **Prefix/Counter**
 - b Tragen Sie einen Präfixnamen ein, zum Beispiel **Seq**.
 - c Belassen Sie den Zähler auf dem Vorgabewert (0001).
 - d Geben Sie einen **Subdirectory**-Namen ein, zum Beispiel **TestSeq** und klicken auf eine freie Stelle im Dialogfeld. Klicken Sie im Mitteilungsfeld auf **OK**, um das Unterverzeichnis zu erstellen.

Diese Parameter benennen die Datendateien ihrer Sequenzproben automatisch als Seq0001, Seq0002, . . . , Seq000n und speichern sie im neuen Unterverzeichnis TestSeq.

- e** Wählen sie in der Gruppe **Shutdown Post-sequence Cmd/Macro**.
- f** Klicken Sie auf den Abwärtspfeil und wählen Sie **STANDBY**.
- g** Setzen Sie **nRdy Timeout** auf 15 Minuten.

Dies bewirkt, dass das System bei einem Fehler nach 15-minütiger Inaktivität ordentlich abgeschaltet wird.

Klicken Sie auf **OK**, um das Dialogfeld **Sequence Parameters** zu schließen.

Einrichten der Sequenztabelle

1 Öffnen Sie die **Sequence Table** (siehe [Abbildung 16](#)):

Sequence > Sequence Table

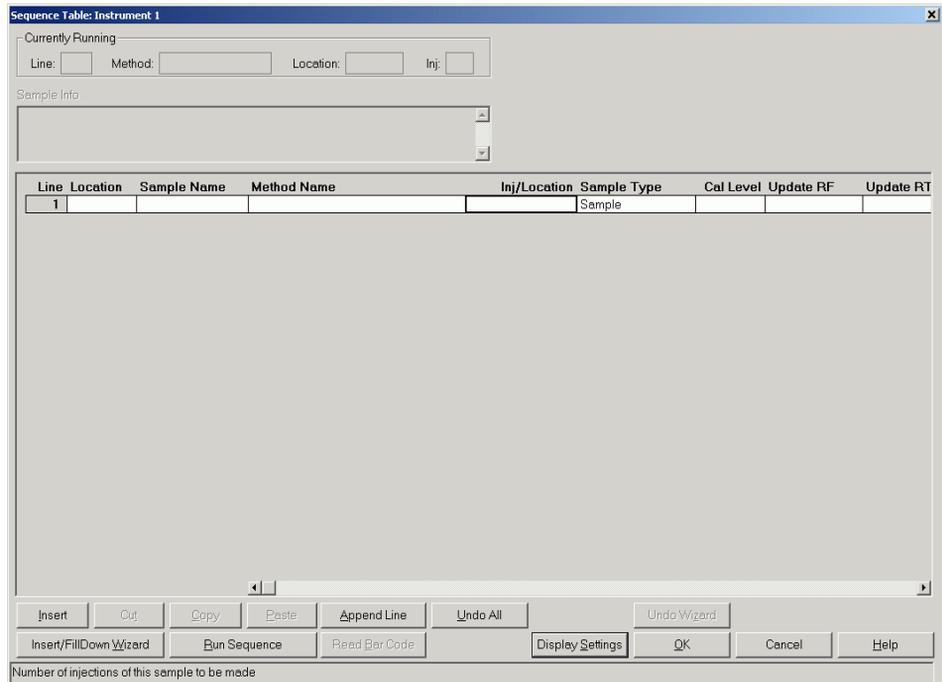


Abbildung 16 Sequenztabelle

2 Tragen Sie in der ersten Zeile der **Sequence Table** die verpflichtenden Angaben ein:

- a Tragen Sie **Sample Location** ein.
- b Klicken Sie zur Anzeige der Pulldown-Liste in die Zelle **Method**, und wählen Sie eine Methode.
- c Geben Sie die Anzahl der Injektionen für diesen Platz an.

Sie können auch die übrigen Felder ausfüllen. Der horizontale Rollbalken gibt Ihnen Zugang zu den Spalten der rechten Tabellenseite. Weiter Informationen finden Sie in der Online-Hilfe und im Handbuch "Zum Verständnis Ihrer ChemStation".

- 3 Klicken Sie auf **Append Line**, um eine neue Zeile zur Tabelle hinzuzufügen und die vorherige abzuschließen.
- 4 Wenn Sie in der **Sequence Table** für jede Ihrer Proben eine Zeile ausgefüllt haben, klicken Sie auf **OK**, um die **Sequence Table** zu beenden.
- 5 Speichern Sie die Sequenz unter einem neuen Namen:
Sequence > Sequence Parameters

Analysieren mit der Sequenz

- 1 Überprüfen Sie, ob sich alle Ihre Proben entsprechend den Angaben in der **Sequence Table** an der richtigen Position des Probentellers befinden.
- 2 Klicken Sie zum Start der Sequenz auf .

www.agilent.com

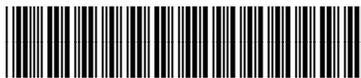
In diesem Buch

Dieses Buch enthält eine schrittweise Anleitung für erste Schritte mit der Agilent ChemStation. Folgende Bereiche werden behandelt:

- Gleichgewichtseinstellung im System
- Erstellen einer Methode zur Analyse einer Testprobe
- Integration des Signals
- Einrichten der Kalibrierung
- Automatische Analysen

© Agilent Technologies 2004

Gedruckt in Deutschland
08/2004



G2170-92220



Agilent Technologies