文件编号: Q/WU FLHA19100040R019

版本号: V1.1

受控状态:

分发号:

理化公共实验平台

质量管理文件

荧光光谱仪 Edinburgh Instruments FS5 标准操作规程

2020年02月21日发布

年 月 日实施

理化公共实验平台 发布

HER HAR

修订页

修订日期	版本号	修订说明	修订	审核	批准
2019.11.18	V1.0	发布试行	陈中	卢星宇 盛沛	周桃飞
202.02.21	V1.0	完善优化内容	陈中		
					·

HER HAR

1. 目	的1
2. 范	通用1
3. 职	1
4. 内	容1
4.1.	开机和启动软件1
4.2.	仪器操作2
4.3.	发射光谱扫描3
4.4.	激发光谱扫描4
4.5.	透射光谱扫描4
4.6.	同步光谱扫描5
4.7.	Map 扫描5
4.8.	Multiply scan
5. 相	1关/支撑性文件7
6. 记	!录7
附录 1	. 固体样品支架更换步骤
附录 2	2. 粉末样品装样步骤

HER HAR

1. 目的

建立爱丁堡 FS5 荧光光谱仪的标准使用操作规程,使其被正确、规范地使用。

2. 范围

本规程适用于所有使用爱丁堡 FS5 荧光光谱仪的用户。

3. 职责

3.1 用户:严格按本程序操作,发现异常情况及时汇报实验室技术员。

3.2 实验室技术员:确保操作人员经过相关培训,并按本规程进行操作。

4. 内容

4.1. 开机和启动软件

4.1.1. 如图 4-1 所示,爱丁堡 FS5 荧光光谱仪的正面和右侧面,主机电源键在仪器 右侧面,开机时直接按下打开仪器,显示图 4-2 的绿灯亮(左边)。



图 4-1 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪的正面和右侧面

4.1.2. 开电脑,登录大型仪器共享管理系统账号和密码。

4.1.3. 打开软件 Fluoracle, 注意打开软件和点亮氙灯是同步进行的(图 4-2 的右边白灯会亮), 氙灯一般开机 20 分钟后保持稳定, 不要频繁地打开和关闭软件。



图 4-2 电源开关显示灯和氙灯显示灯

4.1.4. 软件初始化后,软件跳出 Signal rate 对话框,可以开始实验。

4.2. 仪器操作

al Rate		×
xcitation /avelength (nm): 500.00 😭 Bandwi	Source Light Path	~
imission /avelength (nm): 575.00 💌 Bandwi	Ith (nm): 2.00 (R) Visible PMT-900	~
tector Signals Reference	83,580 a.u.	100,000
Transmission	71,030 a.u.	100,000
Emission	470 cps	1,000
		Close Apply

图 4-3 Signal rate 对话框

- 4.2.1. 本仪器只提供稳态荧光测试,瞬态荧光测试需在爱丁堡 FLS1000 稳态/瞬态 荧光光谱仪上进行。
- 4.2.2. 固体样品支架更换操作见附录1部分。
- 4.2.3. 本仪器中【source of light path】和【detector of light path】只有默认选择, 无需调节。
- 4.2.4. 【Signal rate】对话框给出了三组信息,其中【Reference】为参比检测器的信号值,不能超过 4,000,000,【Transmission】为吸收检测器的信号值,一般不能超过 2,000,000。
- 4.2.5. 将 Ex 和 Em 的 bandwidth (也就是狭缝) 调到最小, 一般为 0.01 或者 0.02, 点击 Apply。
- 4.2.6. 将样品放入样品支架,固体样品测试需更换固体样品支架。固体样品容易产 生散射信号,需要在发射端加高通滤光片,滤光片波长选择要大于激发波长, 小于发射起始波长。具体操作见附录1和附录2。
- 4.2.7. 输入对应的 Ex 和 Em 波长,调节 Ex 和 Em 狭缝,将 Emission 的信号调
 到合适值, Emission 信号不能超过 1,000,000 cps (一般调到 10⁵~10⁶ 即可)。
- 4.2.8. 关闭【signal rate】,点击"λ",选择测试方法。本仪器主要用到的测试方法
 包括【Emission Scan】、【Excitation Scan】、【Transmission Scan】、【Synchronous Scan】、【Emission Map】、【Synchronous Map】和【Multiple】。

内部文件,请勿随意转发、打印、复印

F Fl	uorad	:le							
File	Edit	Vi	ew	Setup	Opt	ions	He	lp	
÷	λ	τ	C	B	D		•		
		Em	issio	n Scan			Ctrl	l+M	
		Exc	itati	on Sca	n		Ct	rl+X	
		Tra	nsm	ission S	Scan		Ct	rl+T	
		Synchronous Scan							
		Em	issic	n Map					
	Synchronous Map								
		Mu	ıltipl	e					

图 4-4 测试方法选择

4.3. 发射光谱扫描

Emission Scan Setup	Emission Scan Setup X
Set up Sample 1 Correction Excitation Emission Subtract Background Spectral Correction Excitation Correction Emission Correction File: 'Em Cor PMT-900 A5297-1'	Set up Sample 1 Correction Excitation Emission Monochromator Wavelength: 380.00 nm Bandwidth: 2.00 nm Ex Light Path Information Light Path: Xenon Lamp
Emission Scan Parameters Scan from: 400.00 to: 850.00 step: 1.00 nm Dwell Time (s): 0.500 Number of Scans: 1 Start Cancel Apply	Emission Scan Parameters Scan from: 400.00 📡 to: 850.00 💭 step: 1.00 💭 nm Dwell Time (s): 0.500 💌 Number of Scans: 1 💌 Start Cancel Apply

图 4-5 Emission scan 参数设置

- 4.3.1. 选中"λ",点击【Emission scan】,【Correction】校正文件全部勾选,勾选
 "Excitation correction"扣除激发光源的波动;勾选"Emission correction file",扫
 描的谱图将自动校正发射光谱。
- 4.3.2. 在【Excitation】页面设置激发波长,【Emission】页面的参数设置在下面
- 4.3.3. 【Scan ____ from ___ 】设置波长起始;【step】设置步进,一般为 0.5、1nm, 越大扫描越快;【dwell time】积分时间,一般设置 0.1~0.5s,越大峰值越高; 【number of scans】扫描次数,最终的谱图是多次扫描的叠加。
- 4.3.4. 设置完成后,点击【start】,开始测试。

4.3.5. 注意 1: 狭缝只能在 signal rate 中设置。

4.3.6. 注意 2: 发射光谱的起始波长至少要大于激发波长 10 nm。

4.4. 激发光谱扫描

Excitation Scan Setup	× Excitation Scan Setup ×
Set up Sample	Set up Sample
Correction Excitation Emission	Correction Excitation Emission
Subtract Background Spectral Correction Excitation Correction	Monochromator Wavelength: 715.01 nm Bandwidth: 2,00 nm
Emission Correction File: 'Em Cor PMT-900 A5297-1'	Light Path: Visible PMT-900
Excitation Scan Parameters Scan from: 300.00 💓 to: 645.00 💭 step: 1.00 💌 nn	n Scan from: 300.00 🔪 to: 645.00 🐨 step: 1.00 📚 nm
Dwell Time (s): 0.200 Number of Scans: 1	Dwell Time (s): 0.200 Number of Scans: 1
Start Cancel Appl	Start Cancel Apply

图 4-6 Excitation scan 参数设置

- 4.4.1. 选中"λ",点击【Excitation scan】,【Correction】校正文件全部勾选,勾选
 "Excitation correction"扣除激发光源的波动;勾选"Emission correction file",扫
 描的谱图将自动扣除校正文件。
- 4.4.2. 在【Emission】页面设置好发射波长。
- 4.4.3. 【Scan ____ from ___ 】设置波长起始;【step】设置步进,一般为 0.5、1nm, 越大扫描越快;【dwell time】积分时间,一般设置 0.1~0.5s,越大峰值越高; 【number of scans】扫描次数,最终的谱图是多次扫描的叠加。
- 4.4.4. 设置完成后,点击【start】,开始测试。

4.4.5. 注意: 激发光谱的终止波长至少要小于发射波长 10 nm。

4.5. 透射光谱扫描

- 4.5.1. 【Transmission scan】,测试吸收光谱。
- 4.5.2. 需要测试空白溶液。设置方法和激发光谱以及发射光谱一样。
- 4.5.3. 测试完成后,样品和空白谱线合并,点击【Analysis】中的【Absorption】转 换成吸光度 Abs 值。

4.6. 同步光谱扫描

【Synchronous scan】,同步扫描。激发和发射同时变化,波长起始是Ex 侧波长, 需要设置Offset, 一般设置为10 nm。

Synchronous Scan Setup	X Synchronous Scan Setup X
Set up Sample 1	Set up Sample
Correction Excitation Emission	Correction Excitation Emission
 ✓ Subtract Background Spectral Correction ✓ Excitation Correction ✓ Emission Correction File: 'Em Cor PMT-900 A5297-1' 	Monochromator Ex to Em1 offset: 10.00 nm Bandwidth: 2.00 nm Em1 Light Path Information Light Path: Visible PMT-900
Excitation Scan Parameters Scan from: 400.00 to: 750.00 step: 1.00 nm Dwell Time (s): 0.100 Number of Scans: 1	Excitation Scan Parameters Scan from: 400.00 to: 750.00 step: 1.00 nm Dwell Time (s): 0.100 Number of Scans: 1
Start Cancel Apply	Start Cancel Apply

图 4-7 Synchronous scan 参数设置

4.7. Map 扫描

Emission Map Setup	Emission Map Setup X					
Set up Sample 1	Set up Sample					
Correction Excitation Emission	Correction Excitation Emission					
Spectral Correction Excitation Correction Emission Correction File: 'Em Cor PMT-900 A5297-1'	Monochromators Avoid 1st order excitation (Em 1 start > E Avoid 2nd order excitation (Em 1 stop < Ex*2) Offset (nm): 10.00 Bandwidth: 2.00 nm Em 1 Light Path Information Light Path: Visible PMT-900					
Emission Map Parameters	Emission Map Parameters					
Ex scan from 200.00 💌 to: 600.00 😴 step 10.00 💌 nm	Ex scan from 200.00 🐑 to: 600.00 🐑 step 10.00 💌 nm					
Em scan from 220.00 💌 to: 800.00 💭 step: 2.50 💌 nm	Em scan from 220.00 💌 to: 800.00 💌 step: 2.50 💌 nm					
Dwell Time (s): 0.100 💌 Number of Scans: 1 💌	Dwell Time (s): 0.100 💌 Number of Scans: 1					
Start Cancel Apply	Start Cancel Apply					

图 4-8 Emission Map 参数设置

- 4.7.1. 【Emission Map】测试需要设置激发波长范围和发射波长范围,如图 4-8 所示,分别设置【Excitation】和【Emission】内的参数即可。为了避免在特殊的 波长下光源对探测器造成伤害,需要勾选【Monochromators】的第一个选项, 【offset】的值至少为 10 nm,本仪器带自动滤光片,所以第二项不必勾选。
- 4.7.2. 【Synchronous Map】的设置如图所示,设置激发和发射范围。

Synchronous Map Setup	× Synchronous Map Setup ×
Set up Sample	Set up Sample
Correction Excitation Emission	Correction Excitation Emission
Subtract Background	Monochromator Ex to Em1 offset: 10.00 in Bandwidth: 2.00 nm
✓ Excitation Correction ✓ Emission Correction File: 'Em Cor PMT-900 A5297-1'	Em1 Light Path Information Light Path: Visible PMT-900
Sundhennun Man Decementern	Surdrong is Man Parameters
	Ex scan from 500.00 A to: 600.00 A step: 1.00 A nm
Em offset from 10.00 💌 to 100.00 💌 step 10.00 💌 nm	Em offset from 10.00 😧 to 100.00 🐑 step 10.00 🖉 nm
Dwell Time (s): 0.200 💌 Number of Scans: 1	Dwell Time (s): 0.200 Number of Scans: 1
Start Cancel Apply	Start Cancel Apply

图 4-9 Synchronous Map 参数设置

4.8. Multiply scan

×

4.8.1. 多次扫描时,参数设置和前面每项扫描的一致,需要输入扫描次数。

4.8.2. 重复扫描,每次扫描的图,可以单独保存。

5. 相关/支撑性文件

5.1 Q/WU FLHR001 文件编写规范

6. 记录

《仪器设备使用记录本》(科研实施与公共仪器中心通用版)

附录 1. 固体样品支架更换步骤



- (1) 用螺丝刀将液体支架的两个螺丝拧下来,
- (2) 拿掉液体样品池,样品仓底部的底座的有两个螺丝孔,
- (3) 将固体样品池的两个孔和底座的孔对齐, 拧紧螺丝即可固定固体支架,
- (4)固体支架可以在水平方向从0度到180度改变角度,选好角度后(一般选30和60度,一般不能选90度),支架背部有一个旋扭,拧紧后可以进行样品测试。

附录 2. 粉末样品装样步骤



- (1) 将粉末样品槽装满粉末
- (2) 将石英玻璃盖在样品槽上
- (3) 将石英玻璃和样品槽一同卡在固体样品支架的位置(如上图所示)

仪器设备使用记录本										
					测试	方式	仪器	状态	和时	
仪器名称	日期	测试人	导师(PI)	测试内容	送样	自主 操作	使用前	使用后	(起止时间)	联系电话
								X		
				1						

请注意:使用前先检查仪器状况,正常方可操作,一旦测试使用,默认为测试前仪器状况为正常,测试后记得取走样品再关机。紧急联系电话:******************