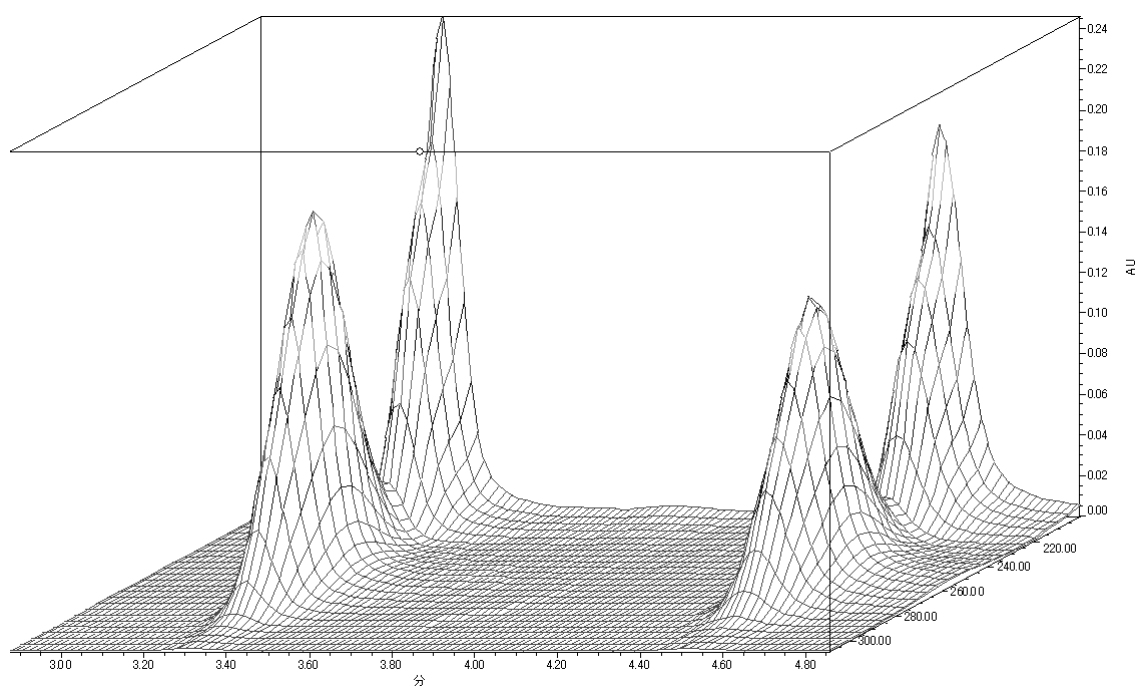


# Empower3 PDA トレーニングテキスト

3471-J



日本ウォーターズ株式会社

XEM3PDA0100

TEL : 0120-800-299

FAX : 03-3471-7118

E-Mail : [jp\\_support@waters.com](mailto:jp_support@waters.com)

Web : <http://www.waters.com/>

iRequestWeb サポート : <http://www.waters.com/irequest>

Empower トラブルシューティング : [http://www.waters.com/japan\\_empower\\_tips](http://www.waters.com/japan_empower_tips)

Masslynx トラブルシューティング : [http://www.waters.com/japan\\_masslynx\\_tips](http://www.waters.com/japan_masslynx_tips)



---

## このテキストの利用法

### 初めて使う場合

- ・まず Empower3 基礎トレーニングテキストをご一読ください。ソフトウェアの基本ルールや操作方法をご紹介します。このテキストでは PDA (2998, 2996, 996 及び ACQUITY シリーズ) 検出器を用いた測定条件や、3D データ解析に特有の操作をピックアップしています。

### PDA 検出器を用いて初めて分析を行う場合

- ・第 1 章をご覧になり分析に必要な液クロの運転条件設定 (装置メソッド・メソッドセットの作成) を行います。
- ・第 1 章でお試しのデータを分析した場合は第 2 章に進み、面積計算・検量線作成・定量計算・スペクトル解析に必要な解析条件 (解析メソッド及びメソッドセット) を作成します。ここでメソッドセットを作成しておく、以後の分析時に (または分析後の再解析時)、メソッドセットを使用した解析が可能になります。

### PDA 検出器データの解析

- ・第 2 章で作成したメソッドセットをご使用いただくと、分析と同時に解析を自動で実行できます。分析終了後、第 4 章の「結果データの確認」第 5 章の「解析結果の印刷」を行います。
- ・同時解析を行っていない場合は分析後の解析が必要です。
- ・分析と同時に解析を行った (あるいは行っていない) 場合でも、第 3 章の「サンプルセットデータの再解析」セクションをご覧になれば、分析したデータを再解析 (あるいは解析) できます。

\* このテキストでご紹介する解析とは、スペクトル情報を用いたピーク純度試験・ライブラリ検索、2D クロマトグラムによる検量線作成・定量を含みます。該当部分をご参照下さい。

### 解析結果の印刷

- ・印刷を行う場合は第 5 章で行います。

### ライブラリの管理

- ・Empower3 では、ライブラリ管理は専用画面を用います。変更・バックアップ・リストア・削除等をされる場合は第 6 章の「ライブラリの管理」をご参照下さい。

---

# 目次

第1章	分析を行う	
	Empower3 の起動	-1-2
	分析条件の設定ー装置メソッド	-1-3
	装置のセットアップ・ベースラインモニター	-1-8
	シングルインジェクションの分析開始	-1-11
第2章	解析条件の設定	
	クロマトグラムを確認する	-2-2
	解析メソッド/メソッドセットの作成	-2-9
	メソッドセットの確認・変更	-2-27
	解析メソッド・メソッドセットの保存	-2-29
	複数波長を抽出する場合	-2-30
第3章	サンプルセット データの再解析	
	連続分析のデータを表示する	-3-2
	メソッドセットの適用	-3-4
	解析メソッド・メソッドセットの保存	-3-7
	サンプル情報の変更	-3-8
	自動解析の実行	-3-11
	解析の終了	-3-13
第4章	結果の確認	
	結果を表示する	-4-2
	結果の確認	-4-4
	純度試験やライブラリ検索に問題があった場合	4-11
第5章	解析結果の印刷	
	結果の選択	-5-2
	結果のプレビュー	-5-3
	解析結果の印刷	-5-5
	レポートメソッドの編集	-5-7
	レポートメソッドのコピー	-5-13
	多波長サマリのレポートメソッド	-5-15

---

第 6 章	ライブラリの管理	
	バックアップ	6-2
	リストア	6-2
	削除	6-2
第 7 章	Appendix	
	検出器のランプ OFF	7-2
	「メソッド表示」からの装置メソッドの作成	7-6
	システムを自動的に停止させる	7-14
	メソッドセットに生成チャンネルを登録する	7-21
	同定条件の最適化	7-24
	PDA 解析結果の検討	7-27
	PDA 解析 - 溶媒アングル	7-33
	PDA レポートグループの種類	7-35
	多波長サマリレポートの作成	7-41



---

# 第 1 章 分析を行う

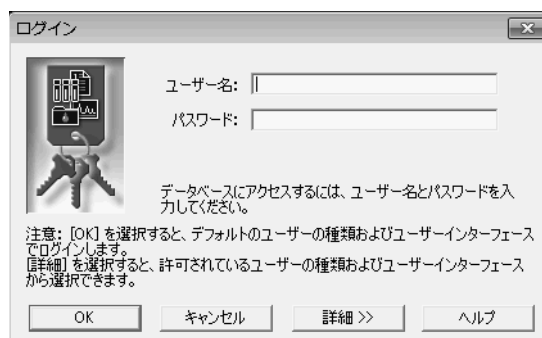
---

この章では始めて分析を行う場合の条件設定、確認を目的とした簡単な分析の手順をご紹介します。

## 1. Empower3 の起動

- デスクトップ上の Empower3 ログインショートカットをダブルクリックし、Empower3 ログイン画面を表示します。

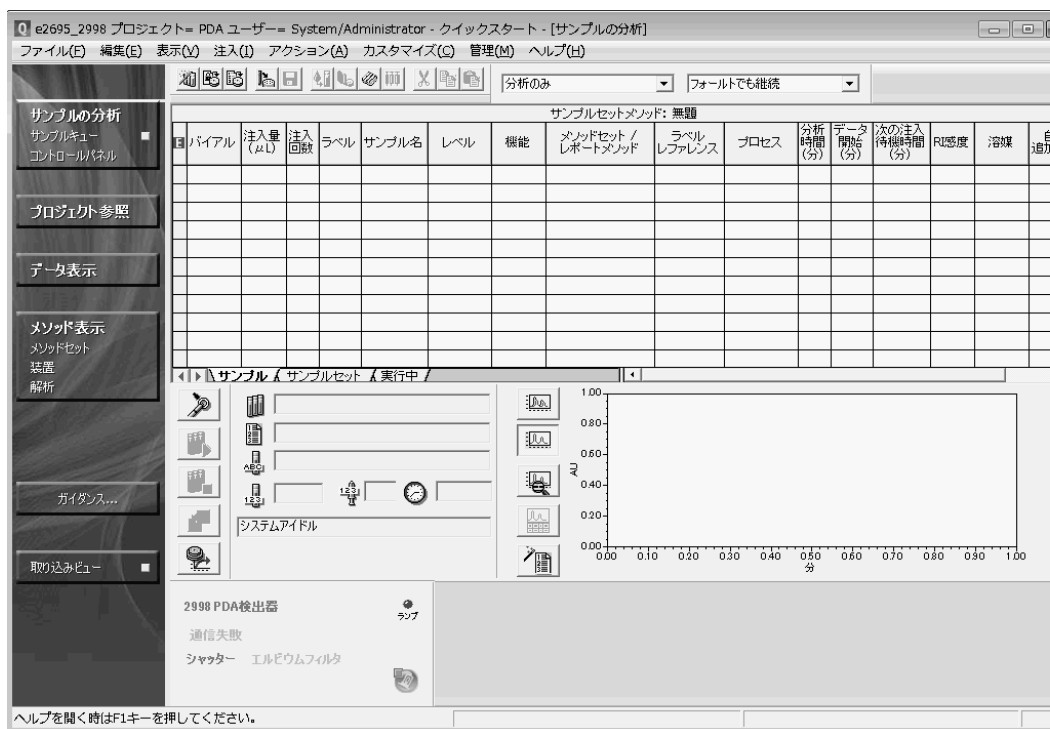
図 1. Empower ログイン



- ユーザー名（例：system）、パスワード（例：manager）を入力します。
- 「詳細」ボタンをクリックし、「許可されているユーザーインターフェース」欄に「クイックスタート」を選択します。
- 「OK」をクリックしてログインします。

作業に使うプロジェクトと PDA 用分析システムを選択します。

図 2. Empower3 クイックスタート画面





## 2. 分析条件の設定－装置メソッド

初めて分析する時には Empower3 でメソッドを設定します。以下の 4 種類のメソッドを使用して、分析に必要なクロマトグラムの測定条件、解析条件、レポート書式などを設定します。

### ★メソッドの基本は 4 つの種類

- ・ 装置メソッド：ポンプの送液条件、検出器の波長などの運転条件やクロマトグラムの保存条件
- ・ 解析メソッド\*：面積の計算、ピークの同定、検量線作成、定量の条件
- ・ レポートメソッド\*：解析した結果を印刷する書式
- ・ メソッドセット：分析・解析・レポートの各条件名は何を使うのか選んだもの。分析の作業ではメソッドセット名を指定します。メソッドセットにリストされている、装置メソッド・解析メソッド\*・レポートメソッド\* が働いて一連の分析が行えます。

\*印は分析を行う場合は必須ではありません。分析終了後再解析を行うときに設定してください。

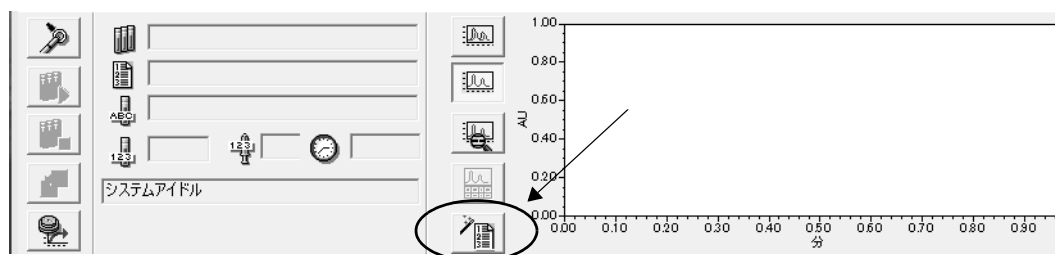
分析時には必ずメソッドセットが必要です。メソッドセット内に分析に使用する装置メソッドを指定して、分析を行います。

PDA データの解析時には、2D クロマトグラムの抽出が必要です。抽出条件はメソッドセット内で設定できます。第 2 章をご参照下さい。

### 2.1 メソッドセット編集ウィザード

メソッドセット編集ウィザードを使用すると、各メソッドを指定したメソッドセットを簡単に作成できます。装置メソッドの新規作成も可能です。

図 3. 「取り込みビュー」のメソッドセット編集ボタン

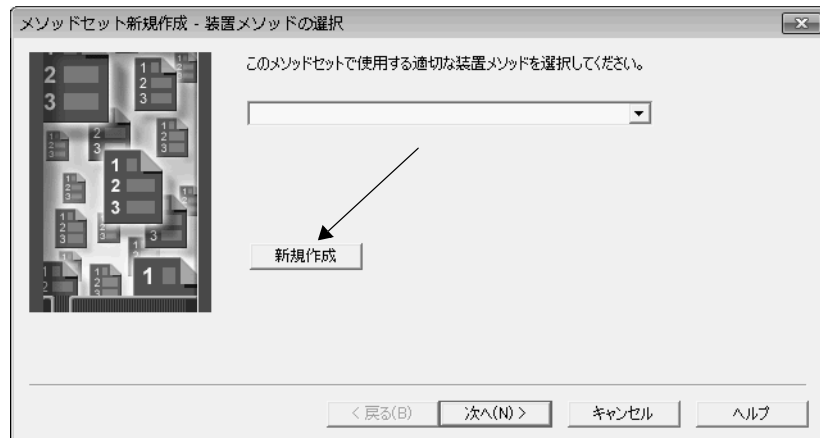


□ 「メソッドセット編集ウィザード」ボタンをクリックします。

「メソッドセット新規作成ウィザード」が表示されます。

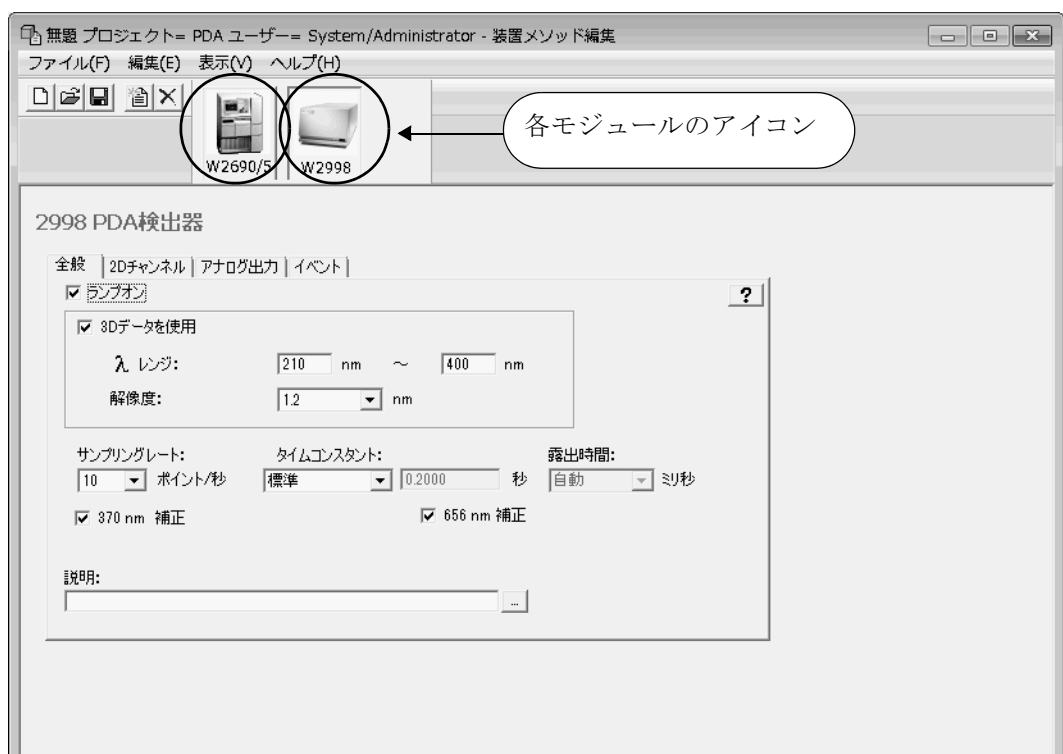
各画面で設定していきます。

図 4. 「装置メソッドの選択」画面



□既存の装置メソッドをリストから選択するか、装置メソッドを新規作成する場合は「新規作成」ボタンをクリックします。

図 5. 「装置メソッド」編集画面



□各モジュールのアイコンをそれぞれクリックしてパラメータ設定します。

ここでは 2998 検出器のみをご紹介します。  
2996 及び 996 検出器は 7-8 ページの「2996/996 検出器装置メソッドの作成」、  
UPLC PDA/eλ PDA 検出器は 7-10 ページの「UPLC PDA/eλ PDA 検出器装置メソッドの作成」をご参照ください。

## 2.2 2998 検出器装置メソッドの作成

□装置メソッド編集画面の W2998 アイコンをクリックします。

## ★全般タブの設定（3D データ取り込み）

図 6. 装置メソッド編集画面「2998 検出器 -3D データ取り込み」



**λ レンジ** . 取り込むスペクトルの波長範囲です。解像度を 1.2 に設定した場合：190.0 nm ~ 800.0 nm

その他の解像度の場合： $190.0 + (\text{解像度} / 2)\text{nm} \sim 800.0 - (\text{解像度} / 2)\text{nm}$

初期設定値は UV 領域の 210nm ~ 400nm です。

**移動相のバックグラウンド吸収が大きい波長域は避けてください。（メタノールを使用した場合は 220nm 以下は避ける）**

**解像度** . スペクトルの解像度を 1.2nm の整数倍で設定します。スペクトルの特徴に合わせて設定します。たとえば 1.2nm でのスペクトルと 4.8nm のスペクトルを比較し、差が無い場合は 4.8nm で測定したほうがディスクスペースを節約できます。2.4nm 以上で設定した場合は 1.2nm 刻みのデータを平均化します。

**サンプリングレート** . 毎秒当たりのスペクトルの取り込みポイント数を設定します。1 又は 2 スペクトル / 秒が標準です。ピーク純度を計算する場合は、各ピークあたり 12 以上のスペクトルを取り込んで下さい。

**その他の項目** . 既定値から変更の必要はありません。

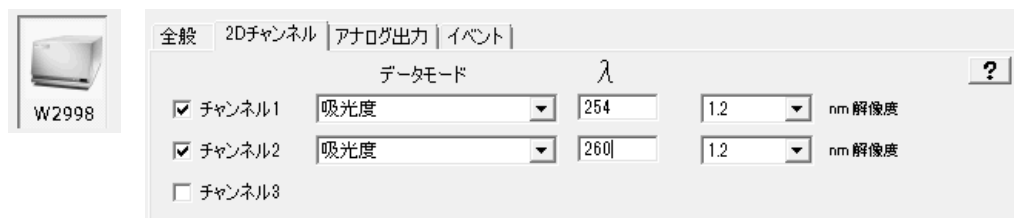
**ライブラリ検索をする場合、ライブラリ登録用の標準試料と未知試料の分析条件は統一することをお勧めします。解像度及び波長範囲が異なっている場合、マッチ許容差は計算されません。**

**2998 検出器の詳細はヘルプボタンから確認できます。**

### ★ 2D チャンネルタブの設定

予め解析する波長が分かっている、UV スペクトルが必要ない場合に使用します。この方法で取り込んだクロマトグラムは、“Empower3 基礎トレーニングテキスト”と同様な手順で解析可能です。

図 7. 装置メソッド編集画面「2998 検出器 -2D データ取り込み」



チャンネル n. 同時取り込みのチャンネルの数だけチェックを入れます。  
(一度に8チャンネルまで設定可能です。)

データモード . 吸光度を選択します。

λ. 測定波長を設定します。

解像度 . 選択可能な範囲は 1.2nm から 12.0nm です。

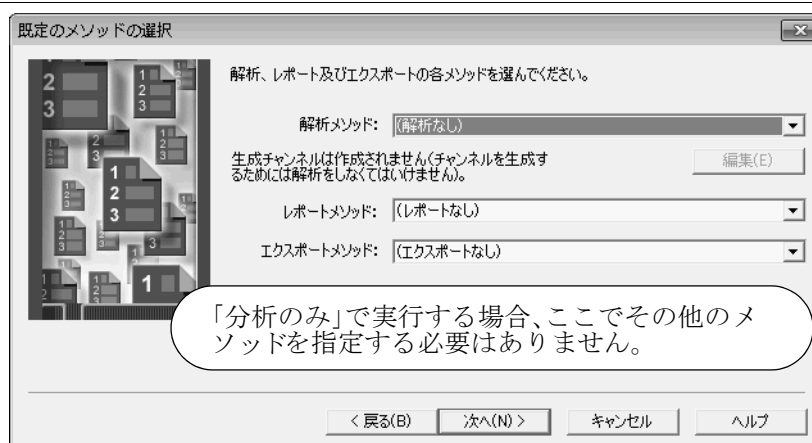
### ★装置メソッドの保存

編集後、ファイルメニュー - 「名前を付けて保存」で保存します。

保存後、装置メソッドの編集画面を終了します。

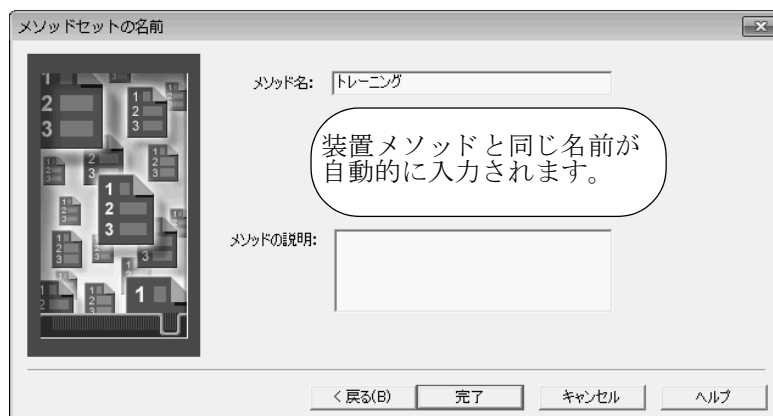
ウィザード画面に戻り [次へ] をクリックします。

図 8. 「既定のメソッドの選択」画面



その他のメソッドを指定します。

図 9. 「メソッドセットの名前」画面



□メソッドセットに名前をつけて [完了] をクリックします。

★Key Point★

・純度試験とは

ピークトップのスペクトルの波形とピーク中の全てのスペクトルの波形を大きさを補正して形状を比較します。ピークの途中でスペクトルの形状に差が見られた場合まず考えられることは、異なるスペクトル波形を持つ他の成分がピーク中に同時溶出している場合です。このことを利用して純度の判定を行います。詳細は 7-28 ページの「純度試験」をご参照ください。

・ライブラリ検索とは

試料中の溶出ピーク成分の同定は従来保持時間の一致で行っています。ただし保持時間が同程度でも異なる成分は存在しますので、さらにスペクトルの波形が一致するかどうかで同定をより確実なものにするのがライブラリ検索です。詳細は 7-31 ページの「ライブラリ検索」をご参照ください。

★Key Point★

各 PDA 検出器の取り込みモード

	996	2996	2998・ACQUITY シリーズ
2D (例：254nm)	不可 (3D 取込後抽出)	可 (2Dor3D どちらかのみ)	可
3D (例：210-400nm)	可		可
ランプ ON/OFF	イベント使用	イベント使用	チェックマーク or イベント使用

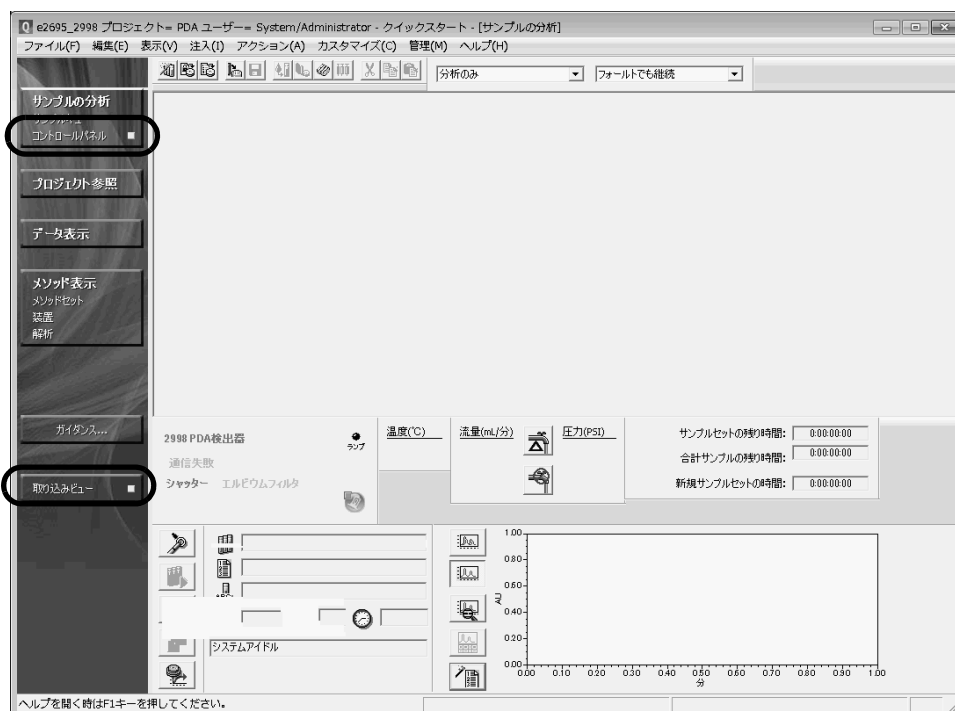
2D チャンネル取り込みでは、スペクトルの確認はできません。

### 3. 装置のセットアップ・ベースラインモニター

設定した装置メソッドで LC システムを運転する操作がセットアップです。LC システムの平衡化の状況を確認する場合、平衡化／モニターの操作を行います。サンプル注入は行われず、検出器のモニターが行われます。

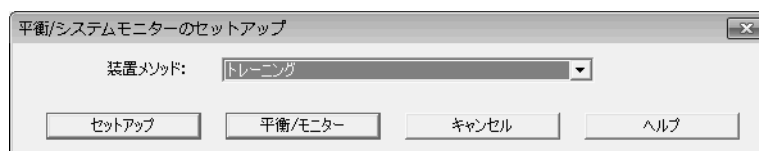
- [取り込みビュー] を ON とします。
- [サンプルの分析] タブ [コントロールパネル] を選びます。

図 10. コントロールパネル



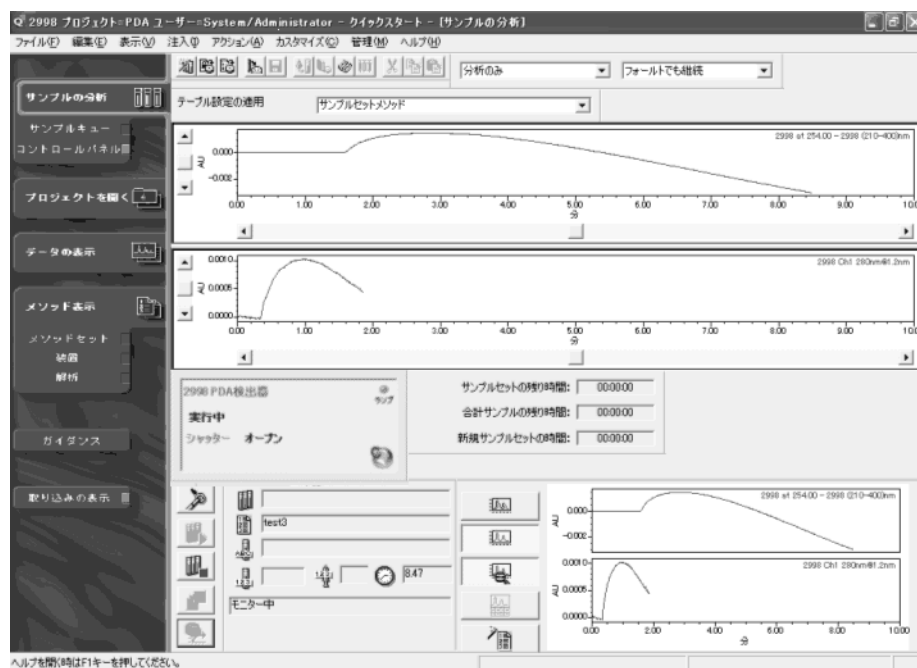
- 平衡 / モニター  ボタンをクリックします。

図 11.



- 図 11 の画面で、装置メソッド欄にメソッドを指定します。
- [セットアップ] をクリックします。LC の運転が始まります。
- [平衡／モニター] をクリックします。ベースラインモニターが始まります。

図 12.



ベースラインの拡大はマウスでも行えます。

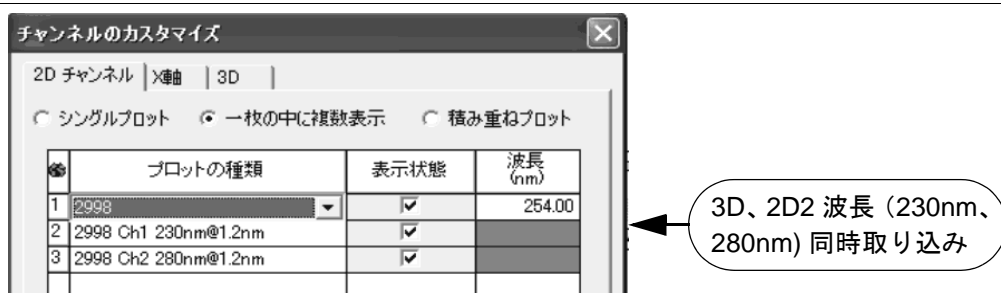
### ★モニターの変更

モニターを変更する場合はモニター画面で右クリックします。

#### ☆2D クロマトグラムを表示

- 「チャンネルのカスタマイズ」を選択します。
  - [2D チャンネル] タブをクリックします。
  - 表示させたい PDA プロットの種類を設定します。
- クロマトグラムの場合は [波長 (nm)] に波長を入力します。

図 13. チャンネルのカスタマイズ [2D チャンネル] タブ



リアルタイムプロットは4つまで定義することができます。

[一枚の中に複数表示] をチェックすれば1つのプロットの枠に複数の波長のクロマトグラムを表示できます。

#### ☆スペクトルの表示

- 「チャンネルのカスタマイズ」を選択します。
- [3D] タブをクリックします。
- [PDA スペクトル表示] にチェックマークを入れます。


#### ☆Y 軸 (吸光度) の設定

- 「プロパティ」を選択します。
- [スケールリング] タブをクリックします。

一定のスケールに設定する場合は [Y- 開始] [Y- 終了] を入力します。空欄はオートスケールです。

### ★ベースラインモニターの中止

ベースラインモニターは中断しないとスクロールを繰り返し続行します。

- 画面下方にある [中断 (赤ボタン)]  をクリックします。

モニターを中断してもポンプの送液は止まりません。セットアップを行った装置メソッドの初期条件で送液され続けます。

クイックスタート：モニターを中断しなくても、サンプルの注入操作を行うことができます。

プロフェッショナル：モニターの中断を行わないと、サンプルの注入操作を行うことができません



#### 4. シングルインジェクションの分析開始

- [シングル注入] ボタンをクリックします。
- 分析条件を設定します。



**サンプル名** . サンプルの名前を設定します。

**機能** . 標準試料注入又は未知試料注入を選びます。

**メソッドセット** . 作成したメソッドセットが選ばれていることを確認します。

**バイアル** . 注入するバイアル番号を設定します。

**注入量** . 注入する量 ( $\mu$ l) を設定します。

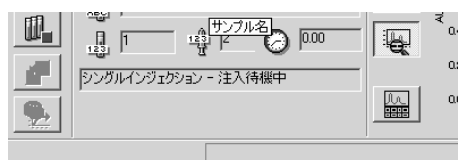
図 14.



#### ★注入操作

- Waters 製オートサンプラーの場合
  - [注入] をクリックします。設定したバイアル番号、注入量で分析がスタートします。
- 他社のオートサンプラー・マニュアルインジェクターの場合
  - [注入] をクリックします。システムの状態が “注入待機中” となったことを確認し、オートサンプラーのスタート又はサンプルの注入を行います。

図 15.



分析の実行は PDA 検出器を使用する場合であっても通常検出器と差がありません。

分析を行う

---

---

## 第 2 章 解析条件の設定

---

この章では 3D データから 2D クロマトグラムを抽出し、解析（面積値の計算、検量線作成、定量、スペクトル解析）を行う基本条件の設定や解析を行う画面の基本操作をご紹介します。

## 1. クロマトグラムを確認する

### 1.1 プロジェクト参照

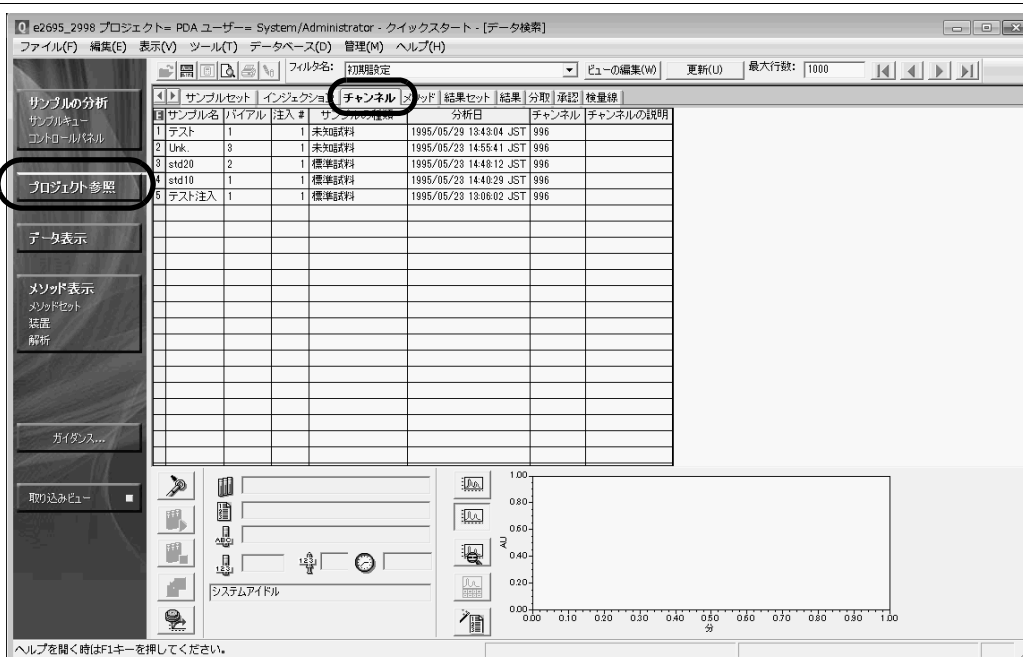
クロマトグラムの確認はプロジェクト画面を開いて行います。

[プロジェクト参照] を選びます。

プロジェクト画面が表示されます。

[チャンネル] タブを選びます。

図 1. プロジェクト画面 チャンネルタブ



分析直後のデータが見つからないときは [更新] ボタンをクリックし最新情報を確認します。

条件設定するデータの上で右クリック「レビュー」メニューを選びます。

複数のデータを一度にレビューする場合はあらかじめ選んでおいてから右クリックします。

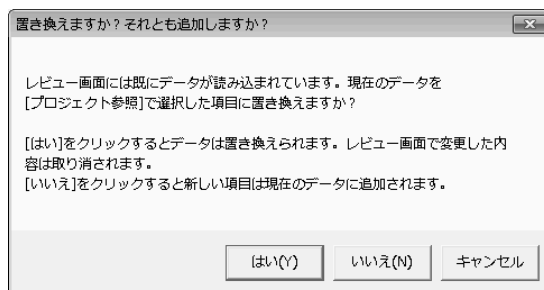
[Ctrl]+ クリック・[Shift]+ クリックで複数選びます。

画面が狭い場合は、「取り込みビュー」を OFF にすると画面を広く使うことができます。



よりみち

一旦データを表示した後、別データを表示する際にメッセージが表示されます。



「はい」: 現在読み込まれているデータと置き換えます。

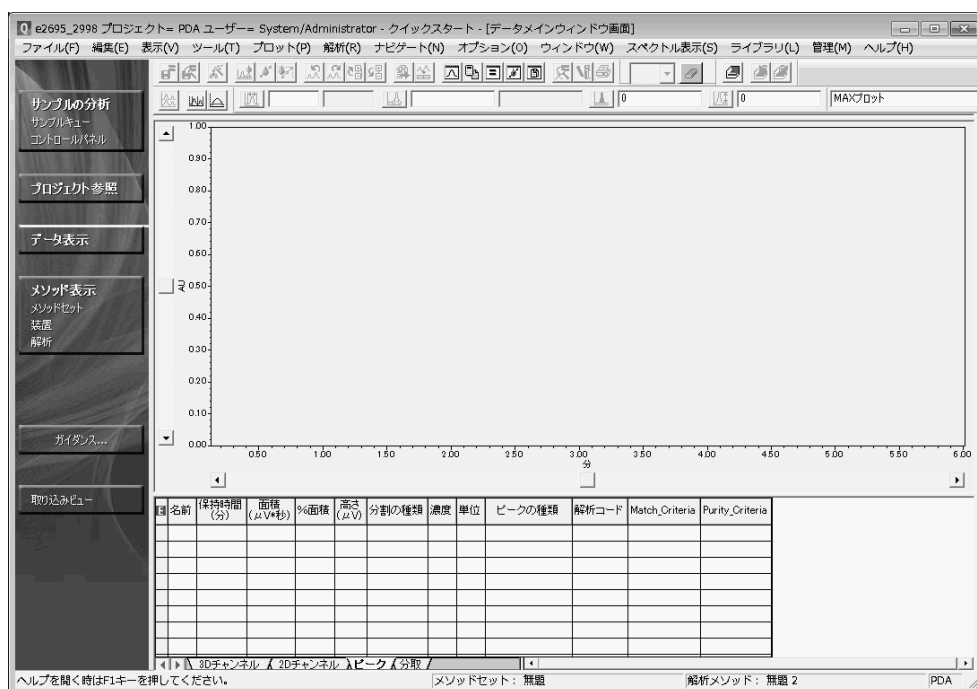
「いいえ」: 現在読み込まれているデータはそのまま、後から選択したデータを追加して読み込みます



よりみちはおしまい

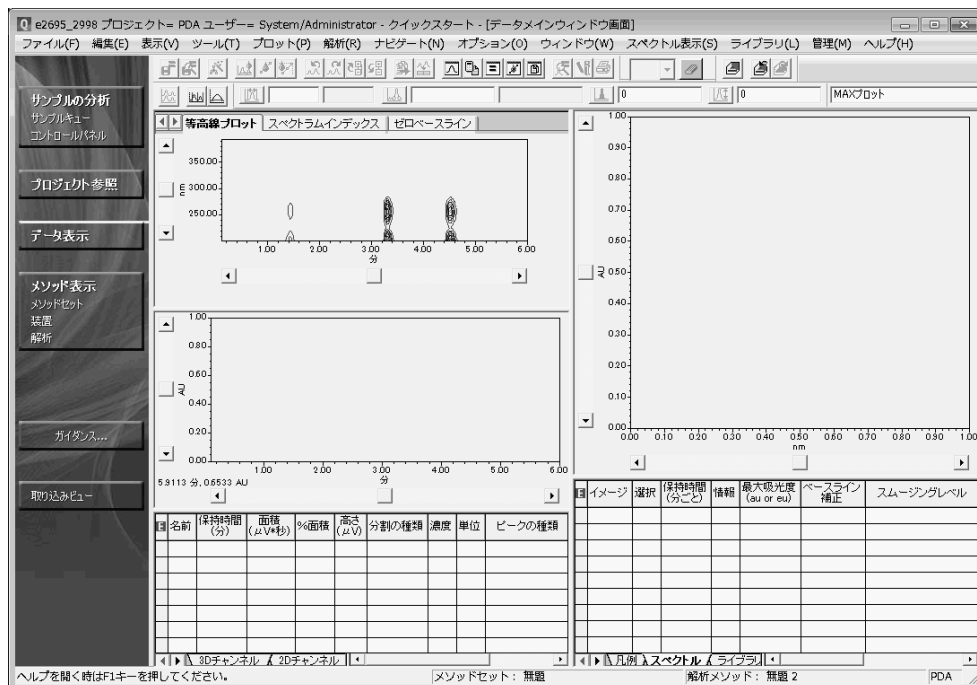
レビュー[メイン]画面が表示されます。2D クロマトグラム表示画面には等高線は表示されません。次ページの手順を行ってください。

図 2. レビュー「メイン」画面「2D レイアウト」表示



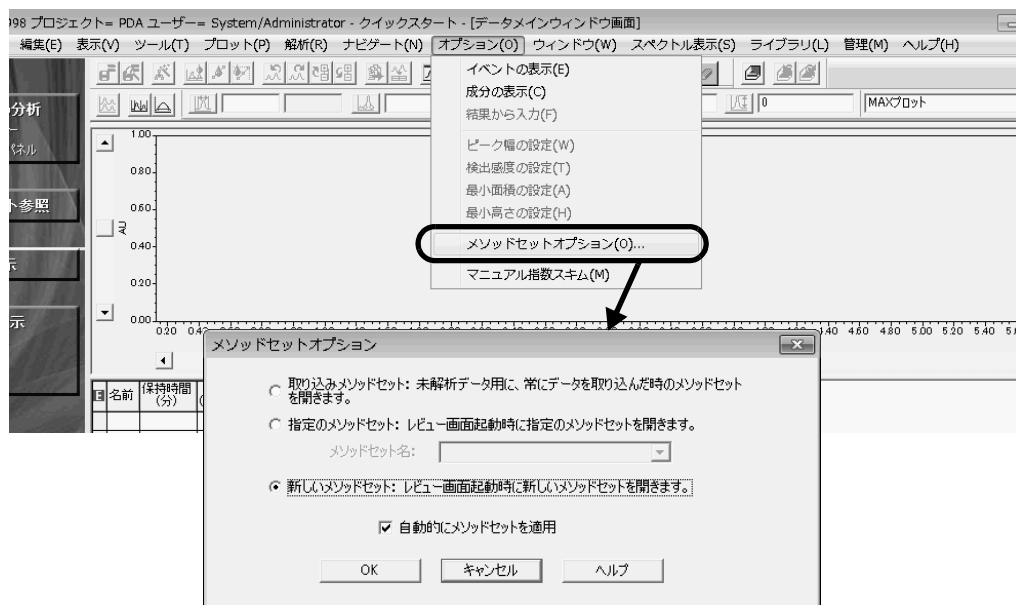
- 「表示」メニューから「3Dレイアウト」を選びます。  
等高線クロマトグラムが表示されます。

図 3. レビュー「メイン」画面「3Dレイアウト」表示



よりみち

「オプション」メニュー「メソッドセットオプション」からデータレビュー時に開くメソッドセットを指定することが可能です。



### ★等高線クロマトグラム.

等高線クロマトグラムは横軸が時間、縦軸が波長です。吸光度の大きさは線の色で示されています。

☆吸光度の凡例を表示する

画面右側下のスペクトルのテーブルのタブから「凡例」タブを選びます。

図 4.



☆スケールを変更する

**時間・波長のスケール.** マウスで等高線を拡大します。

**吸光度のスケール.** 等高線クロマトグラムのプロパティを設定します。

等高線クロマトグラムで右クリックし、プロパティを選びます。

図 5. 等高線プロットのプロパティ



ベースライン付近を詳細に表示する場合”  指数分布” を選びます。

吸光度のスケールをマニュアル設定する場合は“低等高線” “高等高線” を変更します。

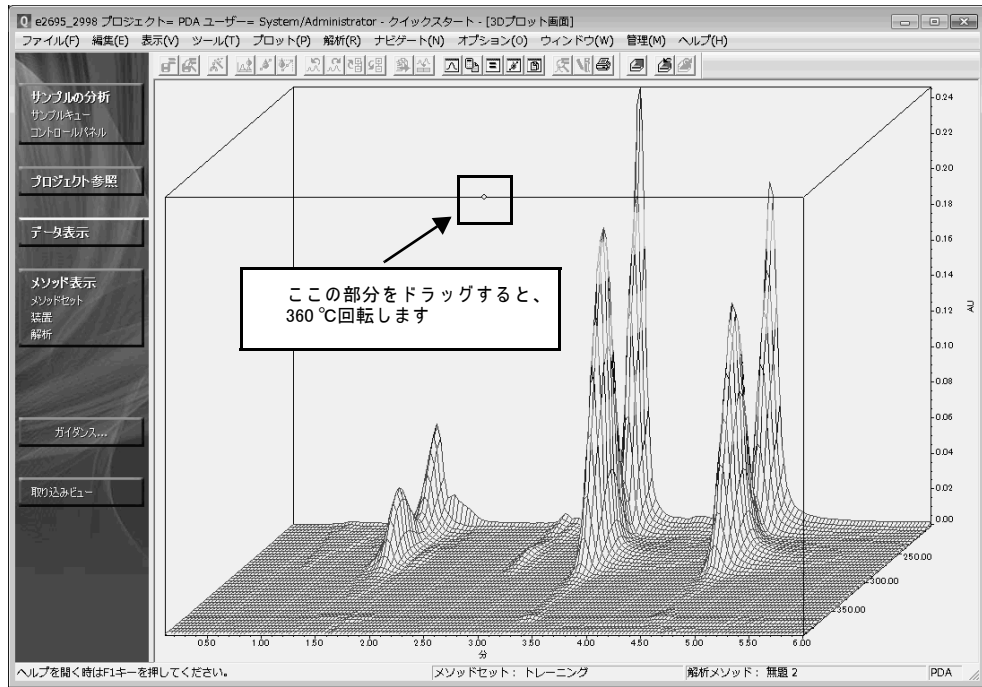
プロットのプロパティの設定後 [OK] をクリックします。

★ 3D プロット

取り込まれた 3D データを 3 次元的に表示します。

□「ウィンドウ」メニューから「3D プロット」を選択します。

図 6. レビュー「3D プロット」画面



☆角度を変更する

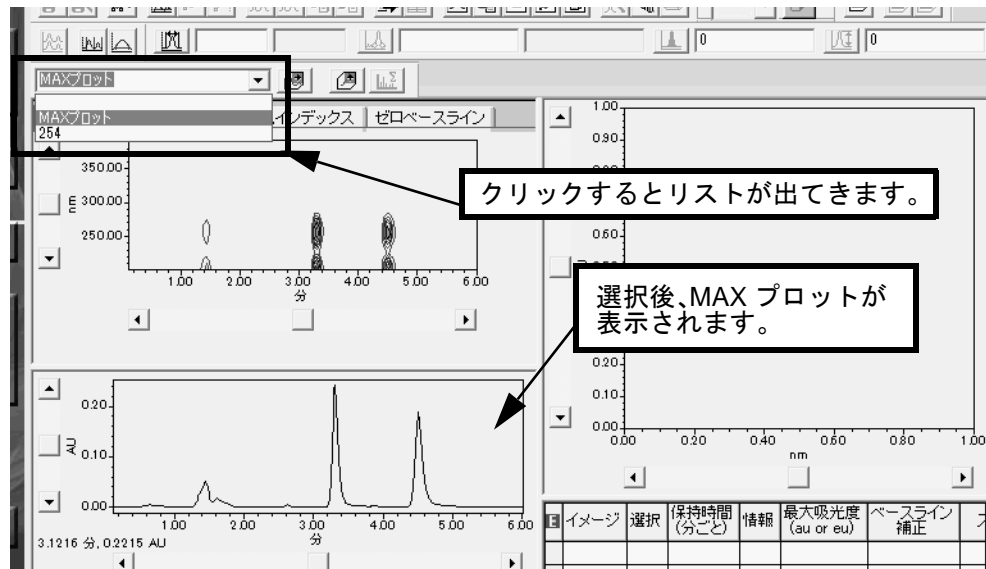
□画面上の○をドラッグし、表示したい角度に変更します。



★ MAX プロットと UV スペクトル

□画面左上の抽出アイコンをクリックして [MAX プロット] を選択します。

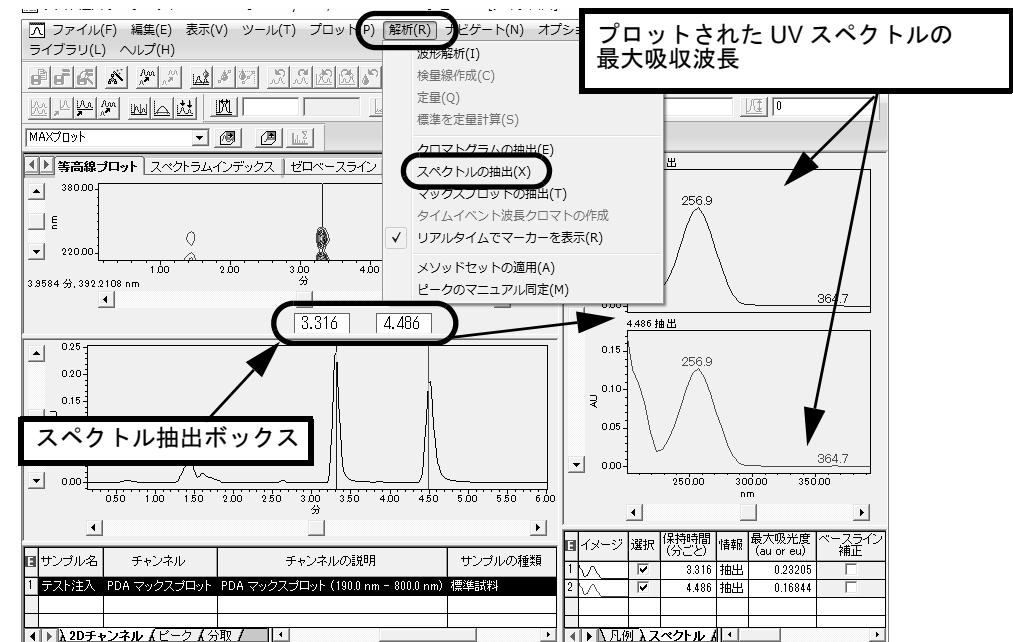
図 7. MAX プロット抽出と UV スペクトル表示画面



□「解析」メニュー「スペクトルの抽出」を選択します。

□スペクトル抽出ボックスをダブルクリックして見たい時間を入力します。

図 8.



確認したいピーク（時間）数、「スペクトルの抽出」を選択します。

UV スペクトル確認後、スペクトル抽出ボックスは削除しておきます。  
(ボックス上右クリックして「削除」を選択します。)



## よりみち

等高線プロット上で右クリックすると、クリックした位置のスペクトル、及びクロマトグラムの抽出が可能です。



## よりみちはおしまい

## 2. 解析メソッド / メソッドセットの作成

データメイン画面で表示したデータ (2-6 ページの「3D プロット」、2-7 ページの「MAX プロットと UV スペクトル」で確認した最適な 2D クロマトグラム) に最適な解析条件を設定していきます。ここでは、メソッドセットを使用した解析を行う手順をご紹介します。

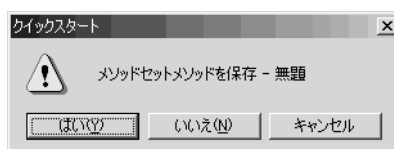
### 2.1 メソッドセットの準備

PDA 解析では 2D クロマトグラムの抽出を行うためにメソッドセットが必要です。あらかじめ開いておきます。

「ファイル」メニュー「開く」- 「メソッドセット」を選びます。

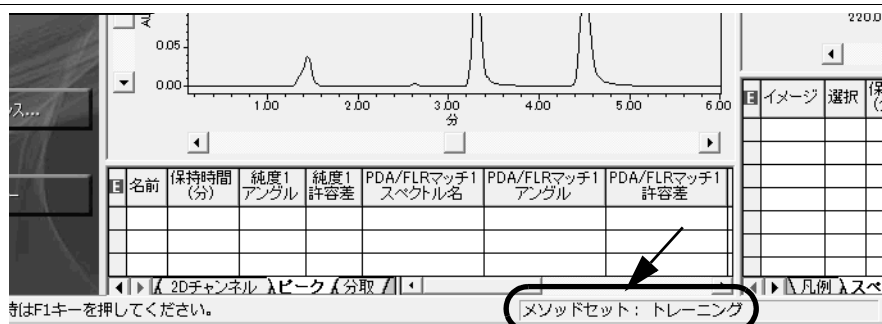
分析時に使ったメソッドセット名を選びます。

図 9.



ここで上記のメッセージに対しては [いいえ] を選択します。

図 10. レビュー「メイン」画面



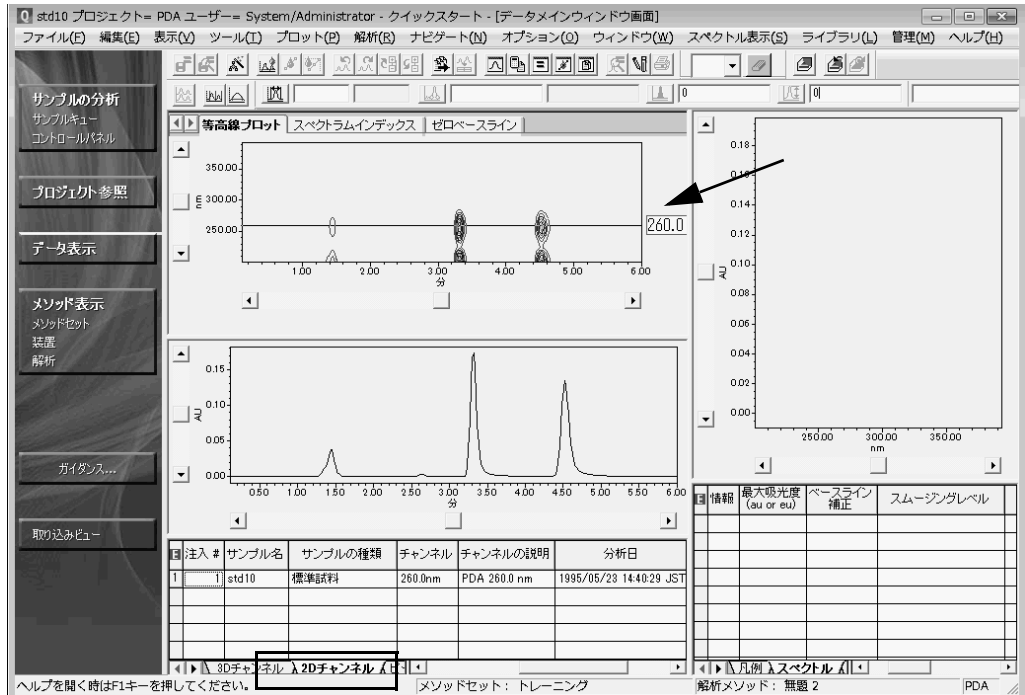
画面枠下の [メソッドセット: xxxx] に、選択したメソッドセット名が表示されたことを確認します。

## 2.2 クロマトグラムの抽出

3D 全体では波形解析を行うことはできません。あらかじめ 2D クロマトグラムを抽出しておきます。抽出は等高線上で行います。

- 「解析」メニューから「クロマトグラムの抽出」を選びます。

図 11. レビュー「メイン」画面



### ★波長の決定

- 等高線右のクロマトグラム抽出バーをドラック又はダブルクリックして波長をタイプします (例 :260nm)。

クロマトグラムが等高線下に現れます。