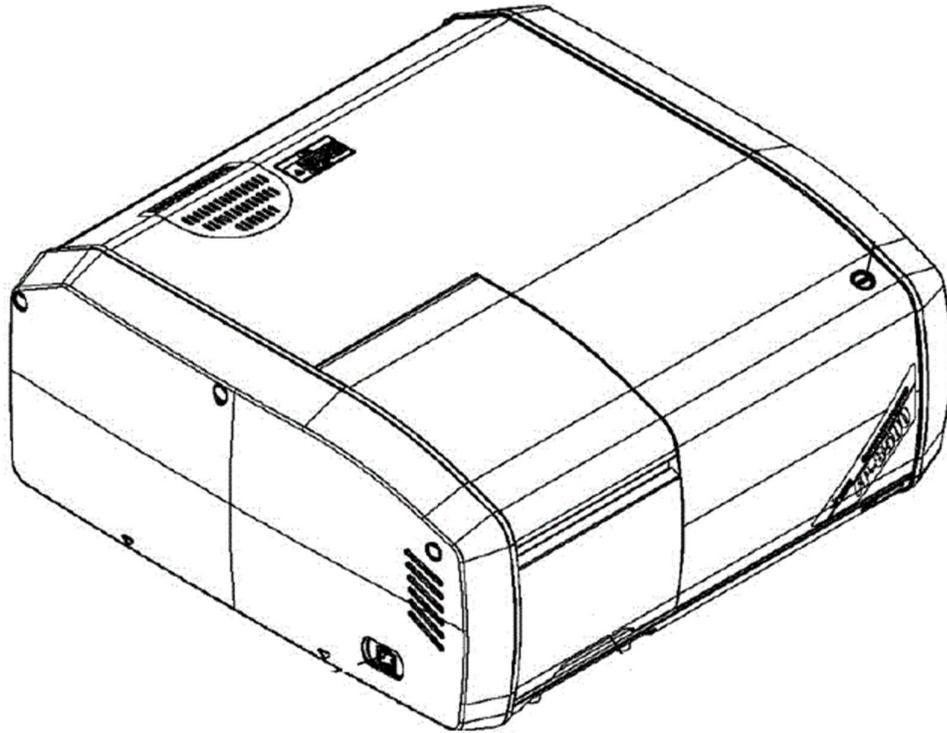


# MODEL FP-8350

## 螢光光譜儀中文操作手冊



**JASCO**



**尚偉股份有限公司**  
**SUNWAY SCIENTIFIC CORPORATION**

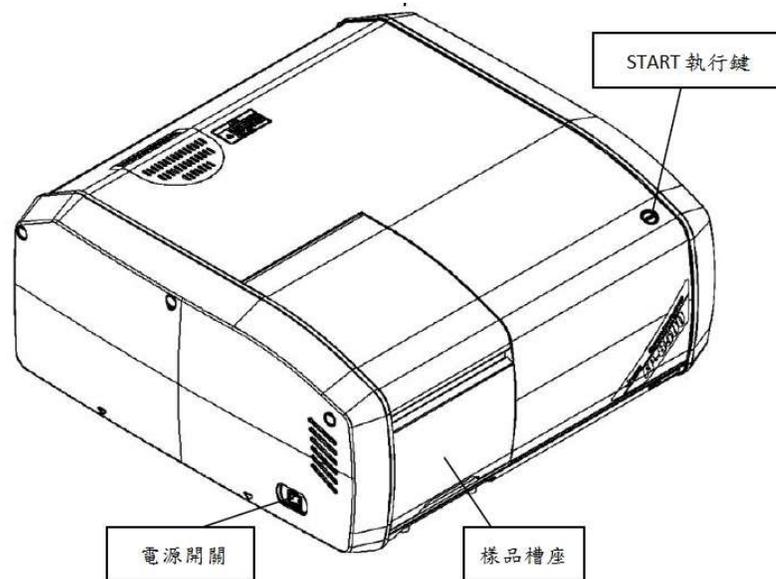
# 目 錄

<b>1. 開機/關機程序 (Start up/Shut down)</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1 開機程序</b> .....	<b>4</b>
<b>1.2 關機程序</b> .....	<b>5</b>
<b>2. 圖譜測量(Spectrum Measurement)</b> .....	<b>6</b>
<b>3. 時間掃描(Time Course Measurement)</b> .....	<b>8</b>
<b>4. 固定波長(Fixed Wavelength Measurement)</b> .....	<b>10</b>
<b>5. 螢光強度計(FP Intensity Monitor)</b> .....	<b>12</b>
<b>6. 定量分析(Quantitative Analysis)</b> .....	<b>13</b>
<b>7. 3D 螢光測量(3D Fluorescence Measurement)</b> .....	<b>18</b>
<b>8. 圖譜分析(Spectra Analysis)</b> .....	<b>19</b>
<b>9. 3D 圖譜分析(3D Spectrum Analysis)</b> .....	<b>22</b>
<b>9.1 3D 圖譜分析</b> .....	<b>22</b>
<b>9.2 Em、Ex 最佳化搜尋</b> .....	<b>23</b>

## 1. 開機/關機程序 (Start up/Shut down)

### 1.1 開機程序

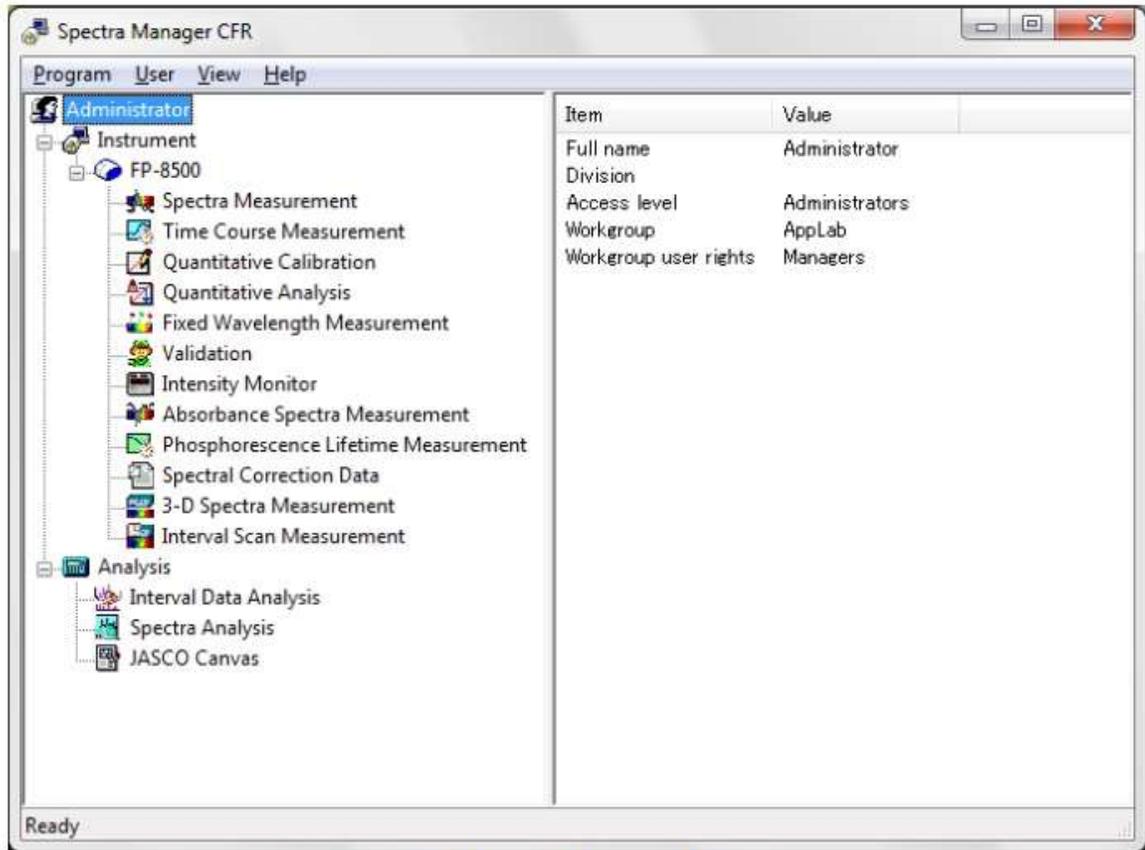
FP-8350 之電源開關位於儀器的左方，打開電源後，儀器面版上方之 START 執行鍵指示燈會點亮



於電腦之開始功能表中，選取程式集 » JASCO » Spectra Manager  
或桌面捷徑來啟動光譜儀的控制軟體



於 Spectra Manager 之功能表中任一測量程式，啟動電腦與主機的連線，如連線正常，螢幕會顯示 **Initializing**，表示主機正在啟動，當 **Spectra Manager** 左下方顯示 **Idle**，表示主機已啟動且處於待命狀態。



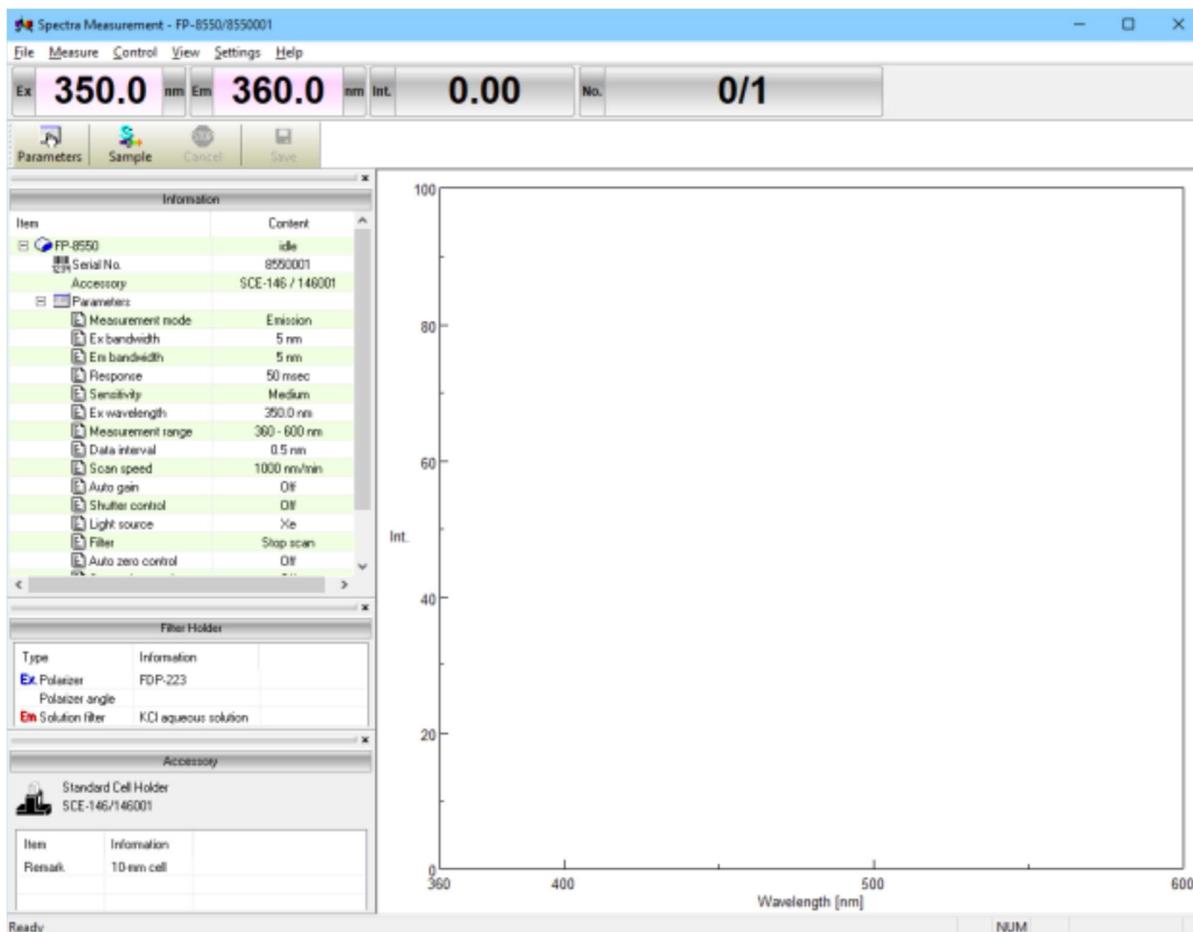
Spectra Manager 視窗分為左右二部份，左邊為功能視窗，又分成上下兩部分，上方為測量功能列表，下方為分析功能列表。

## 1.2 關機程序

關閉 Spectra Manager 之所有功能視窗，關閉 Spectra Manager 中心程式，關閉電腦與主機的連線，接著將 FP 儀器的電源關閉即可。

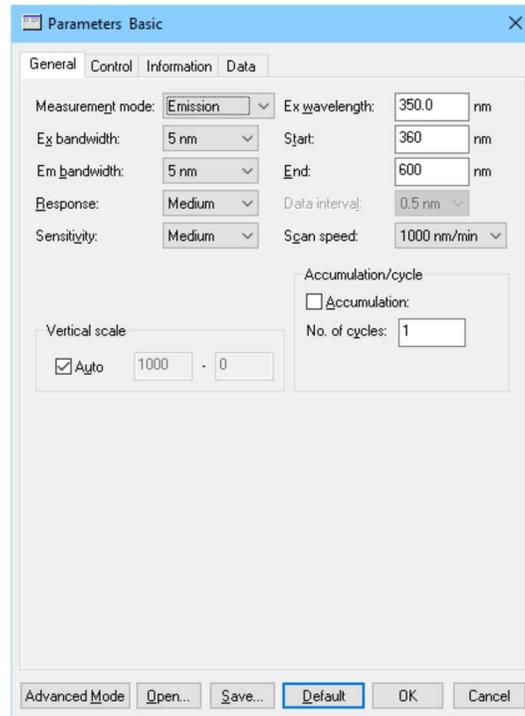
## 2. 圖譜測量(Spectrum Measurement)

於 Spectra Manager 之 **中心程式** 視窗中選取 **Spectrum Measurement**，進入圖譜掃描畫面



首先需設定圖譜掃描之各項參數，於功能表中選取 **Measurement** » **Parameters**

## General



**Measurement Mode** 測量模式：Emission、Excitation、Synchronous、Ex single、Em single、Ex monitor

**Excitation/Emission Band Width** 光譜頻寬：FP-8250/8350: 1/ 2.5/ 5/ 10/ 20 nm；  
FP-8550: 1/ 2.5/ 5/ 10/ 20/ L5/ L10nm；FP-8650 Ex: 1/ 2.5/ 5/ 10/ 20/ L5/ L10/ L20 nm；  
FP-8650 Em: 2, 5, 10, 20, 40, L10, L20 nm

**Response** 感應速率：Fast, Medium, Slow; 10, 20, 50 msec, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 8 sec

**Sensitivity** 光電倍增管電壓轉換設定值：Auto, Very low, Low, Medium, High, Manual

**HT voltage** 光電倍增管電壓設定：Sensitivity 選擇[Manual]時可設定: 0 ~ 1000 V

**Ex wavelength** 激發波長：測量模式選擇 Emission 可設定 FP-8250: 200 ~ 750 nm, 0 nm;  
FP-8350 200 ~ 750 nm (200 ~ 900 nm), 0 nm; FP-8550/8650: 200 ~ 850 nm, 0 nm

**Em wavelength** 放射波長：測量模式選擇 Excitation 可設定 FP-8250: 200 ~ 750 nm, 0 nm;  
FP-8350 200 ~ 750 nm (200 ~ 900 nm), 0 nm; FP-8550/8650 200 ~ 850 nm, 0 nm

**Delta wavelength** Ex 與 Em 波長差：測量模式選擇 Synchronous 可設定，-10.0 ~ 500.0

nm

**Start** : 掃描起始波長 FP-8250: 200 ~ 750 nm, 0 nm;

FP-8350 200 ~ 750 nm (200 ~ 900 nm), 0 nm; FP-8550/8650 200 ~ 850 nm, 0 nm

**End** : 掃描終點波長 FP-8250: 200 ~ 750 nm, 0 nm;

FP-8350 200 ~ 750 nm (200 ~ 900 nm), 0 nm; FP-8550/8650 200 ~ 850 nm, 0 nm

**Data interval** 取點的間隔 : FP-8250/8350 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 nm;

FP-8550/FP-8650/8750 (Ex/Ex single) 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 nm;

FP-8650 (Em/Em single) 0.2, 0.4, 1, 2, 4, 10, 20 nm

**Scanning Speed** 掃描速度 :

FP-8250/8350: 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000, 20000  
nm/min.

FP-8550/8650(Ex/Ex single) 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000,  
10000, 20000, 60000 nm/min

FP-8650 (Em/Emsingle) 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000,  
20000, 60000, 120000 nm/min

**Accumulation**: 圖譜為多次掃描的平均

**No. of Cycle** 重覆測量次數 : 1~999

**Cycle Time** 測量間隔時間 : 0~999 sec (重覆測量二次以上才需設定)

**OK** : 接受目前參數設定，進行測量畫面

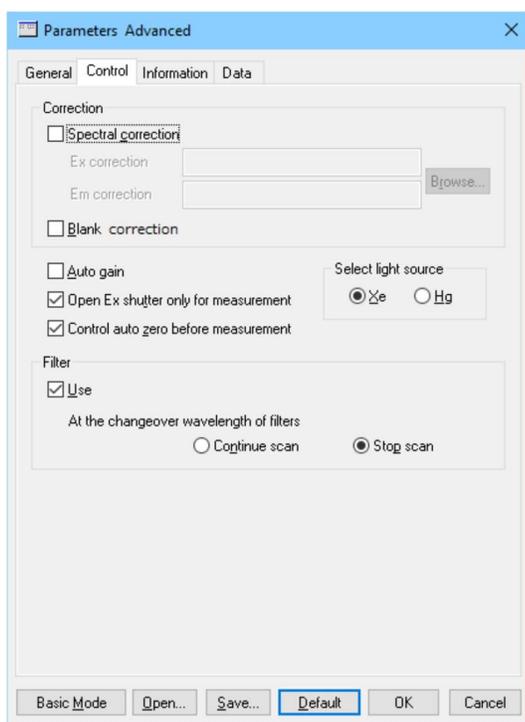
**Cancel** : 取消參數設定功能

**Open** : 開啟以前儲存之參數檔

**Save** : 儲存目前設定之參數成參數檔以利將來使用

**Default** : 回復出廠設定之參數值

## Control



**Spectral correction**：圖譜校正參數

**Blank correction**：選擇測量空白光譜以進行空白校正。

**Auto gain**：自動縮放圖譜倍率

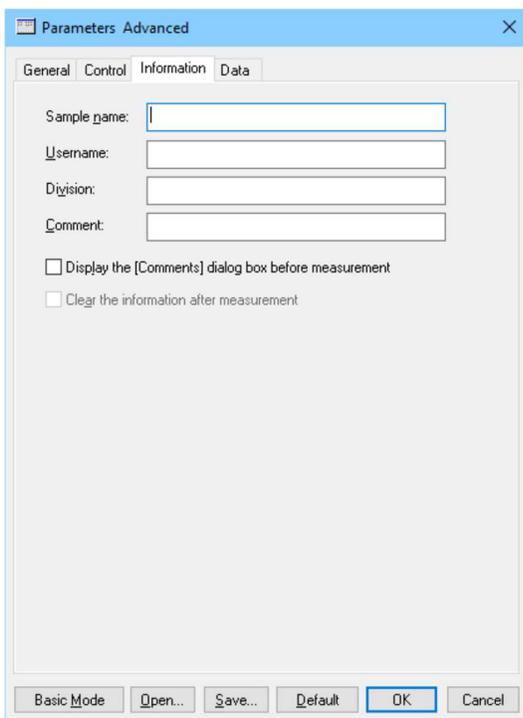
**Open Ex shutter only for measurement**：自動開關遮光柵欄

**Control auto zero before measurement**：測量樣品前會關閉 Ex 和 Em 快門並將光度值調整為零。

**Select light source**：選擇光源

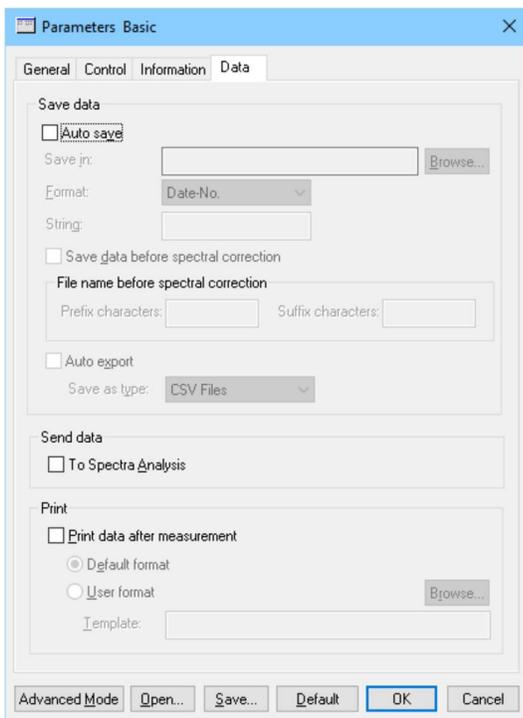
**Filter**：選擇濾光片切換時的測量模式

## Information



可輸入樣品名稱及操作者等資料, 若每個樣品都須做修改, 請勾選下方選項

## Data

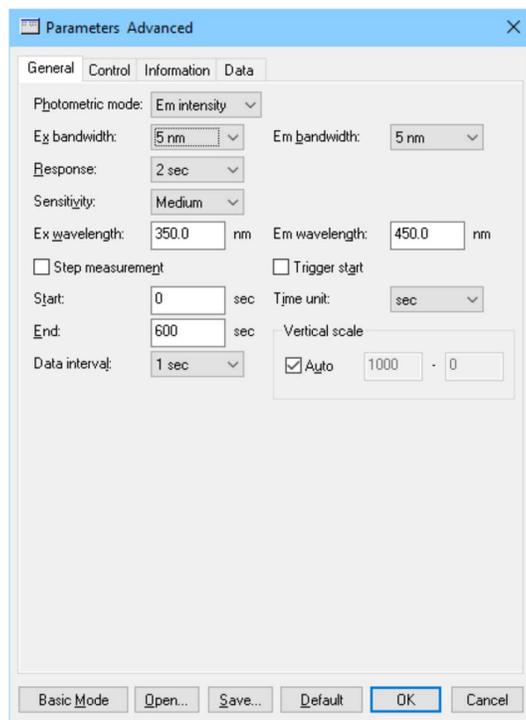


若欲將掃描後之圖譜直接存檔, 可設定 **Auto Save** 功能, 並指定儲存檔名及路徑

參數設定完成後, 於功能表中選取 **Control** » **Autozero**, 將訊號歸零, 再將待測樣品放入主機的樣品槽中, 按下 **Start** 即可開始掃描圖譜。

### 3. 時間掃描(Time Course Measurement)

功能類似圖譜掃描，但是所得的圖譜為強度(縱軸)對時間(橫軸)。多用來測量樣品的反應速率或進行動力學分析；其參數設定及測量畫面如下所示：



**Measurement Mode** 測量模式：Em intensity, Em single, Ex monitor

**Excitation/Emission Band Width** 光譜頻寬：FP-8250/8350: 1/ 2.5/ 5/ 10/ 20 nm；  
FP-8550: 1/ 2.5/ 5/ 10/ 20/ L5/ L10nm；FP-8650 Ex: 1/ 2.5/ 5/ 10/ 20/ L5/ L10/ L20 nm；  
FP-8650 Em: 2, 5, 10, 20, 40, L10, L20 nm

**Response** 感應速率：Fast, Medium, Slow; 10, 20, 50 msec, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 8 sec

**Sensitivity** 光電倍增管電壓轉換設定值：Auto, Very low, Low, Medium, High, Manual

**HT voltage** 光電倍增管電壓設定：Sensitivity 選擇[Manual]時可設定: 0 ~ 1000 V

**Ex wavelength** 激發波長：FP-8250: 200 ~ 750 nm, 0 nm；  
FP-8350 200 ~ 750 nm (200 ~ 900 nm), 0 nm；FP-8550/8650: 200 ~ 850 nm, 0 nm

**Em wavelength** 放射波長：FP-8250: 200 ~ 750 nm, 0 nm；  
FP-8350 200 ~ 750 nm (200 ~ 900 nm), 0 nm；FP-8550/8650 200 ~ 850 nm, 0 nm

**Start**：掃描起始時間: -10 ~ 0 sec

**End**：掃描終點時間

時間單位	Data interval	輸入範圍
msec		1 ~ 8000 倍的 [Data interval]設定
sec	≤0.5 sec	1 ~ 10000 倍的 [Data interval]設定
min	≥1.0 sec	1 ~ 100000 倍的 [Data interval]設定

**Data interval** 取點的間隔：

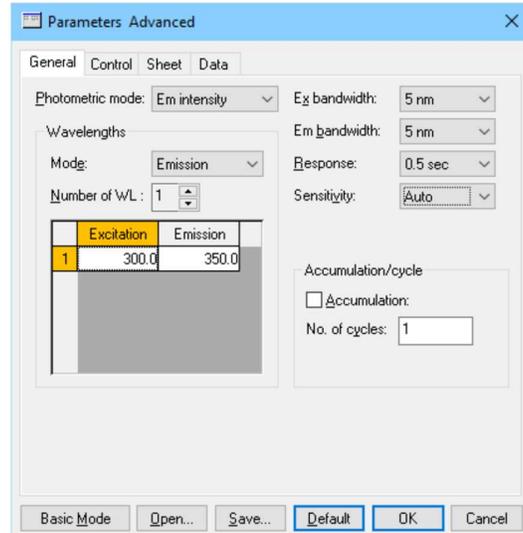
時間單位	選項
msec	0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 msec
sec	0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 30, 60 sec
min	1, 2, 5, 10, 20, 30, 60 min

**Time unit**：時間單位: msec, sec, min

設定參數後，按  後執行測量即可。

## 4. 固定波長(Fixed Wavelength Measurement)

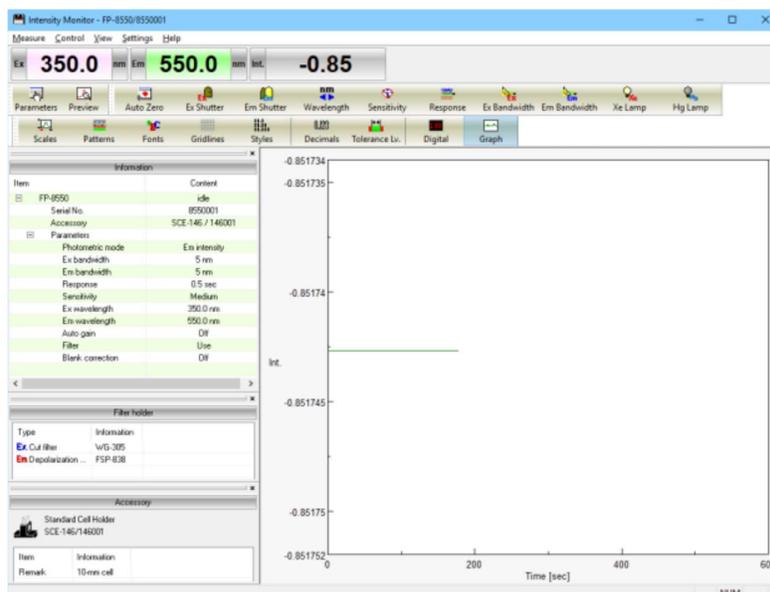
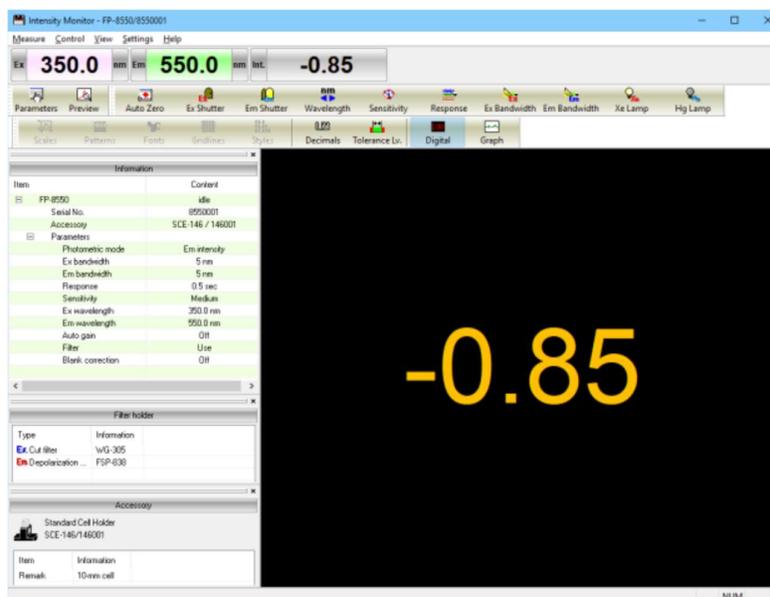
於 Spectra Manager 中的 **Measurement** 視窗選取 **Fixed Wavelength Measurement**，進入固定波長測量畫面



先設定圖譜之各項參數，於功能表中圖取 **Measurement** » **Parameters**，即會出現參數設定畫面，設定完成後按 **OK**  
放入待測樣品，按下 **Start** 即會開始測量。

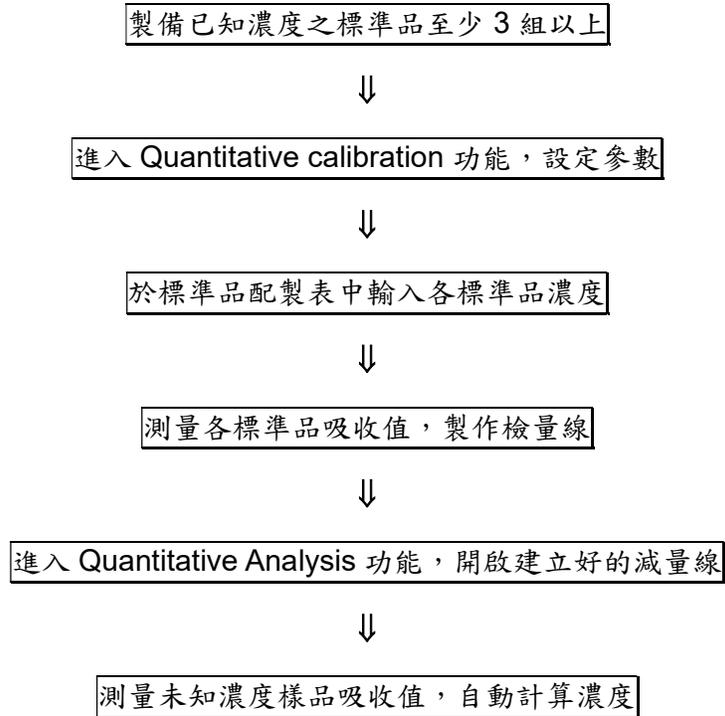
## 5. 螢光強度計(FP Intensity Monitor)

此測量方式可即時得知樣品的特定激發及放射波長下的螢光強度：



## 6. 定量分析(Quantitative Analysis)

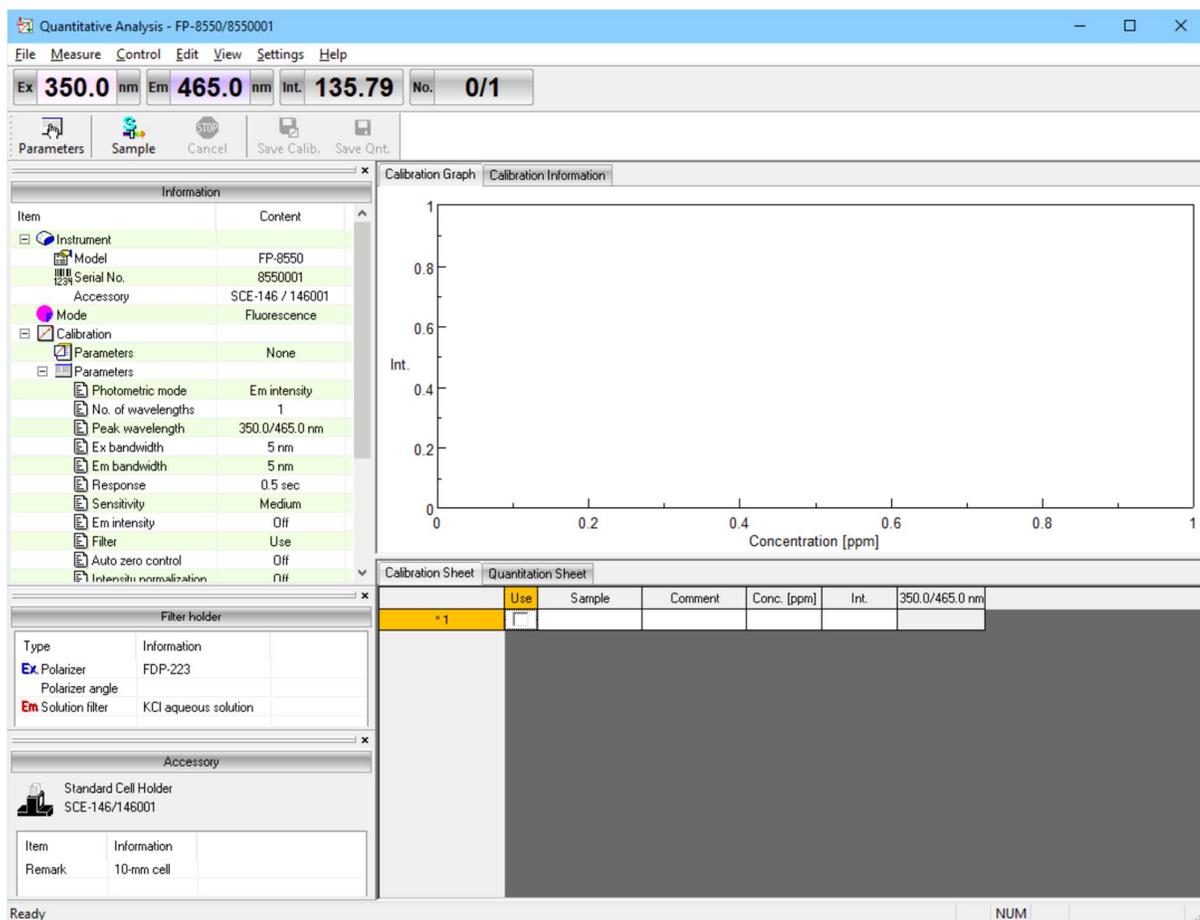
欲進行未知濃度樣品之定量分析，其流程大致如下：



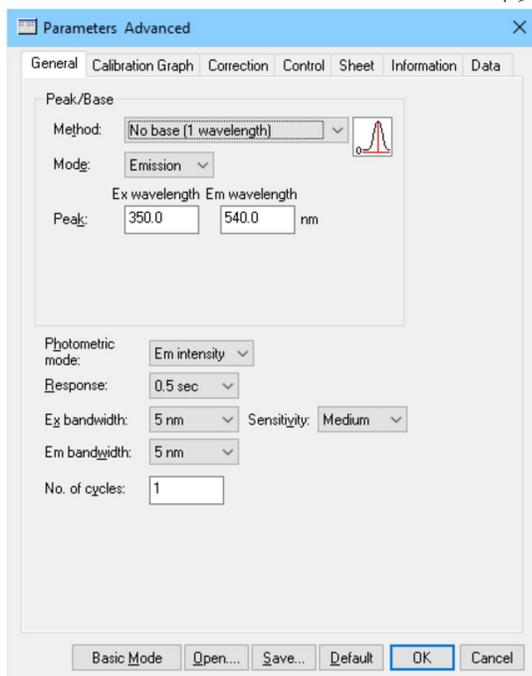
操作步驟如下：

A. 進入 **Spectra Manager** 之 **Measurement** 視窗中選取 **Quantitative Analysis**

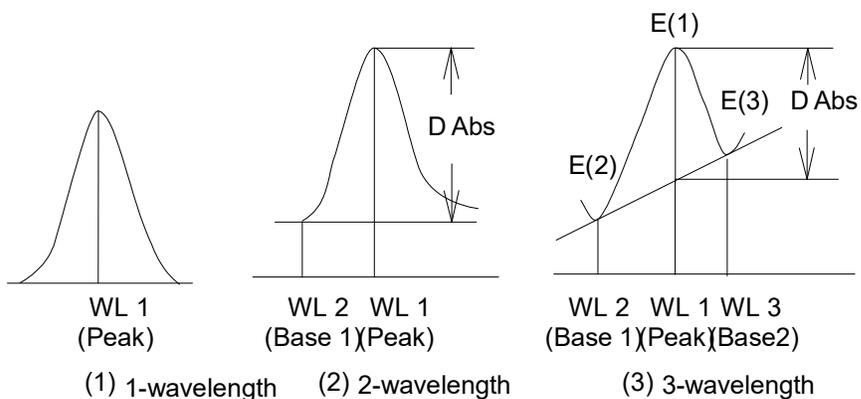
畫面

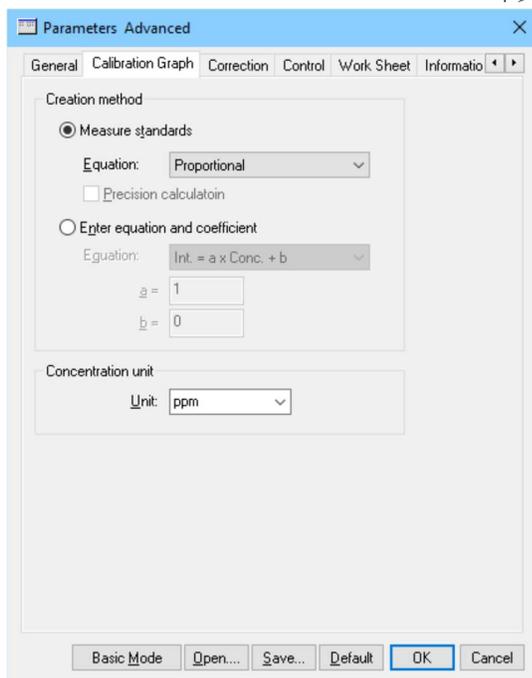


由 **Measurement** ⇒ **Parameters** 設定檢量線測量參數

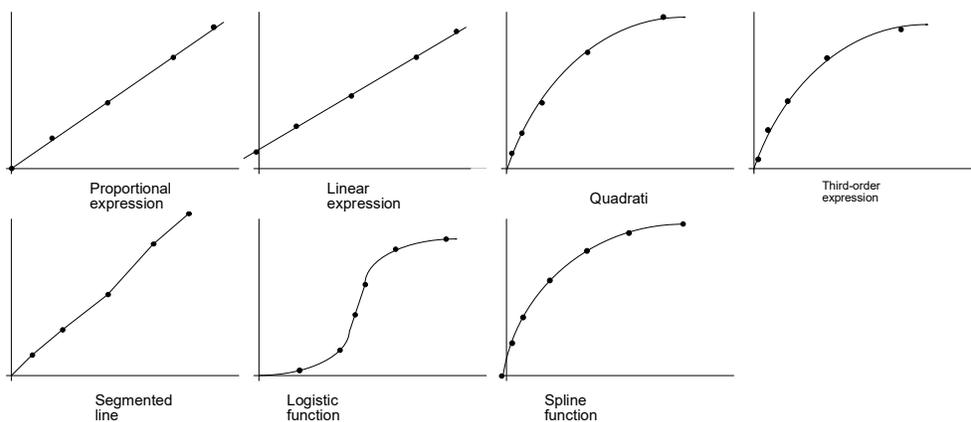


參數中之波長設定可以選擇 1、2、3 個波長，其原理如下圖：





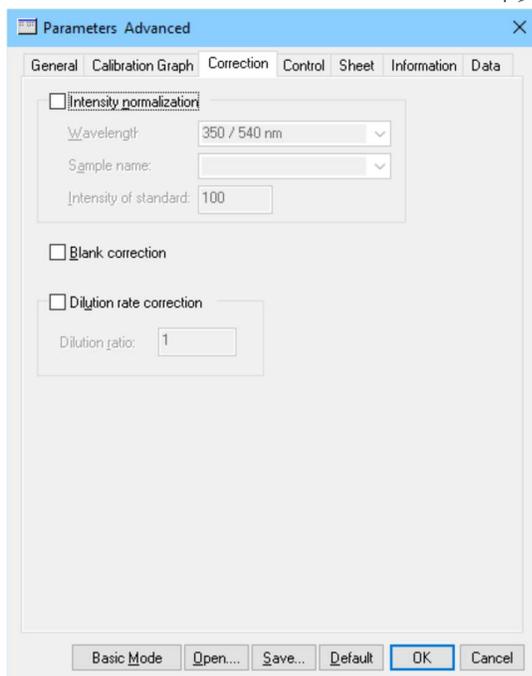
Equation(方程式)，其型式共有七種：



一般選擇 Proportional (等比： $\text{Conc.} = a \times \text{Abs}$ )或 Linear (線性： $\text{Conc.} = a \times \text{Abs} + b$ )

Enter equation and coefficient: 選擇檢量線測量公式，可輸入校正係數

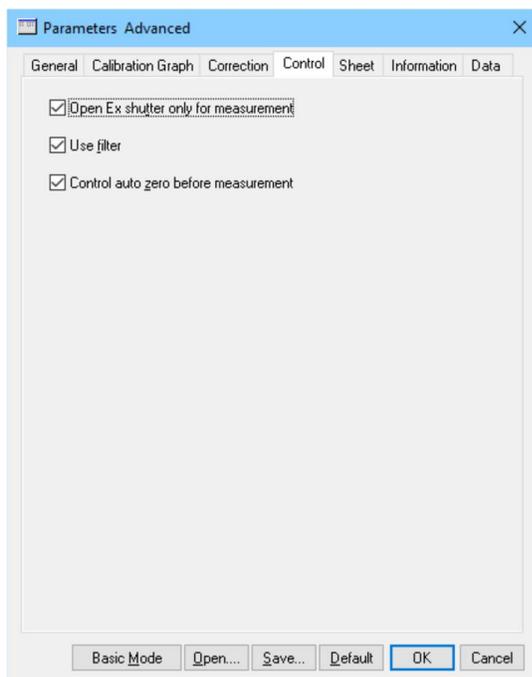
Concentration Unit:選擇濃度單位



[Intensity normalization]：強度是否要歸一化

[Blank correction]：是否需要做空白校正

[Dilution correction]：是否需要較正稀釋倍率



[Open Ex shutter only for measurement] 自動開關遮光柵欄

[Use filter] 是否使用濾光片

[Control auto zero before measurement] 測量樣品前會關閉 Ex 和 Em 快門並將光度值調整為零。

建立濃度校正曲線

點選 “Calibration sheet” 頁面

測量標準濃度樣品後，在 Conc. [ppm] 輸入樣品濃度，完成濃度曲線的建立。

The screenshot displays the 'Quantitative Analysis - FP-8550/8550001' software window. At the top, the instrument parameters are shown: Ex 350.0 nm, Em 540.0 nm, Int. 440.46, and No. 0/1. The interface is divided into several sections:

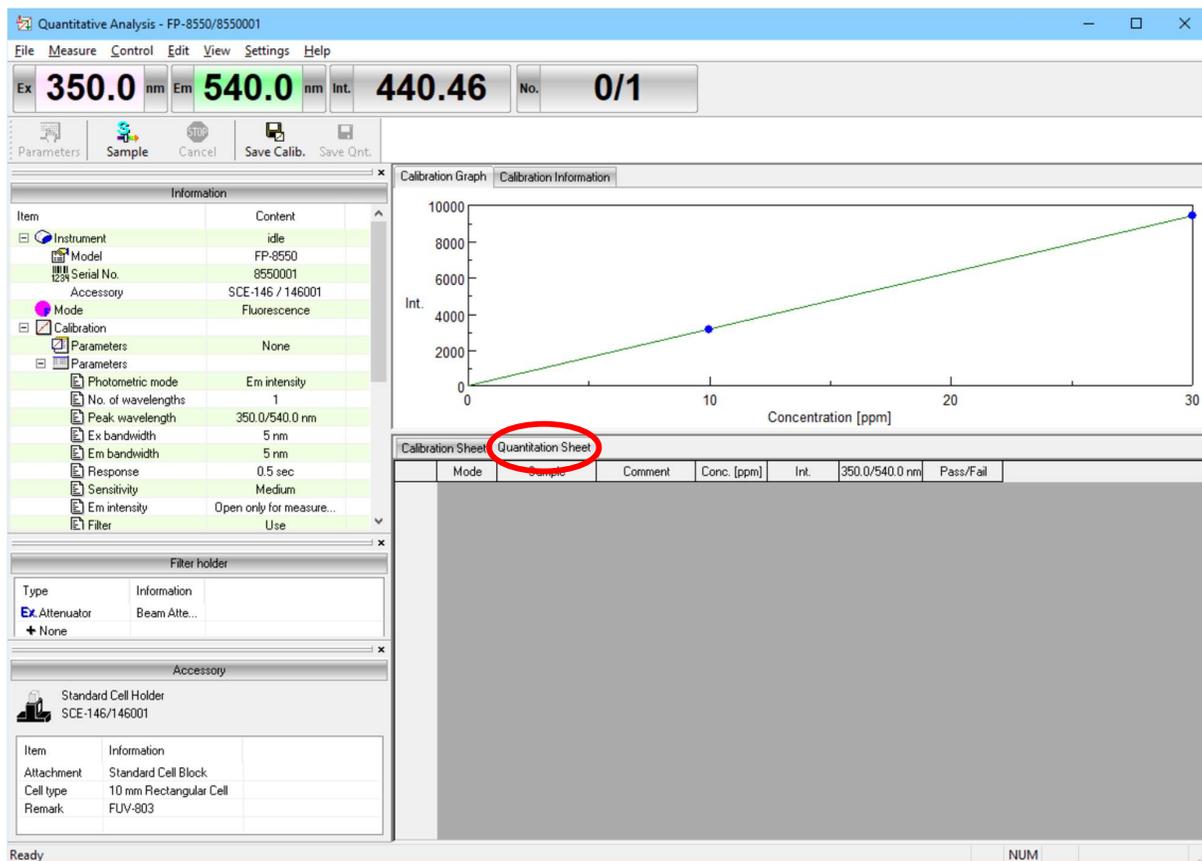
- Information Panel:** Lists instrument details such as Model (FP-8550), Serial No. (8550001), Accessory (SCE-146 / 146001), and Mode (Fluorescence).
- Calibration Graph:** A line graph showing Intensity (Int.) on the y-axis (0 to 10000) versus Concentration [ppm] on the x-axis (0 to 30). Two data points are plotted at approximately (10, 3139) and (30, 9418), with a linear trendline drawn through them.
- Quantitation Sheet:** A table with columns for Use, Sample, Comment, Conc. [ppm], Int., and a calculated value. The 'Calibration Sheet' tab is highlighted with a red circle.

Use	Sample	Comment	Conc. [ppm]	Int.	350.0/540.0 nm
<input checked="" type="checkbox"/>	STD-1		10	3139.43	3139.4945
<input checked="" type="checkbox"/>	STD-2		30	9418.48	9418.4835
<input type="checkbox"/>	*3				

The bottom of the window shows the status 'Ready' and 'NUM'.

測量未知濃度樣品

點選 “Quantitation sheet” ，放入未知濃度樣品後測量樣品螢光，即可得到濃度。



## 7. 3D 螢光測量(3D Fluorescence Measurement)

此測量模式所得之 Data 可供較精確之「最佳化 Ex.Em」之搜尋用建議：“Excitation”的值建議初始以 20nm 或 10nm 來做以節省時間，在做出初步結果得以縮小 Ex.Em “Scanning Range”時再進而選擇“Ex”值至 5nm 或 1nm 以求得更精確之結果並節省時間。

範例：若參數如同上圖所示，而“Data Pitch”中的 Ex 選擇在 10nm，則表示測量狀況為：

- (1) Ex:360nm 對 Em:360~600nm 做圖譜掃描，接著做(2)。
- (2) Ex:370nm 對 Em:360~600nm 做圖譜掃描，接著做(3)。
- (3) Ex:380nm 對 Em:360~600nm 做圖譜掃描，接著做(4)。

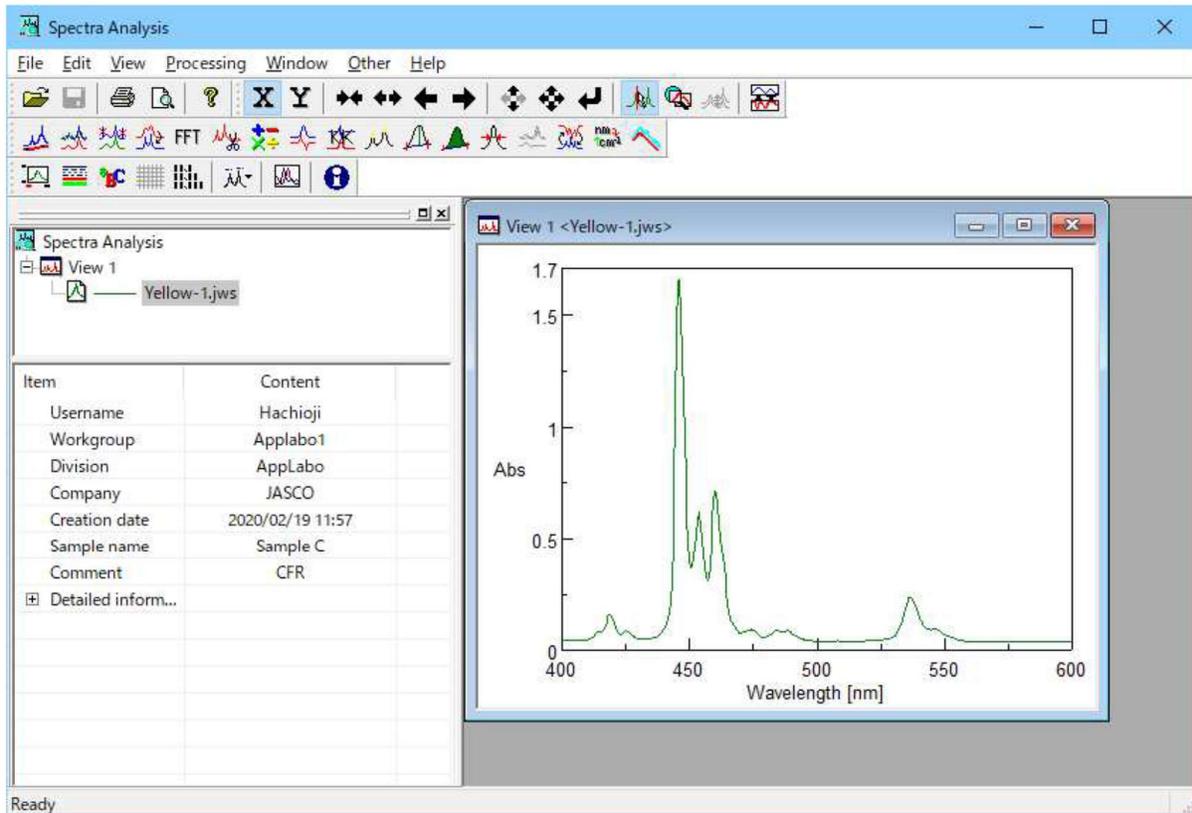
以此類推...

Final: Ex:600nm 對 Em:360~600nm 做圖譜掃描。

## 8. 圖譜分析(Spectra Analysis)

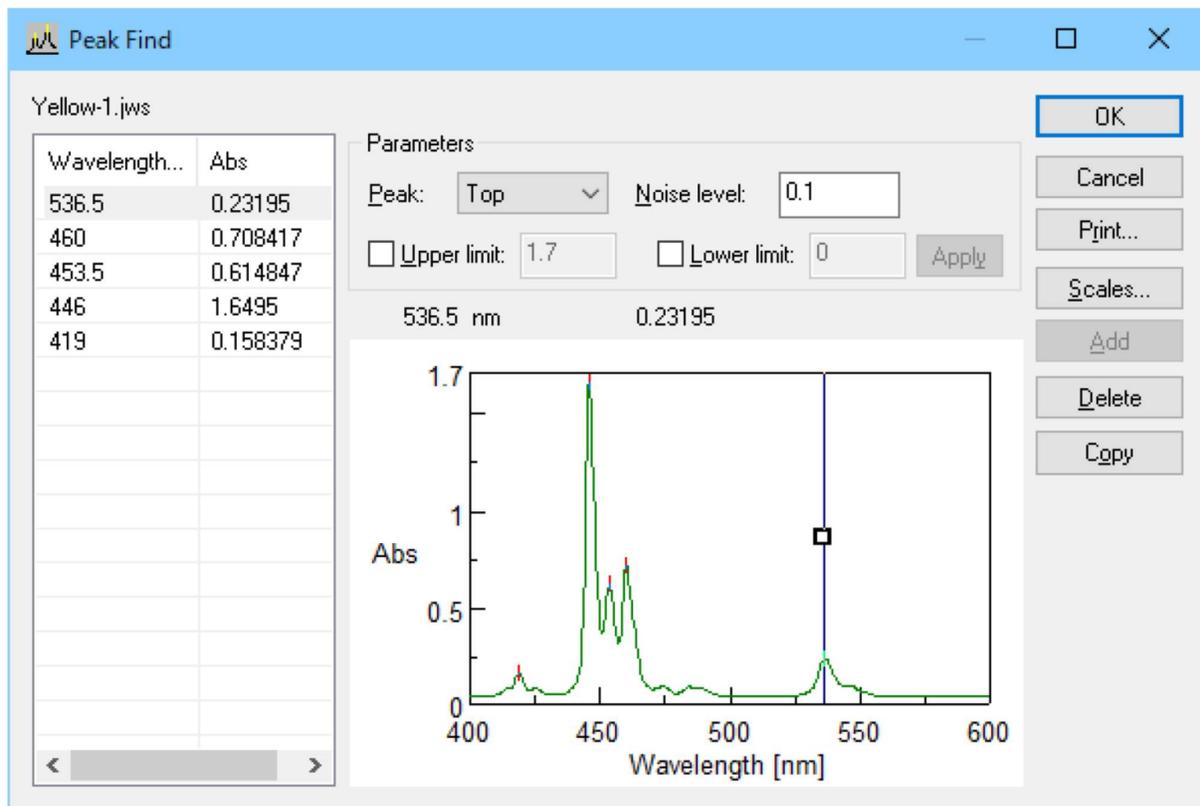
### 8.1 檔案處理

#### Spectra Analysis



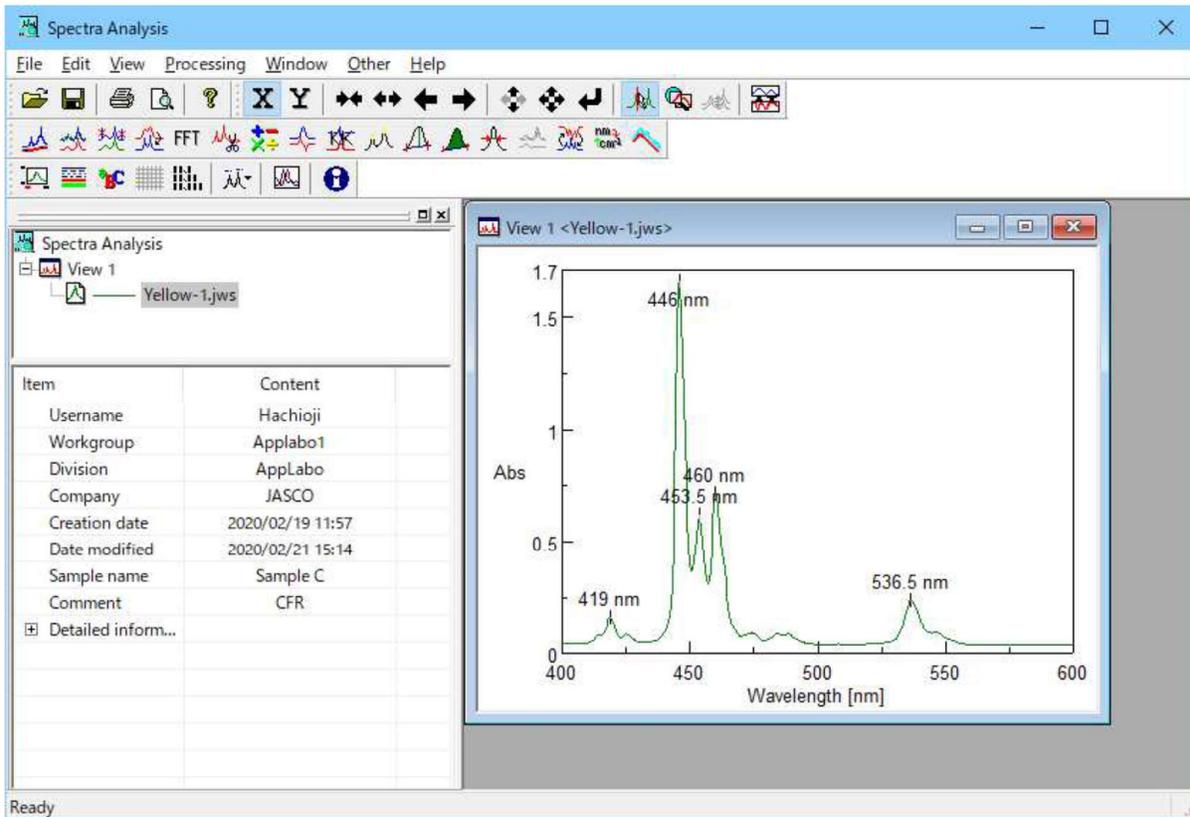
### 8.2 自動尋找波峰

於功能表選取 **Peak Process** ⇒ **Peak Find**  
設定雜訊值 (Noise Level 最小波峰高度) 後, 按 **Apply** 自動尋找波峰



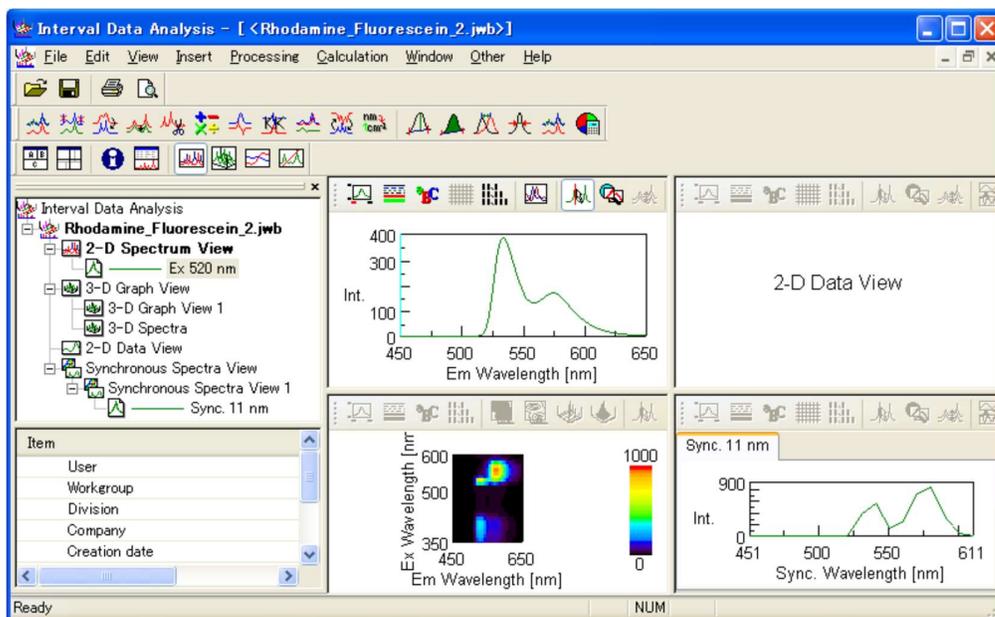
波峰尋找結果會以預覽的方式於左側列出，若必要可手動增減波峰數目及位置。

按 **OK** 回到圖譜畫面，若波峰並未顯示在圖譜上，需選取 **View** ⇒ **Peak** **Indicators...** 之選項方可顯示波峰資訊。



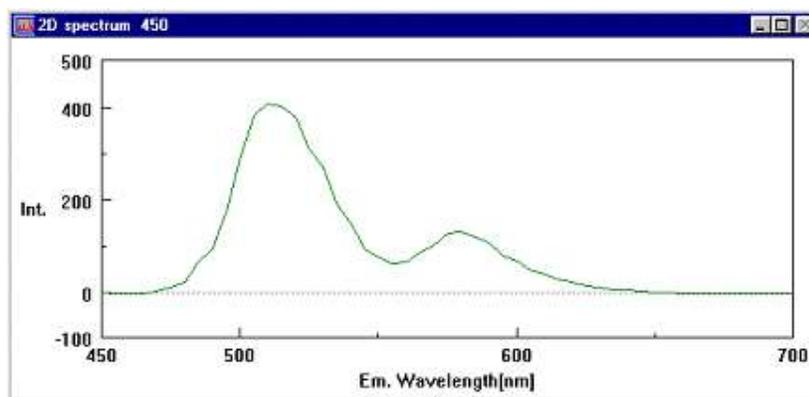
## 9. 3D 圖譜分析(Interval Data Analysis)

### 9.1 3D 圖譜分析

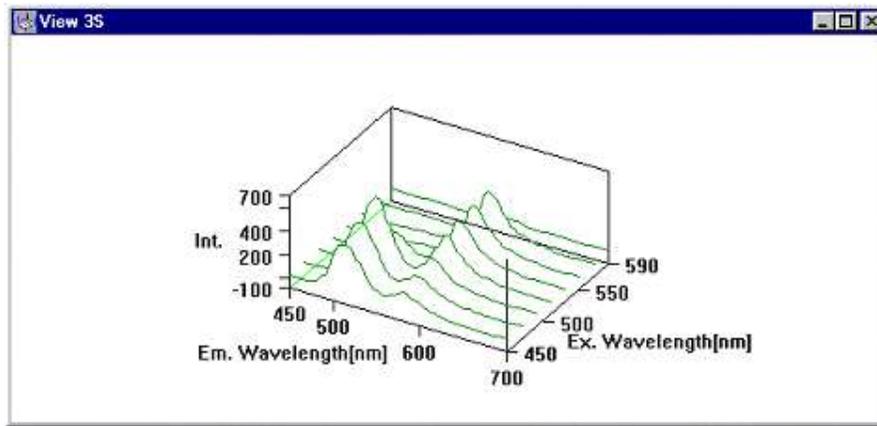


由 **File** 中的 **open** 來開啟已儲存之檔案來做相關分析處理。

當在 **3D Fluorescence Measurement** 測量結束時，軟體會自動將測得的圖譜傳到 **Interval Data Analysis** 中，以方便做下一個分析步驟。



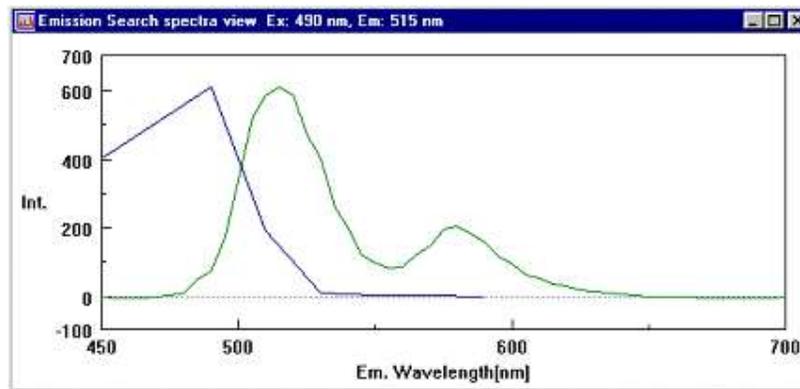
開啟圖譜後，初始會顯示 2D 圖譜，若須看見 3D 圖譜，可於上方 **Graph** 選項中點選 **3D Spectra** 來轉換圖譜顯示方式。



3D 圖譜開啟後可看見 Ex、Em、Int 三向座標軸的立體圖譜

將滑鼠停留在座標軸交接處(0,0)數秒將會出現 **夾子** 狀的指標替代原來的滑鼠**箭頭**指標，此時按下滑鼠左鍵不放，並移動滑鼠將可於畫面上任意移動此 3D 圖之顯示方向。

## 9.2 Em、Ex 最佳化搜尋



於畫面上方 **Graph** 中點選 **Em Search View**，將於畫面上得到最佳化 Ex.Em 之值於上方(以此圖為例:Ex:490nm、Em:515nm)。