

HITACHI L-8900

胺基酸分析儀標準操作程序



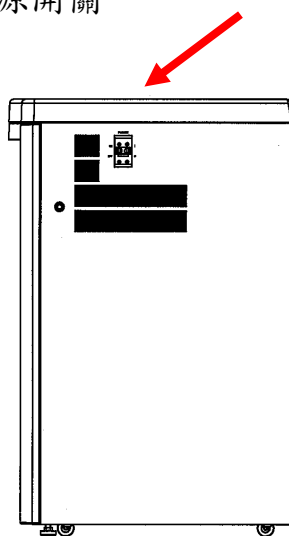
總代理 益弘儀器股份有限公司

目次

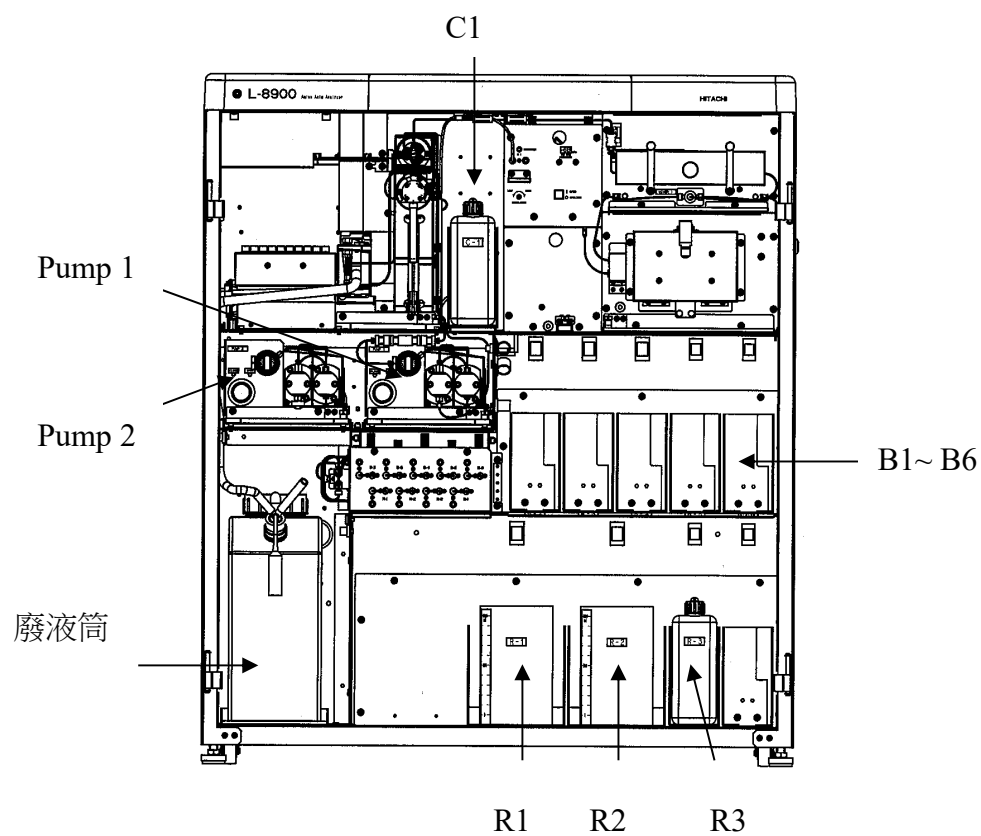
1. 儀器連線	2
2. 更換緩衝液及反應溶劑	5
3. 暖機	10
4. 分析方法的建立	11
5. 設定分析步驟	13
6. 開啟數據檔案	16
7. 積分方法的修正	17
8. 報告格式設定	23
9. 離線	26

儀器連線

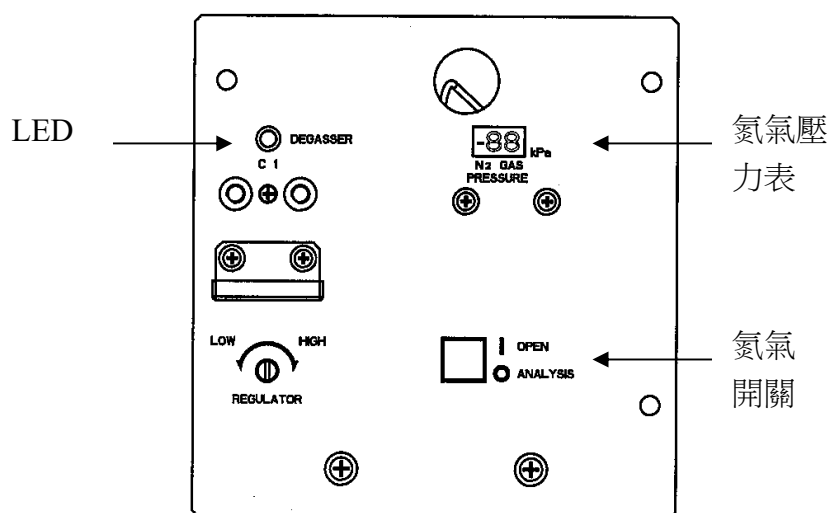
1. 請先打開電腦及儀器右側電源開關



2. 打開儀器正面的左右二扇門




3. 請確認緩衝液(buffer)B1~B6 是否足夠且瓶蓋是否緊閉
4. 反應溶劑(ninhydrin reagent)R1~R2 是否足夠且瓶蓋是否緊閉
5. 反應溶劑(ninhydrin reagent) R3 (5% Ethanol 約 1L) 是否足夠且瓶蓋是否緊閉
6. 請確定氮氣鋼瓶內壓力還有 100kPa(約 1kg/cm²) ，鋼瓶出口壓力約為 40 kPa(請不要超過於 50kPa) ，並確定氮氣壓力表顯示在 34~40 kPa 間
7. 若是需要更換緩衝液或反應溶劑，請將氮氣開關切換至 OPEN 的位置，等待約三分鐘氮氣壓力表降至 0kPa 再行更換溶劑
8. 更換緩衝液或反應溶劑後，請確認瓶蓋是否緊閉並將氮氣開關切換至 ANALYSIS 位置，確定氮氣壓力表顯示在 34~40 kPa 間

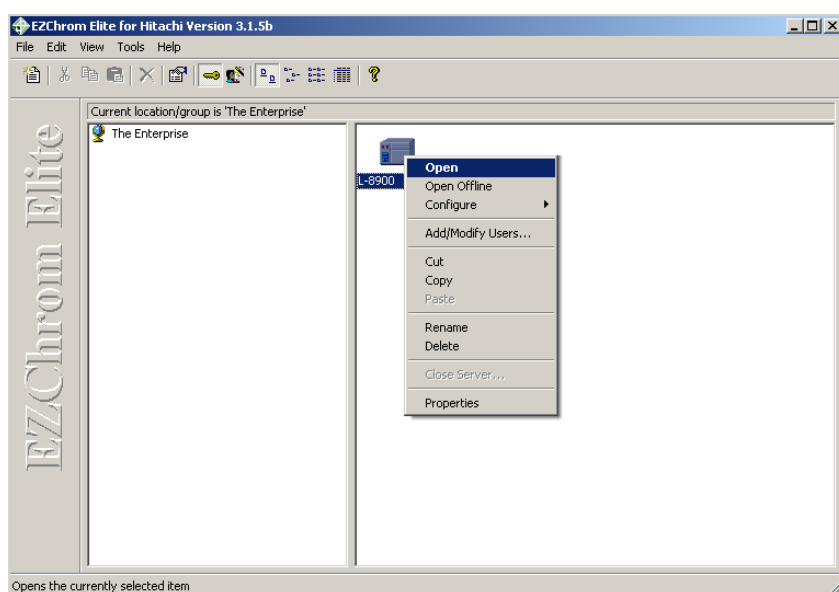


9. 請確認 C1 是否裝有足夠的去離子水(每個樣品約需要 1mL 的純水)

10. 請確定廢液筒內還有足夠空間(約 10L)可以容納廢液

11. 點選電腦螢幕上 

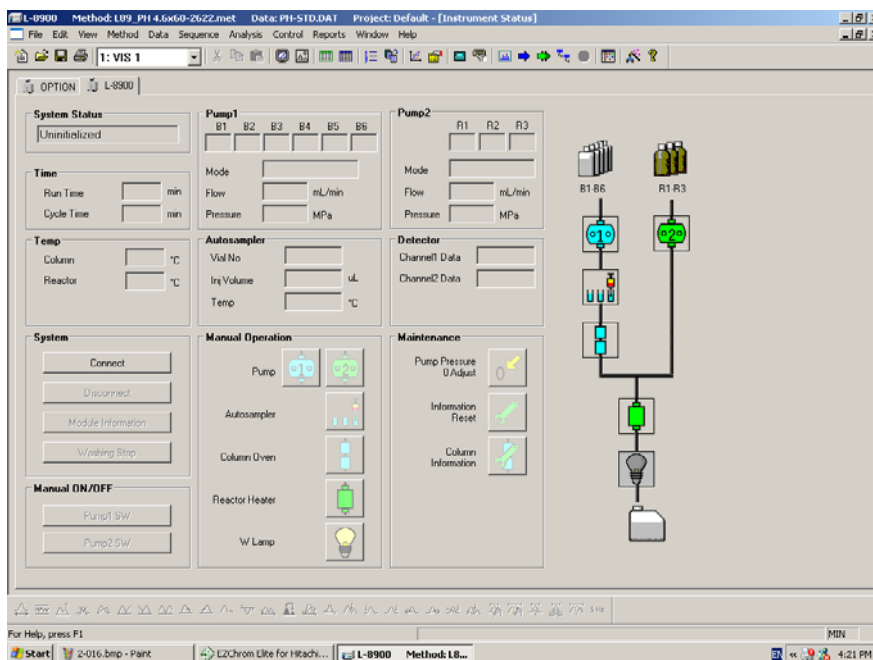
12. 請在此視窗中按滑鼠左鍵點選 L-8900/8930，若需要離線處理數據，請按滑鼠右鍵選擇 Open offline



13. 請選擇上方功能表 Control / Instrument Status，選擇 L-8900/8930

表單，並按下 **Connect** 鈕與 L-8900/8930 進行連線

更換緩衝液及反應溶劑

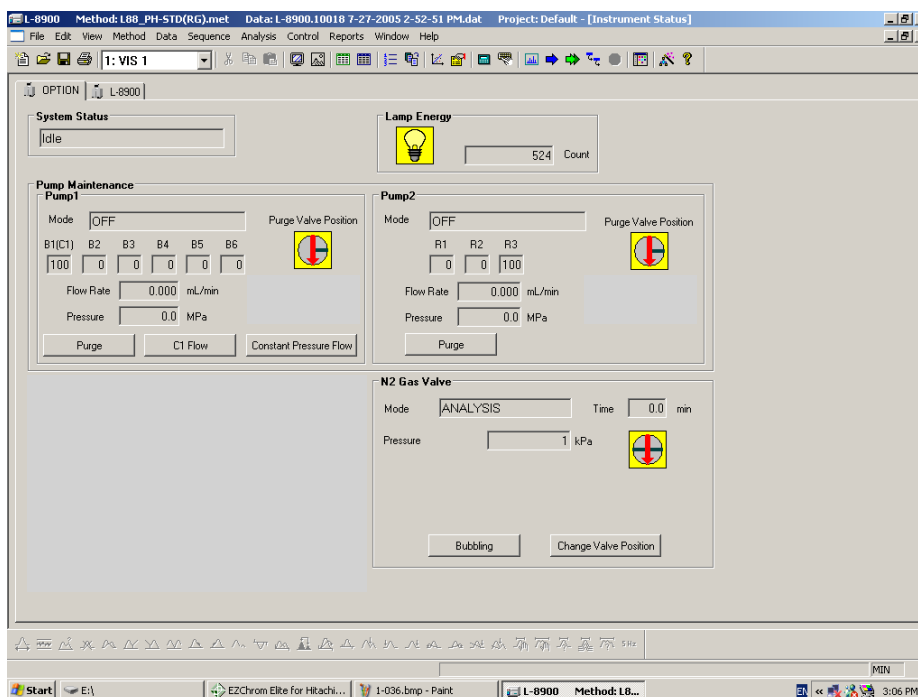


14. 若是有更換緩衝液(B1~B6)反應溶劑(R1~R3)及 C1 請依 15~31 的

步驟進行液體更新的動作，若沒有更換溶液, 請從步驟 32 開始

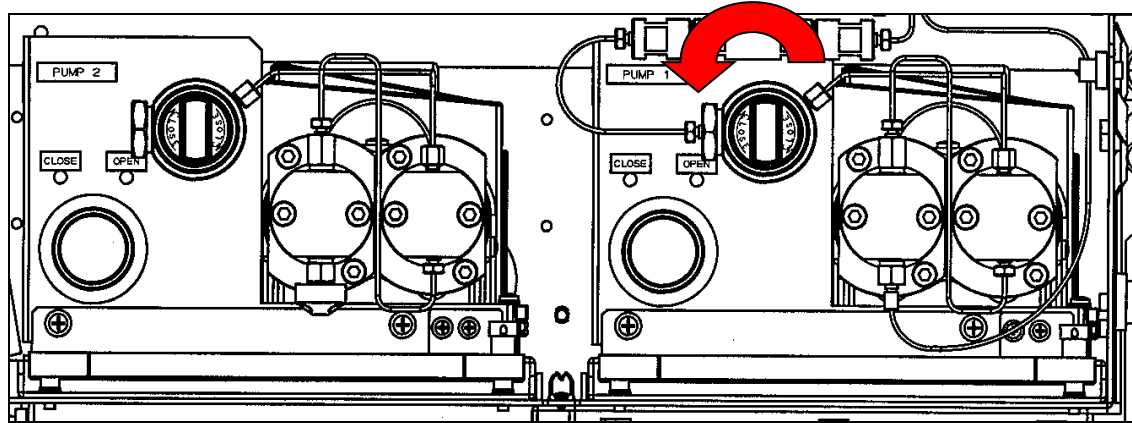
15. 選擇 OPTION 表單，按下 **Bubbling** 輸入 30min 再按下 Start 開始

對溶液瓶內充氮氣，待 30 分鐘後氮氣壓力表是否顯示在 34~40kPa

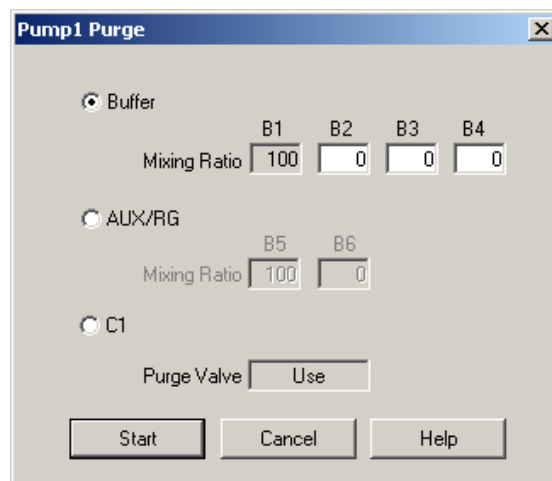


PUMP 1 管路內緩衝液更新方法

16. 將 Pump 1 的廢液閥逆時鐘方向打開 1/2 圈



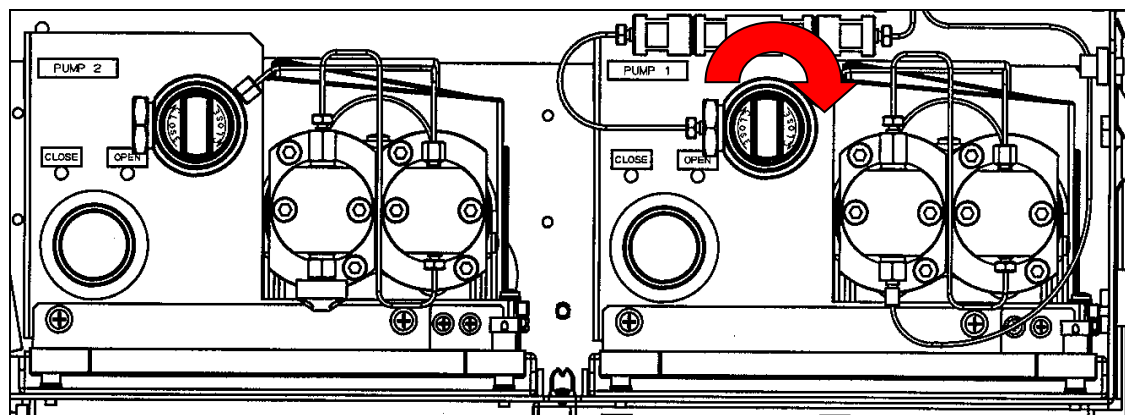
17. 待 **Bubbling** 完成後，請按下 Pump 1 內的 Purge 鈕，選擇 Buffer 將 B2~B4 的比例設為 25，並按下 Start




18. 等待約 8 分鐘後，請將 Buffer 改成 AUX/RG，並將 B6 的比例設為 50 後按下 Start 鈕

19. 等待約 4 分鐘後，請再按一次 Start 鈕完成 Pump1 的管路清洗

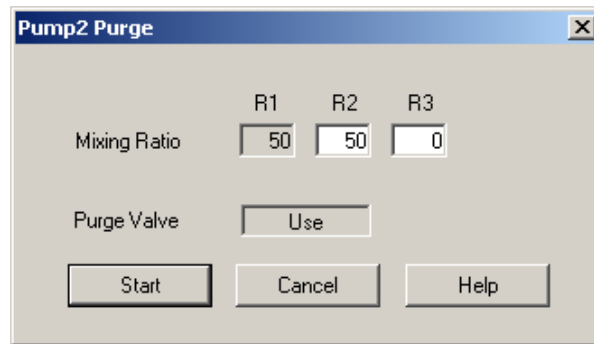
20. 請將 Pump1 的廢液閥以順時鐘方向關緊



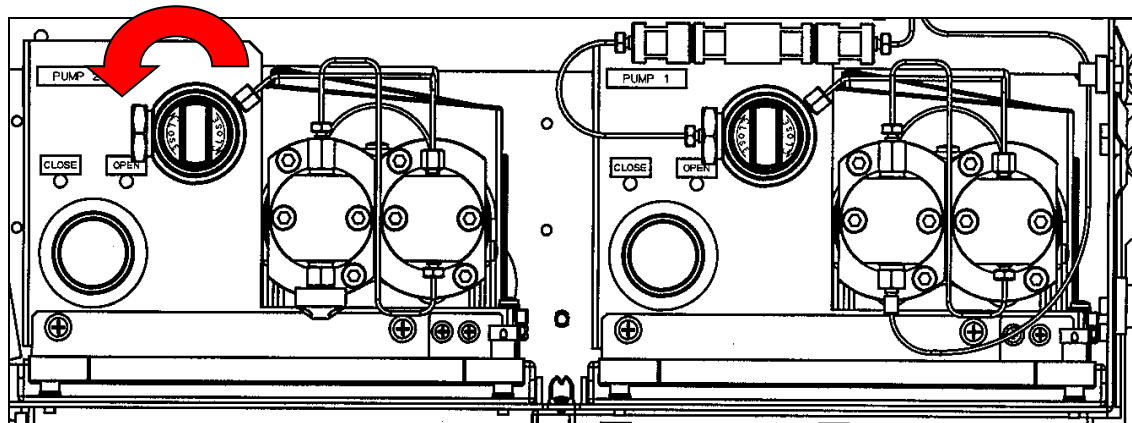
21. 請點選 L-8900/8930 表單內的  Pump 1 鈕，設定流量為 0.100mL/min，B1 比例為 100%後按下 OK 鈕

PUMP 2 管路內反應劑更新方法

22. 請點選 L-8900/8930 表單內的  Pump 2 鈕，



23. 請將 Pump 2 的廢液閥逆時鐘方向打開 1/2 圈




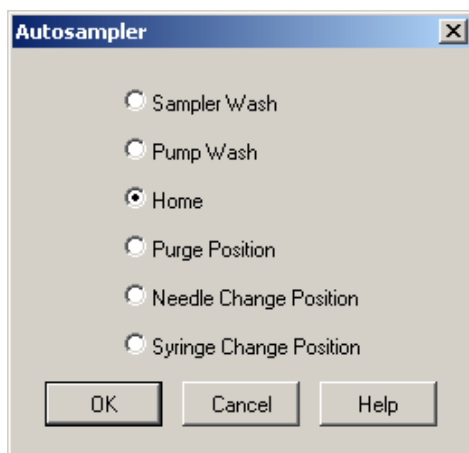
24. 請在 R2 及 R3 比例都設為 33 後按下 Start 鈕

25. 等待約 6 分鐘後再按一次 Start 鈕完成 Pump2 的管路清洗


26. 請將 Pump2 的廢液閥以順時鐘方向關緊

自動取樣器管路溶劑更新方式

27. 請點選 L-8900/8930 表單內的  Autosampler 鈕

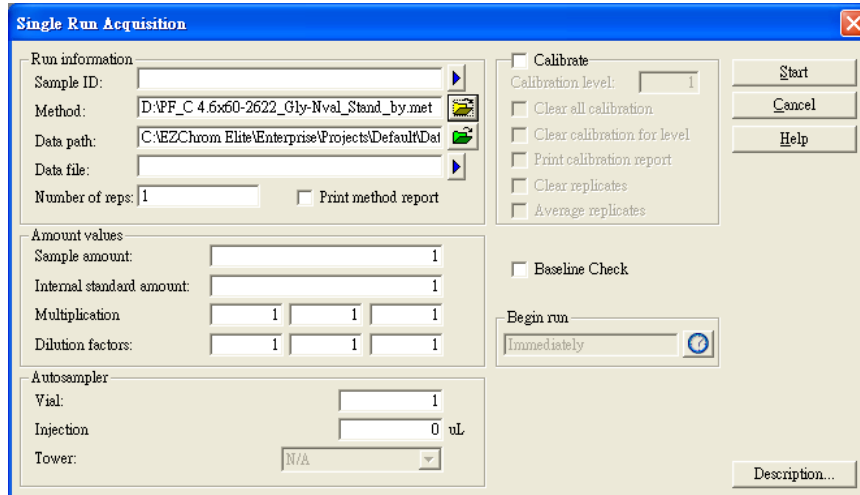


28. 請選擇 **Sampler Wash** 並按下 **ok** 鈕，此時右邊的針筒會清洗三次，若是針筒內有氣泡存在，請再多清洗幾次

29. 請再按一次  鈕，選擇 **Pump Wash** 並按下 **ok** 鈕，此時會清洗 Pump 1 及 Pump 2 的推桿

暖機步驟


30. 請按下上方  (Single Run)



31. 請在 Run information 欄位中，Method 選擇使用 Stand-by 的方法

32. 在 Autosampler 的欄位中 Vial 輸入樣品擺放位置的編號 1，在

Injection 填入樣品注射量為 0

33. 按下 ，開始暖機，時間約需要 20~30 分鐘

分析方法的建立

34. 選擇上方功能表 File / Method / Open 開啟舊方法，例如

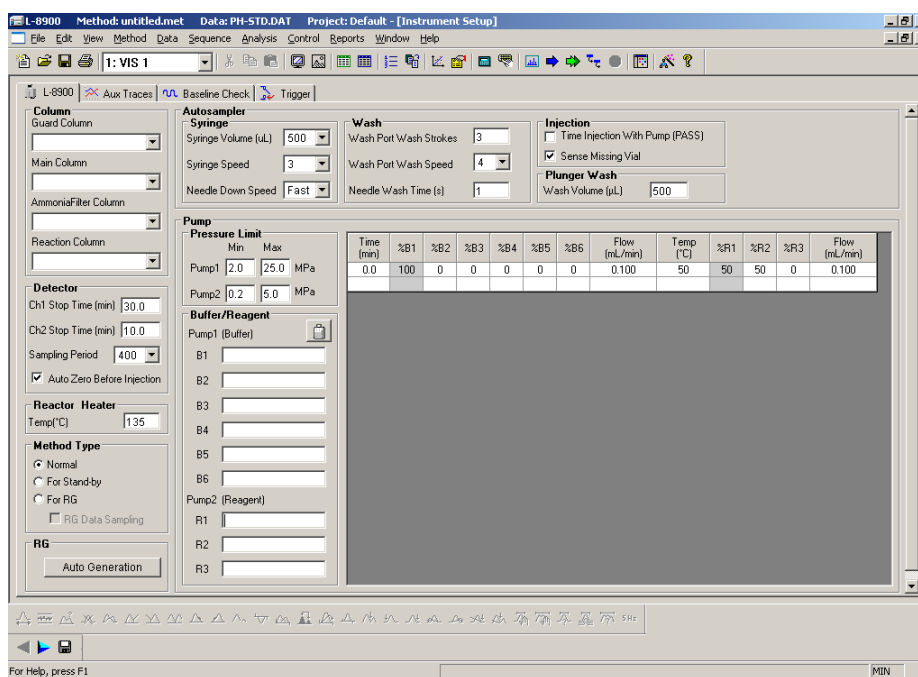
D:\Method\L-8930 PH (路徑檔名:_____)，


再按下上方功能表 Method / Instrument Setup ...Ctrl+Shift+F2

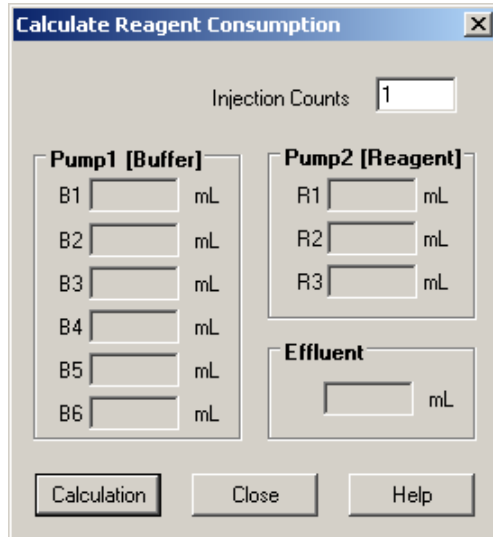
設定(分析方法內容會依不同分析方法，不同 Column 及不同批的


緩衝液、反應溶劑而有所修正，建議使用工程師已設定並測試正

常的方法)




35. 請按  Calculate Reagent Consumption，在 Injection Counts 內輸入待分析樣品的總分析次數(樣品數+1)，並按下 Calculation 則會出現緩衝液及反應劑的使用量，請再一次確認緩衝液、反應劑及廢液筒容量是否足夠



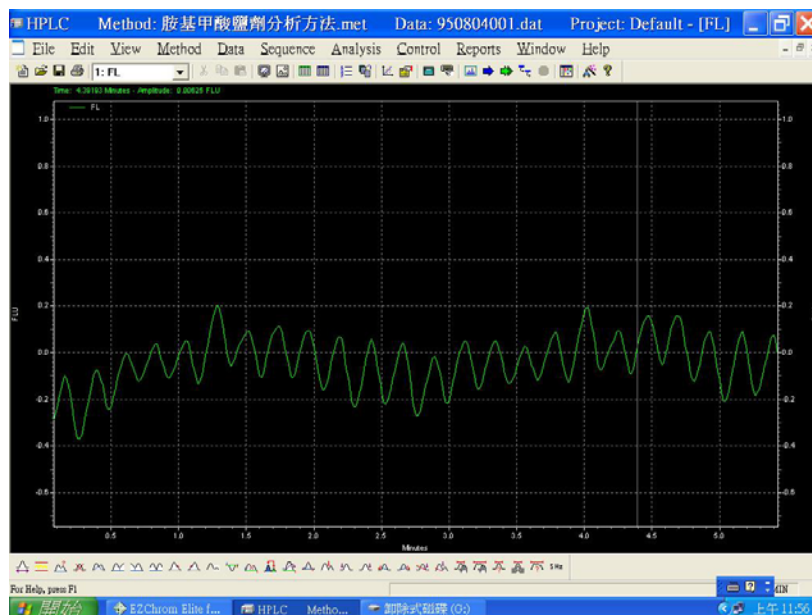
36. 按下  Trigger 確定 Type 為 External

37. 選擇上方 File / Method / Save 存檔或 Save as 另存新檔，請
記住檔案存放位置，例如 D:\Method\L-8930 PF


38. 若是需要在開始前，如清洗 column 或在平衡時觀察基線狀態，

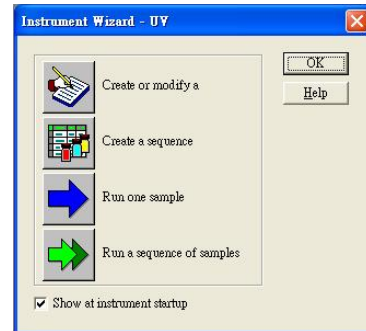
請按下  Preview 或選擇上方功能表 Control / Preview Run，停

止請按下  Stop Run

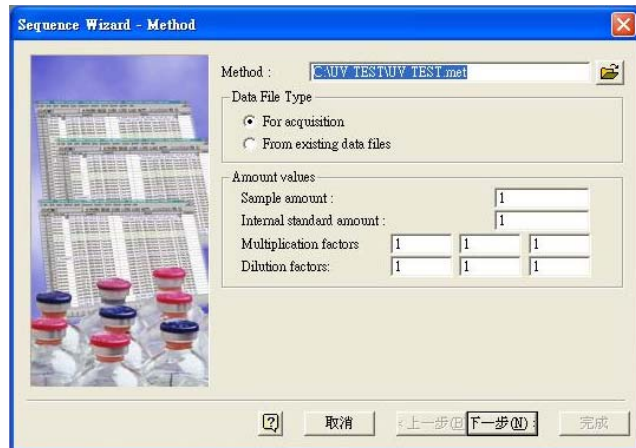


如何開始分析

39. 請點選上方  Instrument wizard 請
點選 Create a sequence



40. 請在 Method 中選擇所使
用的分析方法，例如
D:\Method\L-8930
PF.met (請記住 Method
路徑及名稱



_____) ，按下 **下一步(N)**：

41. Data path 設定分析結果儲存的路徑(例如輸入 D:\950808\，若
是該位置並無此資料夾，軟體會自動新增 950808 的資料夾)，Data
file 設定分析結果所儲存的檔案名稱 (同一資料夾內，不能有重
覆檔名存在)可以按下

 選擇 Increment

Number，在 Data file
會出現<001>，檔名後面
會加上 001 第二個檢體



會自動遞增為 002，Number of unknown …請填入檢測樣品數目及

Repetition per run 輸入重覆次數，按下 

42. 請在 First vial 輸入第一

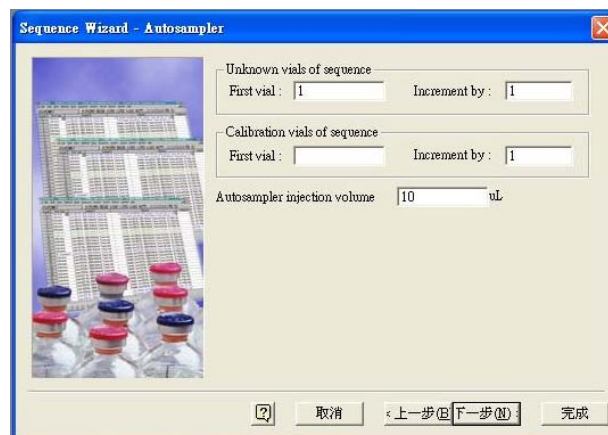
個樣品的位置編號，及

Autpsampler injection

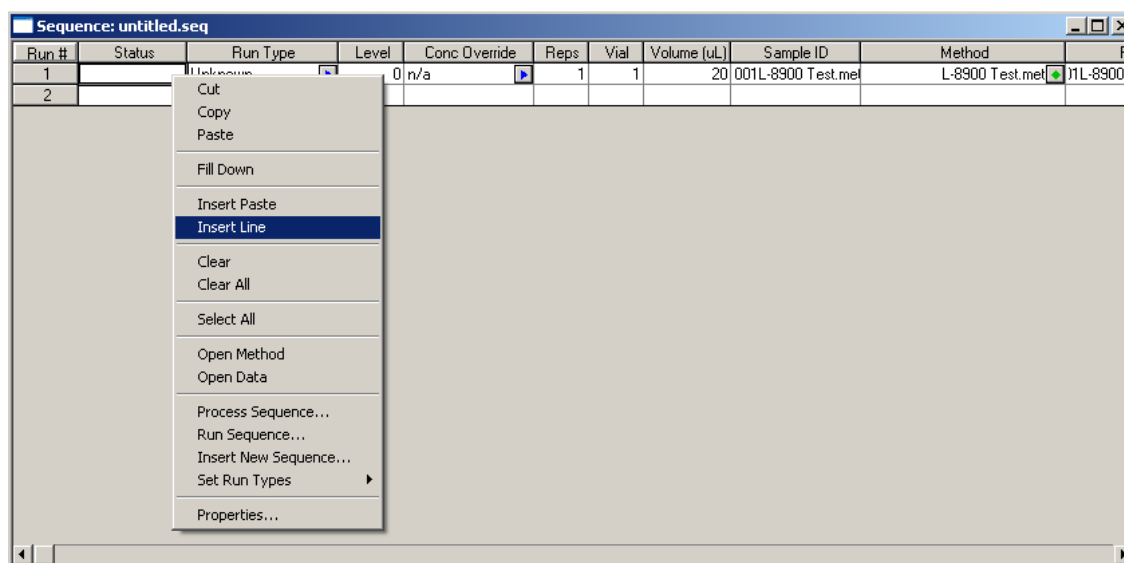
volume 樣品注射量後，按下



，會出現樣品表



43. 請在 Run# 1 按下右鍵，選擇 Insert Line



44. 請確認 Level 為 0,Reps 為 1,Vial 為 1,Volume (uL)為 0,Method

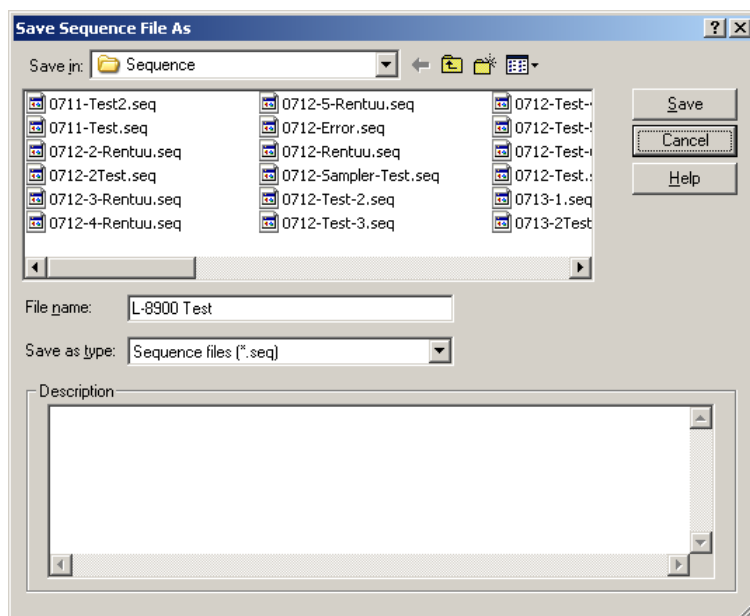
請選擇 RG Method (若不曉得請詢問工程師，並填入 RG Method 路

徑及名稱_____)

Run #	Status	Run Type	Level	Conc Override	Reps	Vial	Volume (uL)	Sample ID	Method	File
1		Unknown	0	n/a	1	1	0		L-8900 Test RG.met	
2		Unknown	0	n/a	1	1	20	001L-8900 Test.met	L-8900 Test.met	001L-8900
3										

45. 請選擇上方功能表 File / Sequence / Save as 儲存此樣品表，

例如 L-8900 TEST



46. 確定樣品已經放入 Autosampler 內後，再按下  Sequence

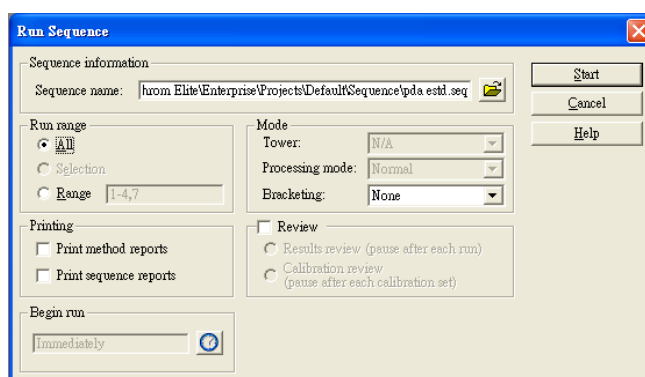
Run，選擇正確的 Sequence(如 L-8900. seq)，需要分析完畢馬上


列印報告，請勾選 Print

method report(先確認

Method report 已完成

設定，設定方式請參考



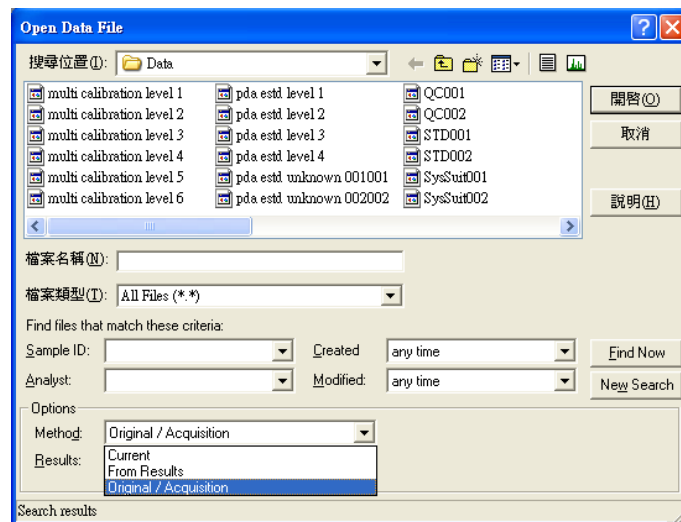
步驟 50)，按下 ，L-8900/8930 將會依照 Sequence 編

排的順序先進行 column 的再生，再進行檢品分析，並於實驗最後

將 column 清洗完成後自動關機(但不關閉 L-8900/8930 的主電源)


開啟數據檔案

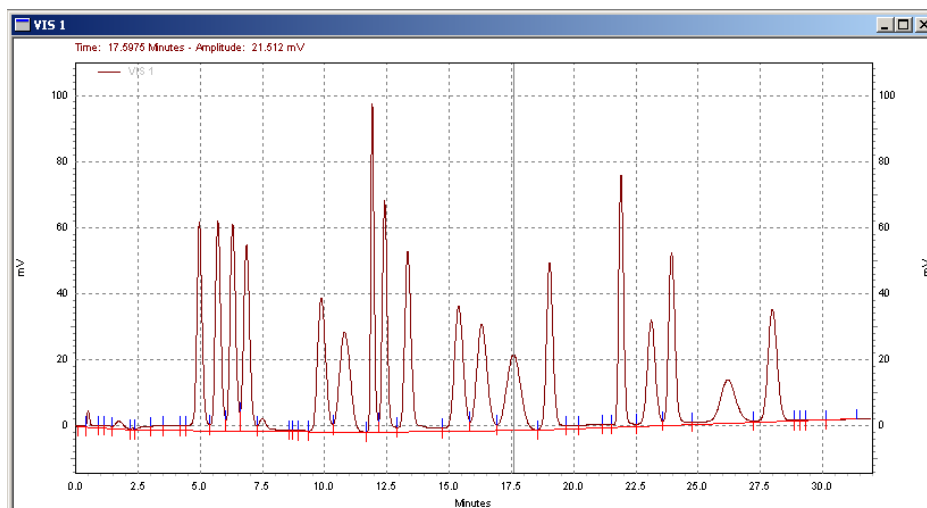
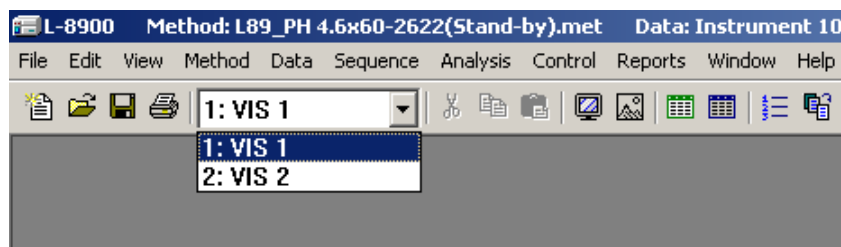
1. 若是在分析過程中需處理數據，請例用 offline 模式進入軟體(如步驟 12 所示)
2. 請選擇 File / Data / Open 選擇所要處理的數據，並於下方 Method 選擇 Original/Acquisition，再按下開啟



3. 若是看不到圖譜，請按下 View / Display All Data

積分方法的修正

1. 請於上方功能表中選擇 **1:VIS 1**，並按下  **Analyze** 數據分析鍵，
則圖譜將會重新積分



2. 請先點選螢幕下方工具列中第四個 Int OFF，在圖譜上先點一下不積分的起點，再點一下不積分的終點，在跳出的 Integration off 視窗中按下 **Analyze Now**，則圖譜的積分結果將被修正



Integration Off

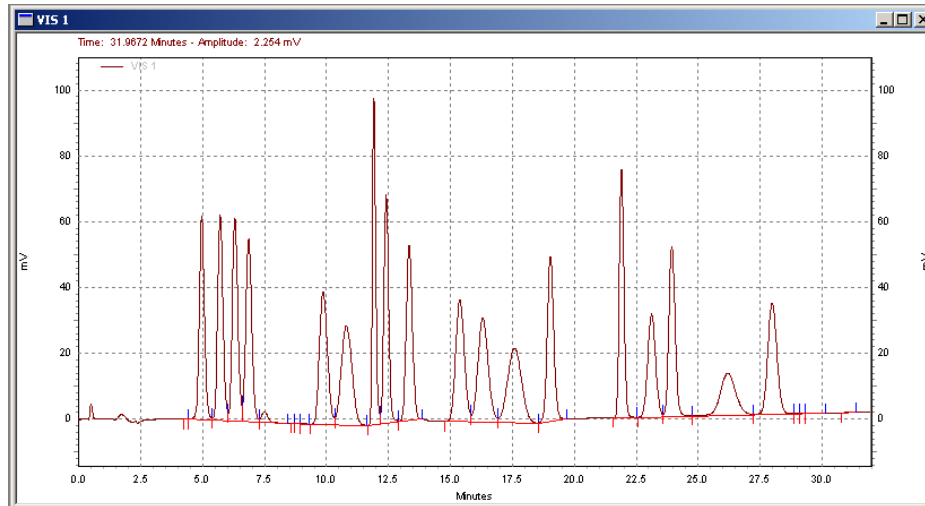
Start Time: Minutes

Stop Time: Minutes

Value:

Insert into Integration Events table

Insert into Manual Integration Fixes table



3. 請按下上方功能中的  **Integration Events** 積分參數表

#	Event	Start Time	Stop Time	Value
1	<input checked="" type="checkbox"/> Width	0.000	0.000	0.5
2	<input checked="" type="checkbox"/> Threshold	0.000	0.000	1000
3	<input checked="" type="checkbox"/> Integration Off	0.000	4.200	0
4	<input checked="" type="checkbox"/> Integration Off	12.900	12.950	0
5	<input checked="" type="checkbox"/> Integration Off	19.500	21.500	0
6	<input checked="" type="checkbox"/>			

若是無法得到好的積分結果，請試著修改 Width 或 Threshold 值

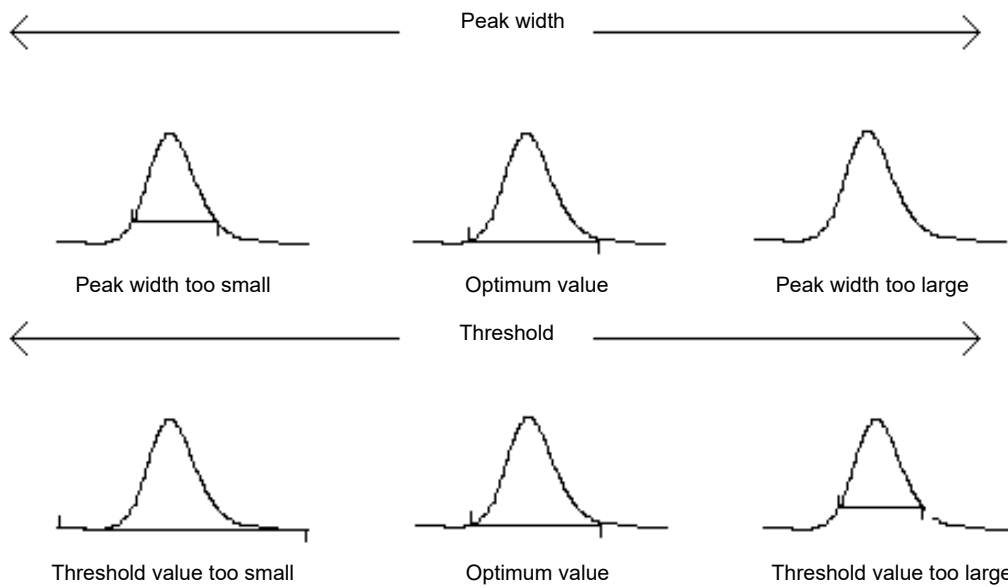
Width: 在設定圖譜上的 peak 寬度至少要大於多少才認定為


peak，主要功能是用於排除一些高頻率的雜訊或是突波，

一般內定值為 0.2(設定太大可能會造成無法偵測到 peak)

Threshold: 在設定偵測的靈敏度，用於排除一些小 peak(設定太大

可能會造成無法偵測到 peak)

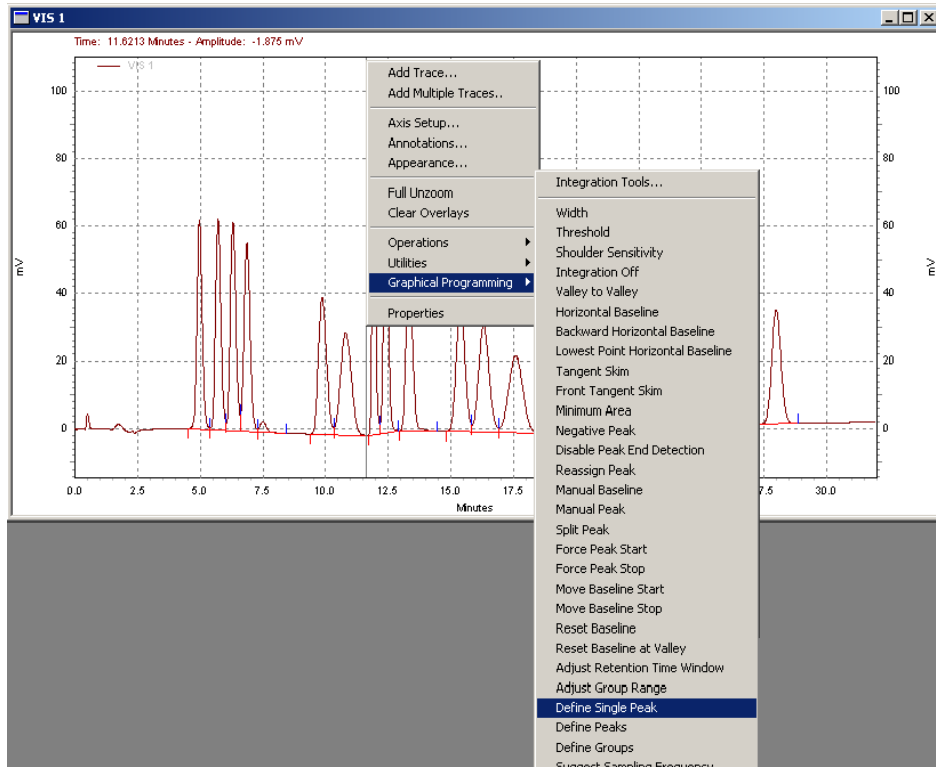


修改完成後請按下  **Analyze** 數據分析鍵，則圖譜將會重新積分

4. 請於上方功能表中選擇 **2:VIS 2**，請重覆上述步驟，進行積分處理

波峰成份名稱的標示

1. 請在圖譜上按下滑鼠右鍵，選擇 **Graphical Programming / Define Single Peak**





2. 請在 Define Single Peak 的表單中填入第一支 Peak 的名稱，例如 Asp(請注意 Retention time 是否正確)，再按下 Next 鍵請依序填入其他成份名稱，最後再按下 Done 鍵完成名稱的輸入

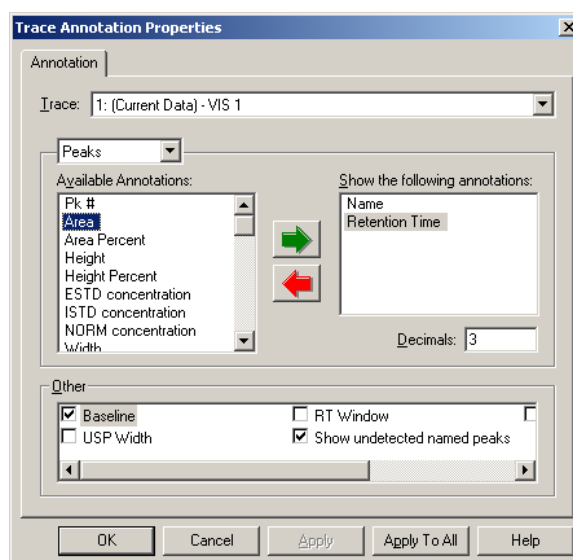
The screenshot shows the 'Define Single Peak' dialog box. The fields are as follows: Retention time: 4.96 Minutes; Peak name: Asp; Conc. level: 1 : 0; Units: ; ISTD ID #: 0; Ref. ID #: 0. The Retention time window is set to Relative ± 2.5%. The dialog box also includes buttons for Done, Help, << Back, and Next >>. On the right side, it displays 'Current peak: 1' and 'Total peaks: 19'.

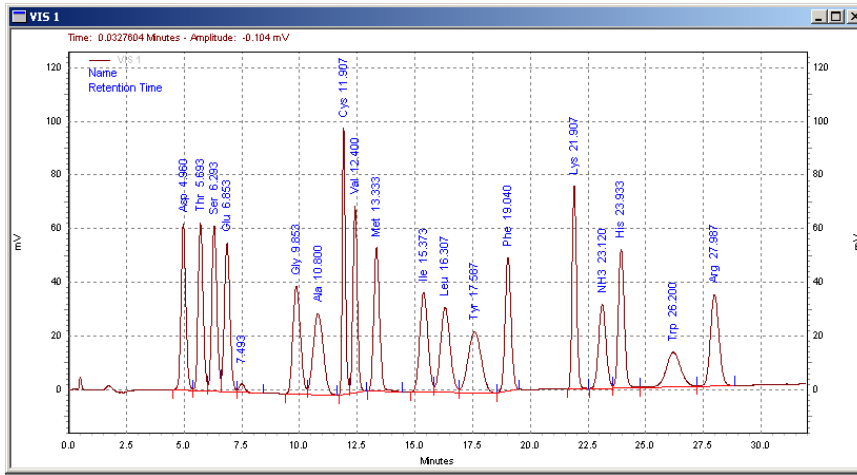
3. 可以按下 Method / Peaks/Groups ，確認欄位內的資訊如 Name 成份名稱、Ret.time 滯留時間、level 1 濃度等是否正確，

#	Name	ID	Ret. Time	Window	Ref. ID #	ISTD. ID #	Resolution ID #	Units	Calb	RT Update	LOD	LOG
1	P-Ser	43	1.78	0.5	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
2	Leu	44	2.5	0.5	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
3	PEA	45	3.1	0.5	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
4	Urea	46	4.35333	0.5	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
5	Asp	47	10.8933	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
6	Hypro	48	13.54	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
7	Thr	49	16.0867	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
8	Ser	50	17.573	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
9	AspNH2	51	19.883	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
10	Glu	52	21.047	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
11	GluNH2	53	22.88	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
12	Sar	54	26.84	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
13	aAAA	55	28.933	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
14	Pro	56	34.34	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
15	Gly	57	37.207	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
16	Ala	58	39.1933	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
17	Cit	59	41.02	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
18	aABA	60	42.7067	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
19	Val	61	44.6933	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
20	Cys	62	45.8267	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
21	Met	63	47.5	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
22	CysHl	64	49	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
23	Ile	65	50.5267	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
24	Leu	66	51.7867	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
25	Tyr	67	53.12	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
26	Phe	68	56.48	1	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
27	Gly-Nval	69	62.3867	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
28	b-Ala	70	63.36	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
29	b-ABA	71	65.28	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
30	a-ABA	72	69.9133	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
31	Trp	73	73.95	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
32	EDHNH2	74	76.133	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area
33	NH3	75	85.1667	2	0	0	0	nmol	Calb		0.000000	0.000000 Area

4. 請於上方功能表中選擇 2:VIS 2，請重覆上述步驟，波峰成份名稱的標示

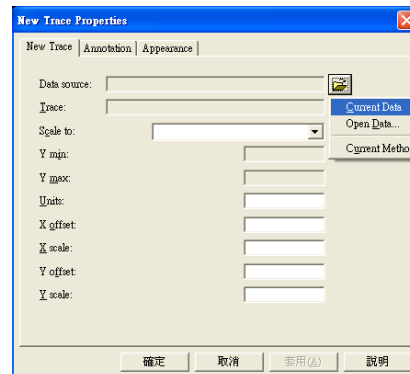
5. 若是在分析過程中或是在數據處理時，需要在圖譜上標上時間或波峰面積，請在圖上按下滑鼠右鍵，選擇 Annotation，將需要顯示的項目按  移至右方例如 Area、Retention time 或 Name，按下  即可在圖上顯示標記



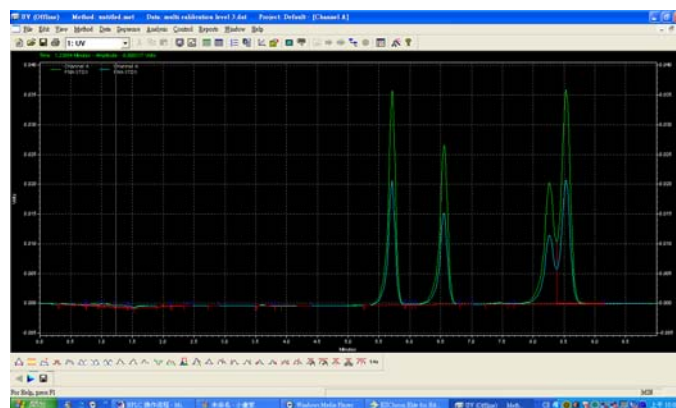


6. L-8900/8930 若需要同時開啟二個以上的視窗並且同時顯示，請按下上方 Window / Tile Horizontally 或 Tile Vertically，即可將視窗水平或垂直並列

7. 當在分析圖譜上需要加上其他圖譜，請在圖上按下滑鼠右鍵，選擇 Add Trace，在 Data source 選擇 Open Data，選擇另一圖譜檔案後



按下 **開啟** 和 **確定**，即可得到重疊圖譜



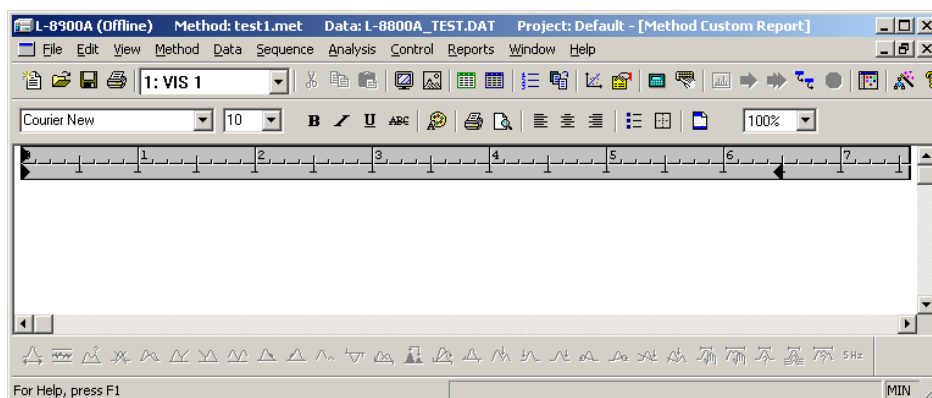
要清除疊圖，請在圖譜上按下右鍵，點選 Clear Overlays 即可

報告格式設定

1. 需要編排報表格式請先點選 Method / Custom Report 或是按下

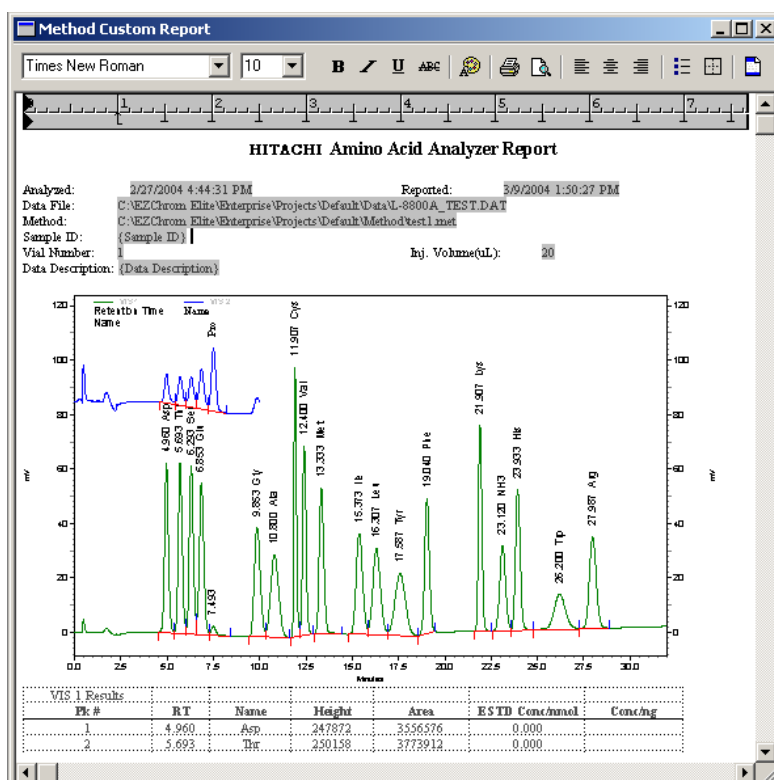


，再點選 File / Report Template / Open，選擇 PF STD.Srp，需

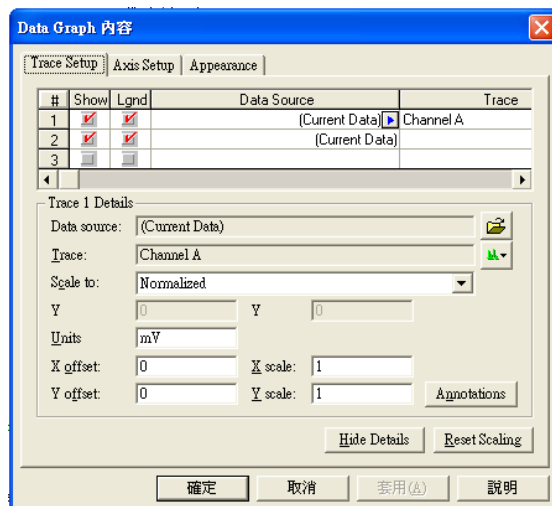



要增加任何項目請在報表上按下滑鼠右鍵插入所要顯示的內容，

也可以輸入文字並編排報表內容

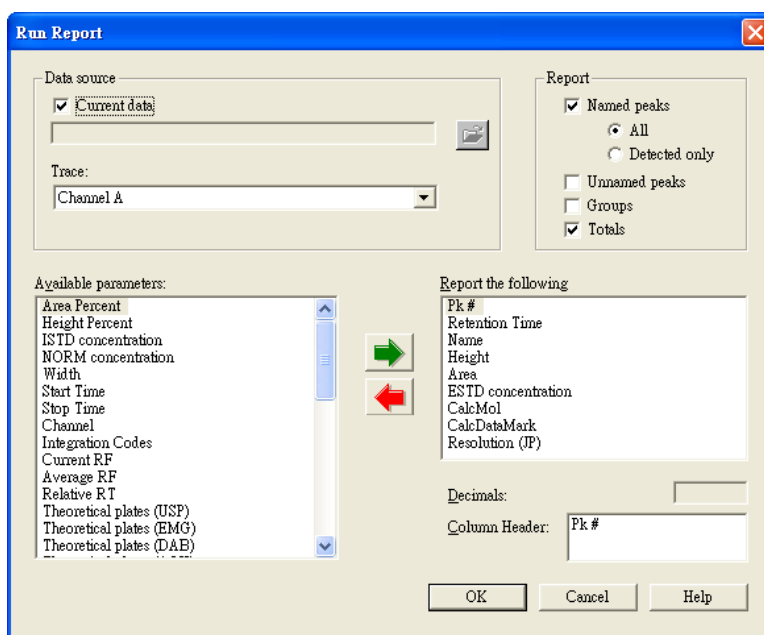


2. 若是需要修改圖譜格式，請在圖譜上點選左鍵二下，設定圖譜範圍、顏色、標記等等



3. 若是需要修改數據欄的內容，請在欄位上按下右鍵，選擇 Report properties，按下  新增顯示欄位

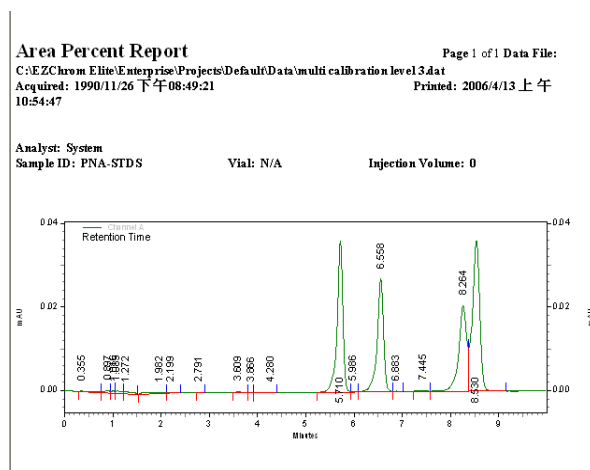
Channel A Results	PK#	RT	Name	Height	Area	ESTD Conc/nmol	Conc/ng	Evaluation Result	Resolution (JP)
	6	5.739	Peak1	7790	63056	10.000			
	7	6.587	Peak2	5631	52508	5.000			
	9	8.303	Peak3	4213	47432	15.000			
	10	8.569	Peak4	7667	79411	10.000			
Totals				25301	242407	40.000			




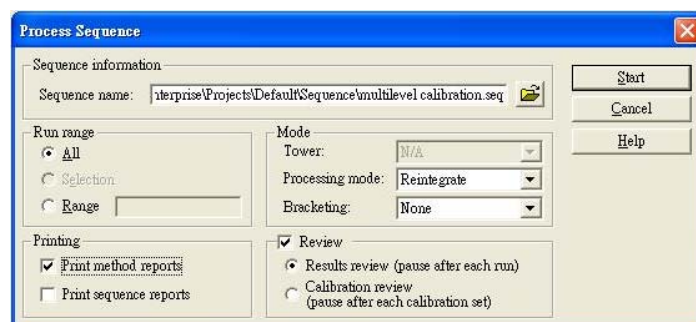
4. 完成後請點選 File / Report Template / Save as 另存新檔

5. 要預覽標準報告列印格式，請到上方 Reports / View / Method


Custom Report，需要列印，請按下滑鼠右鍵，選擇 Print，即可列印出報告



6. 需要整批數據列印，請先打開正確的 Method 及 Sequence，請選擇上方 Sequence / Process 或是按下 ，Run range 內可選 All 全部列印或選 Range 輸入要列印範圍(依 Sequence 內 Run# 的排列順序)，在 Printing 選擇是否要馬上列印 method report(使用者設定的版面格式)，按下 **start** 鈕開始重新計算數據並列印報表



關機方式

請選擇上方功能表 Control / Instrument Status ，選擇 L-8930(L-8900) 表單，並按下 System 內的  鈕，並在出現的視窗中按下 OK 鍵，待系統狀態顯示為 Uninitialized，即可退出軟體，關閉電腦及儀器電源