

(Tina 樣品量測操作前置步驟 ATR-FTIR@2020.07.03)

前置準備

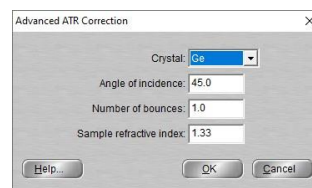
1. 取冰塊 將待量測樣品放入冰浴槽 (溫度低於 3 度)中
2. 開水循環冷熱交換器、開電腦、開溫度控制器、開電腦螢幕
3. 儀器加入液態氮(如果長時間為使用 先將氮氣管放入 MCTA 桶(放入離底部約 1/3 的位置)將殘餘水氣吹乾)
4. 等待 ATR-FTIR 平台溫度達到 23 度左右、樣品幾乎解凍後 開 IR 機器電源、開外接紅外光電源 開 OMNIC 7 (Resolution (cm⁻¹):4 Aperture (μm):74 Spectral range (cm⁻¹) : 4000 – 400 Acquisition (sec): 600、900
5. 等待光源及偵測器溫度穩定後(約 15 分鐘)

樣品量測

6. 事先要先將 ATR-FTIR 平台(Ge 晶體)清潔
 - 先用水清潔再用酒精 (酒精會使蛋白質沉積)
 - 注意不要擦到 KAPTON 膠帶
 - 水或酒精先滴在 Ge 晶體，再用擦拭紙或棉棒清潔
7. 先取背景
8. 將模式調為吸收，確認 SERIES 設定參數
9. 滴樣品
10. 取 SERIES (每個樣品乾燥的時間不同 所以血清、血漿開始收集為 70 秒總共收集 600 秒 尿液開始收集會根據樣品不同而進行調整 通常開始時間為 3 分鐘或是 5 分鐘 總共收集有 600 秒及 900 秒) 存檔

樣品分析

1. 開 OMNIC 8.2(含可開啟 SERIES 的軟體)
2. 開 SERIES 先將光譜做 AUTO BASELINE 存檔
3. 開啟 BASELINE 後的 SERIES 檔 然後將光譜 分割(split) 分割完後為 spa 檔
4. 開啟分割光譜 將光譜做 ATR CORRECTION 校正 (血清 1.33 血漿 1.35 尿液 1.48) 校正完後存成 CSV 檔

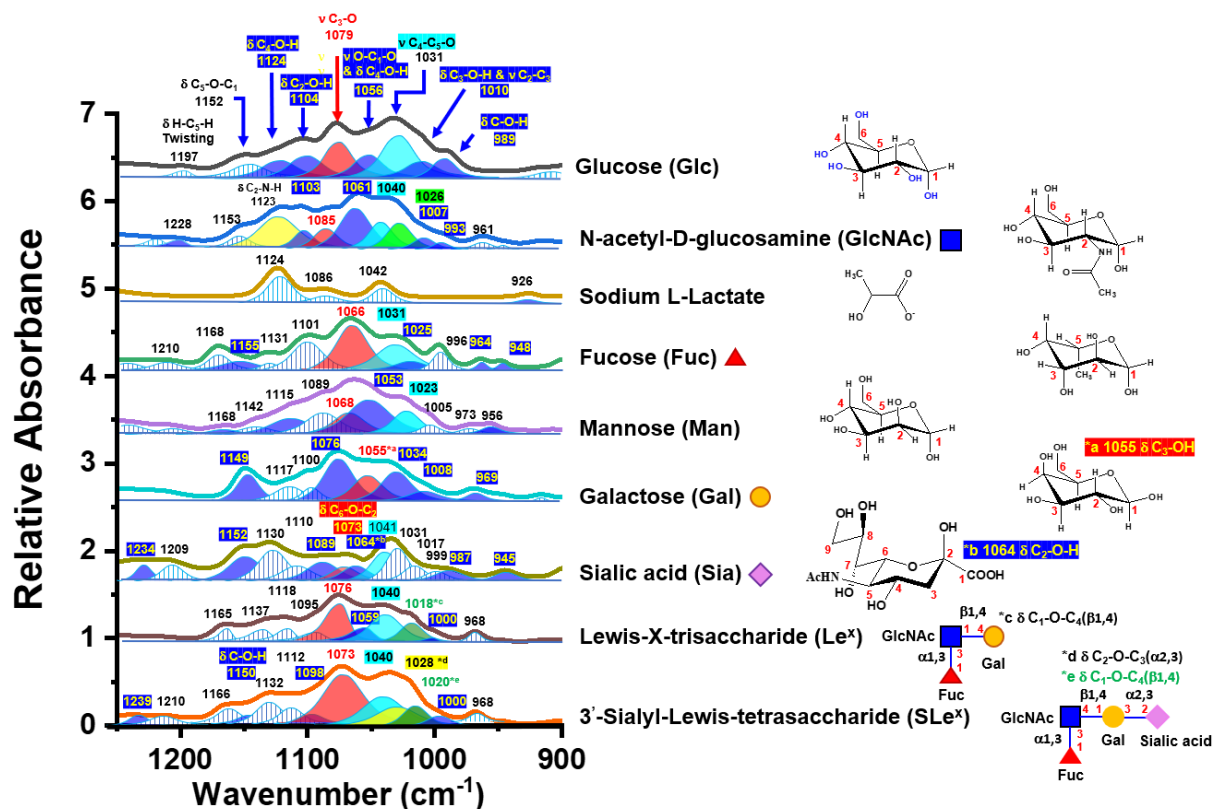
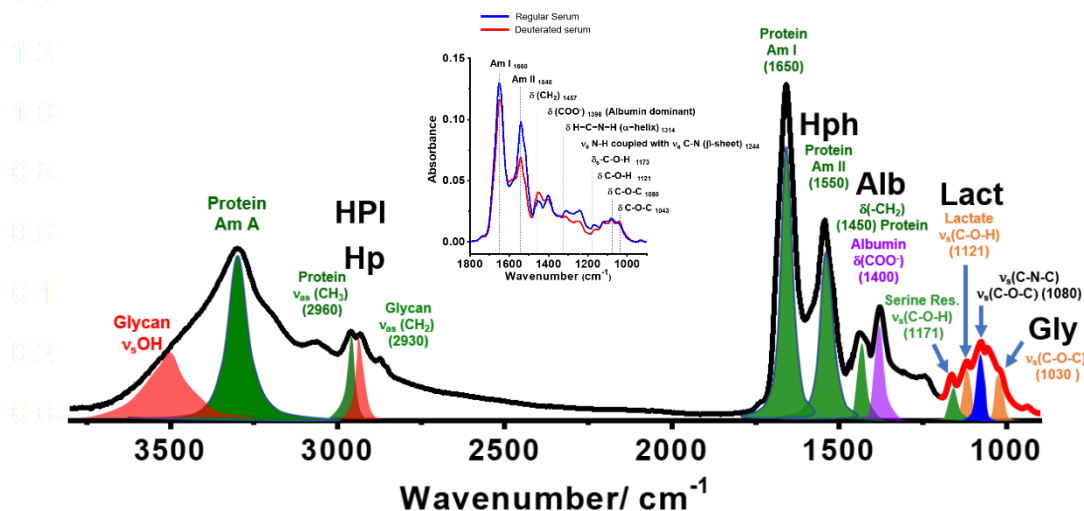


5. 將光譜依個位、十位、百位 分成不同的資料夾
6. 定出想要分析的 PEAK
7. 開啟 TIME RESOLVE 軟體 LOAD 進光譜 調整分析的 PEAK 開始分析 存檔 記錄 PEAK HEIGHT RATIO 的值
8. 計算 HPI 值
9. 畫出乾燥後光譜

醫院血清分離 2000 rpm 20min

$$RAD(v_1, v_2, t, T) = \frac{PH_1(v_1, t, T) - PH_2(v_2, t, T)}{PH_1(v_1, t, T)}$$

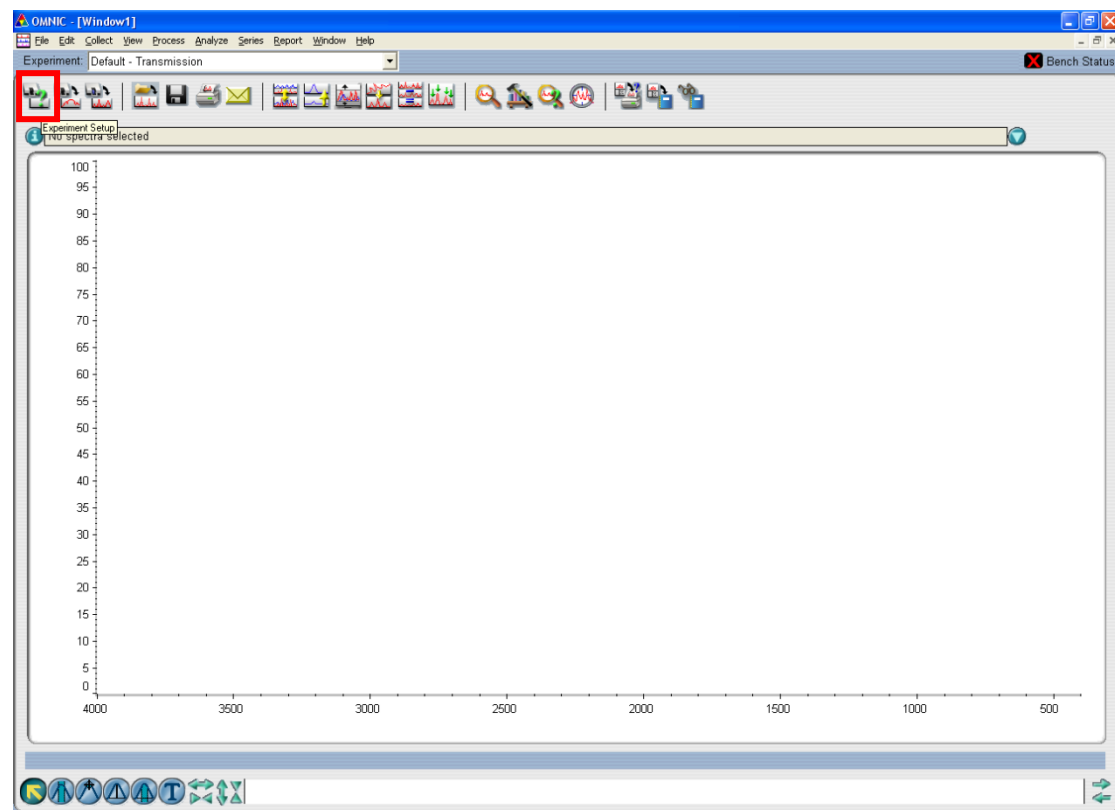
Hydrophobicity (Hp) $\frac{PH_1(\nu_{as}(CH_2), t, T) - PH_2(\nu_{as}(CH_2), t, T)}{PH_1(\nu_{as}(CH_2), t, T)}$	Hydrophilicity (Hph) $\frac{PH_1(\text{Am II}, t, T) - PH_2(\text{Am I}, t, T)}{PH_1(\text{Am II}, t, T)}$	Albumin (Alb) $\frac{PH_1(\delta(COO^-)_{1400}, t, T) - PH_2(\delta(CH_3)_{1450}, t, T)}{PH_1(\delta(COO^-)_{1400}, t, T)}$
Lactate (Lact) $\frac{PH_1(\delta(COH)_{1121}, t, T) - PH_2(\delta(COH)_{1171}, t, T)}{PH_1(\delta(COH)_{1121}, t, T)}$	Glycosylation (Gly) $\frac{PH_1(\delta(COH)_{1030}, t, T) - PH_2(\delta(COH)_{1171}, t, T)}{PH_1(\delta(COH)_{1030}, t, T)}$	Hydrophobicity Index (HPI) $\frac{PH_1(\nu_{as}(CH_2), t, T)}{PH_2(\nu_{as}(CH_2), t, T)}$



Thermo-FTIR 儀器操作流程

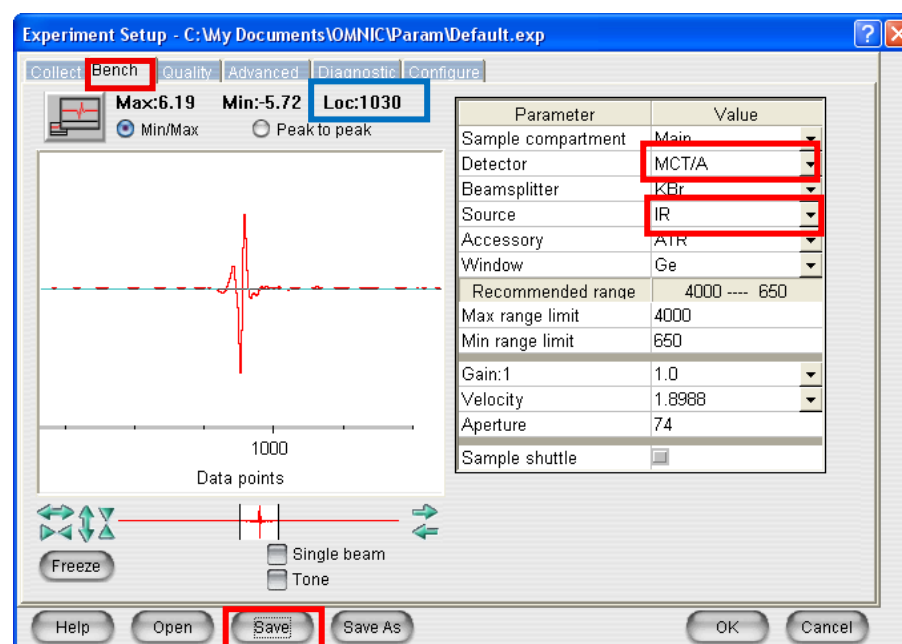
先加液態氮、開啟外接紅外光

開啟 OMNIC 程式，在程式畫面按下紅色部分(Experiment Setup)



會出現以下視窗 (設定實驗參數)

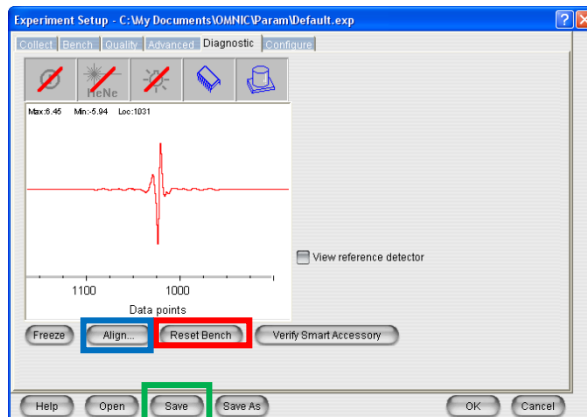
Experiment Setup → Bench (確認紅色部分) → Save → OK



先校正干涉儀位置至 Loc : 1024 (最大零遲滯點, ZPD=0)

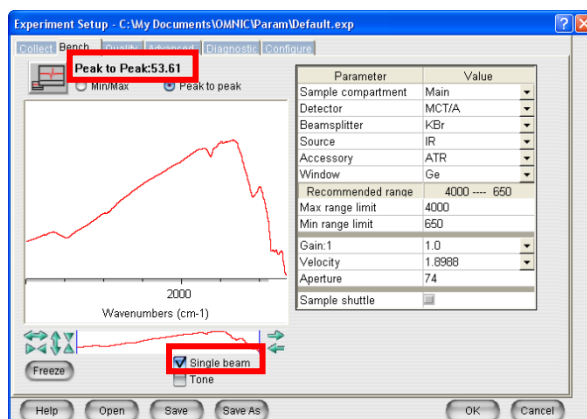
Experiment Setup → Diagnostic → Reset Bench (紅色部分) → Save → OK

跳動的幅度還是很大的話，再 Align... (藍色部分) → Save → OK



接著確認 Single beam 的強度

Experiment Setup → Bench (確認紅色部分) → 將 Single beam 打勾 → Save → OK



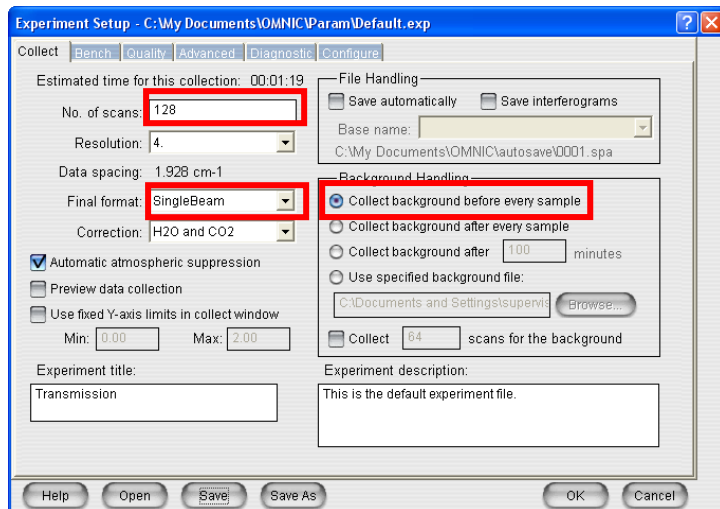
取背景光譜

調完上述部分後，先取背景光譜，按下紅色部分(Experiment Setup)



顯示視窗如下

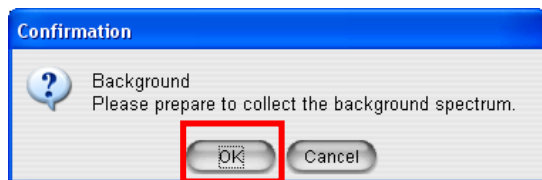
Experiment Setup → Collect(確認紅色部分) → Save→OK



按下紅色部分(Collect Background)



跳出以下視窗，按 OK



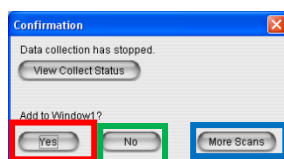
之後背景光譜開始收集

收完背景光譜後出現以下視窗

不繼續收按下 Yes (紅色部分)

想要增加掃描數按下 More Scans (藍色部分)

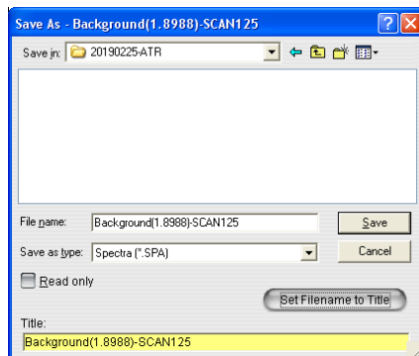
不想此次的光譜按下 No (綠色部分)



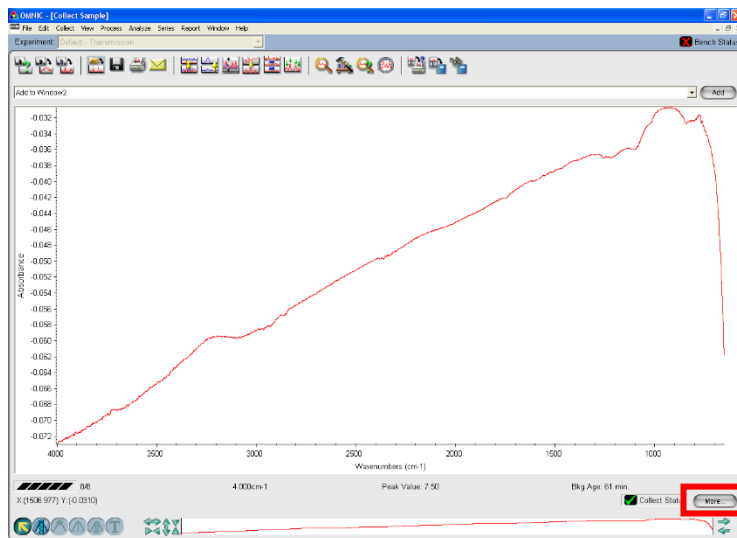
按下 Yes 後，回到 Window 1 → 存檔



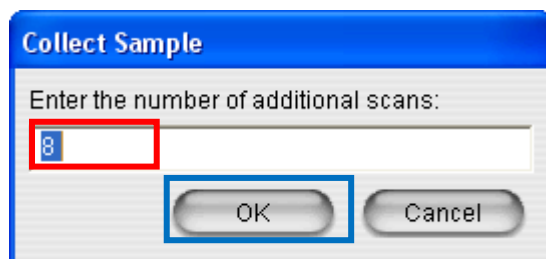
File → Save as (紅色部分)或者按藍色部分
會出現以下視窗(選擇要存的資料夾及檔名) → Save



按下 More Scans 則會出現以下視窗，按下 More (紅色部分)



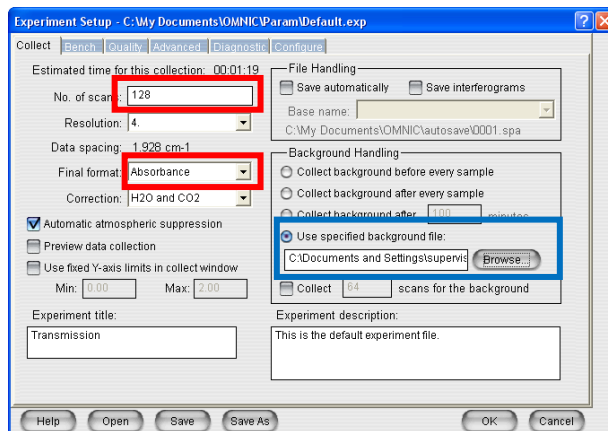
會出現以下視窗，選擇要增加的 Scan 數目(紅色部分)，按下 OK (藍色部分)



按下 OK 後即開始掃描

取樣品光譜

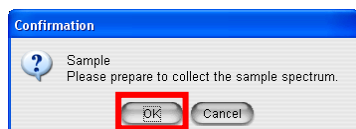
Experiment Setup → Collect (確認紅色部分) → 藍色部分按下 Browse... 選背景光譜 → Save → OK



按下紅色部分(Collect Sample)



跳出以下視窗，按 OK



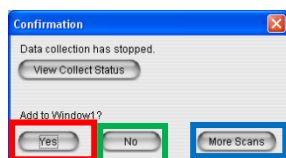
之後樣品光譜開始收集

收完樣品光譜後出現以下視窗

不繼續收按下 Yes (紅色部分)

想要增加掃描數按下 More Scans (藍色部分)

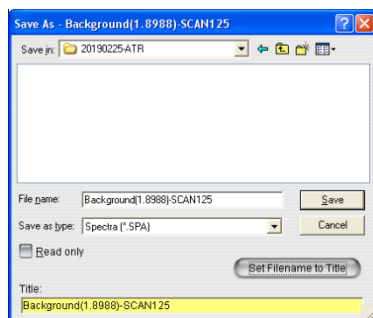
不想此次的光譜按下 No (綠色部分)



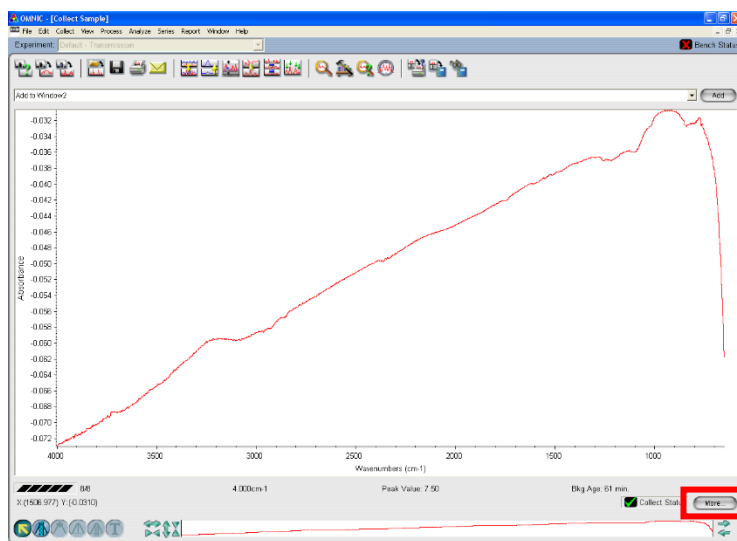
按下 Yes 後跳回到 Window 1 → 存檔



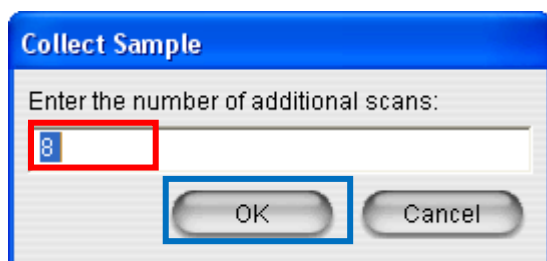
File → Save as (紅色部分)或者按藍色部分
會出現以下視窗(選擇要存的資料夾及檔名) → Save



按下 More Scans 則會出現以下視窗，按下 More



會出現以下視窗，選擇要增加的 Scan 數目(紅色部分)，按下 OK(藍色部分)

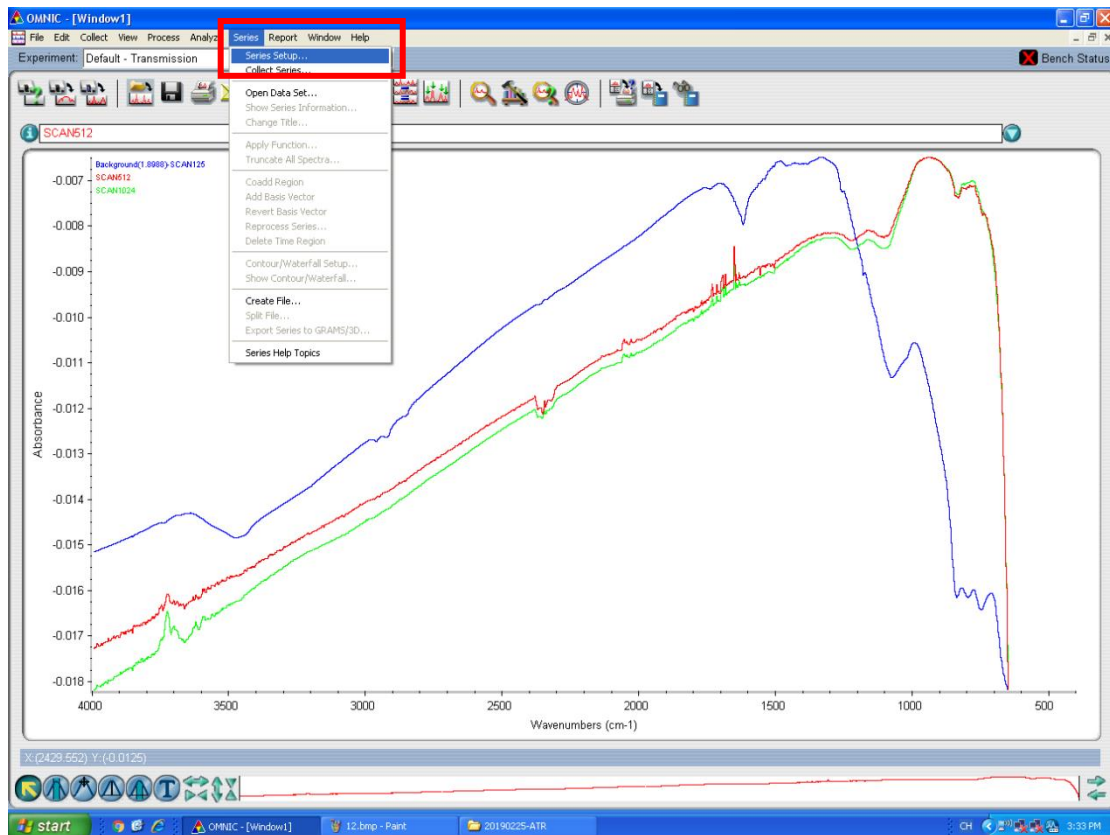


按下 OK 後即開始掃描

接著取 Series

取樣品 Series 光譜

Series → Series Setup (紅色部分)



出現以下視窗

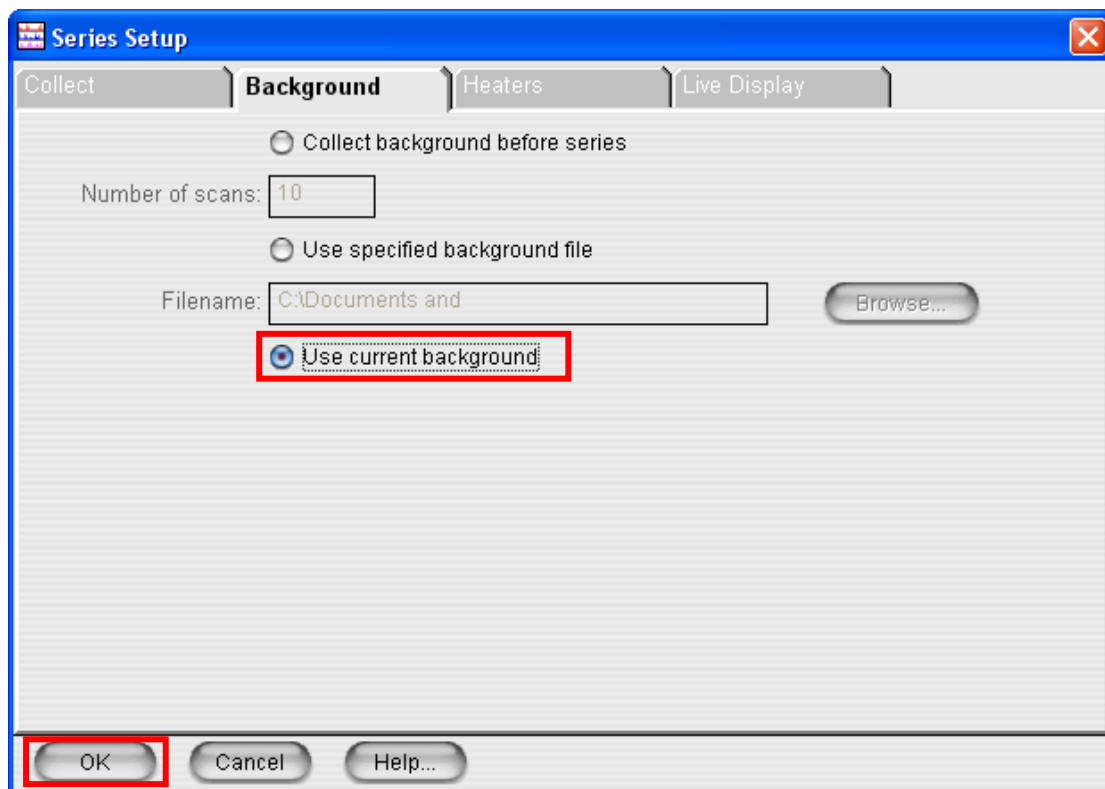
Series → Series Setup → Collect (確認紅色部分)

The screenshot shows the 'Series Setup' dialog box with the 'Collect' tab selected. Several fields are highlighted with red boxes:

- Data collection type:** Real time
- No. of scans per spectrum:** 1024
- Total collection time (sec):** 300.00
- Resolution (cm⁻¹):** 4
- Velocity (cm/sec):** 1.8988
- Time axis unit:** Second

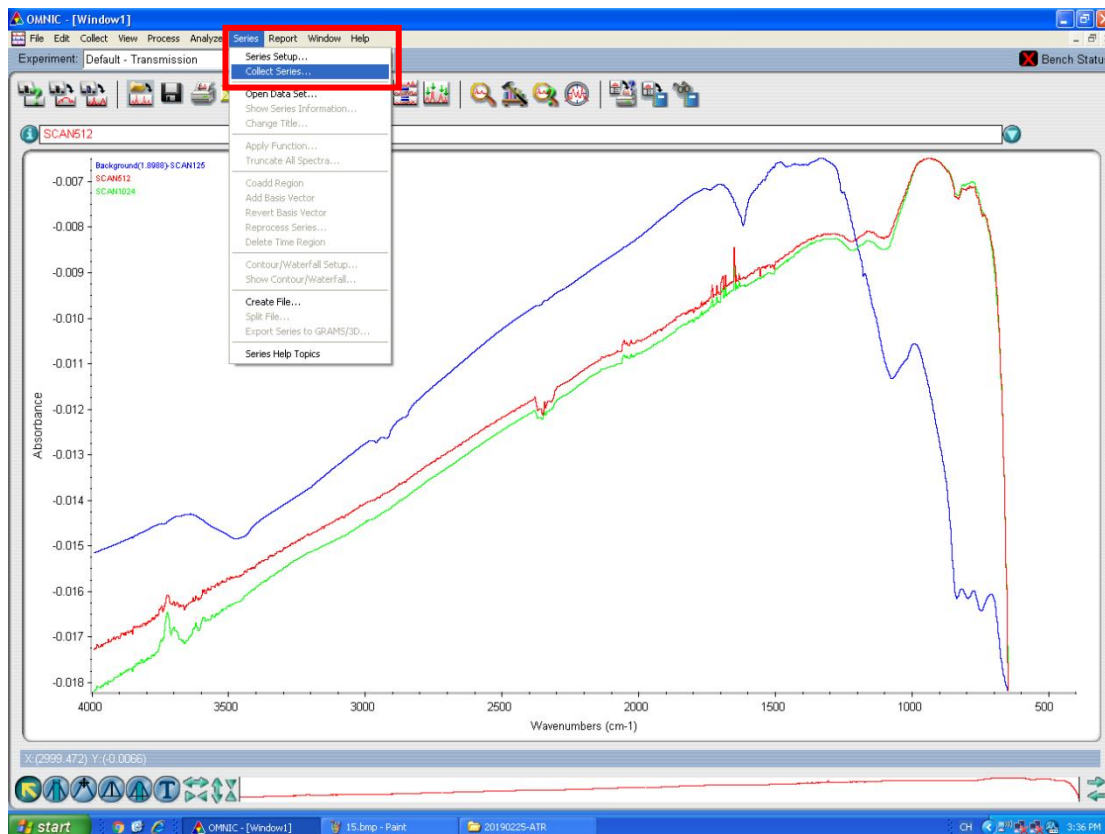
Other visible settings include: Sampling interval (sec): 408.0957, Number of spectra in series: 0, Estimated file size (bytes): 15660, Disk space left (bytes): 4115488768, Repeat time (sec): 0.00, and checkboxes for 'Use repeat time', 'Start collection at external trigger', 'Bidirectional collection', 'Minimize scan length', and 'Split bidirectional interferograms'.

Series → Series Setup → Background (選擇紅色部分即可) → 按下 OK

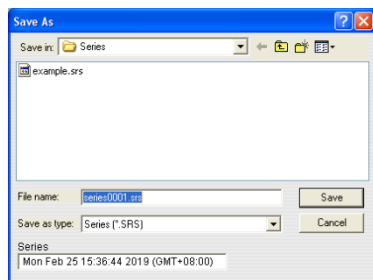


取 Series

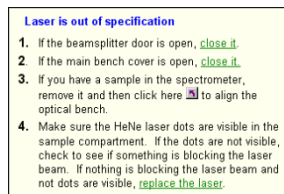
Series → Collect Series (紅色部分)



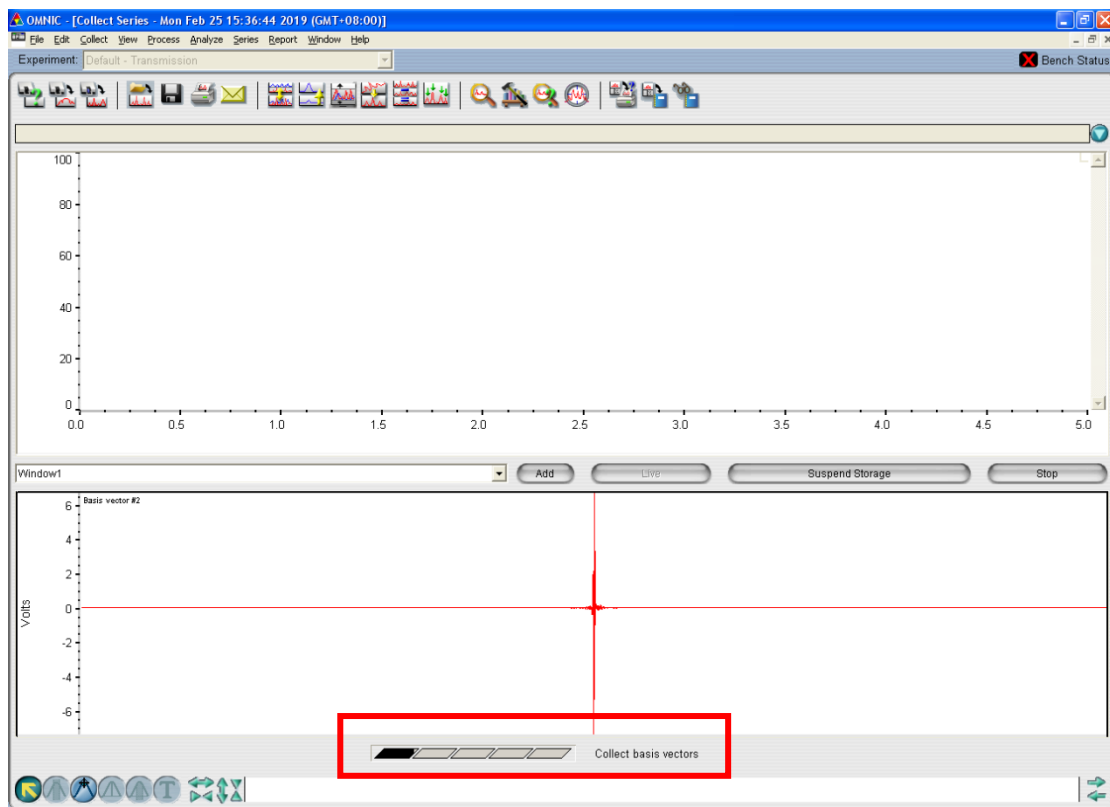
先存檔(選擇資料夾→命名檔名)



在存檔切記不能出現以下視窗，不然檔案的命名會不完全，或者是根本沒存到此檔案



存檔後完會先跑干涉儀的校正

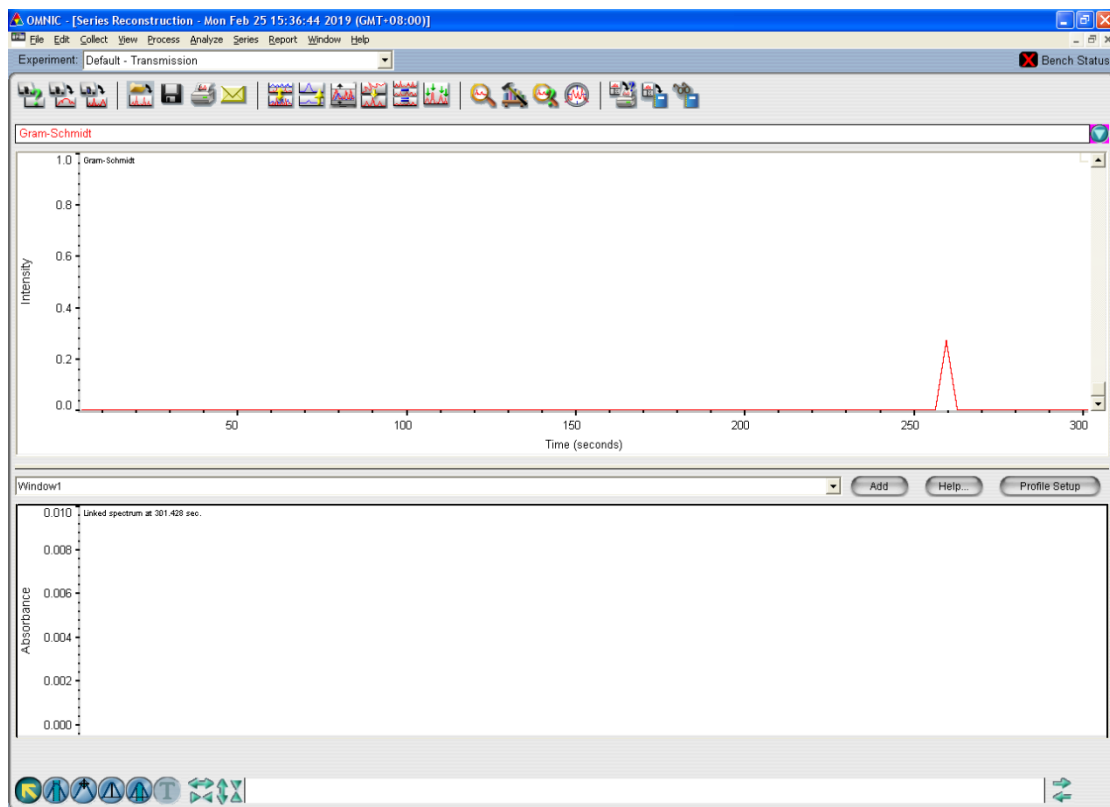


校正完後出現以下視窗，按下 OK



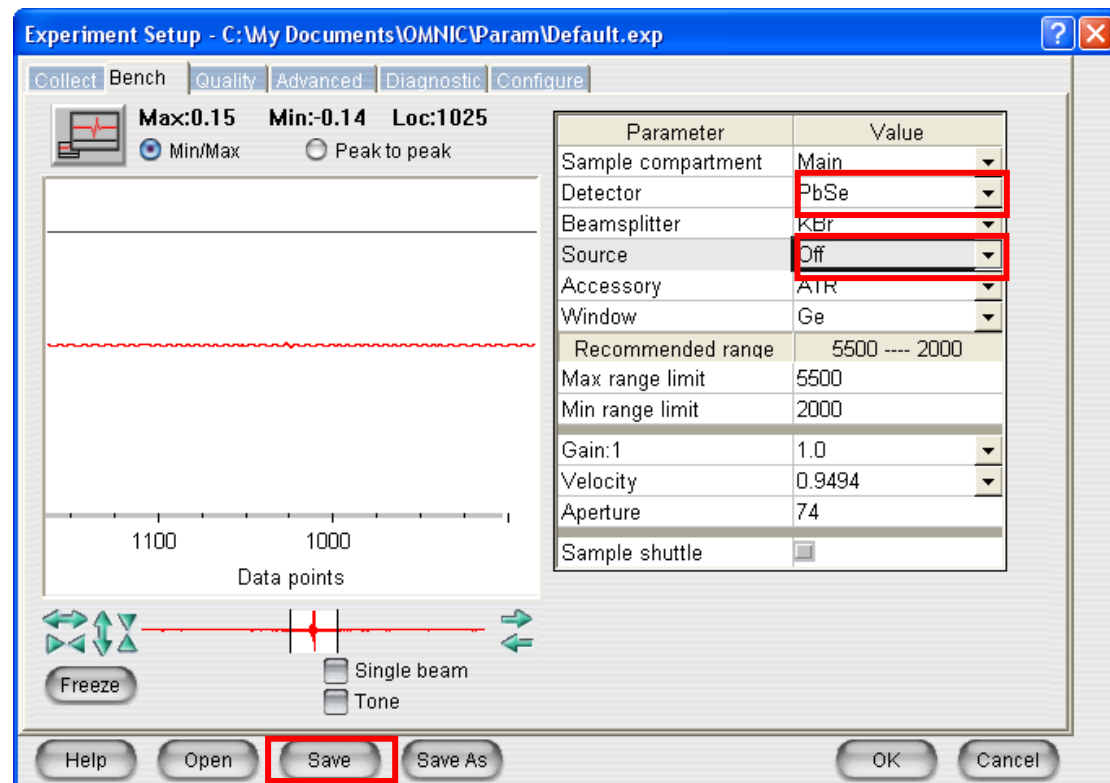
開始收 Series

以下的視窗代表跑完 Series



收下一個樣品只需 Series → Collect Series → 存檔 → 校正 → 按 OK 即可

用完儀器後，將 Detector 調回 PbSe 、 Source 調回 Off (紅色部分) → Save
→OK



之後將 OMNIC 關 → 電腦關 → 外接紅外光關 → 即可

設定完 Series 調回到 Experiment Setup → Collect 出現以下視窗是正常的

Experiment Setup - C:\My Documents\OMNIC\Param\Default.exp

Collect | Bench | Quality | Advanced | Diagnostic | Configure

Estimated time for this collection: 00:00:04

No. of scans: 8

Resolution: 4

Data spacing: 1.928 cm⁻¹

Final format: Absorbance

Correction: H₂O and CO₂

☒ Automatic atmospheric suppression

☐ Preview data collection

☐ Use fixed Y-axis limits in collect window

Min: 0.00 Max: 2.00

Experiment title: Transmission

File Handling

☐ Save automatically ☐ Save interferograms

Base name: C:\My Documents\OMNIC\autosave\0001.spa

Background Handling

☐ Collect background before every sample

☐ Collect background after every sample

☒ Collect background after 100 minutes

☐ Use specified background file: C:\Documents and Settings\supervis Browse...

☐ Collect 64 scans for the background

Experiment description: This is the default experiment file.

Help Open Save Save As OK Cancel

ATR-FTIR 實驗條件紀錄

Instrument : NEXUS 470 FTIR	
Detector	LN-cooled MCT
Beam Splitter	KBr
Device	PIKE MIRacle ATR
Loc.	1025

Experiment Setup	
Spectral range	4000 - 650 cm ⁻¹
Resolution	4 cm ⁻¹
Spectrum Spacing	1.9285 cm ⁻¹
Number of scan	Series - 2 scan
Aperture	74 μm
Atmospheric Suppression	V

Remark	
pipette	Eppendorf (0.1-2.5μL)
tip	#Cat23850T Sorenson™
Samples' volume	0.5 (μL)
N ₂ Purge	1000mL per min