

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

理化公共实验平台

理化公共实验平台

目 录

1. 目的.....	1
2. 范围.....	1
3. 职责.....	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.....	6
5. 相关/支撑性文件.....	7
6. 记录.....	7
附录 1. 固体样品支架更换步骤.....	8
附录 2. 粉末样品装样步骤.....	8

理化公共实验平台

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)。

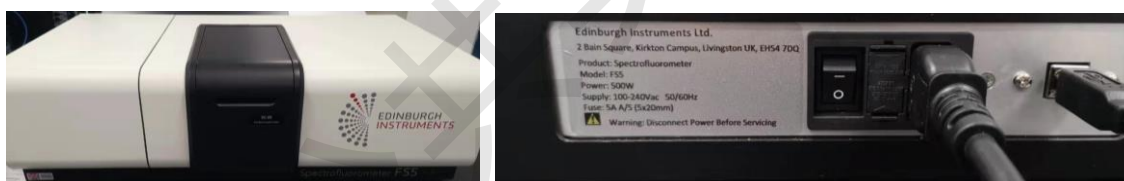


图 4-1 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪的正面和右侧面

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

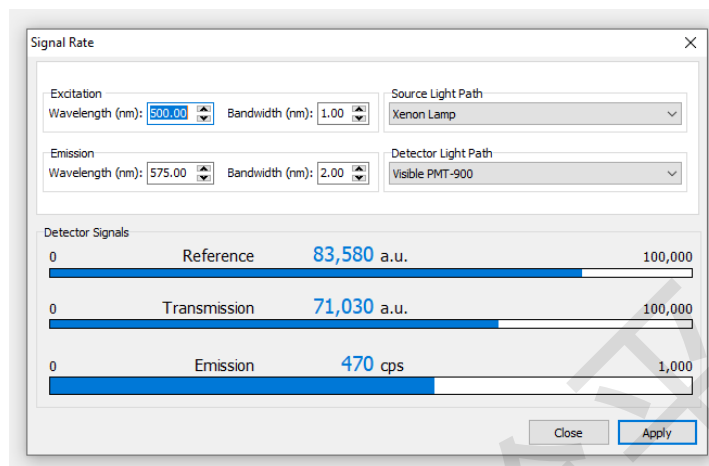


图 4-3 Signal rate 对话框

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 $10^5 \sim 10^6$ 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】。

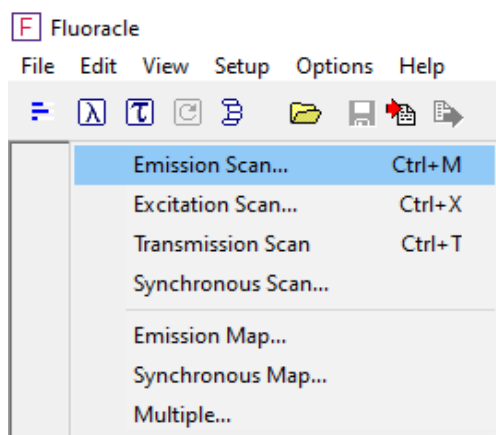


图 4-4 测试方法选择

4.3. 发射光谱扫描

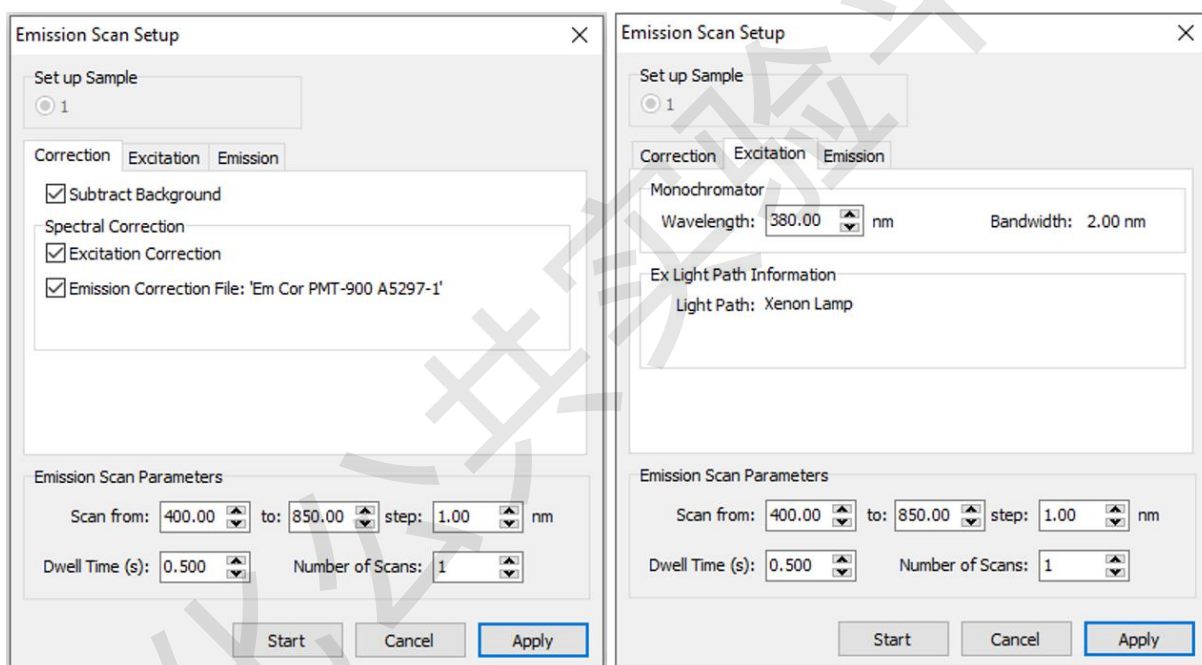


图 4-5 Emission scan 参数设置

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

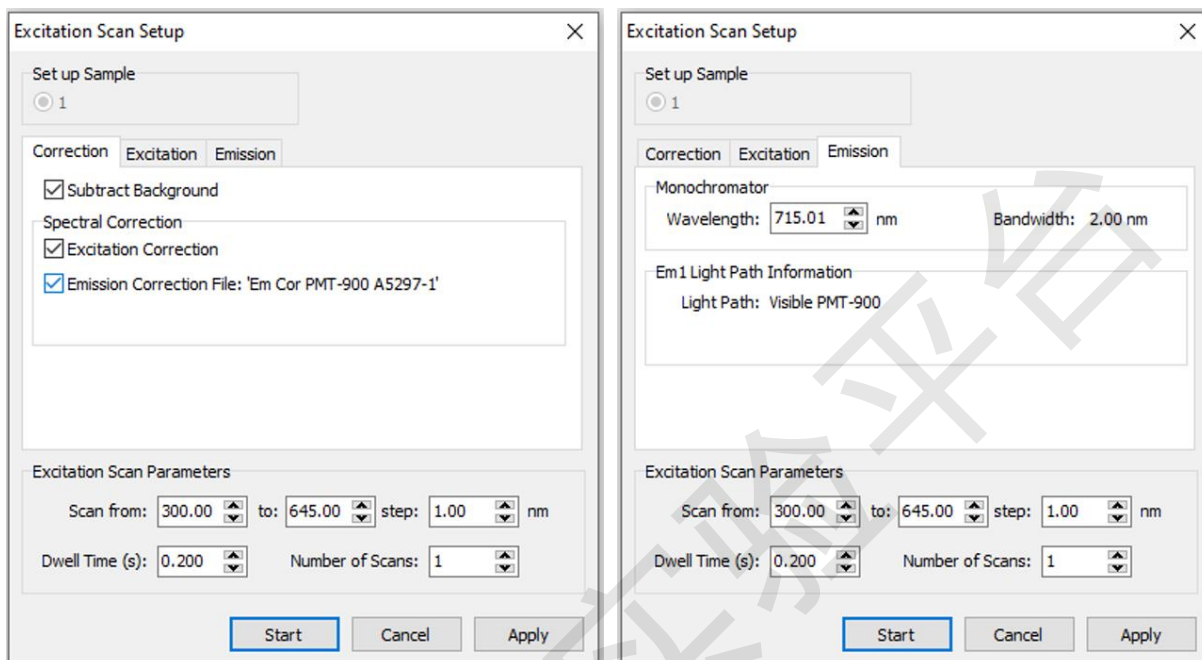


图 4-6 Excitation scan 参数设置

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。

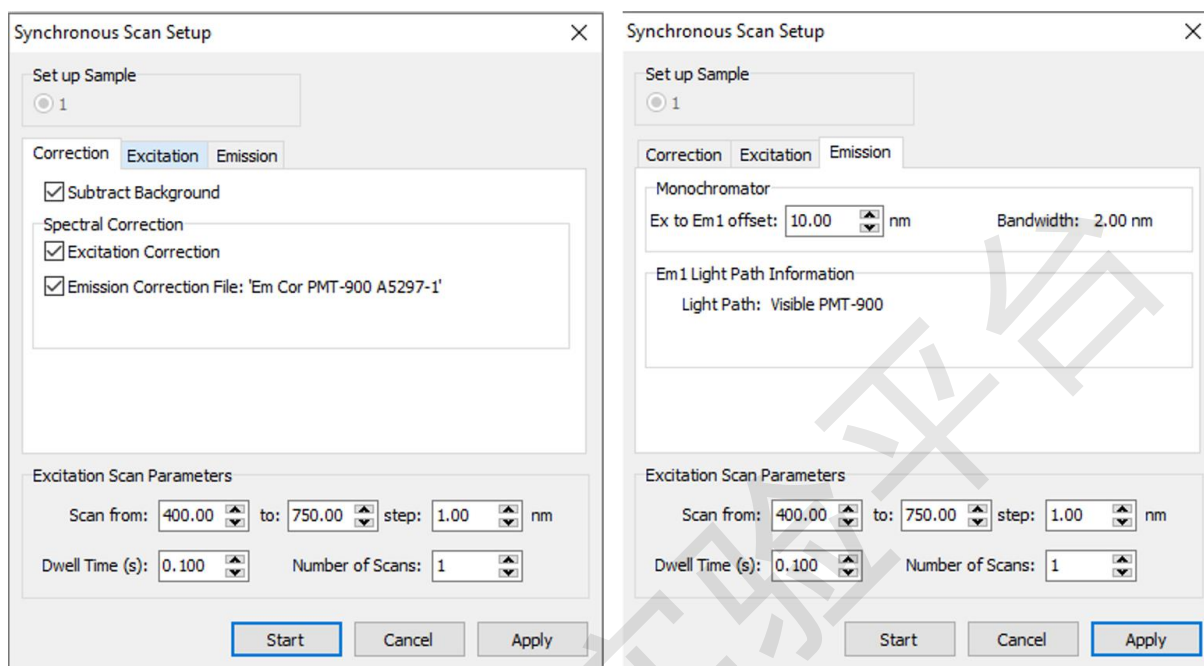


图 4-7 Synchronous scan 参数设置

4.7. Map 扫描

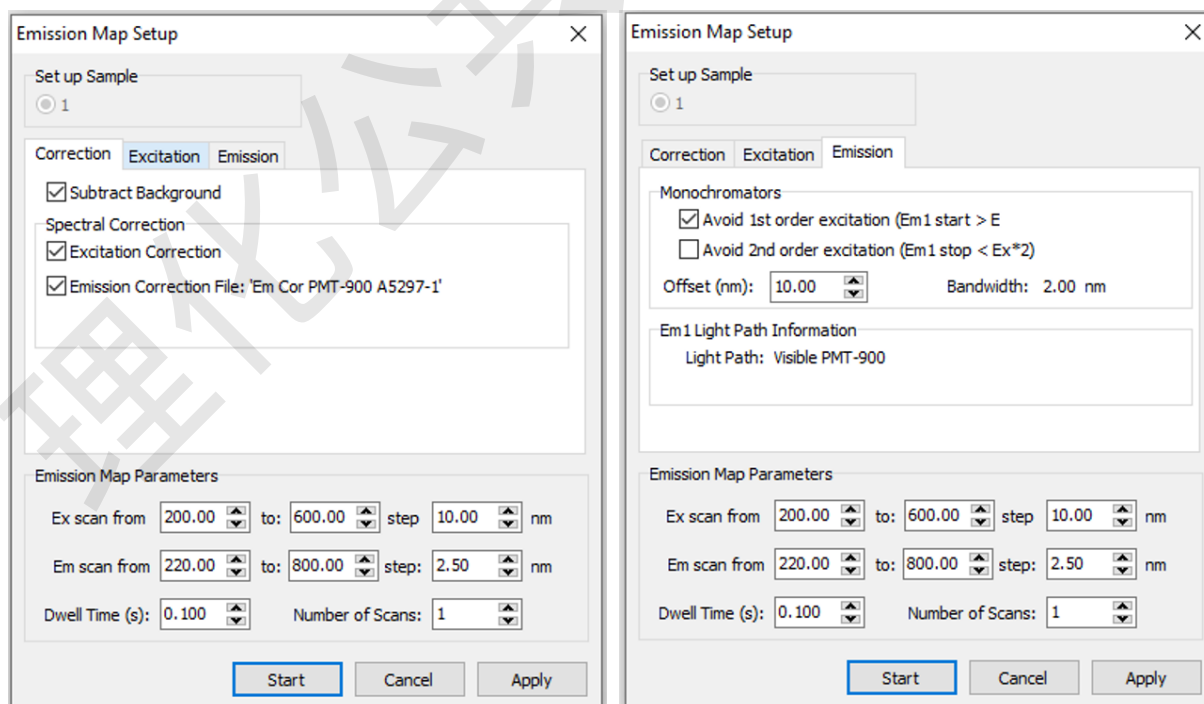


图 4-8 Emission Map 参数设置

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。

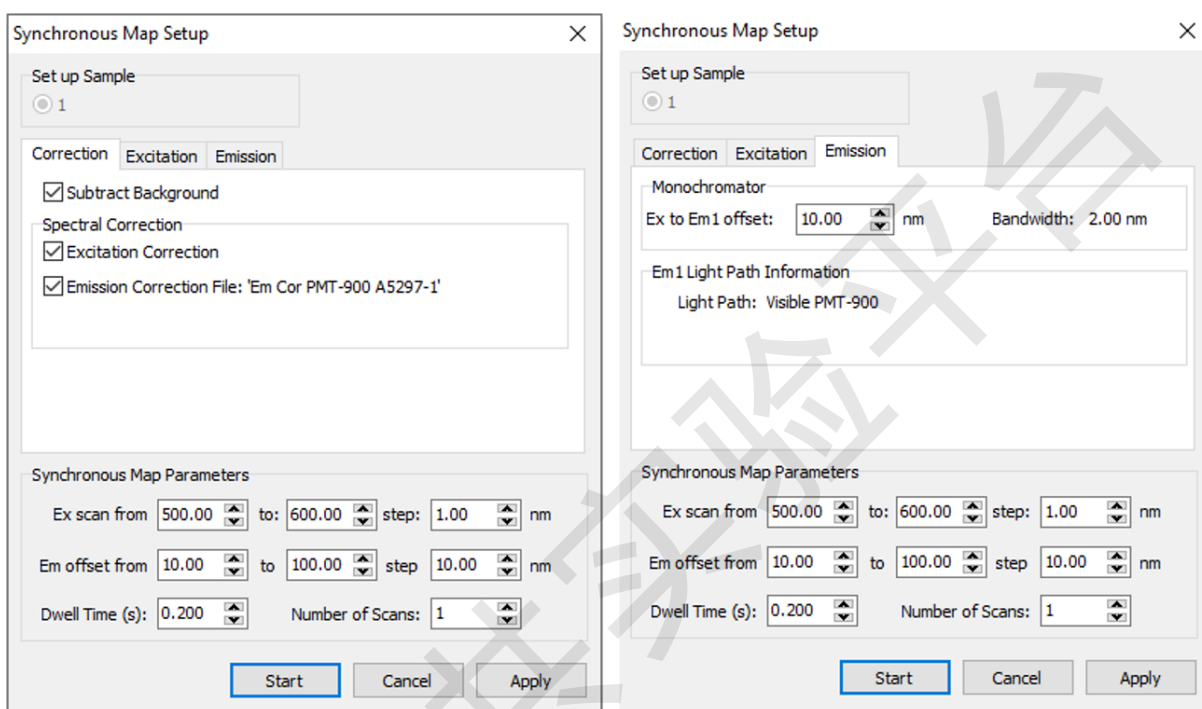
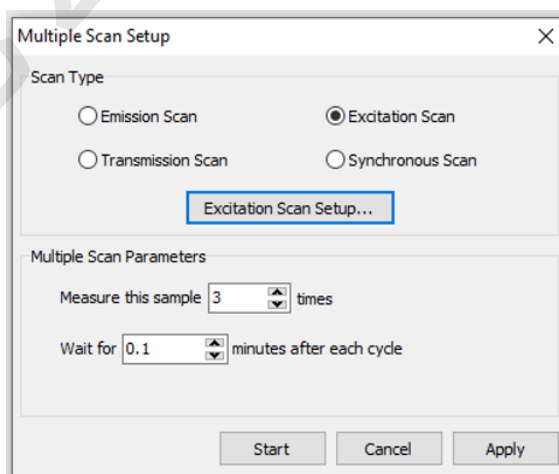


图 4-9 Synchronous Map 参数设置

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

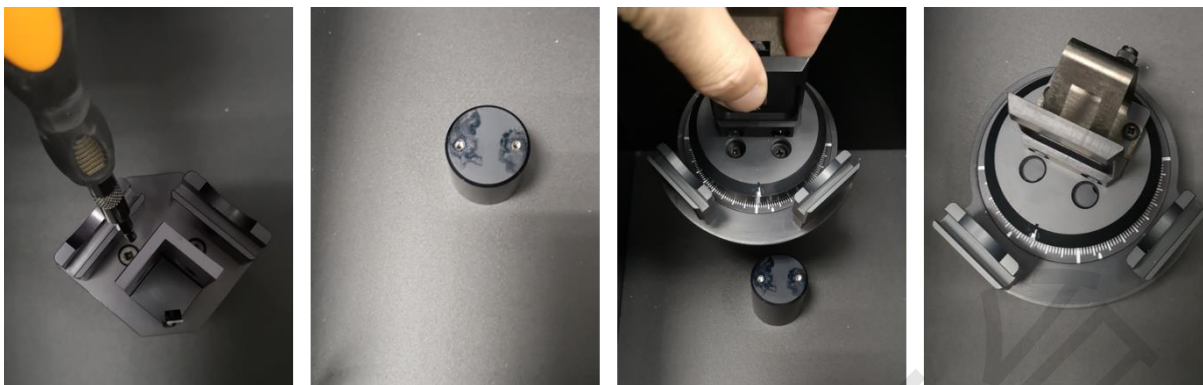
5.1 Q/WU FLHR001 文件编写规范

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）

理化公共实验平台

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)

