

MTech

Програмно-апаратний комплекс
для спектрофлуориметра

Perkin-Elmer LS-30

ІНСТРУКЦІЯ КОРИСТУВАЧА

Львів - 2013

1. Загальний опис

Програмне забезпечення **MTech LS-30** (далі "програма") призначене для програмного керування спектрофлуориметром **Perkin-Elmer LS-30** через інтерфейс **RS232C**, реєстрації, збереження та відтворення спектрів флуоресценції.

2. Технічні характеристики

Характеристика	Значення
Тип інтерфейсу	послідовний, стандарт RS232C
Параметри інтерфейсу	baud rate - 9600 data bits - 8 stop bits - 1 parity - none
Розпайка DATA-кабеля	25M pin LS-30 - 9F pin PC 2 - 3 3 - 2 7 - 5
Операційна система	Windows 98/2000/XP/Vista/7
Налаштування номеру COM порту	ручне (у файлі port.txt)
Налаштування параметрів COM порту	автоматичне (програма сама налаштовує параметри)
Максимальний об'єм бази збережених спектрів	1 млн (у папці data)

3. Комплектація

Data-кабель **RS232C** (25M-9F) - 1 шт

Інструкція користувача - 1 шт

Коротка інструкція - 1 шт

Програмне забезпечення **MTech LS-30** - 1 шт

4. Програмне забезпечення для реєстрації спектрів флуоресценції

4.1. Встановлення та налаштування

1. Створіть інсталяційну папку (наприклад D:/LS-30_install).
2. Перепишіть у цю папку інсталяційні файли програми.
3. Запустіть файл **SETUP.EXE** та виконайте стандартну процедуру інсталяції програми.

4. У папку програми переписіть вміст папки **to_copy**.

5. Перевірте, чи в папці програми є всі необхідні компоненти:

data (папка з виміряними спектрами)

MSVBVM50.DLL (файл, якого може і не бути, залежно від системи)

LS-30.exe (файл програми)

infa.txt (номер останнього виміряного спектру)

port.txt (номер COM-порту, до якого підключений прилад)

manual_LS-30.pdf (файл інструкції)

За потреби апгрейду програмного забезпечення зверніться до автора за адресою: i_patsay@franko.lviv.ua

4.2. Призначення

- Програмне керування пристроєм **LS-30**
- Реєстрація та графічне відображення вимірянних спектрів флуоресценції на екрані монітора
- Масштабування спектрів та визначення довжин хвиль максимумів (за положенням курсора мишки)
- Автоматичне нумерування та збереження вимірянних спектрів на жорсткому диску комп'ютера
- Копіювання спектрів у буфер обміну комп'ютера для перенесення інформації у інші програми (в числовому та графічному форматі)

4.3. Порядок роботи

При вимкненому приладі та ПК з'єднайте їх DATA-кабелем **RS232C** (таке з'єднання може бути постійним – після вимірювань немає потреби від'єднувати кабель). Якщо ПК має більше одного COM-порта, то переконайтесь, що в файлі **port.txt** записано правильний номер порту, до якого під'єднано прилад.

4.3.1. Запуск програми

Якщо планується вимірювання спектрів флуоресценції:

1. Увімкніть прилад і дочекайтесь завершення ініціалізації.

2. Виберіть потрібний "обрізаючий" фільтр, який розташовується перед детектором:

80 <Cnt1>	-	Фільтр відсутній
81 <Cnt1>	-	Фільтр з пропусканням 1%
82 <Cnt1>	-	Фільтр 350 нм
83 <Cnt1>	-	Фільтр 390 нм
84 <Cnt1>	-	Фільтр 430 нм
85 <Cnt1>	-	Фільтр 530 нм

За потреби змініть напругу фотопомножувача (див. С.3.16 з user manual приладу)

3. Активуйте порт RS232C для роботи з комп'ютером: **20 <Cnt1>**

4. Перейдіть в режим дистанційного керування – натисніть кнопку **"CE"** і не відпускаючи її клацніть на кнопку **"."** (крапка). На панелі приладу має засвітитись лампочка **"Ext.Cnt1"**.

Якщо НЕ планується вимірювання спектрів флуоресценції (програма запускається лише для перегляду попередньо виміряних спектрів), то пункти 1-4 пропустіть:

5. Запустіть програму **MTech LS-30** та виконайте необхідні вимірювання (після введення розчинів шприц краще не виймати з трубки) чи перегляд/копіювання спектрів. Якщо виникне потреба змінити фільтр чи інші параметри, які не контролюються з ПК, то перейдіть в режим керування з панелі приладу (натисніть **"CE"** і **"."**), задайте необхідні параметри і поверніться в режим дистанційного керування (знову натисніть **"CE"** і **"."**).

6. Для завершення роботи з приладом натисніть кнопку "PARKING", дочекайтесь паркування монохроматорів і вимкніть прилад. Процедура паркування переводить ґратки монохроматорів у "нульову позицію" та послаблює спеціальні пружини, які їх утримують. Сама процедура необов'язкова, однак дуже бажана – вона зменшує механічні навантаження на деталі систем монохроматорів під час простою приладу і загалом збільшує час їх нормальної роботи. Паркування можна виконати і в "ручному режимі" (коли прилад керується з панелі керування) такими командами:

0 <Ex.> та **0 <Em.>**

Бажано регулярно перевіряти правильність роботи монохроматорів. Найпростіше це зробити шляхом порівняння довжини хвилі збудження та положення максимуму емісії:

- в режим керування з панелі заберіть фільтр (**80 <Cnt1>**)
- перейдіть в режим дистанційного керування ("**CE**" і ".")
- введіть у кювету приладу дистильовану воду
- виконайте вимірювання флуоресценції з такими параметрами:

$\lambda_{\text{зб}} = 300 \text{ нм}, \quad \lambda_{\text{ем}} = 280\text{-}320 \text{ нм} \quad (\text{з кроком } 1 \text{ нм})$

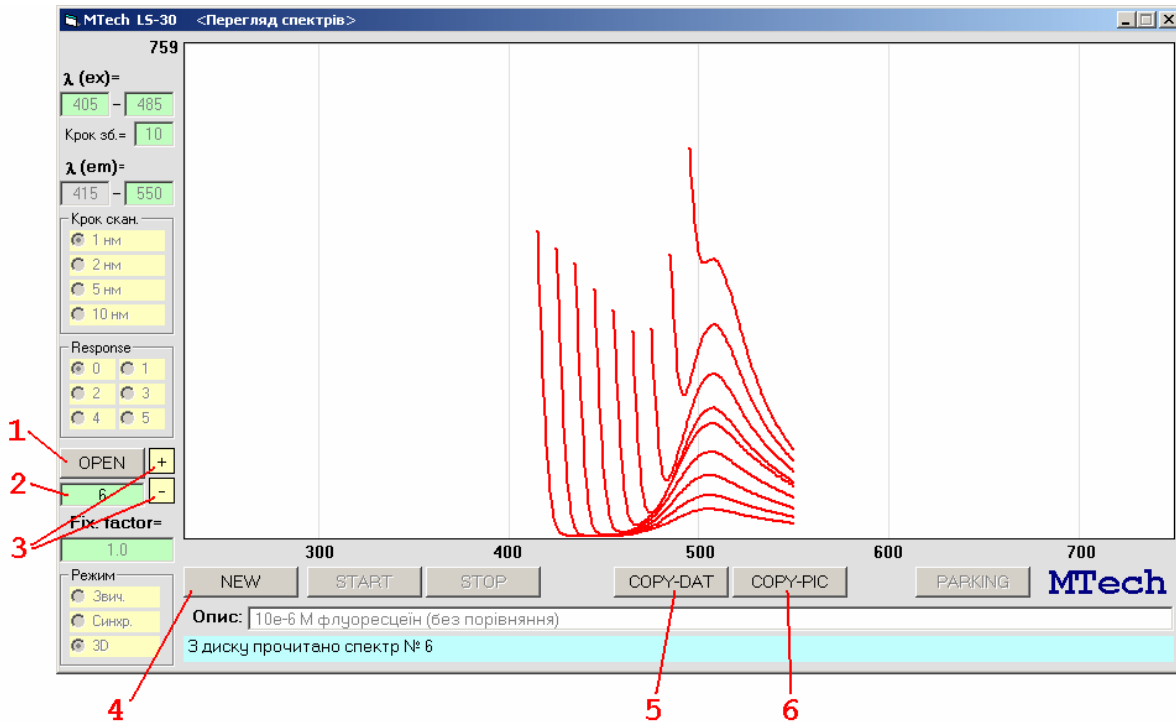
(етап "вимірювання фонових сигналів" пропустіть)

- максимум на одержаному спектрі повинен бути при 300 нм. Якщо максимум зміщений, то це означає, що система позиціонування монохроматорів розкалібрувалась (потрібно почистити відповідні оптичні датчики або під час вимірювань враховувати цей зсув).

4.3.2. Режим "Перегляд спектрів"

Після запуску програма автоматично зчитує з жорсткого диску комп'ютера останній виміряний спектр (чи серію спектрів) і переходить в режим "Перегляд спектрів".

Цей режим призначений для зчитування попередньо виміряних спектрів, їх перегляду та копіювання у буфер обміну комп'ютера. Основні елементи керування та інформаційні поля в цьому режимі:



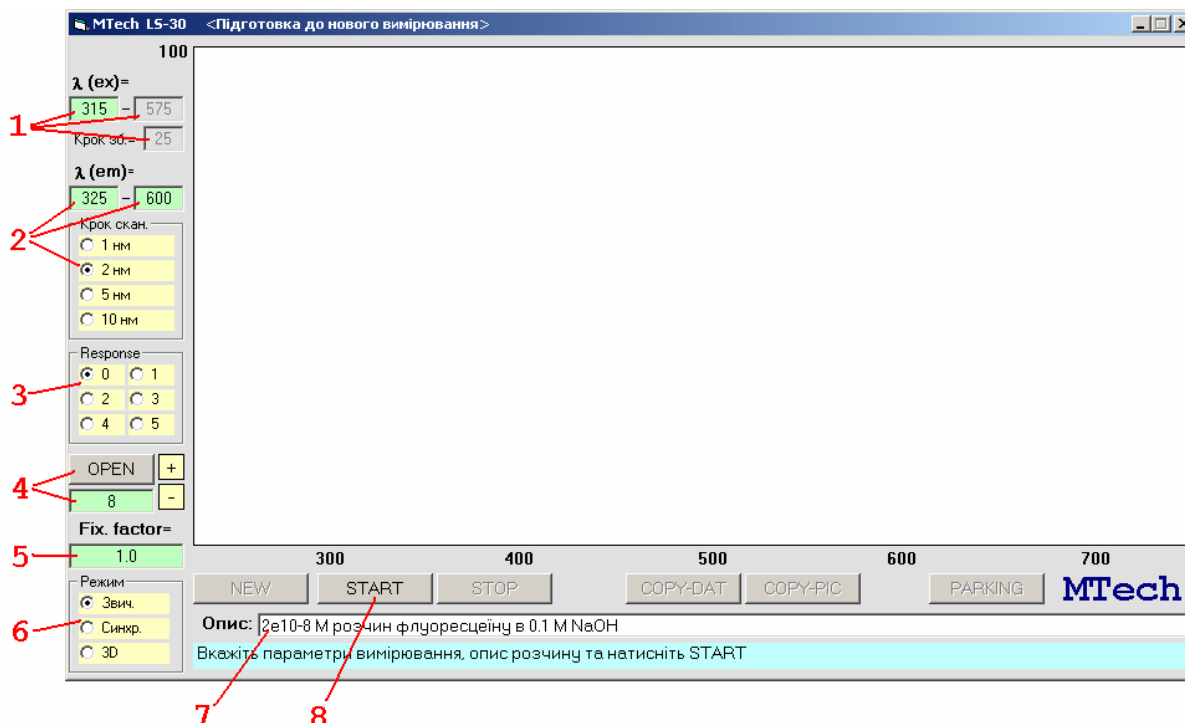
- 1 – прочитати спектр, номер якого вказаний у полі 2
- 2 – номер біжучого спектру чи серії спектрів
- 3 – зміна масштабу рисунка за віссю ординат (інтенсивність)
- 4 – перейти в режим "Підготовка до нового вимірювання"
- 5, 6 – скопіювати рисунок у числовому чи графічному форматі

В інших полях вказано параметри вимірювань: діапазони довжин хвиль збудження та емісії, крок зміни значень цих величин, значення **Response**, що визначає точність (та тривалість) вимірювань (див. С.3.21-3.22 з user manual приладу), значення **Fixed Factor**, що відповідає за масштабування спектрів (див. С.3.20 з user manual приладу), режим вимірювання і текстовий опис спектрів. Параметри, що відображено на сірому фоні, є неактивними в даному режимі вимірювань.

Формат даних, що заносяться у буфер обміну комп'ютера командою **COPY-DAT**, залежить від режиму вимірювання (див. розділ "Режими вимірювання" на С.10).

4.3.3. Режим "Підготовка до нового вимірювання"

Режим призначений для задання параметрів нового вимірювання. Перехід в цей режим здійснюється кнопкою **NEW**. Основні елементи керування та інформаційні поля в цьому режимі:



1 – значення чи діапазон довжин хвиль збудження та крок зміни цієї величини (залежно від режиму вимірювань)

2 – значення чи діапазон довжин хвиль емісії та крок зміни цієї величини (залежно від режиму вимірювань) – це параметри сканування спектрів

3 – значення **Response** (див. С.3.21-3.22 з user manual приладу) впливає на точність (та тривалість) вимірювань. Принцип вимірювальної системи приладу полягає в наступному. Світло з монохроматора емісії потрапляє на детектор – фотопомножувач, який перетворює його у відповідний фотострум. Вихід детектора підключено до прецизійного опору. Фотострум викликає появу напруги на цьому опорі, яка вимірюється схемою АЦП приладу. Точність вимірюваного значення інтенсивності люмінесценції залежить від тривалості вимірювання (чим вища тривалість тим краще стабілізується напруга на опорі) та кількості паралельних перетворень АЦП з наступним їх усередненням. Ці характеристики визначаються значенням **Response**. Рекомендуємо вимірювання при мінімальному значенні цього параметру (0) – тестування приладу не показали суттєвого покращення точності при збільшенні **Response**, однак значно зростала тривалість вимірювання спектрів

4 – номер, під яким спектр буде записано на диск після вимірювань. Якщо вибрати інший номер і натиснути **OPEN**, то можна прочитати спектр із зазначеним номером (відбудеться перехід в режим "Перегляд спектрів")

5 – значення **Fixed Factor**, що відповідає за масштабування спектрів (див. С.3.20 з user manual приладу). Функції масштабування рисунків закладено в самій програмі, тому немає сенсу змінювати цей параметр. Рекомендуємо значення 1

6 – вибір режиму вимірювань (звичайний, синхронний чи тривимірний). В залежності від вибраного режиму деякі параметри вимірювань стають неактивними (на сірому фоні) – їх значення не впливають на вимірювання (див. розділ "Режими вимірювання")

7 – короткий текстовий опис експерименту чи вимірювальних спектрів. Це поле можна залишити порожнім, однак ми рекомендуємо завжди заповнювати його – в майбутньому це спростить ідентифікацію раніше виміряних спектрів. Доцільно в цьому полі зазначити параметри вимірювань, які не контролюються з програми – вибраний фільтр та значення напруги на фотопомножувачі. Ці параметри суттєво впливають на чутливість вимірювань та значення інтенсивності у різних ділянках спектрів. Приклади описів:

"2*10e-6 М водн. флуоресцеїн, з врах. фону, фільтр 1%, 700В"

"5*10e-7 М спирт. акрид.жовт., без врах. фону, фільтр 530, 750В"

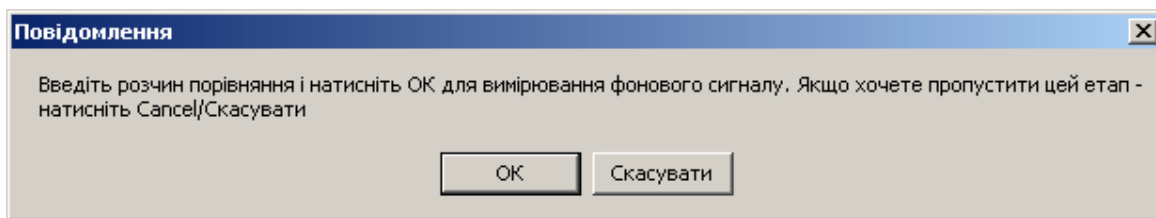
запис "X*10eXX" – це калькуляторний спосіб представлення чисел

запис "з врах. фону" означає, що спектр виміряно з врахуванням фонового сигналу (емісія від самого розчинника) і т.д.

8 – старт вимірювання (перехід в режим "Вимірювання спектру")

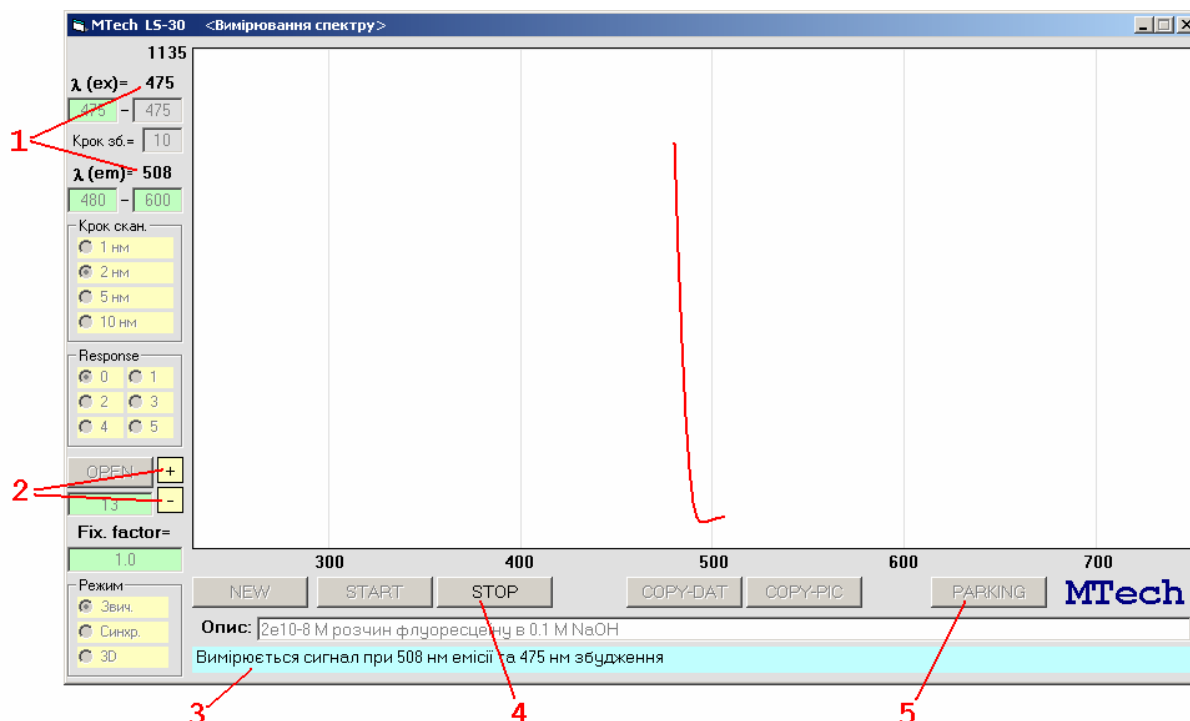
4.3.4. Режим "Вимірювання спектру"

Режим активний в процесі вимірювання. Перехід в цей режим здійснюється кнопкою **START**. Програма вмикає лампу збудження, налаштовує прилад і видає таке повідомлення:



Якщо Ви хочете здійснити вимірювання з врахуванням фонового сигналу, то слід ввести розчин порівняння (здебільшого це сам розчинник), натиснути **ОК** і дочекатись вимірювання сигналу емісії цього розчину. Якщо ж Ви не плануєте враховувати фон, то введіть досліджуваний розчин і натисніть **Скасувати/Cancel** – програма вважатиме, що люмінесценція фонового розчину у всьому діапазоні довжин хвиль дорівнює нулю. Якщо треба "прогріти" лампу збудження, то зробіть паузу перед натисканням цих кнопок. Однак не рекомендуємо цього робити – тестування приладу не показали значних відмінностей у спектрах з "прогрітою" і "холодною" лампою.

Основні елементи керування та інформаційні поля в цьому режимі:



1 – біжучі значення довжин хвиль збудження та емісії. Додатково ця інформація дублюється в полі 3

2 – зміна масштабу рисунка за віссю ординат (інтенсивність). Якщо в процесі вимірювання сигнал виходить за межі початкового масштабу (100), то програма самостійно здійснить перемасштабування

4 – дочасна зупинка вимірювань. Після натискання цієї кнопки виміряні значення НЕ БУДУТЬ записані на диск. Використовуйте кнопку, якщо зауважили, що неправильно вказали параметри вимірювань або забули ввести потрібний розчин тощо

5 – кнопка **PARKING** стане активною після завершення вимірювань. Натисніть цю кнопку перед вимиканням приладу – це переведе монохроматори у безпечну "нульову" позицію

Після завершення вимірювання програма вимикає лампу збудження для заощадження її ресурсу роботи та записує виміряний спектр/спектри на жорсткий диск комп'ютера.

4.3.5. Режими вимірювання

Звичайний режим

Спектр флуоресценції вимірюється при фіксованому значенні довжини хвилі збудження. Перед початком вимірювання оператор повинен задати значення довжини хвилі збудження ($\lambda_{зб}$) та діапазон сканування ($\lambda_{поч}$ і $\lambda_{кін}$). При копіюванні спектру (**COPY-DAT**) у буфер пам'яті заноситься таблиця з двох колонок – довжина хвилі емісії та інтенсивність:

λ_1	I_1
λ_2	I_2
λ_3	I_3
...	...
λ_n	I_n

Кількість точок залежить від діапазону ($\lambda_{поч}$ – $\lambda_{кін}$) та кроку сканування спектра ($\Delta\lambda$). У цьому режимі довжина хвилі збудження може потрапляти в діапазон сканування ($\lambda_{поч} < \lambda_{зб} < \lambda_{кін}$), хоч здебільшого $\lambda_{зб}$ вибирають меншою за $\lambda_{поч}$. Зроблено це спеціально, щоб можна було перевіряти правильність роботи монохроматорів шляхом порівняння значень $\lambda_{зб}$ та положенням максимуму на спектрі флуоресценції (при $\lambda_{зб} > 350$ нм доцільно виставити 1% атенюатор для уникання зашкалювання сигналу) – детальніше див. на С.5.

Синхронний режим

Спектр флуоресценції вимірюється при фіксованій різниці значень довжини хвилі збудження та емісії: $\lambda_{ем} - \lambda_{зб} = \text{const} \geq 10$ нм. Перед початком вимірювання оператор повинен задати діапазон сканування ($\lambda_{поч}$ і $\lambda_{кін}$) та зазначену різницю ($\lambda_{ем} - \lambda_{зб}$), яка не повинна бути меншою за 10 нм. Слід задавати коректні значення щоб виконувались такі умови:

$$(\lambda_{поч} - \Delta\lambda) \geq 230$$

$$(\lambda_{кін} - \Delta\lambda) \leq 650$$

Вказані умови спричинені робочим діапазоном довжин хвиль лампи збудження (від 230 до 650 нм).

При копіюванні спектру (**COPY-DAT**) у буфер пам'яті заноситься таблиця з двох колонок – довжина хвилі емісії та інтенсивність:

λ_1	I_1
λ_2	I_2
λ_3	I_3
...	...
λ_n	I_n

Потрібно пам'ятати, що значення інтенсивності у кожному рядку цієї таблиці виміряне при певному ("своєму") значенні $\lambda_{зб}$.

Тривимірний режим (3D)

У цьому режимі реалізується одночасна розгортка і за $\lambda_{ем}$ і за $\lambda_{зб}$. Фактично вимірюється серія спектрів при різних фіксованих значеннях $\lambda_{зб}$. При копіюванні спектру (**COPY-DAT**) у буфер пам'яті заноситься таблиця з декількома колонками. Перший рядок таблиці є інформаційним – він містить значення $\lambda_{зб}$. Інші рядки містять самі спектри флуоресценції – у першій колонці є значення $\lambda_{ем}$, а в інших – інтенсивність флуоресценції:

11111*	$\lambda_{зб,1}$	$\lambda_{зб,2}$	...	$\lambda_{зб,m}$
λ_1	I_1	I_1	...	I_1
λ_2	I_2	I_2	...	I_2
λ_3	I_3	I_3	...	I_3
...	...	...	...	...
λ_n	I_n	I_n	...	I_n

* 11111 – це просто мітка інформаційного рядка таблиці

Перед початком вимірювання оператор повинен задати діапазон значень довжини хвилі збудження ($\lambda_{зб,поч}$ – $\lambda_{зб,кін}$), крок зміни цієї величини, кінцеве значення діапазону сканування ($\lambda_{ем,кін}$) та крок сканування. Слід задавати коректні значення щоб виконувалась така умова:

$$(\lambda_{ем,кін} - \lambda_{зб,кін}) > 10$$

Потрібно пам'ятати, що у цьому режимі окремі значення інтенсивності фактично не вимірюються, а приймаються рівними 0 – це стосується точок, для яких різниця ($\lambda_{ем} - \lambda_{зб}$) є меншою за 10 нм.

Для кращого розуміння розглянемо конкретний приклад. Нехай вибрано діапазон значень довжини хвилі збудження 300–360 нм з кроком 10 нм, кінцеве значення діапазону сканування становить 500

нм, а крок сканування 5 нм. Після вимірювань при копіюванні спектру (**COPY-DAT**) у буфер заноситься таблиця:

11111	300	310	320	330	340	350	360
310	x	0	0	0	0	0	0
315	x	0	0	0	0	0	0
320	x	x	0	0	0	0	0
325	x	x	0	0	0	0	0
330	x	x	x	0	0	0	0
335	x	x	x	0	0	0	0
340	x	x	x	x	0	0	0
345	x	x	x	x	0	0	0
350	x	x	x	x	x	0	0
355	x	x	x	x	x	0	0
360	x	x	x	x	x	x	0
365	x	x	x	x	x	x	0
370	x	x	x	x	x	x	x
375	x	x	x	x	x	x	x
...	...	...	...	...	...	...	...
500	x	x	x	x	x	x	x

де x – виміряні значення інтенсивності флуоресценції.

5. Рекомендації для ефективної роботи

- Регулярно перевіряйте правильність роботи монохроматорів, як це описано на С.5

- Перед вимірюванням потрібно вводити багато параметрів. Щоб заощадити час попередньо відкрийте спектр з подібними параметрами і лише після цього переходьте в режим "Підготовка до нового вимірювання" (кнопка **NEW**) – менше параметрів треба буде змінювати

- Після введення розчину НЕ ВИЙМАЙТЕ дозатор (шприц) з вхідної трубки до завершення вимірювання (під час тестувань з виїнятим дозатором неодноразово фіксувалось потрапляння повітря в робочу кювету приладу і зумовлені цим "дивні" флуктуації на спектрі)

- Після завершення роботи заповніть кювету дистильованою водою або етиловим спиртом (і дозатор також не виймайте)

- Не нехтуйте вимірюванням фонові лінії, або хоча б попередньо переконайтесь, що сам розчинник зовсім не флуоресціює у вибраному діапазоні спектру емісії та збудження

- Ретельно ведіть робочий журнал, в якому зазначаєте параметри вимірювань, номери спектрів, дату та опис експерименту і т.п.

- Намагайтесь працювати при фіксованій напрузі на фотопомножувачі. Якщо її все ж треба змінити, то обов'язково зазначаєте це в робочому журналі та описі спектрів

MTech

Програмно-апаратний комплекс
для спектрофлуориметра

Perkin-Elmer LS-30

<http://www.lnu.edu.ua/faculty/Chem/mtech/mtech.htm>

Дата розробки комплексу _____

Дата введення в експлуатацію _____

Контактна інформація щодо сервісного обслуговування:

i_patsay@franko.lviv.ua , mtech_lab.ukr.net

Виробник _____



Замовник _____