



生化分析掃瞄型紫外光/ 可見光分光光度計



型號：CE2501

廠牌：CECIL/U.K.


一、儀器部位及功能介紹

A. 規格說明：

1. 光學系統：1200L/mm holographic grating and coated optics 具自我測試與自動校正功能。
2. 掃瞄速度：1~4000 nm/min 無段設定。
3. 波長範圍：190~1000 nm。
4. 波長準確度：優於 ± 1 nm。
5. 波長再現性： ± 0.1 nm 以內。
6. 波寬：4 nm。
7. 波長選擇：直接鍵入設定。
8. 顯示：大型高解析背光式 55 cm 可移動畫面之液晶螢幕顯示。
9. 光學準確度： $\pm 0.005A$ 以內或優於 1%。
10. 雜訊：低於 $\pm 0.0002A$ 。
11. 尺寸：480 x 340 x 205 mm。
12. 迷光：低於 0.02% 在 220 nm 及 340 nm。
13. 光度範圍：-0.3 to 3.0A; 0-200%T ;0-9999C。
14. 基線穩定性： $\pm 0.001A/Hr$ 。
15. 自動歸零設定：OA and 100%T 按鍵式自動歸零。
16. 波峰搜尋：自動搜尋波長範圍內之波峰，並予以讀值標示。
17. 具 RS232C 界面、並列式印表機界面，並內藏時鐘。
18. 輸出訊號：100 mV/1A。
19. 電源：110V, 60 Hz。

※ 標準內建軟體

- 生化分析程式
- 動力學程式
- 熱熔解程式：具 8 組緩衝記憶
- 掃瞄程式：具 8 組緩衝記憶
- 時程繪圖：具 8 組緩衝記憶
- 操作方法記憶：30 個可密碼保護
- 檢量線儲存：30 組可密碼保護

- 
- 蛋白質分析程式
 - 多波長分析程式
 - 二波長值比及差值
 - E-SEF 軟體昇級功能

B. 控制和顯示說明 (參考附圖一)

1. 電源開關

位於儀器左後方，On-off 開關，當上方按下時為 "On"。

2. Go To 鍵 (此鍵提供二種操作)

A. 配合數字鍵及確認鍵可用以調整波長至所需的操作波長。

B. 配合 Next 鍵連續操作，波長可以做每 0.2 nm 的調整。每次波長的吸光值可在螢幕上顯示出來，再按一次 Go To 鍵，則停止此操作模式。

3. Set 鍵

用於參數設定，在按 Set 鍵後，再以數字鍵設定常數、濃度、樣品吸取量或溫度等值，最後以 "E" 鍵確認，而設定值會在螢幕上顯示。

4. Reset No. 鍵

在短時間按此鍵時，會將測定樣品的排序歸零，而長時間按此鍵不放時，會再測定一次相同編號樣品。

5. "C" 取消鍵

在確認鍵未按前，按此鍵則取消任何鍵入的值。

6. "E" 確認鍵

用以確認鍵入的參數值之定義值及操作選單之反白指示選項。

7. Sample Mode 鍵

此鍵用於選擇 Cell Programming, Wavelength Programming, Sipette 及 Batch Sampling。

8. Next 鍵

- A. 當配備多連座樣品自動切換器時，用以自動更換測試樣品。
- B. 當配備樣品自動吸取裝置時，用以將樣品吸入儀器中，當按第二次時，可將樣品抽回到操作者手中。
- C. 假如在 Go To 模式下，連續按 Next Sample 鍵可用以調整波長作每次 0.2 nm 的增量。

9. Readout 鍵

連續按此鍵可以重覆選取吸光值、穿透度、常數、濃度及溫度（當配備溫度控制器時）等測定模式。

10. Prog 鍵

此鍵用於操作方法的儲存，叫出及刪除，亦可用於電腦託控。

11. Quant 鍵

此鍵用於選擇功能模式，如定量技術、動力學、確效等亦可用於選擇列表機啟動與否，氙燈之關閉及時間設定。

12. Zero 鍵

- A. 短暫觸按可將吸光值歸零或設定穿透度 100%。
- B. 按著不放時可在吸光歸零及 100% 穿透度設定後，設定 0% 穿透度。

註：儀器的高穩定性結合內部管理系統，使得 0% 穿透度不大需要設定，甚至連操作者都不太需要自行設定。

13. Scan 鍵

用以選擇掃瞄、基線掃瞄、光譜儲存、光譜再掃瞄、時程繪圖等功能。

14. Run/Print

- A. 用以將顯示值隨同樣品編號，測定波長等列印出來，樣品編號會隨著測定自動增加。
- B. 定量分析由此鍵開始執行操作。

- C. 光譜掃瞄及基線掃瞄亦用此鍵執行。
- D. 在吸收度、穿透率或濃度測量時，按此鍵 2 秒，可降低雜訊、提高精確度，尤其在確效 (VALIDATION) 軟體使用時，更可發揮此特色。

15. 上、下方向鍵

- A. 此二鍵用以上、下移動螢幕之反白指示至所需之功能位置，以便可按 ENTER 鍵確認選用之，並可上、下移動螢幕過多之數據資料供查閱。
- B. 此二鍵亦可用以調整螢幕對比亮度。

16. 左、右方向鍵

用於左右捲動顯示螢幕。

17. LCD 顯示螢幕

背光顯示數據、資料、訊息、圖譜及曲線等，對比可調顯示畫面可移動，方便查閱。

二、測試原理

- A. 單光束分光光度計：一般單光束分光光度計的結構示意圖，多色光由燈源發出後聚焦在單色儀的出口狹縫上，經過選擇後的單色光再通過樣品池到達檢出器，由透過空白對照組及樣品光強度檢測，即可得到樣品之吸光度。大多數之分光光度計使用兩種燈源，1 為氘燈 (Detrium) 它具有高紫外光輸出及低可見光輸出，另一光源使用鎢燈，其光輸出情況正好相反。一般來說單色儀包括一入口狹縫、一個分光裝置 (例如稜鏡或光柵) 及出口狹縫、一組檢出器 (Detector)。
- B. 定量分析：當一光束通過某物質後其穿透光強度 (Emergent Radiation)I，會比落射光強度 (Incident Radiation)I₀ 較弱，被吸收掉的部份是物質的厚度 (通道長度) 及吸收成份的濃度之函數，其數學方程式由 Bouguer, Lamber & Beer 導出。

$$T = I/I_0 = 10^{-\epsilon cb}$$

- T : 透光度百分比
- I₀ : 落射光強度
- I : 穿透光強度
- ε : 莫耳吸光度 (l mol⁻¹cm⁻¹)
- c : 濃度 (mol, l⁻¹)

$$A = -\log(T) = \epsilon cb$$

- A : 吸光度

透光度 (T) 與濃度 (C) 間是非線性關係，但吸光度 (A) 與濃度 (C) 呈線性關係，同時也是大數字量分析之基礎，通常稱之 Beer's 定律。

三、耗材及試劑

- A. 樣品容器 (Cell)：一般使用 10 mm 長之長方形玻璃或石英 CELL。
- B. 印表機色帶：ERC-09/EPSON。
- C. 印表紙：寬 5.7 公分，直徑 5 公分。
- D. 氙燈。
- E. 鎢燈。

四、安裝及準備事項

- A. 本儀器須安置於平坦且堅固之板面上。
- B. 電源線長度避免長於 2 公尺以上。
- C. 安置點須防日曬，通風良好，常溫狀態下同時無電子干擾。
- D. 電源：110~240V 均可。

五、暖機及準備事項

- A. 將後方之電源開關打開。
- B. 儀器本身開始自我偵測及校正，同時螢幕顯示 "Calibrating" 閃爍直到校正完成。
- C. 在完成自我偵測及校正後，儀器將自動歸零，並設定波長在 400 nm。請再暖機幾分鐘後，再行使用。

六、操作步驟及樣品測試

- A. 吸收值 (A) 及穿透率 (%T) 之測定步驟
 - 1. 將 "空白溶液"(用於歸零用)，置入樣品槽中，蓋下蓋子。
 - 2. 按 Go To 入鍵，LED 燈亮起，以數字鍵輸入所須之波長，按 E 確認，待波長調整完成，LED 燈會熄滅。
 - 3. 按 ReadOut 鍵選擇讀值單位，A 代表吸收值，%T 代表穿透率。
 - 4. 按 Zero 鍵歸零，設定 0% 吸收率或 100% 透光率。

5. 取出 "空白溶液"，將待測物置入樣品槽中，蓋下蓋子，此時讀值即為待測物之測量值。
6. 按 Print 鍵，列印出當時之讀值及單位，同時亦印出樣品序號、波長、日期及時間。

B. 利用參數比 (Factor) 測量濃度

1. 若已知濃度 (C) 與吸收值 (A) 之比值 (F) 時，可直接輸入此比值 (F) 來做為樣品濃度之測量。
2. 前置步驟同 A. 之 1.2.。
3. 按 ReadOut 鍵選擇 F (Factor) 項。
4. 按 Set 鍵，此時其 LED 燈亮起，會有選單顯示，選擇 "Factor" 選項。
5. 利用數字鍵輸入 F 值 (原設定為 1.000)，按 E 鍵確認。
6. 按 ReadOut 鍵，選擇 C (Concentration) 項。
7. 放入參考液 (空白溶液)。
8. 按 Zero 鍵歸零。
9. 取出 "空白溶液" 置入待測物，此時讀值即為待測物之濃度。

C. 以標準液測量濃度

1. 按 Go To 鍵，選所須之波長並按 E 鍵。
2. 按 ReadOut 鍵選擇 "Concentration" 選項。
3. 置入 "空白溶液"，按 Zero 鍵歸零。
4. 置入標準品，以 Set 鍵選擇 "Concentration" 選項。
5. 輸入標準品的濃度值，按 E 鍵確認。
6. 取出標準品，置入待測樣品，蓋上蓋子即可直接讀取濃度。

七、Quant 模式

定量分析模式經由選按 Quant 鍵，可得下列選項：

Quantitative Methods
Kinetics
Time Plot

Peak Seek
Curve Fit
Validation
Configuration
List All Functions

以上選項除了最後項外，每一選項都還有副選單。當選擇 "Quantitative Methods"時會出現下列副選項：

Ratio at Two Wavelengths
Multi Wavelength Assay
Lowery Assay
Bradford Assay
Biuret Assay
BCA Assay
Difference at Two Wavelengths
Wine Assay

A. Ratio of Absorbance At Two Wavelengths 兩個波長之吸收值比

在 "Quantitative Methods" 的副選單中，將反白指示移至 "Ratio at Two Wavelengths" 按 E 鍵確認，操作步驟根據螢幕之提示說明設定之；輸入第一個波長，輸入第 2 個波長，輸入循環操作的號碼數，再置入參考(空白)溶液，然後按 Zero 鍵歸零，再置入待測樣品，蓋上遮光蓋，按 Run 鍵，如果要操作的波長是 260 或 280 nm 或是二個都用時，則不須輸入，該波長原廠已設定。

註：比值亦可以是穿透度或濃度；只要在選 Ratio at Two Wavelengths 之前，以 ReadOut 鍵選擇好即可。

B. Multi-wavelength Assay-Two Wavelengths 兩個波長分析

在 "Quantitative Methods" 附選單中，選擇 Multi Wavelength Assay 選項後，首先須輸入波長個數，輸入 2 即自動設定 2 個波長分析，接著輸入波長及參數、儀器之設定波長為 260 nm 及 280 nm，用以分析 DNA 及蛋白質，其參考計算式如下：

$$\text{核 酸： } C1 \text{ mg/ml} = K_1 \cdot A_1 - K_2 \cdot A_2$$

$$\text{蛋白質： } C2 \text{ mg/ml} = -K_4 \cdot A_1 + K_5 \cdot A_2$$

$$\lambda_1 = 260 \text{ nm} \quad \lambda_2 = 280 \text{ nm} \quad K_1 = 62.9 \quad K_2 = 36.0 \quad K_4 = 757.3 \quad K_5 = 1552.0$$