

Handleiding Spectrofluorimeter Jasco FP-8300

Voor een zeer **beknopte samenvatting** als geheugensteun zie de **achterkant** van deze handleiding.

Spectra Measurement stappenplan

Voor **fixed wavelength** metingen zie **pagina 5**.

1. Start de software "SpectraManager".

2. Open "Spectra Measurement", de volgende knoppenbalk wordt zichtbaar.



3. Controleer of onderstaande drie instellingen staan zoals weergegeven:



4. Met het deksel gesloten, stel het apparaat op nul door te drukken op auto-zero



5. Stel de gewenste parameters in via het menu "Parameters", te vinden onder Pas alleen het tabblad "General" aan.



a. Kies Emission (voor excitation zie 5b)

i. De bandwidth's, response en sensitivity staan goed.*

ii. Kies de Ex wavelength a.d.h.v. het maximum in het UV/VIS spectrum.*

iii. De Start golflengte moet **minimaal 10 nm groter** zijn dan de Ex golflengte.

iv. De End golflengte is tot waar je wilt meten (Groter dan start, max 750 nm).

v. Datainterval en scan speed staan goed.*

vi. Verlaat dit menu via "OK". Ga naar stap 6.

b. Kies Excitation (voor emission zie 5a)

i. De bandwidth's, response en sensitivity staan goed.*

ii. Kies de Em wavelength a.d.h.v. het maximum in het emissie spectrum.*

iii. De Start golflengte is vanaf waar je wilt meten (kleiner dan End).

iv. De End golflengte moet **minimaal 10 nm kleiner** zijn dan de Em golflengte.

v. Datainterval en scan speed staan goed.*

vi. Verlaat dit menu via "OK".

6. Plaats de gevulde cuvet met de heldere zijden naar de metalen beugeltjes en de gaten in de wanden gericht.

7. Start de meting door op "Scan" te drukken



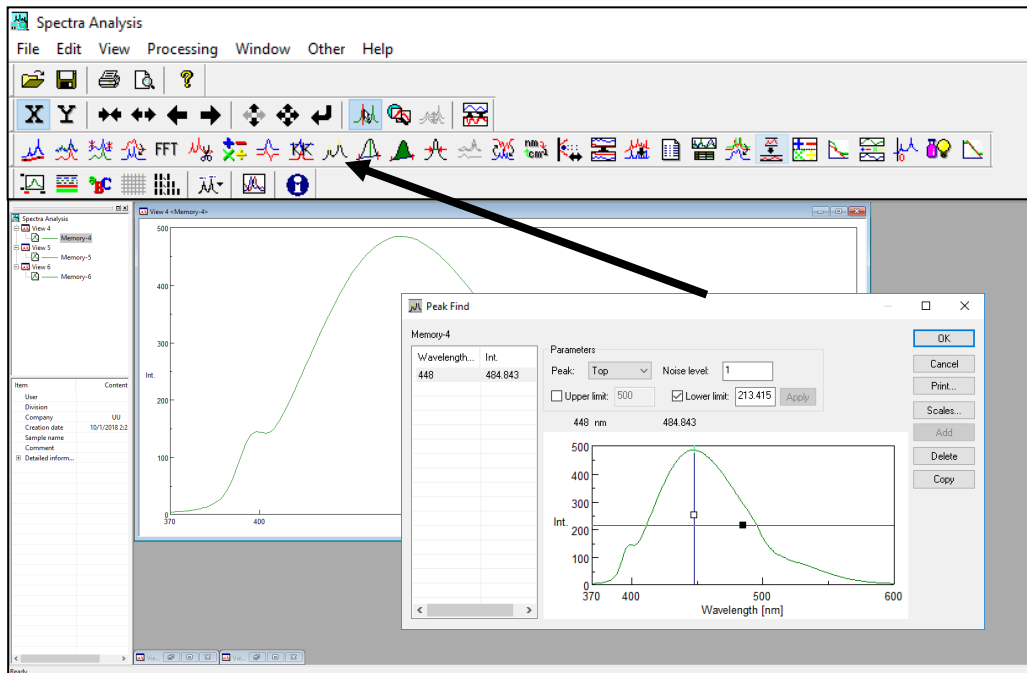
8. Zodra deze klaar is opent (mogelijk in de achtergrond) een nieuw scherm "Spectrum Analysis" (zie volgende pagina), zo niet klik op "Send to analysis":



* tenzij anders vermeld in je voorschrift of door je begeleider.

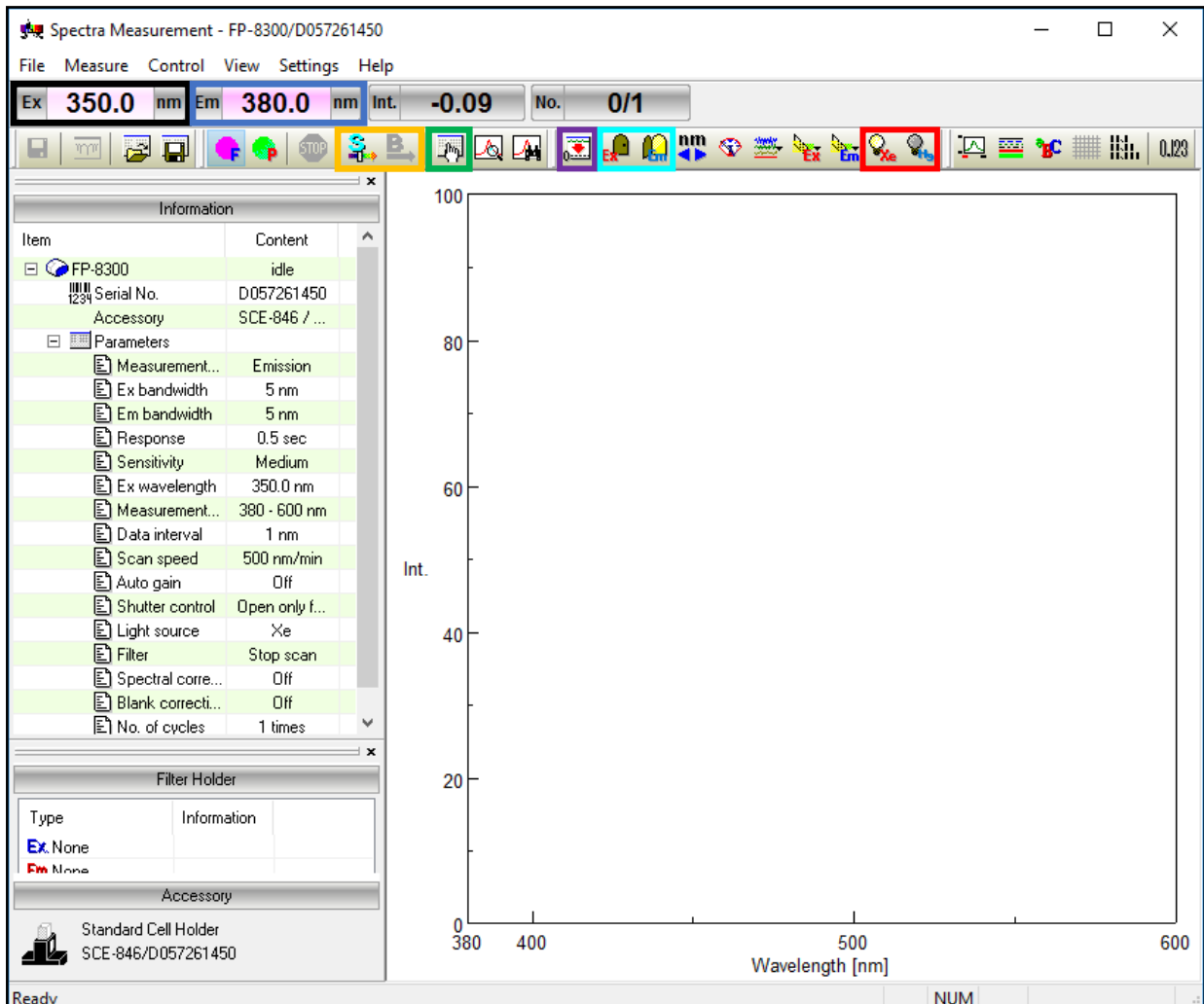
Voor **meer informatie** over de Spectrum Measurement methode zie **pagina 3**.

Spectrum Analysis (= uitwerken)



1. Spectrum analysis opent automatisch na het opnemen van een spectrum.
2. Zo niet, klik op Send to analysis in het spectra measurement scherm.
3. Om de top van een piek te vinden (piekpositie) open je Peak find.
4. Door op Apply te klikken zoekt de software alle pieken in je spectrum.
5. Om alleen de intense/grote pieken te selecteren (in bijvoorbeeld een ruzig spectrum) kun je de horizontale lijn omhoog slepen. Mocht de software geen pieken herkennen, dan ligt deze lijn waarschijnlijk boven de piek.
6. De knop Print geeft eerst een preview.
7. Sluit de spectra af als je er klaar mee bent.

Spectra Measurement wat is wat



- Actuele excitatie (instraal) golflengte
- Actuele emissie (uitstraal) golflengte
- Meetmodus Fluorescentie (**F**) of Fosforescentie (**P**)
- Start meting (**S**ample/**B**lanco)
- Parameters, stel hier de gewenste golflengten in. (**zie volgende pagina**)
- Auto-zero stelt de detector op 0.00, doe dit met gesloten Ex-shutter en klep.
- Shutters (Excitatie = lamp→monster, Emissie = monster→detector)
- Xenon-lamp en Kwik-lamp

Met **F** en **P** kan geschakeld worden tussen fluorescentie en fosforescentie meting. Bij fluorescentie (**F**) wordt gekeken naar het licht dat direct uitgezonden wordt door de analyt. Bij fosforescentie (**P**) wordt een korte tijd na een excitatie-puls gemeten, waardoor "vertraagde" emissie waargenomen wordt.

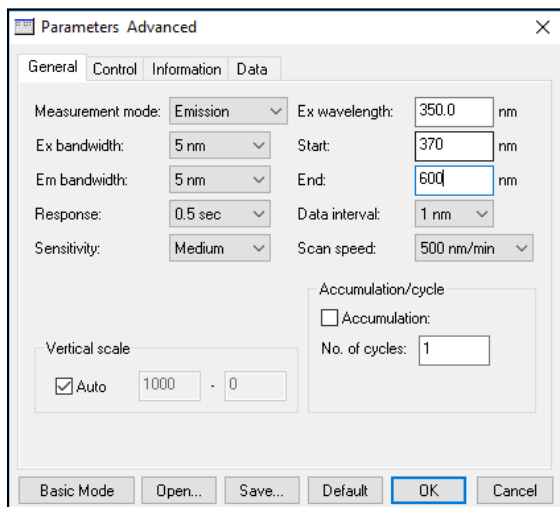
De **Xe** en **Hg** lampen kunnen hiermee aan- en uitgezet worden. In principe worden alle metingen met de Xe lamp uitgevoerd. De Hg lamp is alleen voor systeemkalibratie.



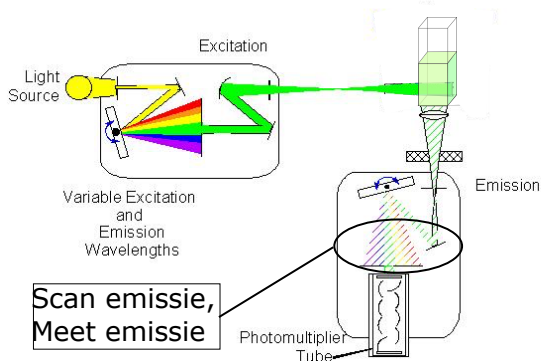
Parameters

Emissie-modus

Hierbij staat de excitatiegolflengte vast en wordt over het ingestelde golflengtebereik de emissie gemeten.

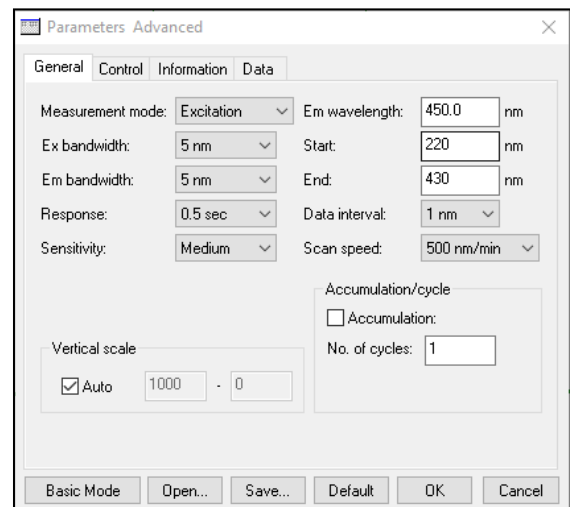


Bij een emissie-meting start het meetbereik bij een golflengte van **minimaal 10 nm hoger dan de excitatiegolflengte**. Dit is om de detector te beschermen tegen verstrooid licht.

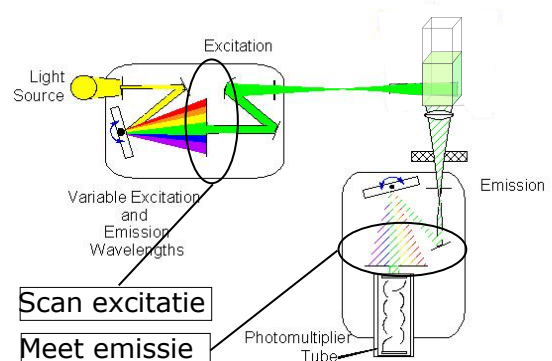


Excitatie-modus

Hierbij staat de emissiegolflengte vast, de excitatiegolflengte wordt gevarieerd, waarbij de intensiteit van de emissie gemeten wordt.



Bij een excitatie-meting eindigt het meetbereik bij een golflengte van **minimaal 10 nm lager dan de emissiegolflengte**. Dit is om de detector te beschermen tegen verstrooid licht.

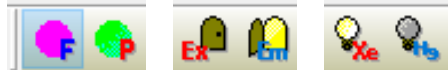


Fixed wavelength stappenplan

1. Start de software "SpectraManager".
2. Open "Fixed Wavelength Measurement", de volgende knoppenbalk wordt zichtbaar:



3. Controleer of onderstaande drie instellingen staan zoals weergegeven:



4. Met het deksel gesloten, stel het apparaat op nul door te drukken op auto-zero:



5. Stel de gewenste parameters in via het menu "Parameters", te vinden onder: Pas alleen het tabblad "General" aan.



- a. Kies Em intensity.
- b. Onder Wavelengths kies Emission
- c. Vul onder No. 1 Excitation en Emission de respectievelijke golflengten in waarbij je wilt meten. Let op: excitatiegolflengte is altijd korter dan emissie!
- d. De bandwidth's, response en sensitivity staan goed.*
- e. Laat het vakje voor Accumulation uit staan.
- f. De meting wordt door de software meerdere keren direct (0 sec) achterelkaar uitgevoerd (No. of cycles). Hieruit worden ook het gemiddelde en standaardafwijking bepaald.
- g. Verlaat dit menu via "OK".

6. Plaats de gevulde cuvet met de heldere zijden naar de metalen beugeltjes en de gaten in de wanden gericht.

7. Met het deksel gesloten, start de meting door op "Scan" te drukken:



8. Zodra deze klaar is wordt een tabel zichtbaar met de individuele metingen, het gemiddelde (ave.) en de standaardafwijking (S.D.) in dat meetpunt.

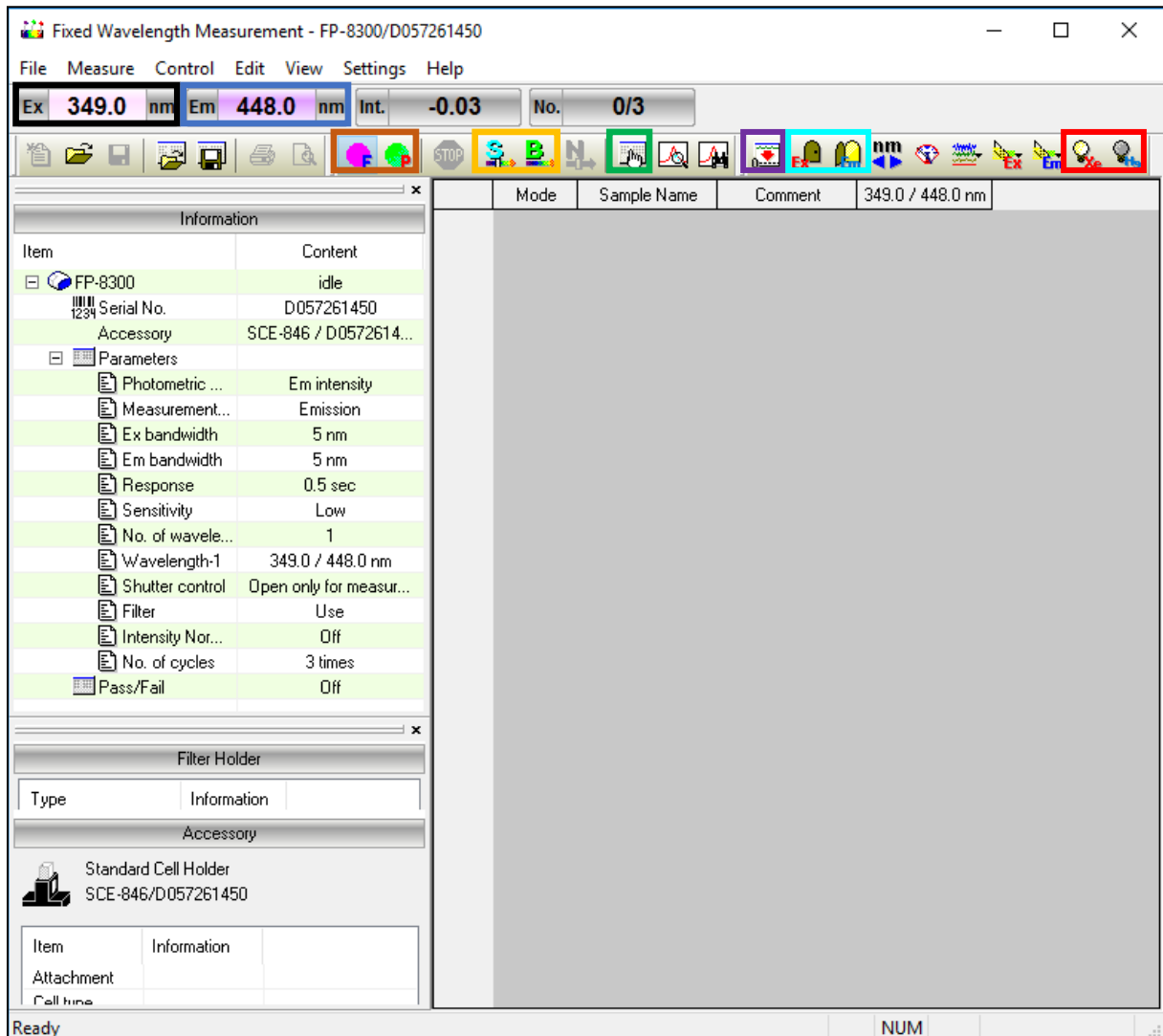
9. Vervang de cuvet en druk vervolgens weer op "Scan" om met dezelfde instellingen een ander monster te meten. De data wordt toegevoegd aan de tabel.



* tenzij anders vermeld in je voorschrift of door je begeleider.

Voor **meer informatie** over de fixed wavelength methode zie de **volgende pagina**.

Fixed wavelength wat is wat



- Actuele excitatie (instraal) golflengte
- Actuele emissie (uitstraal) golflengte
- Meetmodus Fluorescentie (**F**) of Fosforescentie (**P**)
- Start meting (**S**ample/**B**lanco)
- Parameters, stel hier de gewenste golflengten in
- Auto-zero
- Shutters (Excitatie = lamp→monster, Emissie = monster→detector)
- Xenon-lamp en Kwik-lamp

Met **F** en **P** kan geschakeld worden tussen fluorescentie en fosforescentie meting. Bij fluorescentie (**F**) wordt gekeken naar het licht dat direct uitgezonden wordt door de analyt. Bij fosforescentie (**P**) wordt een korte tijd na een excitatie-puls gemeten, waardoor "vertraagde" emissie waargenomen wordt.

De **Xe** en **Hg** lampen kunnen hiermee aan- en uitgezet worden. In principe worden alle metingen met de Xe lamp uitgevoerd. De Hg lamp is alleen voor systeemkalibratie.

De excitatie- en emissiegolflengte worden vastgezet in een Fixed Wavelength meting. De intensiteit van de emissie wordt enkele keren direct opeenvolgend gemeten. Hierna kan de oplossing vervangen worden door een volgende oplossing.



Parameters

De excitatie- en emissiegolflengte worden eerst bepaald met een emissiespectrum, gevolgd door een excitatiespectrum. De bepaalde golflengten worden in bovenstaand scherm ingevuld. Evt. kunnen meerdere excitatie- of emissiegolflengten gegeven worden. Let op: excitatie- is altijd korter dan emissiegolflengte.

De meting wordt door de software meerdere keren direct achterelkaar uitgevoerd (No. of cycles).

Resultaten

	Mode	Sample Name	Comment	349.0 / 448.0 nm
1	Sample-1-1			36.8027
2	Sample-1-2			36.8359
3	Sample-1-3			36.7950
4	Sample-1-Ave.			36.8112
5	Sample-1-S.D.			0.0217
6	Sample-1-C.V.			0.0590
7	Sample-2-1			30.1361
8	Sample-2-2			29.5422
9	Sample-2-3			28.4607
10	Sample-2-Ave.			29.3797
11	Sample-2-S.D.			0.8494
12	Sample-2-C.V.			2.8912
13	Sample-3-1			10.2347
14	Sample-3-2			10.0869
15	Sample-3-3			10.0351
16	Sample-3-Ave.			10.1189
17	Sample-3-S.D.			0.1036
18	Sample-3-C.V.			1.0237

In dit voorbeeld is *No. of cycles: 3* gebruikt. Na de drie afzonderlijke metingen is het gemiddelde (Ave.) , de standaarddeviatie (S.D.) en de variatiecoëfficiënt (C.V.) gegeven. De Ave., S.D. en C.V. verdwijnen als "Accumulation" is aangevinkt in het parameters scherm, hiermee verlies je dus informatie.

Algemene informatie

Em-shutter sluit en opent automatisch met het opendoen van het deksel. De Auto-zero sluit automatisch de Em-shutter en opent hem weer na de correctie. De Ex-shutter staat dicht totdat de meting start en sluit weer zodra de meting stopt, dit om verbleking van het monster te voorkomen.

Troubleshoot

1. *Er is geen signaal*

Controleer of de Xe-lamp aanstaat (💡) en de Em-shutter open (🔒) en of tijdens de meting (!) de Ex-shutter opengaat (🔓). Meet je in fluorescentie modus? (🌈) Staat het cuvet in de houder tot op de bodem? Is de analyt fluorescent?

2. *Er verschijnt een onverklaarbare piek in het spectrum*

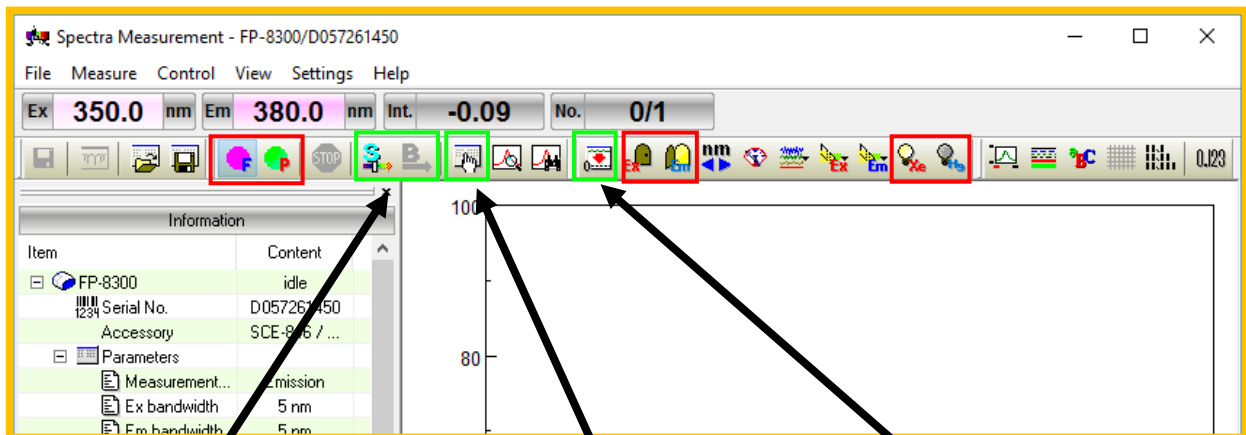
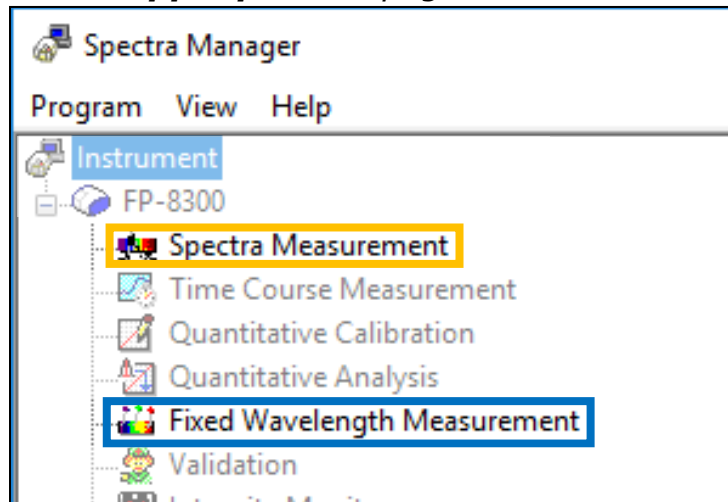
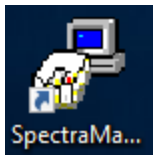
Mogelijk is dit een raman-sigitaal. Meet nogmaals het spectrum, maar met een 10 nm kortere excitatie golflengte. De emissie varieert mogelijk in intensiteit, maar niet in positie, terwijl de raman-piek naar kortere golflengte verschuift (ook ~ 10 nm). Is het oplosmiddel fluorescent? Meet eens een blanco.

Deze pagina is opzettelijk wit.

Handleiding Spectrofluorimeter Jasco FP-8300

Deze pagina is een zeer beknopte samenvatting als geheugensteun.
Voor **uitgebreidere uitleg** en een **stappenplan** zie pag 1 & 5.

Analyse software



= controleer of dit goed staat

3: Meting starten:
B voor blanco
S voor monster

2: Parameters;
Stel hier
golflengten in

1: Klik op auto-zero

