

日立 F-4500 荧光分光光度计简易操作方法

〈一〉 开机顺序:

- (1) 开机前首先确认主机两个开关: POWER/MAIN 均处于关闭状态 (搬向 O 处)。
- (2) 先接通电源开关 (POWER), 5 秒钟后再按下氙灯点灯按钮, 当氙灯点燃后, 再接通主开关 (MAIN)。此时主开关上方绿色指示灯连续闪动三下。
- (3) 接通电脑及打印机电源, Win98 开始建立, 随后 F-4500 操作界面自动进入。
- (4) 按界面提示选择操作方式。

〈二〉 关机顺序:

- (1) 逆开机顺序实施操作。
- (2) 当电源开关关闭后 5 秒钟, 再次接通 10 分钟。(目的是仅让风扇工作, 使灯室散热) 最后关闭电源开关。

〈三〉 操作界面介绍:

- (1) 当前显示的画面为模拟画面, 即观测样品峰用。
- (2) 在模拟画面右侧, 是仪器当前状态显示。它给出了当前的信号能量值, 激发和发射波长及狭缝值, 光闸 (Shutter) 开/关状态等。
- (3) 显示屏最上一行为八个菜单杆, 分别为 File /Edit /View /Spectrophotometer /Tools /Utility /Window /Help。每个菜单杆下均有子目录, 供用户选用。
- (4) 为了方便用户操作, 将常用的子目录演变为 23 个带彩图的快捷工具栏, 用户随意点击后, 操作界面立即更换, 非常便利。该 23 个快捷栏分布在显示屏的上方及右方, 非常醒目。

〈四〉 波长扫描的简易操作: (Wavelength Scan)

点击快捷栏 “Method” 后, 立即显示了分析方法 (Analysis Method) 的五个重叠界面, 分别为 “常规” (General), “仪器条件” (Instrument), “模拟画面” (Monitor), “处理” (Processing), “报告” (Report)。下面详细介绍每个界面:

(1) General (常规)

- *Measurement (测量方式) ----- 选择 Wavelength (波长扫描)
- *Operator (操作者名) ----- 键入人名
- *Instrument (仪器型号) ----- 自动给出
- *Sampling (样品名称) -----
- *Comments (注释表) ----- 可输入简单说明
- *Load (装载) ----- 调用已存入的条件
- *Save (存入) ----- 存储现有的条件
- *Save As (另存) ----- 另存现有的条件

(2) Instrument (仪器条件)

- *Scan mode (扫描方式) -----
 - Excitation (激发波长扫描)
 - Emission (发射波长扫描)
 - Synchronous (同步扫描)
- *Data mode (数据方式) -----
 - Fluorescence (荧光采集)
 - Luminescence (发光采集)
 - Phosphorescence (磷光采集)
- *EM WL (发射波长) ----- 输入范围 200nm—900nm

- *EX Start WL (激发起始波长) ---- 输入范围 200nm—890nm
- *EX End WL (激发终止波长) -----输入范围 210nm—900nm
- * EX WL (激发波长)-----输入范围 200nm—900nm
- *EM Start WL (发射起始波长) -----输入范围 200nm—890nm
- *EM End WL (发射终止波长) -----输入范围 210nm—900nm
- *Scan speed (扫描速度) -----15,60,300,1200,2400,12000,30000nm/min
六挡可选 (磷光扫描: 15,60,240nm/min)
- *Delay (延迟时间) -----输入范围 0—99 秒 (启动后延迟测量)
- *EX Slit (激发单元狭缝) -----1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 四挡可选。
- *EM Slit (发射单元狭缝) -----1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 五挡可选。
- *PMT Voltage (光电管负高压) -----400V, 700V, 950V 三挡可选。
(一般选择 700V)
- *Response (响应速度) -----0.0004,0.01,0.05,0.1,0.5,2.0,8.0 秒 Auto 八挡
可选。速度快峰形分辨率高, 但噪音大。速度慢反之。
- *Corrected spectra (光谱校正) -----使用 P/N251-0126 附件进行光谱校正。
- *Shutter control (光闸控制) -----选择控制状态, 样品待测或重复扫描时激
发光不能照射到样品上,避免产生化学变化。
- *Replicates (重复次数) -----可在 1—99 之间选择。(重复扫描用)
- *Cycle time (循环周期) -----可在 0—180 分间选择。(重复扫描用)

(3) Monitor (模拟监视)

- *Y-Axis Max (纵轴标尺上限值) ---- 一般样品预扫描后仪器自动赋值。
- *Y-Axis Min (纵轴标尺上限值) ----- 根据需要赋值。
- *☐Open data processing window after data acquisition (测量后打开数据处理窗口)
一般选定☒。测定结果可自动存储, 便于后期处理。
- *Print report after data acquisition (数据采集后自动打印) --- 一般不选定。
- *Overlay (重叠光谱图) -----可将光谱图重叠在监视画面上但重复扫描不可设定。

(4) Processing (处理方法)

简介: 此界面主要是对已测定的图谱根据用户的要求进行选择处理。

- *☐ CAT (平均化) ----- 如选定则对重复测定的图谱进行平均处理。

*Processing choices (处理方法的选择) ----- 有如下四种处理方法:

- 1) Savitsky-Golay Smooth ()
- 2) Mean Smooth (平均平滑)
- 3) Median Smooth (中间平滑)
- 4) Derivative (微分求导)

*Processing steps (处理顺) -----

*Peak Finding (峰检出) ----- 有如下三项内容:

- 1) Integration method (检出方法) ----- a) Rectangnlar (矩形)
b) Trapezoid (斜方形)
c) Romberg ()
- 2) Threshold (阈值) -----决定信号峰的舍取。赋值范围 0.001-1000。
小于赋值的峰可以显示但不打印结果。
- 3) Sensitivity (灵敏度) ----- 可改变放大器的放大倍数。一般设置为“1”。

(5) Report (报告格式)

*Output (输出) -----有如下三种格式可选:

- 1) Print Report ----- 打印报告 (常用格式)
- 2) Use Microsoft Excel -----将数据变换为微软 Excel 格式。
- 3) Use print generator sheet----- 利用变换器 (附选项) 打印图表。

*Pintation (方位) -----

*Pintable items (打印选项) ----- 有五种项目可选:

- 1) Include data (打印数据)
- 2) Include method (打印方法)
- 3) Include graph (打印图谱)
- 4) Include data listing (打印数据表)
- 5) Include peak table (打印峰值表)

*Printer Font (打印机字形)----- 可改变报告的打印字形。

〈五〉 时间扫描的简单操作: (Time Scan)

简介: 此扫描方式是 EX, EM 的波长均固定, 仅观察样品随时间的变化。模拟画面的横坐标轴为时间单位。进入方法与波长扫描相同。

(1) General (常规)

*Measurement (测量方式)-----选择 Time Scan (时间扫描)
(其它内容与波长扫描相同, 故从略。)

(2) Instrument (仪器条件)

*Data mode (数据方式)-----Fluorescence (荧光采集)
Luminescence (发光采集)
Phosphorescence (磷光采集)
Phosphorescence Life Time (磷光寿命采集)
Phosphorescence Life Time (Shoet) (磷光短寿命采集)

注: 如果选择磷光短寿命采集方式, 时间单位为 ms, 采集时间自动设定为 20ms。

*EX WL (激发波长) ----- 0nm, 200nm—900nm 设定

*EM WL (发射波长) ----- 0nm, 200nm—900nm 设定

*Time unit (时间单位) ----- s, ms 两种单位可设定

*Scan time (扫描周期)----- 时间单位为 sec 时, 周期范围为: 10—3600sec,
时间单位为 msec 时, 周期范围为: 1000—9999msec。扫描时间与采样间隔关系如下:

扫描时间 (s)	采样间隔 (ms)
3	1
7	2
18	5
36	10

(其它内容与波长扫描相同, 故从略。)

(3) Monitor (模拟监视)

*Y-Axis (纵轴上下限值) ----- 一般样品预扫描后仪器自动赋值。

*X-Axis (横轴上下限值) -----时间轴, 根据需要设定
(其它内容与波长扫描相同, 故从略。)

(4) Processing (处理方法) ----- 内容与波长扫描相同, 从略

- (5) Report (报告格式) ----- 内容与波长扫描相同, 从略
- 〈六〉光度计法的简单操作: (PHOTOMETRY)
- 简介: 光度计法亦称浓度直读法, 也称工作曲线法。利用配制的具有梯度的标准样品, 先做出一条标准曲线, 然后再反测未知样品。
- (1) General (常规)
- *Measurement (测量方式)-----选择 Photometry (光度计)
(其它内容与波长扫描相同, 故从略。)
- (2) Quantitation (定量条件)
- *Quantitation type (测量类型) ----- 1) Wavelength (指定波长)
2) Peak area (峰面积)
3) Peak height (峰高)
4) Derivative (导数)
5) Ratio (比率)
- *Calibration type (曲线校正类型)----- 1) None (没有)
2) 1 st order (线性方程)
3) 2 nd order (二次方程)
4) 3 rd order (三次方程)
5) Segmented (折线)
- *Num ber of wavelengths (波长数)----- 当曲线校正选择“None”时波长数可以在 1 — 6 间选择, 但再不能使用工作曲线法了。其他校正类型只能在 1 — 3 间选择, 但此时的波长数并不表示在若干波长值下可以同时测定样品的吸光度, 仅仅是对光谱图的一种处理方法。
- *Concentration unit (浓度单位)----- 根据需要格式设定
- *Manual calibration (手动校正) ----- 根据公式校正
- *Force curve through zero (强制曲线归零)
- *Digit after decimal point (小数有效位) ---可以在 1 — 3 间赋值
- (3) Instrument (仪器条件)
- *Data mode (数据方式)----- Fluorescence (荧光采集)
Luminescence (发光采集)
Phosphorescence (磷光采集)
- *Wavelength mode (波长方式) ----- EX WL Fixed (激发波长固定)
EM WL Fixed (发射波长固定)
Both WL Fixed (两侧均固定)
- *Fixed WL (波长选定) ----- 可以选定 1 - 6 个波长值, 波长值赋值范围 0nm, 200—900nm。
- *EX Slit (激发单元狭缝) ----- 设定范围 2.5, 5.0, 10.0,nm
- *EM Slit (发射单元狭缝) ----- 设定范围 2.5, 5.0, 10.0, 20.0nm
- *PMT Voltage (光电管高压)----- 设定范围 400V, 700V ,950V
- *Auto statistic cal.number (自动统计计算) ----可以进行平均值, 标准偏差, 变异系数的计算。为此目的则要设置样品重复个数, 此数在 2-4000 间选择。
- *Replicates (重复次数) ----- 重复测量次数, 输入范围 1-20。
- *Integration Time (积分时间) ----- 0.1 - 10.0 秒间设定。
- *Delay (延迟时间) -----启动后经过所设定的时间自动开始测量。
- (4) Standards (标准样品表)

- *Number of Samples (标准样品数目的设定) ----- 1—20 间设定。
- *Update (修定确认)-----当标样数确定后, 点击此框后显示标样表以供赋值。
- *Insert (插入)----- 点击此框可临时插入一个标样条目。
- *Delete (删除)----- 点击此框可临时删除一个标样条目。

(5) Monitor (模拟监视)

同前述相同, 故从略。

(6) Report (报告形式)

同前述相同, 故从略。

注: 标样测量点击 Measure 框, 未知样品测量点击 F4 键, 结束测量点击 F9 键。

〈七〉 三维扫描的简易操作 (3-D SCAN)

说明: 该功能的作用是, 当某个样品不知最佳激发波长和最佳发射波长时, 利用该功能可自动快速地给出最佳条件。并可供其他特殊分析用。

(1) General (常规)

*Measurement (测量方式)----- 选择 3—D Scan 方式。

(2) Instrument (仪器条件)

*Data mode (数据方式)-----可选择 Fluorescence 荧光或 Phosphorescence 磷光。

*EX Start WL (激发起始波长)----- 0nm, 200nm—850nm 间选择。

*EX end WL (激发终止波长)-----0nm, 200nm—900nm 间选择。

*EX Sampling interval (激发扫描间距)----- 1—50nm 间选择。

*EM Start WL (发射起始波长)----- 0nm, 200nm—850nm 间选择。

*EM end WL (发射终止波长)----- 0nm, 200nm—900nm 间选择。

*EM Sampling interval (发射扫描间距)----- 1—10nm 间选择。

*Scan speed (扫描速度)----- 任选。如为了快速, 可选 30000nm/分。

(3) Monitor (模拟监视) 从略。

(4) Processing (数据处理) 从略。

(5) Report (报告) 从略。