

SEC-MALS/RI のデータ解析メモ (Wyatt DAWN HELEOS II (2023.01.27))

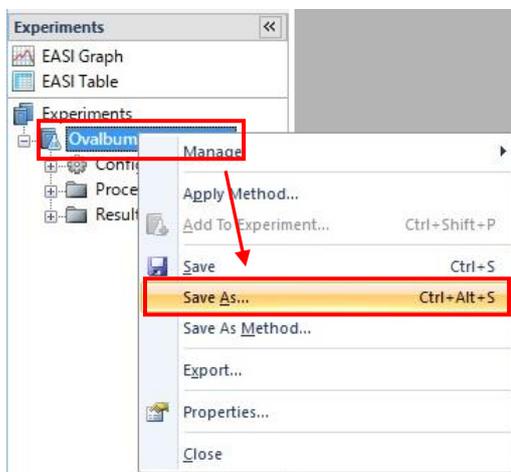
0 データファイルの保存 (Astra 8.1.2 は起動中、SEC-MALS 測定後に解析を続ける場合)

0-1 データファイルの保存

ワークスペース内、[Experiments]→[サンプル名]を右クリックし、[Save As]を選択する。保存先、ファイル名を指定後、ファイル (ファイルの種類は ASTRA (*.afe8)) を保存する。

保存先は C:\ASTRA DATA 内に測定日のフォルダを"20230220"のように作成しそこに保存するようにしてください。

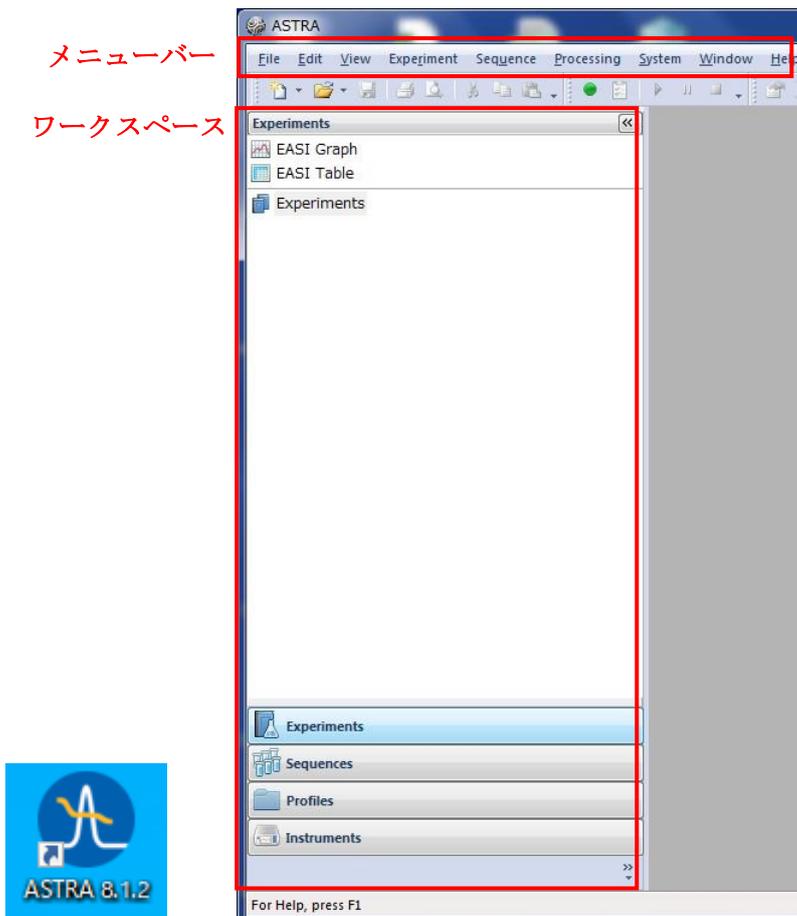
[その後 1 を飛ばして 2 へ進む]



1 Astra 8.1.2 起動、データファイルを開く

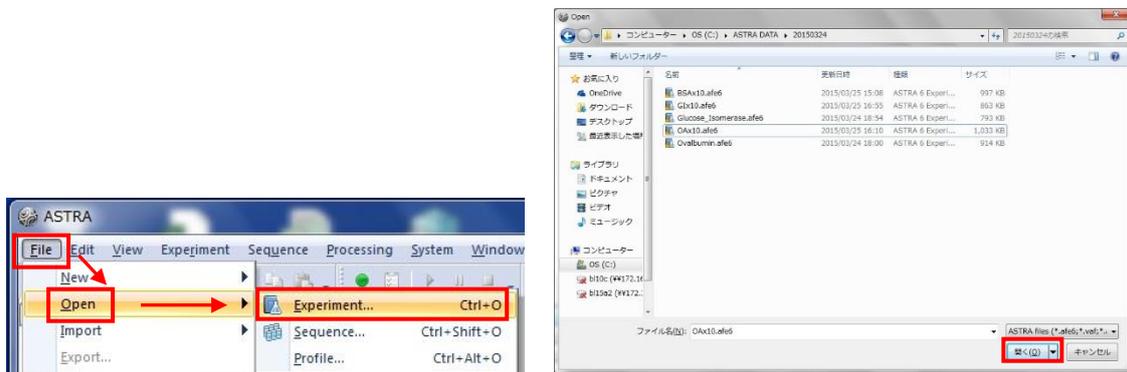
1-1 Astra 8.1.2 起動

デスクトップ上の Astra 8.1.2 のショートカットアイコンをクリックし、Astra 8.1.2 をスタートさせる。



1-2 Experiment ファイルを開く

メニューバーより [File] → [Open] → [Experiment] を選択し、Open ウィンドウを開き、Experiment ファイル(.afe6 or afe8)を選択、[開く]をクリックする。

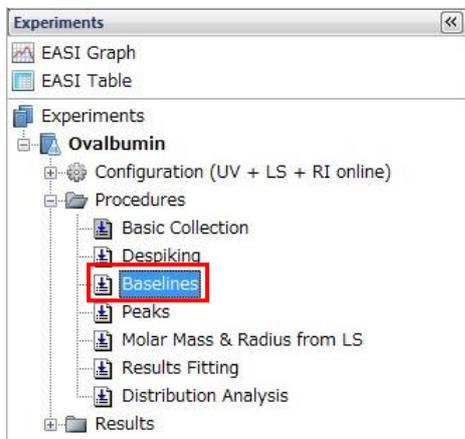


2 ベースライン指定

2-1 Baselines タブ

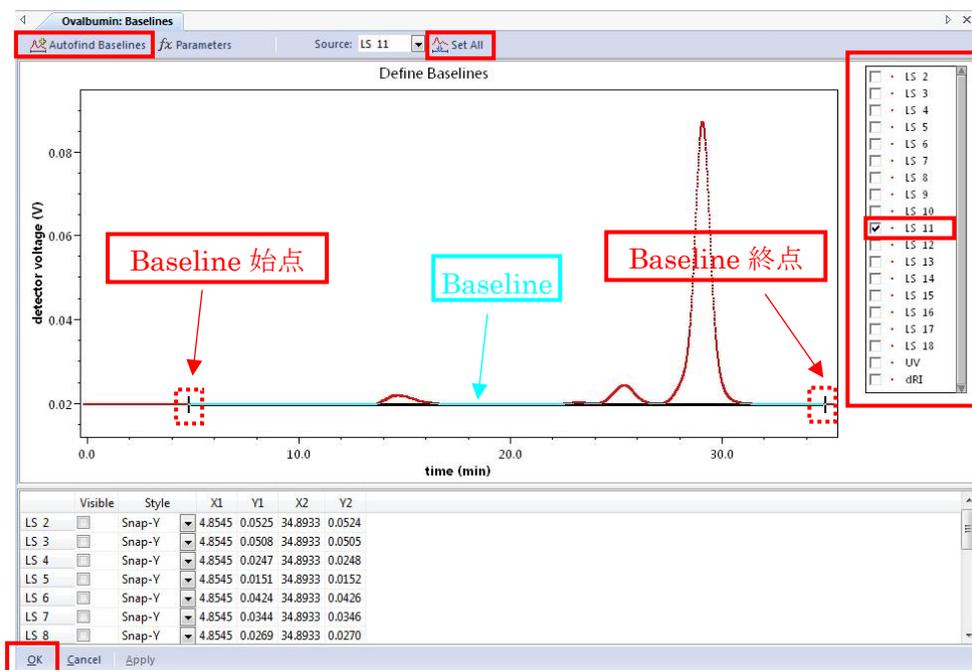
ワークスペース内、[Procedures] → [Baselines] をダブルクリックし Baselines タブを表示

させる。



2-2 Baseline 範囲の指定

右側の LS11 のチェックボックスにチェックを入れ、90°の LS 検出器のデータを表示させる。[Autofind Baselines]をクリックし、Baseline 範囲を自動設定させる。その後、Baseline（水色）の左端、右端をそれぞれドラッグして Baseline の開始、終了を設定する。



2-3 Baseline 範囲の確認

[Set All]をクリックし、2-2 で設定した LS11 での Baseline 範囲を全データに適応させる。その後、右側のチェックボックスを選択しながら LS1~18,UV,RI の各データで Baseline 範囲が適切であるかを確認し、それぞれのデータについて調整を行う。全て確認・調整後[OK]をクリック。

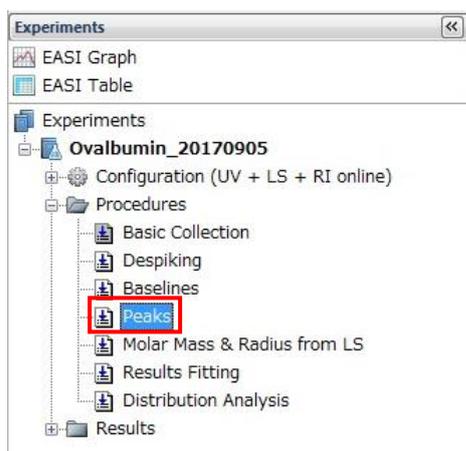
※グラフ画面での共通操作

[[Ctrl]+左ドラッグで矩形を選択して拡大、[Ctrl]+右クリックで一段階戻る]

3 ピーク範囲指定

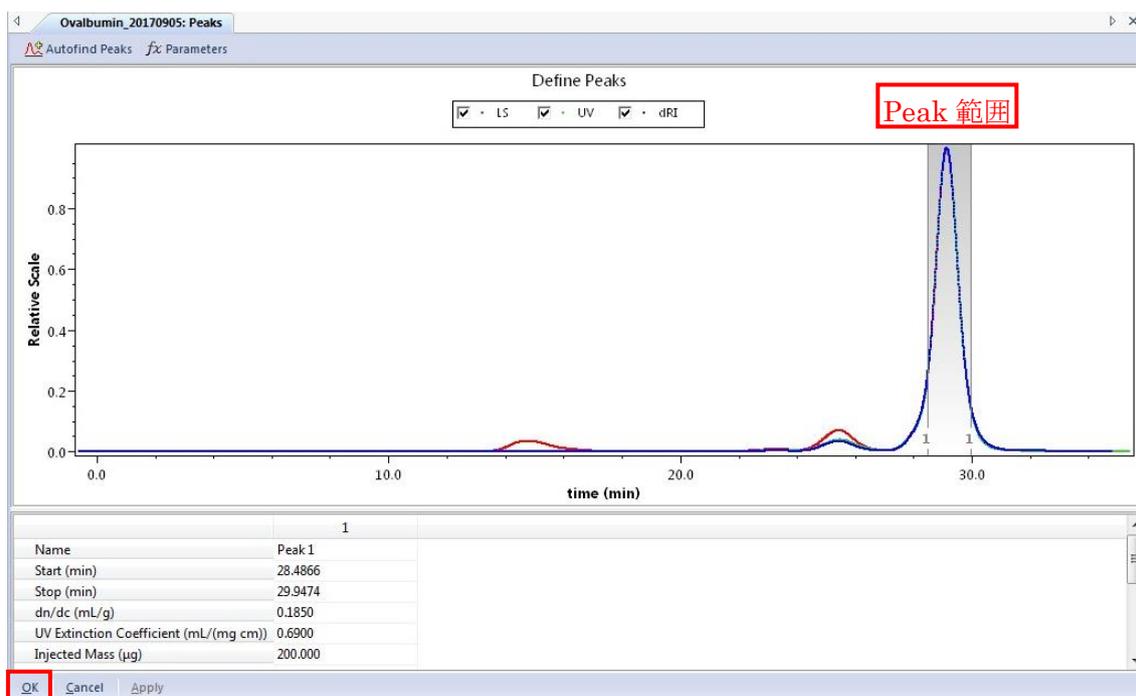
3-1 ピーク範囲

ワークスペース内、[Procedures]→[Peaks]をダブルクリックし Peaks タブを表示させる。



3-2 ピーク範囲の指定

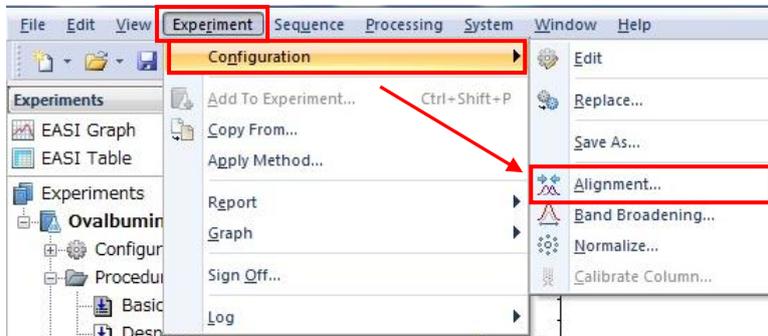
すでに表示済みのピーク範囲をクリックして選択し、[Delete]キーで削除し、ドラッグによってピーク範囲の指定を行う。範囲の左端・右端をそれぞれドラッグして指定範囲の調整が行える。ピーク範囲調整後[OK]をクリックする。



4 Alignment (直列に接続されている LS, UV, dRI のピーク位置のずれを補正)

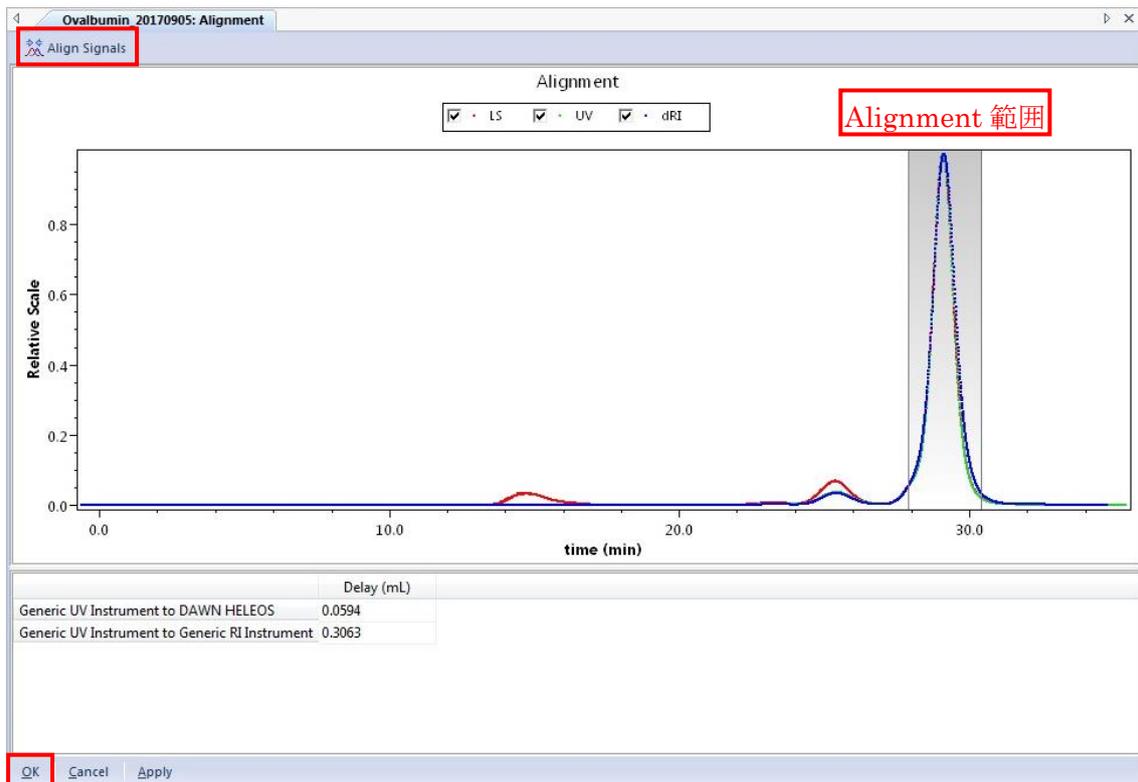
4-1 Alignment タブ

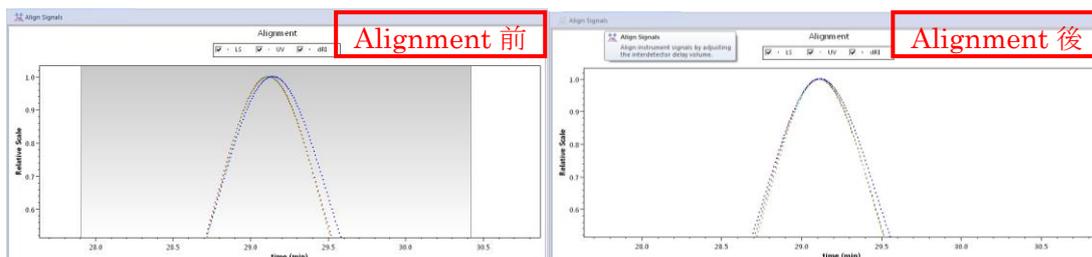
メニューバー内、[Experiment]→[Configuration] →[Alignment]を選択し Alignment タブを表示させる。



4-2 Alignment の実行

ピークの開始から、ピークの終了の間をドラッグして Alignment 範囲を調節する。[必要に応じて、表示範囲の拡大を実行する。] [Align Signals] をクリックし、各ピーク (LS, UV, dRI) の頂点が一致していることを確認する。確認後[OK]をクリック

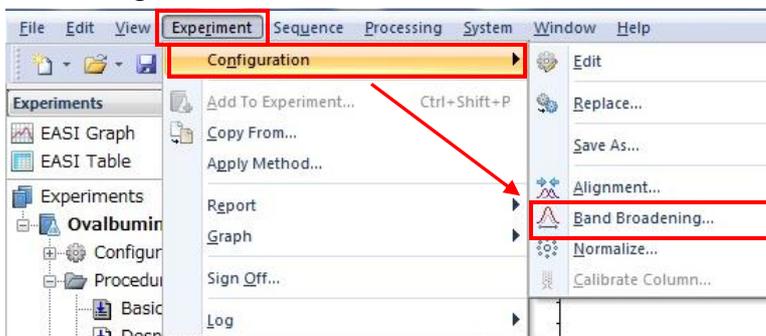




5 Band Broadening(直列に接続されている LS, UV, dRI の試料のピークの広がり を補正)

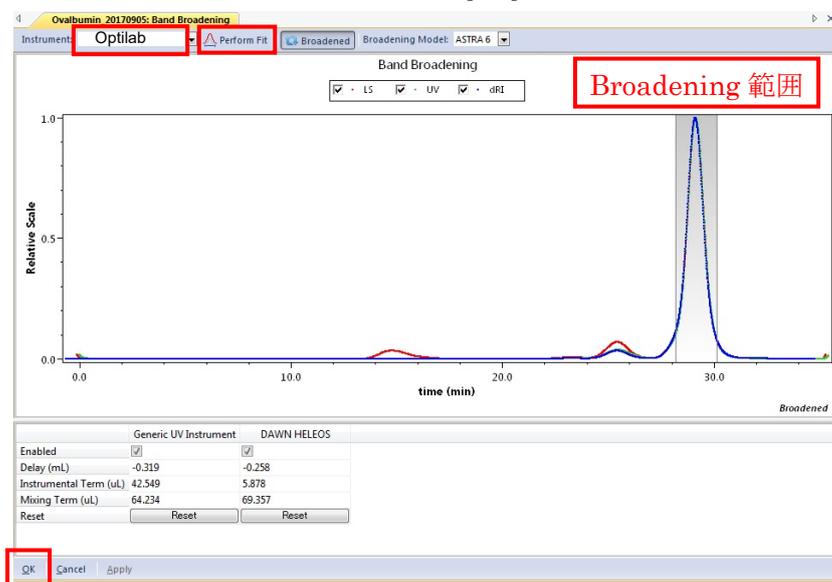
5-1 Band Broadening タブ

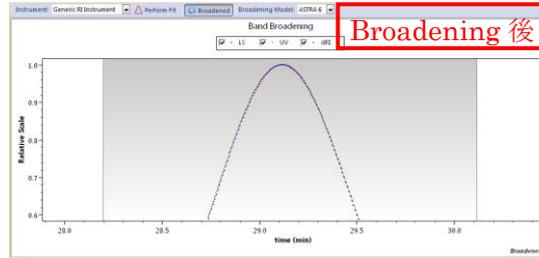
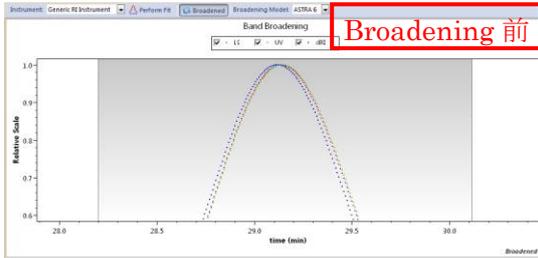
メニューバー内、[Experiments]→[Configuration] →[Band Broadening]を選択し Band Broadening タブを表示させる。



5-2 Band Broadening を実行

Instrument 表示が dRI 検出器(Optilab)になっていることを確認する。ピークの裾まで含んだ範囲をドラッグで指定し、補正範囲を指定する。[必要に応じて、表示範囲の拡大を実行する。] [Perform Fit] をクリックし、各ピーク (LS, UV, dRI) の幅、ずれが改善していることを確認する。確認後[OK]をクリック



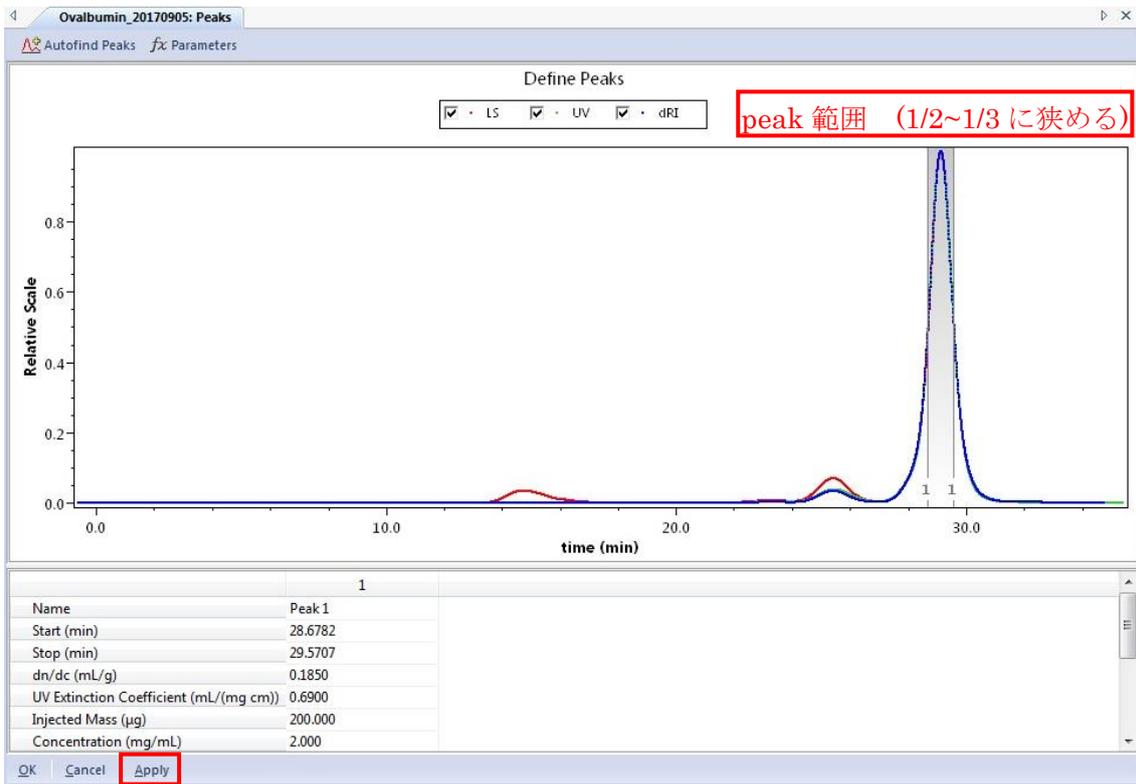


6 Normalize (LS 検出器の角度による強度差の補正)

あらかじめ標準試料で行う。溶媒の屈折率に依存するので溶媒ごとに再校正が必要

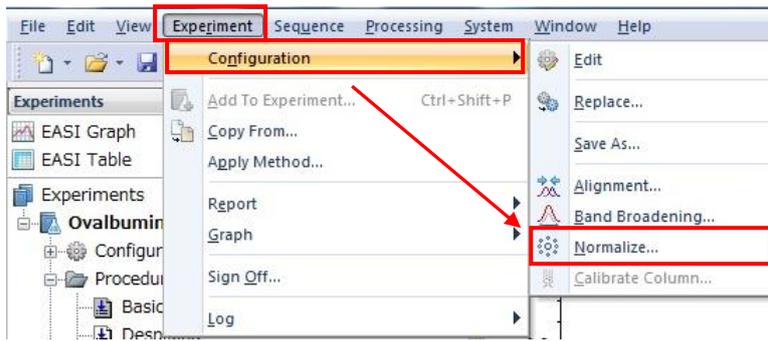
6-1 ピーク範囲の再設定

ワークスペース内、[Procedures]→[Peaks]をダブルクリックし Peaks タブを表示させる。ピーク範囲をピーク高さの 1/2~1/3 に狭め、ピークの頂点のそばだけにし、[Apply]をクリックする。



6-2 Normalize タブ

メニューバー内、[Experiments]→[Configuration] →[Normalize]を選択し Normalize タブを表示させる。

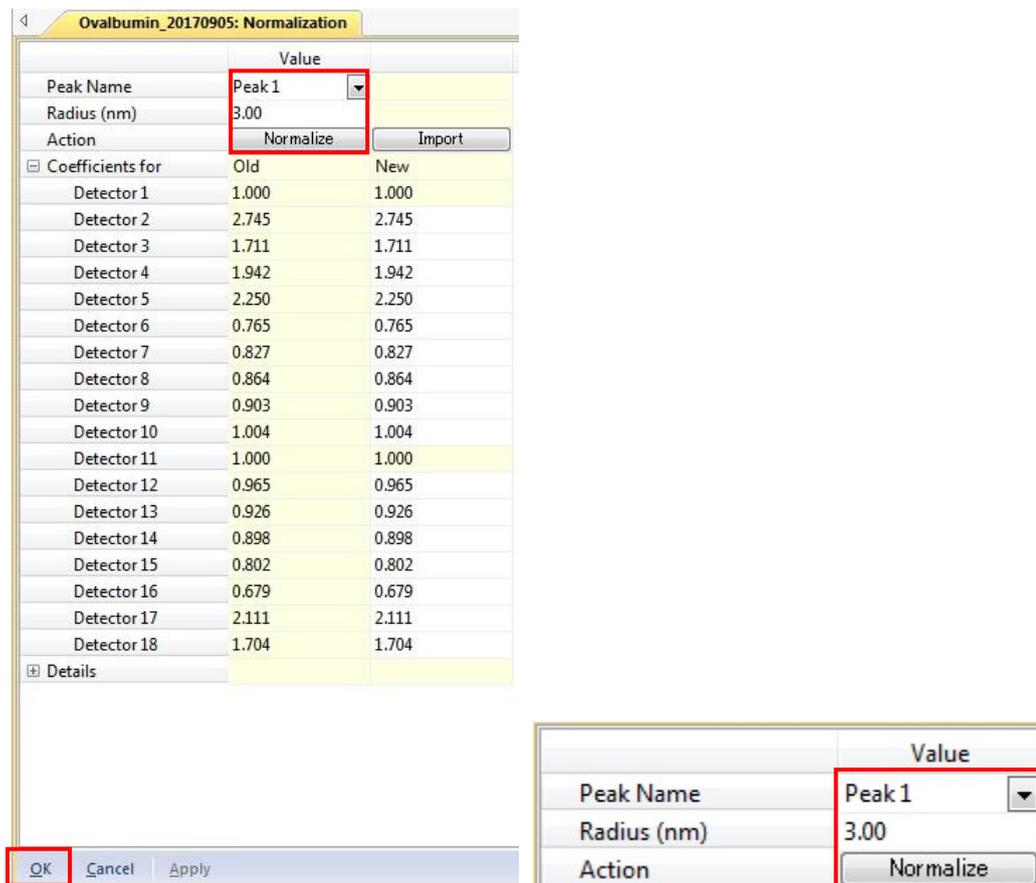


6-3 Normalize

Peak Name で校正対象のピークを確認し、Radius に試料の大きな半径を入力する
[BSA: 3.5 nm, OA: 3.0nm 程度?]

[Normalize]をクリックし、新たな係数を計算させ、[OK]をクリックする。

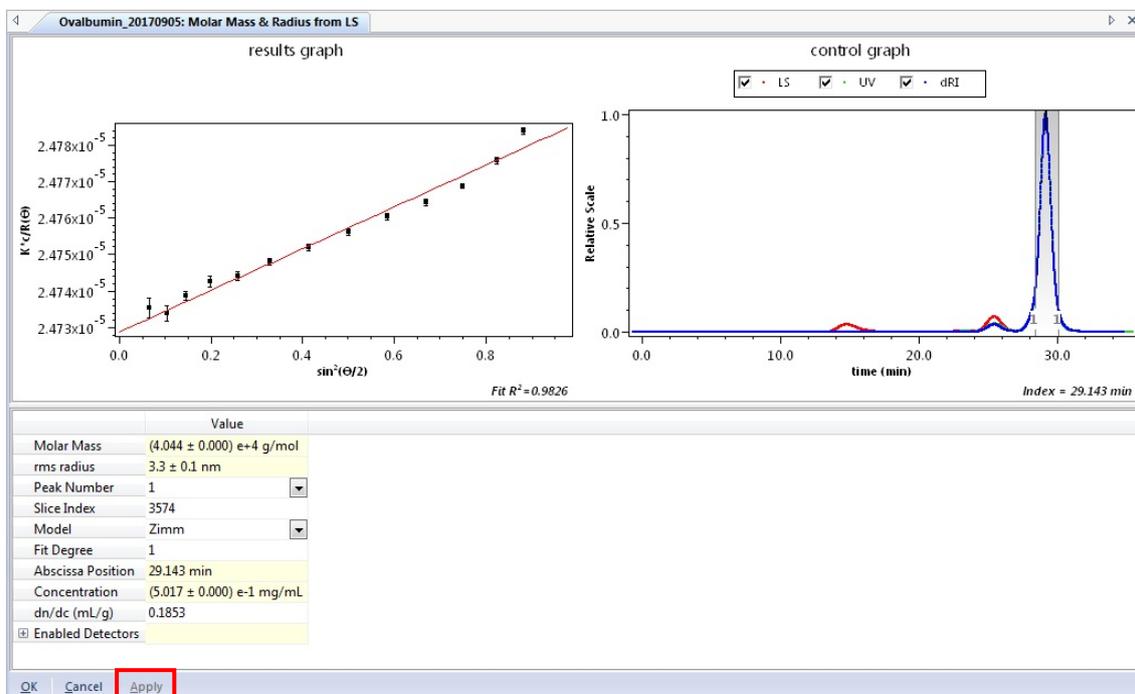
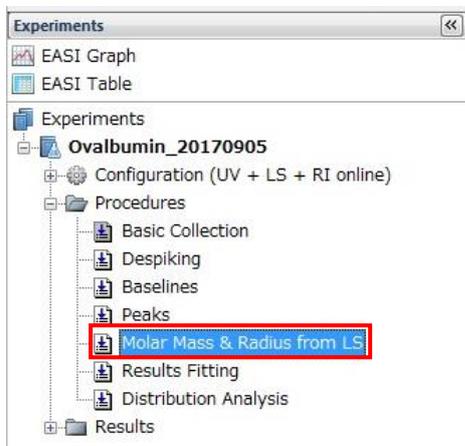
Peak タブを開き、変更されているピーク指定範囲を元に戻し、[OK]をクリック



7 LS 検出器の選択

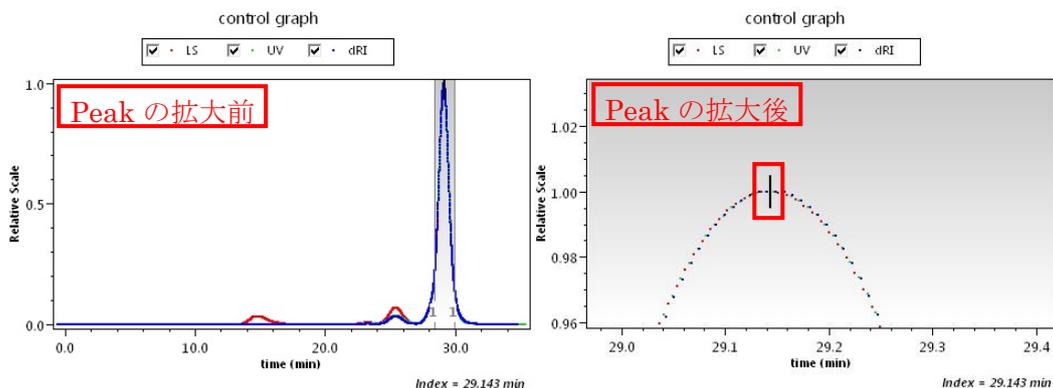
7-1 Molar Mass & Radius from LS タブ

ワークスペース内、[Procedures]→[Molar Mass & Radius from LS]をダブルクリックし
Molar Mass & Radius from LS タブを表示させる。



7-2 Control graph ピークの頂点の選択

Control graph 内の青い棒状のマークを左クリックとカーソルキーで移動させ、ピークの頂点に移動させる。(必要に応じて表示を拡大する)



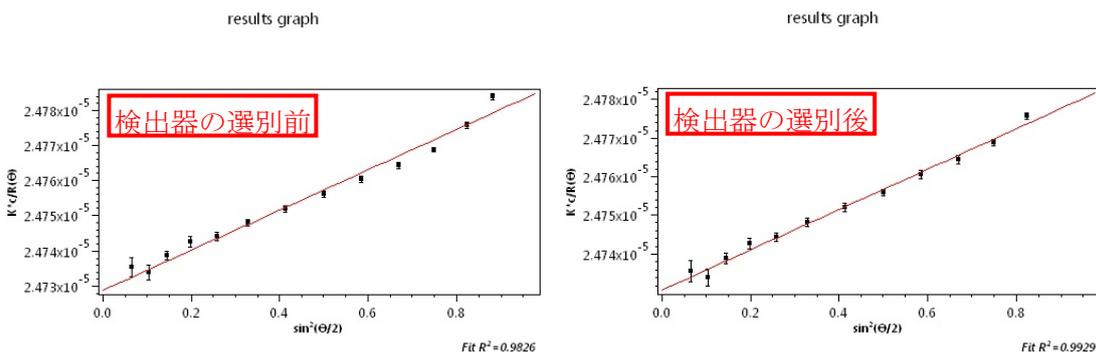
7-3 LS 検出器の選択

画面下欄の[Enabled Detectors]の[+]をクリックし LS 検出器の選択欄を開く。

Results graph の各点が各 LS 検出器の測定に対応しているため、Results graph を確認しながら、近似直線から外れた LS を除外し、Molar Mass や Results graph の下部にある相関係数を確認する。LS を追加・除外したりなど試行錯誤する必要がある。
[OK]をクリックする。

	Value
Molar Mass	(4.044 ± 0.000) e+4 g/mol
rms radius	3.3 ± 0.1 nm
Peak Number	1
Slice Index	3574
Model	Zimm
Fit Degree	1
Abscissa Position	29.143 min
Concentration	(5.017 ± 0.000) e-1 mg/mL
dn/dc (mL/g)	0.1853
+ Enabled Detectors	

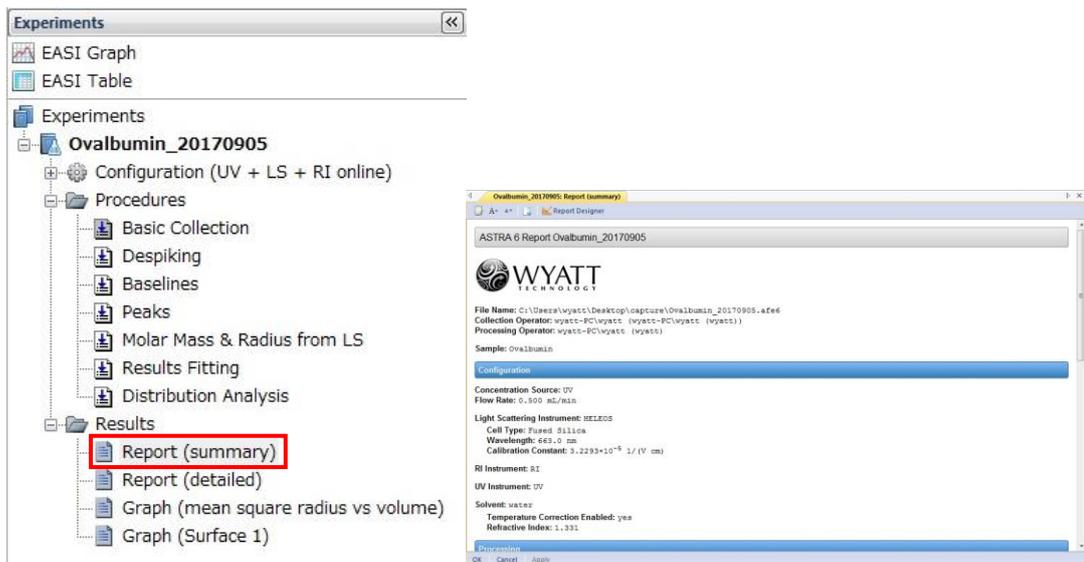
	Value
Detector 8	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 9	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 10	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 11	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 12	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 13	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 14	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 15	<input checked="" type="checkbox"/>
Detector 16	<input type="checkbox"/>
Detector 17	<input type="checkbox"/>
Detector 18	<input type="checkbox"/>



8 結果の出力 (Astra のない環境で利用できる計算結果のファイルを出力)

8-1 Report ファイルの表示

ワークスペース内、[Results]→[Report (summary)]をダブルクリックし Report (summary)タブを表示させる。

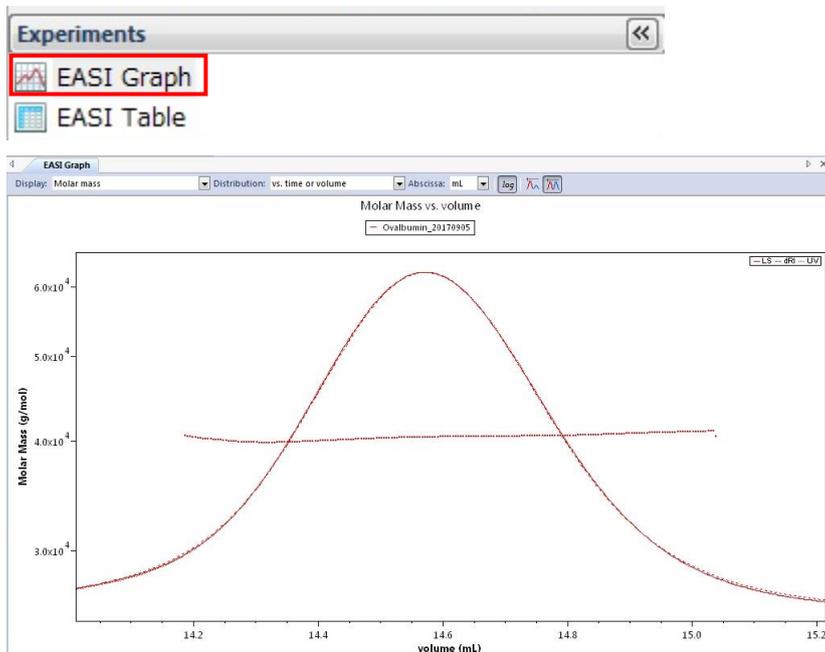


8-2 Report ファイルの保存

メニューバー内、[File]→[Print]を選択し Print ウィンドウを表示させる。プリンターの選択で Microsoft Print to PDF を選び印刷をクリックして Report ファイルを PDF で出力する。

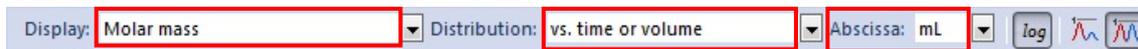
8-3 csv ファイルの保存

ワークスペース内、[EASI Graph]を選択し EASI Graph タブを表示させる。



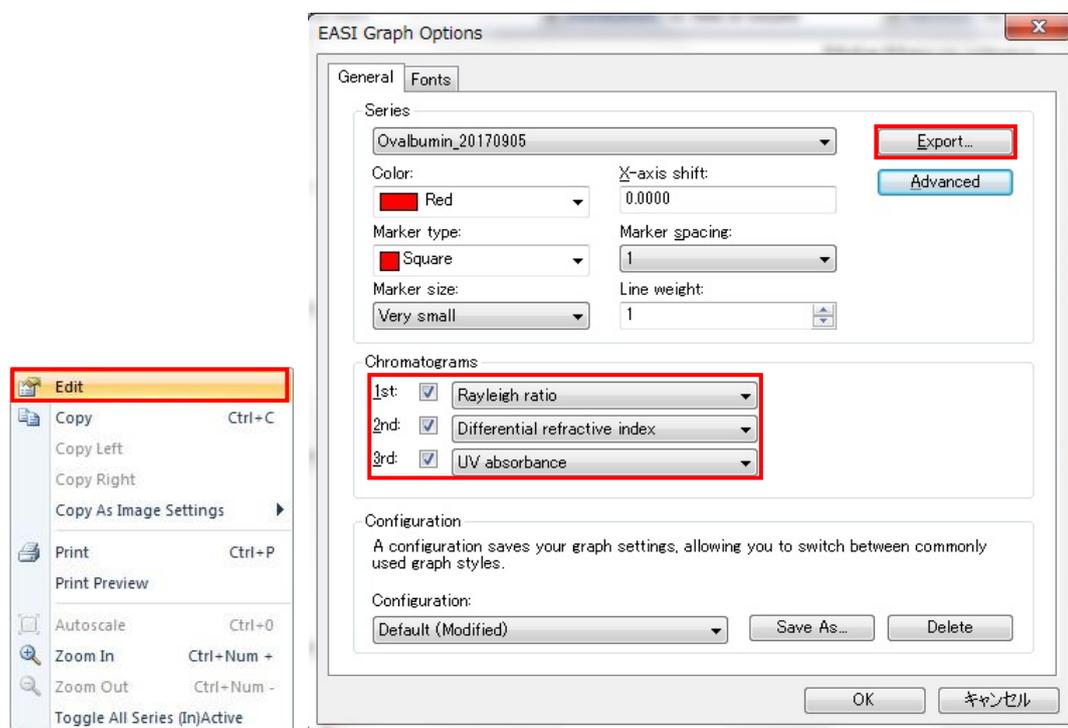
8-4 設定の確認

EASI Graph タブの上部において Display: Molar mass, Distribution: vs. time or volume, Abscissa: mL になっていることを確認する。なっていない場合は、設定を行う。



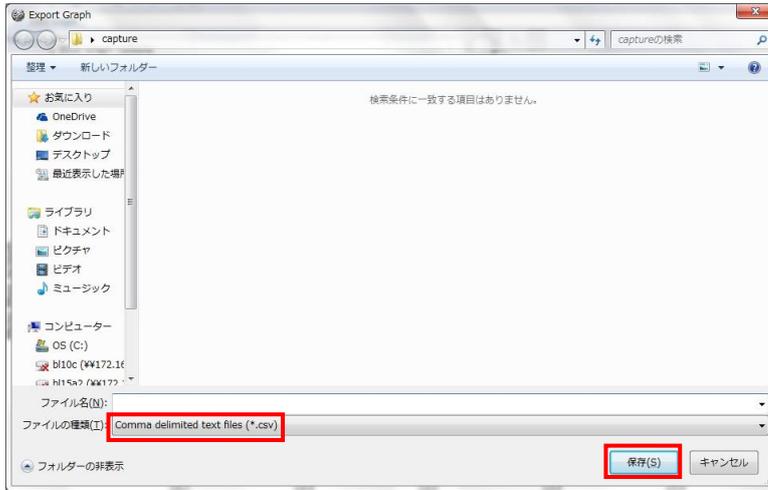
8-5 Edit 画面の表示

EASI Graph タブ内で右クリックし、Edit を選択し、EASI Graph Options ウィンドウを開く。EASI Graph Options ウィンドウ内の[Chromatograms]部分において 1st, 2nd, 3rd にチェックを入れ、Rayleigh ratio, Differential refractive index, UV absorbance を選択した後に[Export]をクリックする。



8-6 csv 形式で保存

ファイルの種類を csv に指定（エクセルにすると正しく出力されない）し、保存フォルダ、ファイル名を入力し[保存]をクリックする。



test_20170905.csv - Excel

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	volume (mL)	sample						
2	-0.059398	0.0001071	-0.306267	0.0005638	0	0.0002876	14.186734	40554.512
3	-0.055303	0.0001144	-0.302172	0.0006783	0.0040949	0.0003035	14.190829	40511.008
4	-0.051208	0.0001211	-0.298077	0.0007615	0.0081898	0.0003191	14.194924	40467.2
5	-0.047113	0.0001269	-0.293982	0.0008302	0.0122847	0.0003343	14.199019	40423.212

名前変更後の csv ファイル

test_20170905.csv - Excel

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	volume_LS (mL)	sample_LS	volume_dRI (mL)	sample_dRI	volume_UV (mL)	sample_UV	volume_Mw (mL)	sample_Mw
2	-0.05939805	0.000107095	-0.30626687	0.000563827	0	0.000287631	14.18673416	40554.51154
3	-0.05530316	0.00011441	-0.30217198	0.000678262	0.004094893	0.000303489	14.19082905	40511.00755
4	-0.05120827	0.000121081	-0.29807709	0.000761477	0.008189786	0.000319081	14.19492394	40467.19968
5	-0.04711338	0.000126862	-0.2939822	0.000830174	0.012284679	0.00033434	14.19901884	40423.21238
6	-0.04301848	0.00013155	-0.2898873	0.000862627	0.016379571	0.000349209	14.20311373	40380.00528

csv ファイル内は

- A 列: volume (ml) [LS の volume]
- B 列: xxx (サンプル名) [LS の信号強度]
- C 列: volume (ml) [dRI の volume]

D 列: xxx (サンプル名) [dRI の信号強度]
E 列: volume (ml) [UV の volume]
F 列: xxx (サンプル名) [UV の信号強度]
G 列: volume (ml) [分子量の volume]
H 列: xxx (サンプル名) [分子量]

と 2 列ごとにデータが並んでいる。(LS, dRI, UV はスケーリングされている)

[1 行目の各データの名前を変更しておく、エクセルなどでの再利用の際にわかりやすくなる。]