

产品标准号: Q31/0101000021C001

沪制 01030007 号 2010C110-31

# F96PRO 荧光分光光度计

# Fluorospectrophotometer

使用手册

4.上海棱光技术有限公司

二〇一五年九月

# 序言

荧光分析法是一种高灵敏、高选择性的现代 分析方法,能提供包含激发光谱、发射光谱、发光 强度、发光寿命、荧光偏振等许多信息,其工作曲 线线性范围宽,已成为痕量分析领域一种重要的分 析方法。

F96PRO 荧光分光光度计是一种使用滤光片 和单色器相结合的荧光光度计。具有荧光发射波长 扫描、荧光强度的时间扫描和定量分析三种功能。 仪器有单机测试和计算机联机测试两种方式。不同 的测试方式对使用的功能多少及方便性各不相同。

为了用好 F96PRO 荧光分光光度计,使用者 应具备光学仪器使用的基础知识,以及分子荧光光 谱分析方法的基本知识。配用计算机的用户,还应 具有相应计算机使用操作的知识和技能。

安装或初次使用 F96PRO 荧光分光光度计前, 必须仔细阅读本使用说明书。根据用户的不同配置, 可以有主机外接计算机或主机外接专用打印机两种 方式。

本公司保证在用户遵守运输、保管和使用规则的条件下,从发货日起12个月内,如因制造不良 发生损坏和不能正常工作时,本公司将负责免费维 修(不包括易损易耗件)。需维修时,为保证维修, 请将仪器及附件,连同质保卡一起,返回本公司。

# 安全使用提示符



本符号提示安全使用仪器的重要信息。请仔细阅读,并遵照随后指令操作。



本符号提示本操作可能的电器危害,需由 有专业资格的人员按相应程序处理。(在电源 开关和触发器上有此标识。)

本符号提示表面发热,请按随附指令小 心执行。

# 使用注意事项

- 本仪器适合在实验室环境中作分析测试。如需在现场使用,现场工作环境应基本符合实验室环境要求。
- 如需移动本仪器至另外分析测试场所时,请在移动中使用 原包装。
- 开关仪器一定要按照操作顺序。开机时,请先开氙灯电源, 点燃后,再开主机电源;关机时,则先关主机电源,再关氙灯 电源。否则可能造成仪器不能正常工作。氙灯点亮后需稳 定 30min 以上。关闭氙灯电源后,若要重新启用,请等 待 60s 以后,重新触发。
- 4. 当开启氙灯电源,未能触发,并连续发生"吱吱"高频声或 "叭叭"打火声时,请立即关闭氙灯电源,数秒钟后重新 触发。由于氙灯寿命与开关次数密切相关,应避免氙灯在 高压下反复触发,尽量减少不必要的氙灯触发次数。
- 仪器工作时,仪器左后(氙灯位置)顶部散热口表面温度很高,其周围应保持空气流通,切勿用手触摸散热口表面,以免烫伤。
- 每次开机后,请先确认仪器侧面的排热风扇正常运转,以 确保仪器正常工作。如发现排热风扇有故障,应停机检修。
- 为保护光电倍增管,当仪器增益较高(>6)时,勿将强光 进入样品室内。在进行未知浓度试样测试时,仪器增益拟 从低位向高位(1-17)逐步设置。
- 8. 调整增益后,应检查原设定的荧光零位,并注意重新调零。
- 9. 当(仅当)操作者错误操作或其他干扰引起计算机或仪器 出错时,应立即关闭主机开关,当计算机软件无法正常操 作时(如死机),请启动任务管理器结束"F96pc.exe"进程,重新启动软件和仪器。
- 10. 单色器内用螺丝紧固处不得松动,光学器件和仪器运行 环境需保持清洁。
- 开盖检视仪器时,一定要切断电源。特别是在卸下仪器
   上盖时,仪器底座左后方有高压电器部件,切勿带电接触。

目录

# 第一部分 仪器使用说明

| 1. | 仪者  | 器的外形及性能          |
|----|-----|------------------|
|    | 1.1 | 整机外形及主要部件7       |
|    | 1.2 | 仪器的操作面板11        |
|    | 1.3 | 仪器的工作原理12        |
|    | 1.4 | 仪器的测量功能14        |
|    | 1.5 | 仪器的性能指标15        |
| 2. | 仪器  | 的操作              |
|    | 2.1 | 仪器面板的操作使用16      |
|    | 2.2 | 开机状态17           |
|    | 2.3 | 测量18             |
| 3. | 仪署  | 器的安装             |
|    | 3.1 | 安装环境21           |
|    | 3.2 | 开箱检视22           |
|    | 3.3 | 安装24             |
|    | 3.4 | 仪器的调试25          |
| 4. | 仪器  | 器的维护和保养          |
|    | 4.1 | 日常维护27           |
|    | 4.2 | 光源灯的维护和更换28      |
|    | 4.3 | 滤光片的维护和更换29      |
| 第  | 二部  | 分 仪器连接计算机操作使用说明  |
| 5. | 软件  | 牛使用的环境要求及安装      |
|    | 5.1 | 计算机硬软件的基本配置31    |
|    | 5.2 | "F96PRO 软件"的安装32 |

# 目录

| 6. | 软件的操作使用              |
|----|----------------------|
|    | 6.1 使用前的准备33         |
|    | 6.2 三种工作模式界面35       |
| 7. | 波长扫描工作模式操作(接计算机时)    |
|    | 7.1 波长扫描工作模式的界面37    |
|    | 7.2 波长扫描操作39         |
| 8. | 时间扫描工作模式操作(接计算机时)    |
|    | 8.1 时间扫描工作模式的界面及操作45 |
| 9. | 定量分析工作模式操作(接计算机时)    |
|    | 9.1 定量分析工作模式的界面48    |
|    | 9.2 定量分析操作52         |
|    |                      |

附录: 微软 Excel2000 软件处理数据------55



# 1 仪器的外形及性能

# 1.1 仪器的整机外形及主要部件

1.1.1 仪器的整机



图 1-1 F96PRO 荧光分光光度计主机



图 1-2 F96PRO 荧光分光光度计主机侧图

电源插座:用于接插电源电缆。 氙灯熔丝座:用于安装氙灯电源熔丝。 氙灯开关:用于开关氙灯 主机熔丝座:用于安装主机电源熔丝 仪器开关:用于开关仪器电源。 样品室:内有样品池架,放置样品。

# 1.1.2 主要部件

1. 氙灯



图 1-3 氙灯

# 2. 样品室





图 1-4 样品室及石英荧光样品池(10mm)

3. 滤光片



图 1-5 滤光片(中心波长为 365nm)

# 1 仪器的外形及性能

# 1.2 仪器的操作面板



# 2 仪器的外形及性能

# 1.3 仪器的工作原理

# 1.3.1 信号过程和控制系统



# 图 1-7 信号过程和控制系统

# 1.3.2 光路图



图 1-8 光路图

# 1 仪器的外形及性能

## 1.4 仪器的测量功能

1.4.1 测量的工作模式

**1. 波长扫描模式**。在固定激发波长下,样品的荧光强度随发射波长变化的图 谱。

2. 时间扫描模式。在固定激发波长下,样品的荧光强度随时间变化的图谱。

**3. 定量分析模式**。根据荧光光度法的定量关系式 *F*=*KC*,即给定实验条件下, 荧光强度(*F*)与试样的待测组分浓度(*C*)成正比。通过对标准溶液的荧光强度的测量, 拟合得到 *K*。再测未知试样的荧光强度, 从拟合方程计算出未知试样 中待测组分的浓度。也可用标准曲线法或标准加入法校准。

本仪器单机使用时可用单点标样校准法,进行浓度直读测量。

1.4.2 测读数据方式

1. **单机测试。**使用仪器面板操作键功能及液晶显示屏,进行仪器控制和测 读数据。

2. 计算机联机测试。仪器通过通信口与计算机相连,由计算机软件系统控制仪器、设定参数、实时测读。软件还有强大的图谱处理、数据处理及存储等功能。

/! 注意:不同的测读数据的方式,可使用的工作模式多少和使用的方便性各有 所不同。

1.4.3 自检与自校

1. 仪器自我检测与自动校正功能。仪器在开机后自动进入初始化工作,主要包括自我检测功能与波长校正功能。自我检测项目有联机状态检测,激发光源检测,仪器数据库检测,模数转换检测,信号增益检测,运动部件检测。相应检测项目的结果以中文方式显示在液晶屏幕或联机软件界面上,方便用户查找问题(参照表 1-2)。波长校正功能利用光栅零级光校正仪器发射单色器的波长精度,确保波长准确性。

14

# 1 仪器的外形及性能

# 1.5 仪器的性能指标

| 光源        | 150W 氙灯(易耗件)   |
|-----------|--|
| 激发滤光片     | 标准配置中心波长为 365nm 的干涉滤光片 1 块。用户可根据需要另<br>行选购φ 25mm、中心波长在 200~850nm 范围内的干涉滤光片 |
|           | C-T 衍射光栅单色器(Em 200~900nm,带宽 10nm)  |
| 发射单色器     | 波长准确度 ±1nm   |
|           | 波长重复性 ≤0.5nm   |
| 信噪比       | S/N≥150(用1cm石英荧光样品池检测水的拉曼峰信号噪声比)   |
| 测量线性 (γ ) | ≥0.995   |
| 峰值强度重复性   | ≤1.5%  |
| 零线漂移      | ≤0.3 (10min 内)   |
| 示值上限变化    | ≤1.5%(10min 内)(示值≥50 时)  |
| 电源电压范围    | 220V±22V; 110V±22V   |
| 尺寸        | 442×392×250 (mm)   |
| 千日        | 净重 11kg  |
| 里重        | 毛重 13kg  |

# 表 1-1 F96PRO 荧光分光光度计性能指标

# 2 仪器的操作

# 2.1 仪器面板的操作使用

# 2.1.1 显示窗

显示窗由 128×64 像素的液晶屏构成,采用中文信息显示,所显示内容包括 仪器初始化状态信息、荧光值、浓度值、发射波长值、仪器增益档位、浓度因子 值、标准浓度值等。其中相关符号解释如下:

1.: "●"指示激发光源处于开启状态;

2.: "%"指示仪器荧光值处于归一化状态。

## 2.1.2 功能键的使用

1. 模式键。切换仪器操作模式使用。切换循环顺序为:

荧光值模式—〉波长模式—〉增益模式—〉浓度输入模式—〉因子输入 模式—〉浓度直读模式—〉荧光值模式。

在波长模式和增益模式下,当设置参数数值与当前数值不一致时,**模式**键 功能为**取消**当前设置值,返回目标数值功能。

∠/打印键。荧光值模式和浓度直读模式下,为打印功能,可将显示值通过专门配套的串行打印机打印输出;波长模式、增益模式、浓度输入模式和因子输入模式下,为确认功能,执行修改后的参数命令。

 ←/调零键。荧光值模式模式下,为调零功能,可将当前荧光值作为零位 值扣除;波长模式、浓度输入模式和因子输入模式下,为选位功能,从左向右循 环选位,选中可修改的数值;增益模式下,为减少增益档位功能。

4. **↑/归一键**。荧光值模式模式下,为**归一**化功能,可将当前荧光值归一化为 100 的荧光值,同时显示 "%"标志,再次按键,则为取消归一化功能;波长模式、浓度输入模式和因子输入模式下,为**累加**功能,将选中的数值从 0 到 9 循环修改;增益模式下,为**增加**增益档位功能。

16

# 2 仪器的操作

# 2.2 开机状态

# 2.2.1 开机

先开氙灯电源,再开主机电源。氙灯点亮后需稳定一定时间,进行精密测量应在 30min 以上。

/! 注意:

①当氙灯未能触发,并连续发生"吱吱"高频声或"叭叭"打火声时,请 即关断氙灯电源,稍后数秒重新触发。(此情况仅在电源不稳电源容量不够或 氙灯临近使用寿命极限时发生。)

②由于氙灯寿命与开关次数密切相关,请尽量减少不必要的氙灯触发次数,避免氙灯在高压下反复触发。

# 2.2.2 确认排热风扇工作

每次开机后,请先确认仪器侧面排热风扇正常运转,以确保仪器正常工作, 发现风扇有故障,应停机检修。

# 2.2.3 开机初始化

开机仪器进行初始化工作,如仪器未连接电脑 USB 接口,则初始化信息显示于液晶屏幕上;如仪器连接电脑 USB 接口,则初始化信息显示于电脑软件界面上,液晶屏幕显示"联机操作中..."信息。

仪器初始化工作包括自检和自校正,中途步骤及显示信息见表 1-2:

| 步骤   | 项目      | 成功                     | 失败                                       |
|------|---------|------------------------|--|
|      | 联机自检    | 仪器进入联机操作状态             | 仪器进入单机测试状态                               |
|      | 仪器数据库自检 | 仪器内部参数正常               | 仪器内部参数设置错误<br>存储芯片故障                     |
| 心思白达 | 模数转换自检  | 模数转换模块正常               | 模数转换芯片故障                                 |
| 仅奋日位 | 信号增益自检  | 信号增益模块正常               | 倍增管故障<br>负高压模块故障                         |
|      | 运动部件自检  | 运动部件模块正常               | 电机故障<br>电机驱动板故障                          |
| 仪器校正 | 波长校正    | 数值从小到大再到小,<br>形成明显波峰状态 | 数值无形成明显波峰状态,<br>仪器波长将出现较大误差<br>检查样品池是否为空 |

表 1-2 F96PRO 荧光光度计开机初始化信息表

# 2 仪器的操作

#### 2.3 测量

仪器预热 30min 后进行测量操作。仪器的两种测试方式(单机测试和计算机 联机测试)各有不同的操作方法。

仪器主机连接计算机时,不同工作模式的选择及操作方法,详见第二部分, 第7、8、9节。

本节为单机测试时的定量分析操作。

# 2.3.1 置入试样

将待测试样注入样品池内大约 2/3 高度,用滤纸吸去样品池外壁残留的液滴,小心将其插入样品池放置的位置,见图 1-4。

注意:样品池由石英材料制成,使用时应注意保护透光窗面。用手取放样品池时,应手握样品池对角线方向。

#### 2.3.2 单机测试方式时的定量分析

单机测试方式主要用于定量分析工作模式,有多点标样法和单点标样法两种,它们的操作方式如下。

# 1. 多点标样法的测量步骤

配制系列标准溶液(含空白溶液),在制备未知样溶液完成后,按下顺序操 作。

(1)调整波长。按模式键,进入波长模式,"当前波长:\*\*\*nm"指示当前发射单色器的检测波长,利用←/调零键和 //归一键调整目标波长值(参照
2.1.2 功能键的使用),调整完毕后按 //打印键,仪器自动调整波长至目标波长。

(2)调整增益。按模式键,进入荧光值模式,放入浓度最大的标准溶液于样品池中,再按模式键,进入增益模式,"当前增益:\*\*档"指示当前仪器检测增益档数,档数越高,增益越高,仪器灵敏度越高。利用←/调零键和↑/归一键调整目标增益档位,调整完毕后按←/打印键,仪器自动调整至目标档位状态。

(3) 调零。放入空白溶液于样品池中,按模式键,进入荧光值模式,待示

值稳定,按←/调零键,调节荧光值为0.0(±0.1)。

注意:在以下的测试过程中不允许再调整灵敏度。

(4)标样测定。逐一将系列标准溶液(由稀到浓)进入光路,待荧光值读数稳定后,记下荧光值。可按附录提供的"微软 Excel 2000 软件处理数据"拟合工作曲线方程。

(5) 未知样测定。将未知样溶液进入光路,待荧光值读数稳定后,记下荧光值。由工作曲线方程求得未知样的浓度。

2. 单点标样法的测量步骤

/!`

配制标准溶液、空白溶液各一个。在制备未知样溶液完成后,按下顺序操作。 注意:标样溶液浓度的选择,尽可能接近待测样品的浓度。

(1)调整波长。按模式键,进入波长模式,"当前波长:\*\*\*nm"指示当前发射单色器的检测波长,利用 ←/调零键和 ↑/归一键调整目标波长值(参照
2.1.2 功能键的使用),调整完毕后按 4/打印键,仪器自动调整波长至目标波长。

(2)调整增益。按模式键,进入荧光值模式,放入标准溶液于样品池中, 再按模式键,进入增益模式,"当前增益:\*\*档"指示当前仪器检测增益档数, 档数越高,增益越高,仪器灵敏度越高。利用←/调零键和↑/归一键调整目标 增益档位,调整完毕后按4/打印键,仪器自动调整至目标档位状态。

(3) 调零。放入空白溶液于样品池中,按模式键,进入荧光值模式,待示 值稳定,按←/调零键,调节荧光值为0.0(±0.1)。

· 注意: 在以下的测试过程中不允许再调整灵敏度。

(4)进入浓度直读模式。按模式键,进入浓度输入模式,显示窗显示"输入已知浓度:",利用←/调零键和 //归一键调整浓度值为标样溶液浓度值(参照
2.1.2 功能键的使用),再按 //打印键确认,仪器自动计算浓度因子,并切换到浓度直读模式。

(5)未知样测定。放入未知样品溶液于样品池中,浓度直读模式下的数值 即为未知样品溶液的浓度。按→/打印键,数据可由专门配套的串行打印机打印输 出。

(6) 读取浓度因子。按模式键,进入因子输入模式,显示窗显示"输入已

知因子:",显示窗数值即为当前浓度因子系数,利用←/调零键和 ↑/归一键还可修改浓度因子。当浓度因子被修改后即启用新的因子计算浓度值。

注意:当测定相同样品时,经设定该浓度因子,可直接测定样品。此时的 仪器增益档位,应与读取浓度因子时相同。

#### 2.3.3 关机

先关主机电源,再关氙灯电源。(与开机顺序相反) 如在联机状态下,应先关计算机软件,再关主机电源,再关氙灯电源。 注意:关闭氙灯电源后,若要重新使用,请等待 60 秒以后重新触发。

# 3 仪器的安装

# 3.1 安装环境

本仪器适合在实验室环境作分析测试,因其配合计算机工作,需要符合以下工作环境。

# 3.1.1 实验室空间环境

环境温度 10~30 ℃,环境湿度小于 85%。避免腐蚀性气体及在紫外辐射范 围内有吸收的有机、无机气体。

#### 3.1.2 工作台

安放在稳固工作台上,避免震动,避免阳光直射,避免灰尘。

# 3.1.3 电源

交流电压应在 220V±22V , 110V±11V 范围内。

# 3.1.4 环境变更

本仪器如需在现场使用,现场工作环境应符合上述要求,移动仪器应使用 原包装,如有特殊需求可在订货时作特殊订货。

# 3 仪器的安装

# 3.2 开箱检视

仪器主机采用纸箱包装。长途运输可要求加装外木箱。

# 3.2.1 外包装检视

开箱前,检视外包装是否完整,如发现包装不完整或碰撞痕迹,请与运输保 险部门联系。

# 3.2.2 开箱清点

按密封胶带位置开封,小心取出主机(请保存外包装,以备下次移动时使用。) 按装箱单清点主机、标准配件,及选订附件、备件。如有差错请立即与地区销售 商或本公司联系。

|      |                          | 1台  |
|------|--------------------------|-----|
|      | 365nm 滤光片(预装于主机上)        | 1只  |
|      | F96PRO 荧光分光光度计数据处理软件包(套) | 1套  |
|      | 电源电缆                     | 1根  |
|      | USB 通讯电缆                 | 1根  |
| 标准配置 | 石英荧光样品池 10mm             | 1 对 |
|      | 熔丝(2A/5A)                | 各2只 |
|      | F96PRO 荧光分光光度计使用手册       | 1份  |
|      | 产品合格证明书                  | 1 份 |
|      | 装箱单                      | 1 份 |
|      | 产品保修单                    | 1 份 |
|      | 200~850nm 干涉滤光片(φ25mm)   |     |
|      | 石英荧光样品池 10mm             |     |
| 司法友供 | 玻璃荧光样品池 10mm             |     |
| り匹奋件 | 熔丝(2A/5A)                |     |
|      | USB 通讯电缆                 |     |
|      | 电源电缆                     |     |
|      | 微型计算机主机                  |     |
|      | 显示器                      |     |
|      | 专用串行打印机                  |     |
|      | 膜状样品荧光测量附件               |     |
| 可选附件 | 粉状样品荧光测量附件               |     |
|      | 毛细管微量样品测量附件              |     |
|      | 护套式样品池测量附件               |     |
|      | 200µ L 离心管荧光测量附件         |     |
|      | 荧光测定半自动进样附件(LG2.002.001) |     |

表 1-3 F96PRO 荧光分光光度计配置清单

注:可选备件、可选附件按订货合同供货。

# 3 仪器的安装

# 3.3 安装

# 3.3.1 清洁

去除运输中各固定胶带,清洁表面。

# 3.3.2 核对电源匹配

核对仪器电源电压是否与地区电压一致。

# 3.3.3 连接电源电缆线

将主机及计算机或打印机置于稳固工作台上,离墙大于10 cm,连接随仪器的电源电缆至实验室市电插座。

# 3 仪器的安装

# 3.4 仪器的调试

3.4.1 信噪比测试(用水的拉曼峰)

# 1. 单机测试方式

确保仪器样品池无物件,先开氙灯电源开关,点燃氙灯,再开通主机电源, 仪器自动进入初始化工作,(本仪器具备仪器自检与波长自校正功能),约需数分 钟。

#### (1)预热。

仪器开机后,光源及电子部件都需热平衡。应在开机预热 30min 后,进行测量操作。

# (2) 置入试样。

启用干净清洁的石英荧光样品池,将试样(重蒸馏水)装入石英荧光样品池, 手握样品池对角位,放入样品室内的样品池槽架上。见图 1-4。

<u>
 注意:不够清洁的石英荧光样品池将影响测试的准确度,降低所测得的信</u>
 噪比值。

# (3) 调整波长。

调整波长至 415nm 处,调整方法参见 2.3.2 内容。

#### (4) 调整仪器增益。

调整仪器增益的目的是使测试样品的显示值在适当数值。调整方法参见 2.3.2 内容,使荧光值在 100~200 之间,并在 415nm 附近寻找最大荧光强度的波长值 λ<sub>max</sub>。

然后在 **λ** max 处观察 2 分钟,记录荧光最大值和最小值,相加除以 2 得 **λ** max 处的荧光强度平均值,相减得出 **λ** max 处的噪声值。

再调节波长至 315nm 处,此时显示的荧光值为水的拉曼峰的本底值。

上面 **λ** max 荧光强度平均值减去 315nm 处的本底值,除以 **λ** max 噪声值,得出 仪器信噪比 (S/N)。(本仪器出厂指标 S/N≥150)

## 注意:①为了保护光电倍增管,当灵敏度较高(>6)时,请勿将强光源置

#### 入样品室内。

②调整仪器增益时,整机自动灵敏度系统重调将影响原设定的荧光零位, 调整增益后请检查零位,如有变化可重调零位一次。

(5) 关机。

测试完毕后,先关氙灯开关,再关主机开关。

#### 2. 与计算机联机测试方式

利用计算机软件的波长扫描和时间扫描功能,完成水的拉曼峰信噪比测试, 原理与方法同 3.4.1 第1节,软件使用方法详见第二部分。

## 3.4.2 仪器的波长校验

仪器波长示值的准确性由仪器自动校验,如发现有误,可用汞弧灯校验(如 无汞灯也可用日光灯代替,但必须由专业人员进行,具体方法及校正步骤通过培训 介绍。)

汞弧灯的谱线波长及谱图见表 1-4 及图 1-9。

编号 号 波长/nm 波长/nm 编 1 253.65 7 404.66 2 296.73 8 407.78 9 3 302.15 435.84 4 313.16 10 546.07 334.15 5 11 576.96 6 365.01 12 579.07 9 强度(非线性) 10 6 8 2 11 12 250 300 350 400 450 500 550 600 λ/nm

表 1-4 低压汞灯在紫外和可见区的发射光谱

# 4 仪器的维护和保养

# 4.1 日常维护

 在日常使用中,要经常检查工作环境是否符合要求。发现工作环境不符 合要求时,要及时采取措施。

# 4 仪器的维护和保养

# 4.2光源灯的维护和更换

# 4.2.1 光源灯的维护

/!`

/!`

1. 仪器光源灯采用高性能氙灯,安装在专门的灯室内,见图 1-3。须保持 氙灯表面洁净。

2. 开、关氙灯时,应严格按照操作顺序。

# 注意:开机时,请先开氙灯电源, 点燃后, 再开主机电源; 关机时, 则先 关主机电源, 再关氙灯电源。

3. 在电源电压不稳、电源容量不足或氙灯临近使用寿命极限时,常会发生触 发氙灯困难。

注意:若出现氙灯未能触发,并连续发生"吱吱"高频声或"叭叭"打火 声的情况,请立即切断氙灯电源,稍后数秒后,重新触发。

4. 避免氙灯在高压下反复触发。

注意:由于氙灯寿命与开关次数密切相关,请尽量减少不必要的氙灯触发 次数。

5. 仪器开启后,要确保仪器的侧部排气风扇工作正常,确保仪器顶部散热 口表面保持通风良好。

4.2.2 光源灯的更换

本仪器采用工厂预校正的长寿命精密组合光源。更换损坏的光源灯时,必须由专业人员进行,具体方法及校正步骤通过培训介绍。

# 4 仪器的维护和保养

# 4.3 滤光片的维护和更换

# 4.3.1 滤光片的维护

1. 滤光片表面应保持清洁。

# ✓: 注意:若手触摸了滤光片表面,请用镜头纸及酒精将其擦抹干净,然后干燥。

2. 卸下的滤光片要清洁后用镜头纸包好, 放入存有干燥剂的容器内, 妥善保存。

# 4.3.2 滤光片的更换

<u>'!</u>

1. 打开样品室, 拧出滚花螺钉, 滚花螺钉位于激发光源部件右方。

2. 将扣于激发光源部件上方的压盖板翻起,由滚花螺钉处向左上方翻起。

3. 取出激发光源部件。

4. 卸下激发光部件前部压圈,请逆时针旋转。

5. 旋下压圈后,用手捏住滤光片边缘两侧,拿出滤光片,将欲换上的滤 光片套入压圈内(滤光片无正反面),将压圈顺时针旋入,固定住滤光片。

# 注意:拿出滤光片时,勿接触滤光片透光面。

6. 将新激发光源部件放入安装架上,放入前确保压盖板处于翻起状态。

7. 盖上压盖板, 拧入滚花螺钉。



# 5 软件使用的环境要求及安装

在阅读本部分前,请先行仔细阅读第一部分仪器使用说明和 Windows 98 以上版本操作手册。

# 5.1 计算机硬软件的基本配置

# 5.1.1 硬件

CPU P2 Celeron 600 以上,内存不低于 64M,硬盘应有足够的运行空间(约 200M),计算机的 USB 接口应运行正常,并且系统中没有中断冲突的情况。

图象分辨率 800×600 以上,颜色增强 16 位以上。

# 5.1.2 软件要求

本部分使用 Windows 98 第二版(也可使用 Windows 98 以上版本)。计算机运行时,要求关闭屏幕保护程序,关闭 BIOS 中的电源管理程序,以保证"F96PRO 荧光分光光度计数据处理软件包"(简称"F96PRO 软件",下同)能正常运行。

# 5 软件使用的环境要求及安装

# 5.2 "F96PRO软件"的安装

把光盘放入光驱中,计算机会自动安装应用程序。

如无自动安装,则打开 X:\(双击)SETUP.EXE 文件,(应用程序),出现 SETUP 窗口后,点击"NEXT"键,键入姓名和公司名称,再次点击"NEXT"键, 出现安装路径对话框。

若不需要变动,请直接点击"NEXT"键;若要修改路径,点击"Browse"键。 之后出现的将是项目名对话框,默认名称是"F96PRO 荧光分光光度计软件包", 可以直接点击"NEXT"键,或更改项目名,接着确认你上述所有步骤的对话框。

若要修改,按"<Back"键,否则直接点击"NEXT"键,计算机开始读光盘进行程序安装,直至安装完毕后,即可运行程序。

· 注意:所使用的光盘有序列号,必须与相同序列号的仪器连接,不能与其 他序列号机器交叉使用。如交叉使用,软件将无法正常运行。

# 6 软件的使用

# 6.1 使用前的准备

## 6.1.1 F96PRO 主机与计算机的连接

F96PRO 主机通过 USB 通讯电缆与计算机连接,初次连接时计算机会自动 安装 USB 设备驱动,在屏幕右下方有相关提示,请在驱动安装成功完毕后再启 动 F96PRO 软件。

# 6.1.2 联机操作步骤

# 1. 连接 USB 通讯电缆

USB 电缆在仪器端和计算机端均连接,计算机处于开启状态。

# 2. 开启仪器主机。

先开启氙灯电源开关,点燃氙灯后,再开启仪器主机电源,仪器自动检测 联机状态,进入联机操作状态中。

#### 3. 初始化。

/!\

运行"F96PRO 软件",软件自动检测联机状态,进入初始化工作,仪器开始 自检与自校正过程。具体信息参照 2.2.1。

初始化工作后,程序直接进入波长扫描工作模式界面,如图 2-1 所示。

注意:初始化时,请勿将样品放入样品池内。

## 4. 进入相关工作模式。

点击图 2-1 菜单栏"工作模式",可在"波长扫描"、"时间扫描"、"定量分析" 三种工作模式间切换。如图 2-2。

# 5. 联机仪器的关机。

联机状态下关机的正确顺序为先关闭联机软件,再关闭仪器主机电源。

# 如果在联机状态下先关闭主机电源,联机软件将出现通讯故障,这时需启用任务管理器将 F96pc.exe 进程结束,方可再次联机正常工作。



图 2-1 程序直接进入波长扫描工作模式界面

| ❷ 棱光技术   |         |  |  |
|--|---------|--|--|
| 工作模式(型)  | 参数设置(⊻) |  |  |
| 波长扫描( <u>)</u><br>时间扫描( <u>)</u><br>定量分析( <u>)</u> |         |  |  |
| 退出( <u>Z</u> )                                     |         |  |  |

图 2-2 工作模式的切换

# 6 软件的使用

# 6.2 三种工作模式界面

程序进入波长扫描、时间扫描和定量分析三种工作模式的界面。

6.2.1 波长扫描界面

波长扫描是指在选定的激发光源(即激发光波长)条件下,测量荧光强度 随荧光发射波长的变化,也即测绘样品组分的荧光光谱图。

它可用作荧光定量分析方法研究时的测定荧光发射波长选择,也可用于研 究荧光分子在溶液中的荧光发射行为。

波长扫描工作模式的界面见图 2-1。

# 6.2.2 时间扫描界面

时间扫描是指在选定的激发光源(即激发光波长)条件下,用作观察样品 组分在某一荧光发射波长时的荧光强度随时间的变化情况。



图 2-3 进入时间扫描模式的界面

它可用作荧光的动力学分析方法的测量,用于建立荧光定量分析方法的实 验条件研究。也可用于仪器漂移和噪声测量。

时间扫描工作模式的界面见图 2-3。

时间扫描与波长扫描不同之处在于横座标是以时间为单位进行扫描,在"参数设置"、"图谱处理"、"存储处理"等功能及操作,其要求与波长扫描是一样的。

#### 6.2.3 定量分析界面

定量分析是指在选定的激发光源(即激发光波长)和荧光发射波长的条件下, 通过测量待测组分(浓度 *C*)的荧光发射强度(*F*),由公式 *F*=*KC*,求得待测组 分的浓度。式中 *K* 为与测试条件有关的常数,它可在同一测试条件下,由测量 待测组分的一个标准溶液的荧光发射强度计算的到;也可用多个标准溶液的荧光 发射强度,经线性拟合或图解得到。它可用作溶液试样中具有荧光发射的组分含 量测定。

定量分析工作模式的界面见图 2-4。



图 2-4 进入定量分析模式的界面

# 7 波长扫描工作模式操作(接计算机时)

# 7.1 波长扫描工作模式的界面

仪器通过初始化后直接进入波长扫描界面。屏幕上方第一栏为菜单栏,第二 栏有 15 个"图标快捷键"。 屏幕上有波长、荧光值显示窗,以及荧光值与波长的 坐标图。屏幕下方有 5 个"快捷键"。如图 2-5 所示。

| 波长:           | 20  | ) <b>0</b> .0nm  | 荧光值:                          | 5.23   |  |
|---------------|---|--|-------------------------------|--|--|
|               |   | 被长   | 图谱                            |  |  |
| 500           |   |  |                               |  |  |
| 460           |   |  |                               |  | 1.1.1  |
| 440           |   | and so had   |                               | a factor of the second s  | 1  |
| 420           |   | 11 110 110 110 110 110 110 110 110 110   |                               | and and an owned and an owned on   |  |
| 400           |   | information of the second second   | and end and are breaking a    | and  |  |
| 360           |   | of a first and a start of the s |                               |  | And second   |
| 300           | £1.50 + 1.1 1 + 1.0 0 + 1.0 + 1.1 + 1.0 + | 12   |                               |  | 44444444   |
| 340           |   |  |                               |  | 1  |
| 320           |   |  |                               |  | 1-1-1-1-1  |
| 300           |   | 1  |                               |  | 1  |
| 290           |   |  |                               |  | 1 1 1  |
| ¥ 340         |   |  |                               |  | 1 1 1 1 1  |
| 64 270        |   | and and dealers  |                               |  | 1  |
| 200           |   |  |                               |  | 4.001  |
| 180           | Level and the discontinue of  | and and and and and and and and  |                               | . Inder Landred and the  | Sandan Line  |
| 160           | hinder hand hand hand hand hand hand hand hand  | a harden frankriker  | in his harden friderige       | upulan hugu hugu   | Sugar  |
| 140           |   |  |                               | a far ha far ha far ha far ha  | afree free free free free free free free   |
| 120           |   |  |                               |  | and a state of the |
| 100           |   |  |                               |  | alare free frees   |
| 80            |   |  |                               | and have been a state of the st | ATTACA AND ADDRESS OF  |
| 60            |   |  |                               |  |  |
| 40            |   |  |                               |  |  |
| 20            | the second s  |  |                               |  | Sugar,   |
| 200 205 210 2 | 5 220 225 230 235 240   | 245 250 255 260 265 270 275 26   | 0 285 290 295 300 305 310 315 | 320 325 330 335 340 345 350 3  | 255 390 365 370  |
| 1000000000    |   |  | <b>崔朱 (≥=)</b>                |  | 52552525.62  |
| a 11 1- 10    | 14  | *  | 4 11445                       | all de se la   |  |

图 2-5 荧光光谱波长扫描界面

#### 7.1.1 屏幕下方快捷键的功能

"开始扫描"键是启动键。点击后,开始按所设置参数扫描图谱。

"调零"键为当前值调零。作用是扣除本底。

"增益(1档)"键为增益调整,在弹出窗口中选择合适增益档位(1-17), 再点确定即可。

"设定波长"键是用于调节当前波长。主机将自动使当前波长移至所设定 波长。

"图谱参数察看"键是察看当前波长扫描参数。

#### 7.1.2 图标快捷键的功能

将鼠标指针移至图标快捷键上,便显示出图标快捷键的功能。图标依次从 左到右,其功能介绍如下。



# 7.1.3 屏幕上方菜单栏

"工作模式",鼠标左键点击后,在下拉菜单中选择切换工作模式或退出程序。

其它菜单项为:"参数设置"、"图谱处理"、"存储处理"及"显示设置"等项目, 见图 2-5。具体使用和设置方法见第 7-2 节。

# 7 波长扫描工作模式操作(接计算机时)

# 7.2 波长扫描操作

波长扫描可获得荧光光谱,并由荧光光谱确定定量分析的荧光测量波长。

#### 7.2.1 参数设置

(2) 仪器通过初始化后,便直接进入波长扫描界面。在扫描操作前,须先进行 扫描参数的设置。

点击图 2-5 的"参数设置",进入"波长扫描参数设置"界面,见图 2-6-1 到图 2-6-3。

| 波长扫描参数设置   |                   |              |             |     |
|------------|-------------------|--------------|-------------|-----|
| 基本设定 连续扫描  | 设定 缩略图            |              |             |     |
| 波长起点: 200  | .0 nm             | 波长终点:        | 900. 0      | ักส |
| 荧光最小值: 1   |                   | 荧光最大值:       | 100         | 1   |
| 波长间隔: 1    | <b>–</b> nm       | 扫描次数:        | 1           | 1   |
| 扫描速度: 100  | 0 <b>▼</b> rm/mir | n 增益:        | 1 •         | 档   |
| 多曲线显示: 重叠  | ł 🔹               | 绘图方式:        | 实时 <u>-</u> |     |
| 狭缝宽度: 10.0 | 00 <b>rum</b> .   |              |             |     |
|            |                   | <del>ت</del> | 順定 D        | 消   |
| 当前工作状态 待命  |                   |              |             |     |

图 2-6-1 波长扫描参数设置-基本设定页

- 1. 波长起点。指波长扫描起点。
- 2. 波长终点。指波长扫描结束点。
- 3. 荧光最小值。扫描图谱 Y 轴坐标显示的最小值。
- 4. 荧光最大值。扫描图谱 Y 轴坐标显示的最大值。
- 5. 波长间隔。指波长扫描数据间隔。
- 6. 扫描次数。波长扫描重复次数。

7. 扫描速度。下拉选择扫描速度,其数值跟随波长间隔变化自动调整。

8. 增益。选择波长扫描增益档位。

**9. 多曲线显示**。多曲线显示于窗口中的处理方式,重叠为多条图谱同时显示,覆盖为将前次扫描结果覆盖。

**10. 绘图方式。**下拉选择扫描绘图方式,实时为获得数据即显示数据,批量为全谱扫描完后再显示全谱数据。

11. 狭缝宽度。发射单色器带宽,为10nm,不可修改。

| 波长扫描参数设置   | ×  |
|------------|--|
| 基本设定 连续扫描计 | 安定 缩略图   |
| 扫描后等待时间:   | 1.000 s  |
| 图谱自动保存名称:  | 波长连续扫描   |
| 图谱自动保存路径:  | HTML Help Workshop   |
|            | <ul> <li>□ □ □ □ LengGuang</li> <li>□ □ □ P96s荧光分光光度计</li> <li>□ □ □ □ P9600荧光分光光度计</li> <li>□ □ □ □ 荧光图谱</li> <li>□ □ □ SK-2D9F二维定量荧光仪</li> </ul> |
|            | <  |
| -          | 确定 取消  |
| 当前工作状态 待命  |  |

图 2-6-2 波长扫描参数设置-连续扫描设定页

12. 扫描后等待时间。重复波长扫描的时间间隔。

**13. 图谱自动保存名称。**重复波长扫描中自动保存图谱的名称,自动保存时 软件自动在该名称后加入时间标记,以区分不同图谱。

14. 图谱自动保存路径。用于指定自动保存的图谱路径。

| 波长扫描参数设置        | × |
|-----------------|---|
| 基本设定 连续扫描设定 缩略图 |   |
|                 | 1 |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
|                 |   |
| 当前工作状态 待命       | _ |

图 2-6-3 波长扫描参数设置-缩略图页

**15. 预扫描**。按照"波长扫描参数设置-基本设定页"设定的参数执行快速 扫描,获取图谱缩略图,并自动设置合适的Y轴坐标范围。

### 7.2.2 图谱处理

点击图 2-5 的"图谱处理",下拉子菜单, 见图 2-7。

**1. 图谱缩放。**对图谱实行缩放。点击此项 后只需输入新的图谱标尺数据。

也可直接用鼠标拖曳屏幕上的图谱进行放 大处理。方法是:从图谱的左上角至右下角的 方向进行拖曳。若要把放大的图谱恢复,则可 反方向拖曳。

**2. 导数。**对图谱进行求导。进行图谱的 1~4
 阶导数处理,求导间隔的设置必须是采样间隔
 值的 2 倍。

3. 恢复原图谱。可以把图谱还原到原始状态。



#### 41

4. 图谱平滑。对图谱的各点作平均值运算, 使图谱更加光滑。

5. 峰谷检测。用于对图谱进行峰谷值的检测。

(1)点击此项后,出现"输入灵敏度"对话框,输入一个"输入灵敏度"的限值, 为有效的峰谷值,大于限值的峰能检出。例:"输入灵敏度"为 25,对峰值为 50 峰就能检出;若"输入灵敏度"为 60,则对峰值为 50 峰就不能检出。

(2) 再点击子菜单中"峰谷点数据显示",可以显示出峰和谷的值大小。

**6. 四则运算。**点击图 2-7 的"四则运算",进入"通道四则运算"界面,见图 2-8。此计算可作单个通道与常数间的运算,也可作通道间的四则运算。

| 计算通道1; | 计算方式: | 计算通道2: |          |
|--------|-------|--------|----------|
|        | 无一    | 通道0    |          |
| 计算方式:  |       | 计算方式:  |          |
| 无一     |       | 无 🗾    |          |
| 常数:    |       | 常数:    |          |
| 0      |       | 0      |          |
| 范例     |       |        | 22003302 |

#### 图 2-8 通道四则运算界面

**7. 积分运算。**点击此项后,输入"起始波长"和"结束波长"后,再点击"积分"钮,可得到所设置波长范围内荧光的积分值。

8. 峰谷点数据显示。显示图谱的峰谷数据。

9. 数据输出。图谱用数据形式输出,有离散和连续两种方式。

(1)离散数据输出:在列表框中,通过 ctrl 键或 shift 键与鼠标组合选取所需 查看数据的波长值。

(2) 连续数据输出:输入所需查看数据的波长范围。其值也可打印。

10. 打印输出。点击后出现"输入图谱名"对话框,键入图名后(可以用中文),

点击 OK 即可。

/!`

注意:在打印前请先确认打印机安装的情况。

#### 7.2.3 存储处理

点击图 2-5 的"存储处理",下拉子菜单,见图 2-9。

通道选择。共有10个通道(即为存储窗口)
 可以供使用。程序最多可以分别打开10个波长扫描
 或时间扫描的存储窗口供用户使用。

 存储处理()
 显示设置(2)

 通道选择(3)
 )

 读入图谱(2)

 該入图谱(3)
 )

 图谱传输(1)

 存储图谱(0)

 存储图谱(0)

 存储图谱(0)

 存储图谱(0)

 存留谱为(0)

 <t

2-9 存储处理子菜单

/! 注意:10个通道不能同时运行,只能运行在当前通道。定量分析、时间扫描和波长扫描共用10个通道。

**2. 读入图谱。**该图谱将在当前的通道中显示,鼠标指针放在波长扫描窗口 上按右键即可见当前的通道号。

3. 图谱传输。把一个通道的图谱复制到另一个通道中。

4. 存储图谱。将所选图谱及所取文件名保存至硬盘中。

5. 存图谱为。图谱存盘,出现对话框后输入另一个文件名,点击"保存"。

6. 图谱比较。点击后出现"通道比较选择",例把"0"通道及"1"通道作比较时,先点击"0号通道",再按住 Ctrl 键,同时点击"1号通道",这时"0号通道"和"1号通道"都变成了深蓝色,然后按确定键即可。

7. 传送数据到 Excel。将图谱数据传送到 Excel 表格中。

8. 清除通道。清除当前通道上的图谱。

9. 图谱参数察看。点击后会显示出当前通道所显示的图谱的参数。

**10. 查找零级光。**点击后仪器利用光栅零级光进行发射单色器的波长校正。 **7.2.4 显示设置** 

点击图 2-5 的"显示设置",下拉子菜单,见图 2-10。

1. 当前绘画颜色。改变当前图谱颜色。

2. 当前背景颜色。改变工作窗口的背景颜色。

**3. 设置窗口背景。**改变扫描窗口的背 景颜色。

**4. 设置窗口网格。**改变扫描窗口的 网格类型。

5. 将窗口导出为:将当前图谱导出为 BMP 格式,

可粘贴至 WORD 文档编辑。

| 显示设置(Z) |      |
|---------|------|
| 当前绘画颜色  | ≞(V) |
| 当前背景颜的  | ≞(W) |
| 设置窗口背台  | 景(X) |
| 设置窗口网根  | 客(Y) |
|         | 为(Z) |
|         |      |

2-10 显示设置子菜单

# 8 时间扫描工作模式操作(接计算机时)

# 8.1 时间扫描工作模式的界面及操作

时间扫描与波长扫描不同之处,在于 X 轴是以时间为单位进行扫描,即可以用作观察在固定发射波长下样品的荧光强度随时间而变化的情况。

#### 8.1.1 时间扫描工作模式的界面

点击图 2-1 菜单栏"工作模式",再点击下拉子菜单的"时间扫描",即可从波 长扫描界面切换为时间扫描界面。见图 2-3。

除 X 轴以时间单位(s)表示外,时间扫描界面其它表达与波长扫描界面一样,快捷键的功能也一样。详见第 7.1 节。

# 8.1.2 参数设置

点击图 2-3 的"参数设置",进入"时间扫描参数设置"界面,见图 2-11-1 到图 2-11-2。

| 扫描波长:  | 200   | าาก | 扫描时间:  | 10  | s  |
|--------|-------|-----|--------|-----|----|
| 荧光最小值: | 1     | _   | 荧光最大值: | 100 |    |
| 积分时间:  | 2     | ▼ s | 扫描次数:  | 1   |    |
| 更新间隔:  | 0.1   | s   | 增益:    | 1   | 一档 |
| 最大采样数: | 12000 |     | 多曲线显示: | 重叠  | •  |
|        |       |     |        |     |    |

图 2-11-1 时间扫描参数设置-基本设定

1. 扫描波长。指执行时间扫描的发射波长。

2. 扫描时间。指时间扫描总时间。

3. 荧光最小值。扫描图谱 Y 轴坐标显示的最小值。

4. 荧光最大值。扫描图谱 Y 轴坐标显示的最大值。

5. 积分时间。指时间扫描时的信号积分时间。

6. 扫描次数。指执行时间扫描的重复次数。

7. 更新间隔。指时间扫描时的数据更新间隔,为0.1 秒更新一次。

8. 增益。指时间扫描时的信号增益档位。

9. 最大采样数。指时间扫描期间最大可记录的数据量。

**10. 多曲线显示。**多曲线显示于窗口中的处理方式,重叠为多条图谱同时显示,覆盖为将前次扫描结果覆盖。

| 时间扫描参数设置   |   |    |
|------------|---|----|
| 基本设定 连续扫描设 | 鼓定  |    |
| 扫描后等待时间:   | 0 s                                       |    |
| 图谱自动保存名称:  | 时间连续扫描                                    |    |
| 图谱自动保存路径:  | H C Hewlett-Packard<br>HTML Help Workshop |    |
|            | E ☐ JavaSoft<br>E ☐ Kingsoft              | 2  |
|            | F96₅荧光分光光度计<br>□                          | ~  |
|            |   |    |
|            | 确定  | 取消 |
|            |   |    |

图 2-11-2 时间扫描参数设置-连续扫描设定页

11. 扫描后等待时间。重复时间扫描的时间间隔。

**12. 图谱自动保存名称。**重复时间扫描中自动保存图谱的名称,自动保存时 软件自动在该名称后加入时间标记,以区分不同图谱。

13. 图谱自动保存路径。用于指定自动保存的图谱路径。

# 8.1.3 图谱处理

其功能及操作与波长扫描工作模式中图谱处理相同。详见第7.2.2节。

# 8.1.4 存储处理

其功能及操作与波长扫描工作模式中存储处理相同。详见第7.2.3节。

# 8.1.5 显示设置

其功能及操作与波长扫描工作模式中显示设置相同。详见第7.2.4节。

# 9 定量分析工作模式操作(接计算机时)

# 9.1 定量分析工作模式的界面

点击屏幕左上方"工作模式",由下拉菜单切换到定量分析工作模式界面,见 图 2-12 所示。

| 工作模式(型)         | 参数 | 设置(⊻) | 图谱处理(X) |
|-----------------|----|-------|---------|
| 波长扫描(W          | 9  |       | 😿 🖻 📶   |
| 时间扫描()          | )  |       |         |
| 定量分析( <u>Y</u>  | 0  | -     |         |
| 退出 ( <u>Z</u> ) |    |       |         |

图 2-12 进入定量分析工作模式

定量分析界面的屏幕上方第一栏为菜单栏,第二栏为"图标快捷键"。 屏幕 上有当前波长、荧光值显示窗,以及标样设置和样品测定显示框。屏幕下方有 5 个"快捷键"。如图 2-13 所示。

| 山   | 前波长: 200.0 ==      |     |          |    |     | 荧    | 光值:          | 5.23       |     |     |    |
|-----|--------------------|-----|----------|----|-----|------|--------------|------------|-----|-----|----|
| 11年 | #20:               |     |          |    |     | 未知   | 祥品;          |            |     |     |    |
| 编号  | 理晶名称               | 梯度  | 荧光值      | 1  |     | 網号   | 样晶名称         |            | 荧光值 | 体度  | 0  |
| 100 |                    |     |          | 19 |     | 1001 |              |            |     |     | 18 |
| 200 |                    |     |          |    |     | 200  |              |            |     | _   |    |
| 003 |                    | -   | _        |    |     | 003  |              |            | -   | _   |    |
| 004 |                    |     | -        |    |     | 004  | -            |            | -   |     |    |
| 005 | -                  |     |          |    |     | ous  |              |            |     | _   |    |
| 000 |                    | -   |          |    |     | 007  |              |            | -   |     |    |
| 008 |                    | -   |          |    |     | 008  | -            |            | -   |     |    |
| 009 |                    |     | -        |    |     | 009  |              |            | -   | _   |    |
| 010 | -                  |     | -        |    |     | 010  |              |            | -   |     |    |
| 011 |                    |     |          |    |     | 011  |              |            |     |     |    |
| 012 |                    |     |          |    |     | 012  |              |            |     |     |    |
| 013 |                    |     |          |    |     | 015  |              |            |     |     |    |
| 014 |                    |     |          |    |     | 014  |              |            |     |     |    |
| 015 |                    |     |          |    |     | 015  | -            |            |     |     |    |
| 016 |                    |     |          | 1  |     | 016  |              |            |     |     | -  |
| DIT |                    |     |          | ×  |     | 017  |              |            |     |     | M  |
| 展长  | ŧ                  |     |          |    |     | -127 | +            |            |     |     |    |
|     | 类型:标准样品            |     |          |    |     | 222  | 英型           | : 未知样品     |     |     |    |
|     | 浓度单位: ug/1         |     |          |    |     |      | 深度单位         | : ur/1     |     |     |    |
|     | 101日 11日           |     |          |    |     |      | 10 23        | . 1 25     |     |     |    |
|     | all think LE . DOD |     |          |    |     |      | 100 cm 140 L |            |     |     |    |
|     | MAER 101 200 10    |     |          |    |     |      | 09,42,49,75  | 12 200 fat |     |     |    |
| 4   | 40.44 is 1         | 样品测 | <b>T</b> |    | # 2 |      | 18           | 盖 (148)    |     | 282 | t. |

图 2-13 定量分析界面的快捷键

### 9.1.1 屏幕下方快捷键的功能

"标样设置"快捷键用于设置标样。点击后,出现"标样设定"对话框。详见图 2-16。

"样品测定"快捷键,是在测定样品操作后,点击该键,将测得样品的荧光

值和相应的浓度值在"样品测定显示框"中显现出来。

"调零"快捷键,为当前值调零。作用是扣除本底。

"增益"快捷键,为增益调整,在弹出窗口中选择合适增益档位(1-17),再 点确定即可。

"设定波长"快捷键,是用于调节屏幕上方当前波长显示窗内的当前波长 值。点击"设定波长"快捷键,主机将自动使当前波长移至已设定波长值。

#### 9.1.2 图标快捷键的功能

将鼠标指针移至图标快捷键上,便显示出图标快捷键的功能。图标依次从 左到右,其功能介绍如下。

🖀 --- "定量参数设置" 键。

一"工作曲线系数设置"键。指直接输入系数得出工作曲线方程。(只有在系数输入法方式下才能使用)

🚵 --- "待定系数法" 键。指通过测试标准样品得出工作曲线方程。

**驽---** "系数输入法" 键。指直接输入系数得出工作曲线方程。

❷---- "读入图谱" 键。暂未使用。

▶ "保存图谱"键。暂未使用。

♀---"工作曲线建立" 键。指建立标准工作曲线方程并查看曲线图谱。

❷----"工作曲线打印" 键。指打印出工作曲线图谱。

▶ "打印标样数据" 键。指打印标样数据。

₿--- "打印样品数据" 键。指打印样品数据。

▶ --- "读入定量文件" 键。指读入以前保存的定量文件。

🖳 --- "保存定量文件" 键。指保存当前定量文件。

😹 --- "清除标样数据" 键。指清除所有标样数据。

💁---- "清除样品数据" 键。指清除所有样品数据

<u>]</u>---"退出定量分析" 键。

### 9.1.3 屏幕上方菜单栏

屏幕上方菜单设有"分析方式"、"参数设置"、"曲线类型"、"数据 处理"等栏目。

1. 分析方式

暂未使用。

2. 参数设置

点击"参数设置",在弹出窗口中可设置样品起始编号和浓度单位。

3. 曲线类型

点击"曲线类型",下拉子菜单,设有以下项目("✓"为默认项):

(1) 一次曲线。系列标准样品浓度和相应的荧光强度拟合为线性方程。

(2) 二次曲线。系列标准样品浓度和相应的荧光强度拟合为二次曲线方程。

(3) 三次曲线。系列标准样品浓度和相应的荧光强度拟合为三次曲线方程。

(4) 待定系数法。通过标准样品的测定而建立工作曲线方程式的方法称为待 定系数法。详见第 9.2.4~9.2.6 节。

(5) 系数输入法。对于已知标准样品工作曲线方程的定量测定,不需要测量标准样品。可点击图标快捷键"工作曲线系数设置"键,直接输入系数"K0"和"K1",建立工作曲线方程式。系数输入法做样品的方法如下:

①点击"曲线类型"菜单中的"系数输入法"。

②点击工具栏中"工作曲线系数设置" 键。出现"一次函数系数输入"对话框,分别输入框中系数"K0"和系数"K1"后,按"确认"(在一次曲线中"K0"代表截距,"K1"代表斜率)。工作曲线方程已建立,可用于样品测定。

4. 数据处理

点击"数据处理",下拉子菜单,见图 2-14,设有以下项目。

(1) 工作曲线建立。建立工作曲线,查看工作 曲线图谱。

(2) 工作曲线打印。打印工作曲线。

/! 注意: 请先确认打印机在 Windows 中的设置情况。

(3) 工作曲线另存为。另存当前工作曲线并重 新命名。

(4) 删除单个样品数据。删除样品栏中选中的 单个样品数据。

(5) 清除标样数据。把标样栏中的数据全部清除。

(6) 打印标样数据。打印出标样数据。

(7) 清除样品数据。清除样品栏中的全部数据。

| 工作曲线。         | 圭立 (P)            |
|---------------|-------------------|
| 工作曲线打         | <b>汀印(Q)</b>      |
| 工作曲线员         | 另存为(&)            |
| 删除单个神         | 羊品数据 ( <u>S</u> ) |
| <b>清除标样</b>   | 数据(T)             |
| 打印标样数         | 数据(U)             |
| <b>清除样品</b> 数 | 数据(V)             |
| 打印样品数         | 数据(W)             |
| 读入定量了         | 文件(12)            |
| 保存定量了         | 文件 ( <u>Y</u> )   |
| 将定量文件         | 牛保存为(Z)           |
| 传送数据到         | Excel (E)         |

#### 图 2-14 数据处理子菜单

50

(8) 打印样品数据。打印出样品栏中的数据。

(9) 读入定量文件。将以前保存的定量文件从硬盘中取出。

/! 此功能常用作要利用已往的标准溶液数据,建立工作曲线,以便对同类样品作直接测试。

①点击数据处理中的"工作曲线建立"。即可见到工作曲线、方程和相关系数。

②关闭窗口后,把样品放入光路中,点击样品测定,样品浓度就显示在屏 幕上了。

(10) 保存定量文件。把定量文件中的数据保存到硬盘中,点击后出现的对 话框中输入文件名后,按保存即可。

(11) 将定量文件保存为。把定量文件中的数据保存到硬盘中,并重新命名 新的文件名,按保存即可。

(12) 传送数据到 Excel。将定量文件中的数据传送到 Excel 表。

# 9 定量分析工作模式操作(接计算机时)

# 9.2 定量分析操作

定量分析界面见图 2-15。左边为标样设置显示框,右边样品测定显示框。

| 出1<br>6.准 | 听放长: 400.0 *   |         |     |                    | 荧光值: 130.13<br>未知祥品:         |     |      |   |
|-----------|----------------|---------|-----|--------------------|------------------------------|-----|------|---|
| 南号        | 神晶名物           | 体度      | 荧光道 | -                  | 備专律品名称                       | 荧光值 | 律度   | ~ |
| 01        | 1              | 10.0000 | 1   |                    | 001                          |     |      |   |
| 02        | 14             | 20.0000 |     |                    | 200                          |     |      |   |
| 03        | 3              | 30.0000 |     |                    | 003                          |     |      |   |
| 04        | 4              | 40.0000 |     | \                  | 004                          |     |      |   |
| 65        | 5              | 50.0000 | -   | $\mathbf{\Lambda}$ | 035                          | -   | -    |   |
| 06        |                |         | -   | - \                | 006                          | _   | _    |   |
| 01        |                |         |     | - \                | 001                          |     | _    |   |
| 00        |                |         | -   | - \                | 006                          | -   |      |   |
| 00        |                |         | -   |                    | 0.00                         |     |      |   |
| di        |                |         |     |                    | 五十十十 测量相                     |     |      |   |
| 12        |                |         |     |                    | <b>以</b> 可此 <u>火</u> , 侧里相 - |     |      |   |
| 13        |                |         |     |                    | 应行标样带来值                      |     |      |   |
| 14        | -              |         |     |                    | 四旬你件火儿但                      |     |      |   |
| 115       |                |         |     |                    | 012                          |     |      |   |
| 16        |                |         |     |                    | 016                          |     |      |   |
| UT.       |                |         |     | *                  | 017                          |     |      | 4 |
| 11 A      | +              |         |     | -                  | 一種件                          |     |      |   |
| 2         | 类型: 标准样品       |         |     |                    | 类型:未知样品                      | 5   |      |   |
|           | 滤度单位: ug/1     |         |     |                    | 波度单位:um/1                    |     |      |   |
|           | 19 13 . A 14   |         |     |                    | 博兰, 4 均                      |     |      |   |
|           | PRIME + For    |         |     |                    | +R 311 - 4 - 74              |     |      |   |
|           | 测定版长: 400.0 ma |         |     |                    | 間定彼长: 400.0 m                | n - |      |   |
|           | 标件设置           | 样品测     | ž.  |                    | 调 孝 增益(4補)                   |     | 设定波长 |   |

图 2-15 定量分析界面

#### 9.2.1 设置测量的荧光波长

点击屏幕下方快捷键"设定波长",输入测量样品的荧光波长值后,按"OK"。

# 9.2.2 增益设置

增益共 1~17 八档,打开软件后的初始值是 1。一般用浓度最高的溶液来调 节增益。通过调节使得荧光值在 300~400 范围内的稳定值。

## 9.2.3 调零

放入空白溶液,鼠标点击"调零"快捷键(见图 2-15),此时可见定量分析 界面右上方的荧光值变为 0.0(±0.1)。

# 9.2.4 标样设置

点击定量分析界面左下方的"标样设置"快击键后,出现"标样设定"对话框, 图 2-16。"单位:"栏目可输入浓度单位,如共有 5 个标样其浓度是:1 号样品 10, 2 号样品浓度是 20,3 号样品浓度是 30.....。则在"标样名"中键入"1","浓度" 中输入"10",再按"添加"键,输入数据即在下边框内显示。重复上面过程 5 次, 直到把 5 个样品全部输入。用鼠标单击选中显示框中数据时,可利用"插入"和 "删除"按钮进行修改工作。输入完毕后按"完成"。数据将在定量分析界面"标 样设置显示框"中显示,见图 2-15。

/! 注意:①标样参数的设定必须浓度从小到大。②标样名(包括样品名)可 设定为数字、英文字母及汉字。

| 标样名: 5      |                | 单位: ug/1      |     |
|-------------|----------------|---------------|-----|
| 浓度:  50     | )              | -             |     |
| 标样名         | 浓度             | A>            | 200 |
| 1           | 10             |               | 7   |
| 3<br>4<br>5 | 30<br>40<br>50 | _ <del></del> | 除   |
|             |                |               | 成   |
|             |                | A.            | 消   |

图 2-16 标样设定窗口

#### 9.2.5 标样的测定

在定量分析界面"标准样品"栏中,分别列出 5 行已输入的标样数值(见图 2-15)。测量时先把 1 号样品放入样品室中,双击 1 号样品这一行,软件下方会显示正在测试,稍等几秒钟后,荧光值(F)就会显出来。重复上述过程,直到测得所有标样的荧光值。

#### 9.2.6 待定系数法处理标样数据

点击菜单栏中的"曲线类型",在下拉子菜中选择你想要的曲线类型(默认为 一次曲线)。

再点击菜单栏中的"数据处理",在下拉子菜中选择"工作曲线的建立",屏幕 上出现"工作曲线窗口",并绘出了标样的工作曲线,其下方有工作曲线方程和相 关系数。

如上述通过标准样品的测定而建立工作曲线方程式的方法称为待定系数

# 9 定量分析工作模式操作(接计算机时)

法。

当工作曲线方程已知时,可选择"系数输入法",系数输入法做样品的方法见 第 9.1.3 节。

# 9.2.7 样品测定

把样品放入样品池光路中,点击屏幕下方"样品测定"快捷键,样品的荧光值 及相应的浓度值在样品测定栏中显现。

# 9.2.8 样品名设定

鼠标单击"未知样品"栏中"样品名称"列的某一行,即可对选中的样品 编辑名称。

# 附录

# 微软 Excel 2000 软件处理数据

用 Excel 2000 软件处理荧光光度法实验数据。

启动微软的 Excel 2000 软件,在计算机显示屏上该软件界面。以多点标样 法实验数据为例。

# 1. 输入实验数据

将实验记录数据输入 Excel 的 Sheet1。

| 编号                | <b>B</b> 0 | B1    | B2    | В3    | B4    | B5    |
|-------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 核黄素溶液浓度<br>(g/mL) | 0.000      | 0.020 | 0.040 | 0.060 | 0.080 | 0.100 |
| 荧光强度              | 0.0        | 9.1   | 17.8  | 26.9  | 35.4  | 43.6  |

在 A1 单元格输入浓度 "c/ (g/mL)",在 A2 单元格输入"荧光强度",将 核黄素溶液浓度数据输入 A2 到 A7 号单元格,将对应的吸光度数据输入 B2 到 B7 号单元格。调整数据格式,居中。输入后如图 1 所示。

| <b>X</b> II | icrosoft I | Excel - B | ookl      |
|-------------|------------|-----------|-----------|
| :8)         | 文件(2) 编    | 辑(E) 视图   | (V) 插入(I) |
| 1           | 😂 🖬 🖪 i    |           | 🏭 🖪 •     |
|             | C10        | •         | fx        |
|             | A          | В         | C         |
| 1           | c/(g/mL)   | 荧光强度      |           |
| 2           | 0          | 0         |           |
| 3           | 0.02       | 9.1       |           |
| 4           | 0.04       | 17.8      |           |
| 5           | 0.06       | 26.9      |           |
| 6           | 0.08       | 35.4      | 1         |
| 7           | 0.1        | 43.6      |           |
| 8           |            |           |           |
| 9           |            |           |           |
| 10          |            |           |           |

### 图1 输入浓度及荧光强度数据后屏幕显示

2. 进入图表向导系统

(1) 预览生成图形。点击 Excel 面版上的"图表向导"钮,进入"图表向导

4-步骤之 1",在"标准类型"页的"图表类型"中选择"XY 散点图",在子图表类型中选择"平滑线散点图",点击"按下不放可查看示例"钮,预览要生成的图形及初始坐标设定。

(2)完善生成图形。点击"下一步"钮,进入"图表向导 4-步骤之 2",点击"系列"页标签。点击"下一步"钮,进入"图表向导 4-步骤之 3",在"标题"页的"图表标题"栏中输入"标准曲线",在"数值(X)轴"栏中输入"c/(g/mL)",在"数值(Y)轴"栏中输入"F"。切换到"网格线"页,在前三个复选框内打上"√"号。切换到"图例"页,取消"显示图例"的"√"号。

(3)图形插入。点击"下一步"钮,进入"图表向导 4-步骤之 4",选择图形的插入位置。

3. 线性回归处理数据

从 Excel 的菜单上选择"图表(C)"→"添加趋势线(R)…",选择"线性回归",切换到"选项"页,选中"显示公式"和"显示 R 平方值"。按"确定"钮。





(y=437.14x+0.2762 为拟合方程,相关系数 R<sup>2</sup>=0.9997。)

# 4. 未知样测定

在相同条件下测量未知液的荧光强度,对照上面的标准曲线,或代入拟合 方程,可得出未知样中核黄素的浓度。

# 上海棱光技术有限公司

地址:上海市打浦路 350 号 电话: 021-63025595 021-63032547 服务热线: 021-63033931 邮编: 200023 传真: 021-63011573 .\_\_\_\_