การวิเคราะห์ผลเบื้องต้นโดยใช้ OPUS software

เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อให้ผู้ใช้บริการแสงหรือเครื่องมือวิเคราะห์ FTIR spectroscopy and imaging สามารถใช้ในการวิเคราะห์ผลเบื้องต้นเองได้ โดยเนื้อหาจะประกอบด้วยการใช้โปรแกรมในการจัดการกับ ข้อมูลสเปคตัมและใช้ในการวิเคราะห์สเปคตรัมที่ได้จาก FTIR spectroscopy

 เปิดโปรแกรม OPUS โดย double click ที่ OPUS icon จากนั้นจะปรากฏหน้าต่างให้ใส่ password คือ OPUS เมื่อใส่ password แล้วกด Login

Double click icon	OPUS	7	
OPUS Login Assigned	User ID: Defau Defaul Password: I workspaces: C:\DF	It US_7.2.139.1294\default.ows	

2. โดยเมื่อเปิดไฟล์ spectrum เดี่ยวๆ จะปรากฏหน้าต่างแสดงดังภาพแรก และ 3D image file จะ ปรากฏหน้าต่างแสดงดังภาพที่สอง



 ที่หน้าต่าง window use list จะเป็นหน้าต่างที่ที่แสดง spectrum ที่เลือกเปิด โดยในไฟล์ spectrum จะประกอบด้วยองค์ประกอบหลักคือ file name และ data block



 เมื่อคลิกขวาที่หน้า spectrum window หรือที่เส้น spectrum จะปรากฏ function ที่ใช้จัดการ spectrum แสดงดังภาพ



5. เมื่อ click ขวาที่ file name จะปรากฎ function ที่ใช้จัดการ spectrum แสดงดังภาพ



6. Show parameter เป็น function ที่ใช้ในการติดตามข้อมูลต่างๆ ของตัวอย่างเช่น data acquisition เป็นต้น



O OPUS - I	Operator: Default (Administrator) - [I	Report-Display - default.ows:2]	N CONTRACTOR OF THE OWNER	the second s	- 0 X
	2 2 8 6 ~	• 🐄 🐜 🎌 🙅 P	🛯 📆 🚺 🚻 🔎 🚓 i	🛃 🔥 👬 🐺 🛄 🖶 🖄 🚸 🖍	🚓 🔠 🚦
O Ele	<u>E</u> dit <u>V</u> iew <u>W</u> indow <u>M</u> easure	Manipulate Evaluate Display Print Macro Validation	<u>S</u> etup <u>H</u> elp		- 8×
	สงพระเรา ≄ สุมาร์ สามาร์ สามาร์ สุมาร์ สามาร์ สามาร์ สามาร์ สามาร์ สามาร์ สามาร์	 "H-UR Training\A20"1 Data Parameters AB AB Sample Parameters Optic Parameters Optic Parameters FT - Parameters Acquisition Parameters DataFile History availaging in 9 ที่ใช้ขณะวัดตัวอย่าง asurement, objective, sample ackground scans, resolution 	Acquisition Parameters Additional Data Treatment Acquisition Mode Correlation Test Mode Delay Before Measurement Stabilization Delay Wanted High Frequency Limit Wanted Low Frequency Limit Sample Meas: Duration in Min. Background Meas. Duration in Min. Background Scans Background Scans Sample Scans or Time BG Scans or Time BG Scans or Time Command line for Additional Data Treatment To do list Signal Gain, Sample 2nd Channel Signal Gain, Background 2nd Channel	Values Values 2 Double Sided, Forward-Backward 0 0 0 1500.00000 1000000 1.00000 1.00000 1.000000 64 64 Abcorbance 4.00000 31 32.000000 32.000000 Scans Scans Scans Scans 37 x1 Automatic Automatic Automatic Automatic	
		4 Display - default.ows:1 C Report-Displ	lay - default.ows:2	_	⊳ x
7.	การเปิดหรือก	าารโหลด file spectrum			

- 7. การเปิดหรือการโหลด file spectrum
 - a. เลือก File จากนั้น เลือก Load File
 - b. File of type เลือก spectrum
 - c. เลือก OPUS file ที่ต้องการโหลด
 - d. Open



8. เมื่อโหลด file เข้ามาแล้วจะปรากฏข้อมูลของตัวอย่าง ดังภาพ

OPUS - Operator: Default (Adm	ninistrator) - []		
2 2 2	🗊 🗢 🤝 🗺 🗤 🏡 🏡 🛟 🕬 🕅 🕼	L 111 🔎 📾 🚓 💑 💀 🛄 🔐 🖄 🚸 🚓 🧮 🔞 -	
Dele Edit View Window	v <u>M</u> easure Manipulate Evaluate <u>D</u> isplay <u>Print</u> Macro Validation <u>S</u> etup <u>H</u> elp	- 0	×
OPUS Browser 4	Overview 🚯 Cheml1	Chem12 🚸 Selection view	
in Diplay default over in Diplay 2011 in _B0 _B0 _B0	Image 01 Mapping grd: 7 Point duster 1	Image: I image 1 •	
	Spectra 🔲 List	♦ Cheml1 ♦ Cheml2	
		Select trace OF all Range Pot type 2200 2000 1500 1000 1200 1000 1200 1000 1200 1000	
	111		

- 9. การ extract spectrum จาก file ที่วัดแบบ point by point
 - a. เลือก spectrum ที่ต้องการ extract
 - b. เลือก List จะปรากฏลำดับ spectrum ที่เลือกไว้
 - c. คลิกขวา เลือก Extract data (Extract dialog)
 - ตั้งชื่อไฟล์ เลือกโฟลเดอร์ที่ต้องการจัดเก็บไฟล์
 - e. กด Extract

Constant of Canadian				
111 🔎 🔜 💰 🐴 🗄	🛃 🛄 🖶 📩 🚸 🔞	🕨 🧱 😼 🚦		
		_ 8×		
ChemI 2 Selection view				
• •				
10000	คลิกเลือกสเปคตรัมที่เราต้อง	การ extract		
Cast in the	A CONTRACTOR OF A CONTRACTOR	and the		
	C. LANDANCE AND STREET	Les .		
Image: Image 01	•		Extract spectra	
			Critip Tra	ining/Eutract Data 1
Spectra 🛛 List			4 Filenama	
Type Index Color Annotation		Data value 1 Data value 2	Extract o	ata 1
		32,0443 32,0443 R4,4741 R4,4741	Template #blocknar #filename	ne# :#
▼ T DATA 000002	inpuiace P	84 6306 84 6306	#index#	
T DATA 000003	nuate	30.0115 30.0115		
Ext		Extract selection	Preview G:\JR Train	ning\Extract Data_1\Extract data 1.0
Sele	ect image 🔶	Extract average spectrum	Load e	xtracted file(s)
Exp Del	iort image	Extract dialog 3	Extract	Cancel
Sel	ect mapping grid		<u>.</u>	

- 10. เมื่อต้องการ extract spectrum จาก file ที่วัดแบบ mapping สามารถทำได้สองแบบคือ เลือก extract เฉพาะบริเวณที่ต้องการ
 - a. เลือก spectrum ที่ต้องการ extract
 - b. เลือก List จะปรากฏลำดับ spectrum ที่เลือกไว้
 - c. คลิกขวา เลือก Extract data (Extract dialog)
 - d. ตั้งชื่อไฟล์ เลือกโฟลเดอร์ที่ต้องการจัดเก็บไฟล์
 - e. กด Extract



OPUS - Operator: Default (Administrator) - []	
🖙 🗃 🖬 🗐 🗢 🤝 🏡 🥁 🏡 🛧 🚓 🗢 🕫 🌃 🛄 🔊 🖉 💩 🖍 🖼 🖆 🍐 🔥	: 🧮 😼 🍹
🕐 Ele Edit View Window Measure Manipulate Evaluate Display Print Marro Validation Setup Heip	- @ ×
OPUS Browser Cheml1 Cheml	
Diply-delakow Diply-delakow Delation Delati	9
Spectra 🗉 List	1 @ Chemi2
Type Index Color Annotation Data value 1 Data value 2 - Spert for	
26 4235 -26 4235 -26 4235 -26 4235	00e •
☑ ¥ DATA 00000 Remove spectrum from list 3.0614 5.0614 9.044	ige t
Image: State 1 and State	n
Search for spectrum in library	
V UKIA 000054 Show related factor spectra 105/40 105/40 0457 0457 0457 0457	our plot 📃
Select factor spectra 95753 930 00	mn plot
7 T DATA 000097 Extract spectrum 12286 30 sp	re plot
V DATA 000098 Extract average spectrum 49050 49050	china
☑ ☑ DATA 000000 Extract dialog	
DATA 000081 Replace FPA outlying spectra -16.1524 Rotati	n angle 🔫
29.3413 -29.2413 -29.3413 -29.	itangle 30
U DATA 000083 Data blocks 34.7249 34.7249	
16,7085 - 16,7085 - 16,7085 - Pot mode	
	uous and ines 🔻 🔻

- 11. เมื่อต้องการ extract spectrum ทั้งหมด ให้ crop เลือกบริเวณที่ต้องการ extract file
 - a. คลิกขวาบริเวณที่เลือก
 - b. เลือก Extract data และเลือก Extract dialog
 - c. จะปรากฏหน้าต่างให้กำหนดค่าต่างๆ ประกอบด้วย 1. Select files/ 2. Extraction ranges/ 3. Extraction mode
 - d. กด extract
 - e. ** หากต้องการให้แสดงผลสเปคตรัมที่หน้าจอทันที เลือก Load extracted file (s)





- 12. การทำ data preprocessing => water compensation จะเป็นการลบ noise ที่เกิดจาก สิ่งแวดล้อมภายนอกตัวอย่างออกไป
 - a. เลือกโหลด file ที่ต้องการ
 - b. คลิกเลือก data block spectrum ที่ต้องการทำ compensation
 - c. เลือก Manipulate
 - d. จะปรากฏหน้าต่าง Atmospheric Compensation ให้เลือกทั้งหมด จากนั้นกด Calculate หากต้องการ save file ที่ทำ preprocess แล้ว ให้ click ขวาที่ data block แล้ว save file



BL 4.1 IR Spectroscopy and Imaging Synchrotron Light Research Institute (Public Organization)





- 13. การทำ data preprocessing => การตัดช่วงความยาวคลื่นที่ไม่ต้องการออก เช่นเลือกช่วงที่ต้องการ ที่ 1800-900 cm⁻¹ ไว้
 - a. เลือกที่ data block ที่ต้องการ
 - b. เลือก manipulate จะปรากฏหน้าต่าง cut
 - c. เลือก Frequency range หรือ กำหนดค่า Wavenumber ที่ต้องการโดย 1. พิมพ์ตัวเลขใน ช่อง x-start and end point <u>หรือ</u> 2. เลือก Interactive เพื่อขยับเลือกช่วง Wavenumber ที่ต้องการ
 - d. กด OK





- 14. การทำ data preprocessing => การ smooth spectrum โดยจะทำเมื่อ spectrum มี noise หรือ สัญญาณรบกวนมากจนทำให้พีคที่ได้จากตัวอย่างมี noise เหล่านี้ไปรบกวนการแปลผล
 - a. เลือกที่ data block ที่ต้องการ
 - b. เลือก manipulate จะปรากฏหน้าต่าง smooth
 - c. กำหนดค่า number of smoothing point
 - d. กด smooth



15. การทำ data preprocessing => การทำ baseline โดยจะทำเพื่อปรับฐานพีคให้เริ่มต้นที่ศูนย์

- a. เลือกที่ data block ที่ต้องการ
- b. เลือก manipulate จะปรากฏหน้าต่าง baseline
- c. กำหนดค่า method ที่ต้องการทำ baseline
- d. กด collect



16. การทำ data preprocessing => การทำ normalization

- a. เลือกที่ data block ที่ต้องการ
- b. เลือก manipulate จะปรากฏหน้าต่าง normalization
- c. กำหนด frequency range ที่ต้องการทำ normalization
- d. กำหนดค่า method ที่ต้องการทำ normalization
- e. กด normalize





- 17. การทำ data preprocessing => การทำ derivative จะเป็นการแสดงพีคที่ overlapping กันให้มี ความชัดเจนมากขึ้น
 - a. เลือกที่ data block ที่ต้องการ
 - b. เลือก manipulate จะปรากฏหน้าต่าง derivative
 - จะปรากฏหน้าต่างให้กำหนดค่า number of derivative และ number of smoothing points ให้กำหนดค่าที่ต้องการทำ derivative
 - d. คลิกที่ process

- e. จะปรากฏ data block ที่ผ่านการทำ derivative และ Spectrum ที่ถูก Derivative จะ ปรากฏที่หน้า window spectrum เมื่อต้องการแสดง spectrum derivative ให้เลือก Data block ที่เป็น Original spectrum แล้วเลือก remove from display
- f. คลิกขวาบริเวณ spectrum window แล้วเลือก scale all spectrum แล้วเลือก show everything







- 18. การ average spectrum
 - a. เลือกที่ data block ที่ต้องการ
 - b. เลือก manipulate จะปรากฏหน้าต่าง averaging
 - c. กำหนดค่า 1. File to average (เลือก Select by symbol) 2. เลือก Weighting with no of scans /compute Av. Report
 - d. กด average





19. การทำ cluster analysis

- a. เลือก evaluate
- b. เลือก cluster analysis
- จะปรากฏหน้าต่าง cluster analysis เลือก Reference Spectra เพื่อโหลด spectrum ที่ ต้องการทำ Clusterกด average เข้ามา
- d. เลือกที่แท็ป parameter และทำการกำหนดค่า parameter ที่ต้องการใช้ในการทำ cluster ทั้ง preprocessing และ region เมื่อกำหนด parameter แล้วให้กดที่ cluster analysis
- e. เลือกที่แท็ป Report จะแสดง ผลการทำ Cluster analysis โดยหากต้องการคัดลอกข้อมูล การทำ cluster analysis ให้เลือกที่ window แล้ว copy ข้อมูล



O Ele Edit	Vew Window Measure Manpulate Evaluate Display Print Macro Validatio	1 Setup Help
	and Mathad Defensions Country Parameters Danat Ones Mathad	
	adu metriou neleterice apectal rubinocolo neput. suce metriou	
	Preprocessing 🗲 จะปรากฏหน้	าต่างให้กำหนดค่า Preprocessing
	Vector normalization 💌	
	No preprocessing Vector normalization	
	Region First derivative + vector normalization	
	2nd derivative + vector normalization	derivative + vector normalization
	2	
	Clear St	Hected Regions
)PUS - Opera	tor. Default (Administrator) - [Display - default.ows]	
2 2	🗃 🗐 🗖 🗢 🤯 🊧 🧤 🌭 🛵 🗢 I	🛯 🐺 🕼 🖄 🖉 🚓 🖓 🏟 🖓 🐺 🛄 🗗 🖄 👘
) <u>F</u> ile <u>E</u> dit	View Window Measure Manipulate Evaluate Display Print Macro Validation	Setub Heb
OPUS Clus	er Analysis - New	
	ad Method Reference Spectra Parameters Report Store Method	เพิ่มช่วง wave number ที่ต้องการใช้วิเครา
	P	คลิกขวา เลือก Add Region 🔶 OK
	rreprocessing	
	2nd derivative + vector normalization Smoothing points: 9	Zoom Scale All Spectra
	Benions	Shift Curve P Crosshair P
	from to	Add Annotation
	1 800.3 3000.8	legion Selection
	กำหนด Interaction Region	Selection
	in the interaction negion	
	Method Making distance matrix	
	Standard (Euclidean distance)	Analysis 2
		0 1000 1000 2848 2000 2458 2000 2458 1600 1600 1438 120
		OK. Canad



- 20. การทำ integration area เพื่อหาพื้นที่ใต้กราฟ เพื่อเป็นการเปรียบเทียบในเชิงปริมาณ โดย spectrum ที่จะทำการหาพื้นที่ใต้กราฟจะต้องผ่านการทำ data preprocessing มาแล้ว เพื่อใช้ใน การเปรียบเทียบกันได้
 - a. เลือกที่ data block ของ spectrum ที่ต้องการทำ integration area
 - b. เลือกที่ evaluate เลือก integration
 - c. เลือก setup method เพื่อกำหนดค่าต่างๆ เช่น ชนิดของการ integration และ ช่วงของพีค ที่ต้องการ integrate โดยจะต้องกำหนดทีละพีค เมื่อกำหนดค่าต่างๆ ได้แล้ว ให้ store method จากนั้นเลือก exit
 - d. เลือก integrate





- e. เมื่อต้องการให้แสดงผลพื้นที่ใต้กราฟเป็นตัวเลขเพื่อทำการเปรียบเทียบ
- f. ให้ click ขวาที่ data block INTEG เลือก show report จะแสดงค่าพื้นที่ใต้กราฟออกมา เป็นตัวเลขแสดงดังภาพ



- 21. การทำ RGB เพื่อดูการกระจายตัวของ functional group ในตัวอย่าง โดย RGB ย่อมาจาก red blue และ green โดยจะใช้สีเป็นตัวกำหนดค่าของแต่ละ functional group ซึ่งสามารถกำหนดค่าสีได้เอง ตามต้องการ และหากมี functional group ที่สนใจมากกว่า 3 functional group ก็สามารถทำได้ เช่นกัน โดยข้อมูลที่จะนำมาทำ RGB นั้นจะต้องเป็นข้อมูลที่ผ่านการวัดแบบ mapping เท่านั้น และ จะต้องผ่านการทำ data preprocessing มาแล้ว
 - a. เลือก click ในตัวอย่างเพื่อให้พีคปรากฏในหน้า window spectrum
 - b. ทำการ integration พีคที่สนใจดูการกระจายตัวโดยใช้เมาส์ลากผ่านฐานพีค

 c. Click ขวาเลือก integration type B และ เลือก integrate จะปรากกฏพีคที่ผ่านการ integrate





- d. เลือกที่ data block TRC
- e. เลือก manipulate จากนั้นเลือก multiple tracing
- f. กำหนดค่าสีตาม functional group ที่ต้องการให้แสดง โดยถ้ามีมากกว่า 3 functional group สามารถเลือกเพิ่มเติมได้ที่ assign color
- g. เมื่อกำหนดค่าได้แล้ว เลือก execute



