

文件编号：WU-ISCMS-QM 20215977

版本号：V 2.0

受控状态：

分发号：

分子科学公共实验平台

质量管理文件

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

2019 年 11 月 18 日发布

年 月 日实施

分子科学公共实验平台 发布

修订页

[illegible]

目 录

1. 目的	1
2. 范围	1
3. 职责	1
4. 光谱实验室人员职责和安全管理规范	1
5. 光谱实验室仪器设备管理规范	2
5.1 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪使用制度	3
5.2 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪预约制度	3
5.3 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪培训考核制度	4
6. 内容	4
6.1 样品准备	5
6.2 开机和启动软件	5
6.3 仪器操作	6
6.4 发射光谱扫描	8
6.5 激发光谱扫描	8
6.6 透射光谱扫描	9
6.7 同步光谱扫描	9
6.8 三维荧光 Map 扫描	10
6.9 Multiple Scan	11
7. 相关/支撑性文件	12
8. 记录	12
附录 1. 固体样品支架更换步骤	13
附录 2. 粉末样品装样步骤	13

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。

3.3 文章致谢格式

根据学校指导意见, 使用各校级平台仪器设备表征产生的科研成果必须致谢平台。如果您在文章成果中使用了光谱、色质谱、磁共振波谱以及其他属于分子科学平台的仪器设备, 请务必在文末致谢分子科学公共实验平台。

英文文章致谢:

① Acknowledgement: The author thanks (Dr. XXX from) Instrumentation and Service Center for Molecular Sciences at Westlake University for (the assistance/discussion/supporting in) ... measurement/data interpretation.

② Coauthorship on the resulting publications would be appreciated if our staff make technical contributions (including but not limited to critical sample preparation, novel experiment designation and comprehensive data analyzation).

Affiliation address: "Key Laboratory of Precise Synthesis of Functional Molecules of Zhejiang Province, School of Science, Instrumentation and Service Center for Molecular Sciences, Westlake University, 18 Shilongshan Road, Hangzhou 310024, Zhejiang Province, China."

中文文章致谢:

① 致谢: 感谢西湖大学分子科学公共实验室平台 XXX 博士(或者 XXX 老师)在.....表征或数据分析上提供的帮助。

② 共同作者: 如果分子科学平台老师在您课题组样品表征或文章发表上有重要技术贡献(包括但不限于关键样品制备、新型实验设计和深度数据分析), 我们感谢您将相关老师列为共同作者, 作者单位地址如下: 西湖大学, 分子科学公共实验平台, 功能分子与精准合成浙江省重点实验室, 杭州, 310030, 浙江。

4. 光谱实验室人员职责和安全管理规范

- 4.1 相关人员进入实验室之前必须通过学校、中心和平台的安全考试或考核, 并严格遵守光谱实验室的各项安全注意警示标识。严禁无关人员进入实验室。
- 4.2 平台设备须经培训考核后方可操作, 严格遵守仪器操作规程并做好实验记录, 未经考核者严禁触碰和使用仪器。
- 4.3 请按制样要求进行测试或送样, 因样品不符合上机要求造成仪器损坏的, 无论独立上机或是委托测试, 都将由用户所在课题组承担责任。
- 4.4 实验室通道及消防紧急通道必须保持畅通, 所有实验人员应了解消防器具与紧急逃生通道位置, 并应掌握消防器材的正确操作。
- 4.5 使用化学试剂或药品前, 必须了解其物理化学性质、毒性及防护方法, 使用时必须进行个人防范措施。
- 4.6 使用液氮时应穿戴实验服、护目镜和防冻手套。
- 4.7 使用烘箱请先联系技术员, 烘箱用完请及时取走样品, 烘箱不可过夜操作。
- 4.8 使用实验室气瓶, 须经实验室技术员培训指导后方可操作。
- 4.9 严禁戴手套接触门把手。禁止随意丢弃实验废弃物。禁止将锐器、玻璃、枪头丢弃在常规垃圾箱中。
- 4.10 使用激光、射线设备及相关附件时, 应严格遵守设备操作规程, 在激光、射线设备附件未关闭之前, 禁止打开样品仓。使用射线设备时还需打开射线剂量报警器, 无关人员严禁进入控制区。
- 4.11 不可擅自做变温实验, 如有需求请务必联系技术员; 进行高温实验时须技术员在场方可进行。
- 4.12 实验室应保持整洁, 严禁摆放与实验无关的物品如食品和饮料。严禁在实验室进食与抽烟。严禁动物进入实验室。
- 4.13 个人 U 盘、移动硬盘等易带入病毒的存储设备不得与工作站电脑连接。
- 4.14 实验过程中如发现仪器设备及基础设施发生异常状况, 须及时向该仪器负责人或实验室负责人反馈。严禁擅自处理、调整仪器主要部件, 凡自行拆卸者一经发现将给予严重处罚。
- 4.15 保持实验室空气干燥, 在潮湿的季节应进行除湿, 至少每周检查一次除湿机是否有无积水。

5. 光谱实验室仪器设备管理规范

5.1 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪使用制度

该仪器遵从学校“科研设施与公共仪器中心”对大型仪器设备实行的管理办法和“集中投入、统一管理、开放公用、资源共享”的建设原则，面向校内所有教学、科研单位开放使用；根据使用机时适当收取费用；并在保障校内使用的同时，面向社会开放。用户通过“共享管理系统”（以下简称大仪网）进行预约，并按照要求登记预约信息。送样预约要求如下：

1. 送样前与仪器负责老师沟通样品信息；
2. 测试结果请自行在大仪网送样记录中下载；
3. 样品如需回收请在测试后尽快取回，一周未取回平台将作化学废弃物处理。

5.2 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪预约制度

为充分利用仪器效能、服务全校科研工作，根据测试内容与时间的不同，光谱实验室制定了 7*24 小时预约制度。根据预约制度可登陆大仪共享网站即时预约机时，包括周末；寒暑假及国庆假期将另行通知。

请严格遵守预约时间使用仪器，以免浪费机时。如需调换时间段，在技术员同意下可与其他使用者协商。因故不能在预约时间内测试者，请提前 30 分钟取消预约并通知技术员。恶意预约机时或有多次无故不遵预约时间的用户，实验室将进行批评教育、通报批评或取消上机资格等处罚。

预约时段		预约时间/每人	测试内容
周一至周日	自主测试 送样测试 维护/开发测试	无限制	1. 激发发射扫描 2. 透射光谱扫描 3. 同步光谱扫描 4. 三维荧光扫描 5. Multiply Scan

- (1) 校内使用者须经过技术员的实验操作培训，考核合格后方可上机使用；
- (2) 实验开始时务必在实验记录本上登记，结束时如实记录仪器状态；
- (3) 严禁擅自处理、拆卸、调整仪器主要部件。使用期间如仪器出现故障，使用者须及时通知技术员，以便尽快维修或报修，隐瞒不报者将被追究责任，加重处理；
- (4) 因人为原因造成仪器故障的（如硬件损坏），其导师课题组须承担维修费用；

(5) 禁止在仪器工作站上删改原始数据, 不允许用 U 盘与移动硬盘直接拷贝。使用者应根据要求通过科研仪器网/数据服务器传送下载原始数据至本地电脑, 保存并做数据处理; 原始实验数据在本实验室电脑中保留 2 年。

(6) 用户应保持实验区域的卫生清洁, 测试完毕请及时带走样品, 技术员不负责保管。

使用者若违犯以上条例, 将酌情给予警告、通报批评、罚款及取消使用资格等惩罚措施。

5.3 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪培训考核制度

校内教师、研究生均可提出预约申请, 由技术员安排时间进行培训, 培训内容包括仪器使用规章制度、送样须知及安全规范、基本硬件知识、标准操作规程 (自主测试) 及相应数据处理。

培训结束后, 两周内培训者需在管理人员监督下进行 3 次左右操作, 培训者根据自己的掌握程度, 联系技术员进行上机考核。初级考核合格后, 在管理人员监督下上机操作, 一周后复考;

实验室技术员认为培训者达到独立操作水平后, 给予培训者授权在所允许的范围内独立使用仪器。因人为操作错误导致仪器故障者, 除按要求承担维修费用之外, 还将给予重考惩罚、培训费翻倍等处罚。

对接受培训人员的核心要求:

- (1) 了解荧光光谱仪的基本原理及其应用的多学科背景知识;
- (2) 熟练掌握 Fluoracle 软件系统, 严格按照标准操作规程操作, 防止因人为操作不当造成仪器故障, 认真做好仪器的使用及故障记录。

6. 内容

***基理系统登陆

接入大仪网的仪器操作电脑均需要登陆基理锁屏界面。

- (1) 如图(a), 如界面显示“一卡通用户”, 请在 Account 输入预约者的一卡通账户, Password 栏输入相应账户密码, 点击 Submit;

注意: 如账号或密码输入错误, 请按键盘 Delete 键进行删除, 再重新输入; 禁止点击 Cancel, 否则仪器会自行关机。

- (2) 如图 (b), 如界面显示“LIMS User”, Account 显示 Administrator, 请与相关老师联系。



6.1 样品准备

- ① 溶液样品、薄膜样品、粉末样品均可测试。
- ② 溶液样品常量比色皿需 3 mL，微量比色皿约需 100 μ L 溶液，溶液必须透光。
- ③ 粉末及薄膜样品的具体测试支架使用见附录。

重要提醒： 1) 送样人员必须对测试样品的合法性负责，未注明合法性和物理化学性质的样品不予测试。如测试过程中发现样品含毒品类非法样品，送样人将负法律责任。
2) 由于用户的样品问题导致仪器异常或配件更换，所有责任将由用户及所在课题组或单位承担。

6.2 开机和启动软件

如图 6-1 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，开机时直接按下，即可打开仪器，显示图 6-2 的绿灯亮（左边）。



图 6-1 爱丁堡 FS5 荧光光谱仪的正面和右侧面

开电脑，登录大型仪器共享管理系统账号和密码。

打开软件 Fluoracle，注意打开软件和点亮氙灯是同步进行的（图 6-2 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 6-2 电源开关显示灯和氙灯显示灯

软件初始化后，软件跳出 Signal Rate 对话框，可以开始实验。

6.3 仪器操作

本仪器只提供稳态荧光测试，瞬态荧光测试需在分子平台爱丁堡 FLS1000 稳态/瞬态荧光光谱仪上进行。

根据实验室需要，选择合适的固体样品支架，更换操作见附录 1 和附录 2。

如图 6-3，本仪器中光源【Source Light Path】和检测器【Detector Light Path】只有默认选择，无需调节。

【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 a.u，【Transmission】为吸收检测器的信号值，一般不能超过 2,000,000 a.u。

将 Excitation Wavelength 和 Emission Wavelength 的 Bandwidth（也就是狭缝）调到最小，一般为 0.01 或者 0.02，点击 Apply。

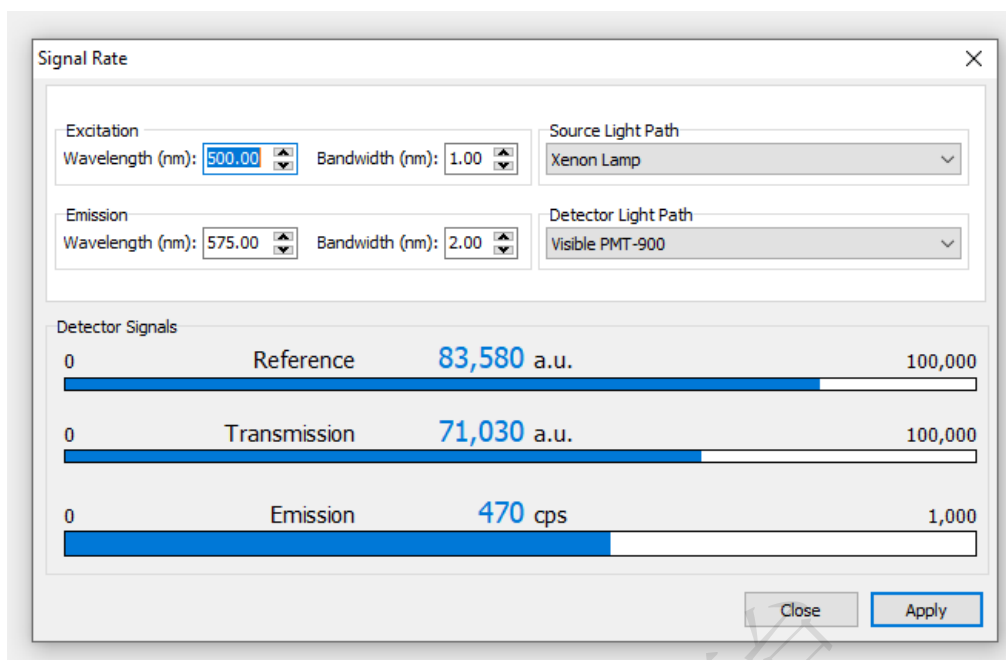


图 6-3 Signal Rate 对话框

将样品放入样品支架，固体样品测试需更换固体样品支架，具体操作见附录 1 和附录 2。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（一般激发波长 Excitation Wavelength+15 nm），小于发射起始波长。

输入对应的 Excitation Wavelength (后续简写 Ex) 和 Emission Wavelength (后续简写 Em) 波长，调节 Ex 和 Em 狭缝，将 Emission 的信号调到合适值，Emission 信号强度不能超过 1,000,000 cps（一般调到 $10^5 \sim 10^6$ 即可）。

关闭【Signal Rate】，点击“λ”，选择测试方法 (图 6-4)。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】。

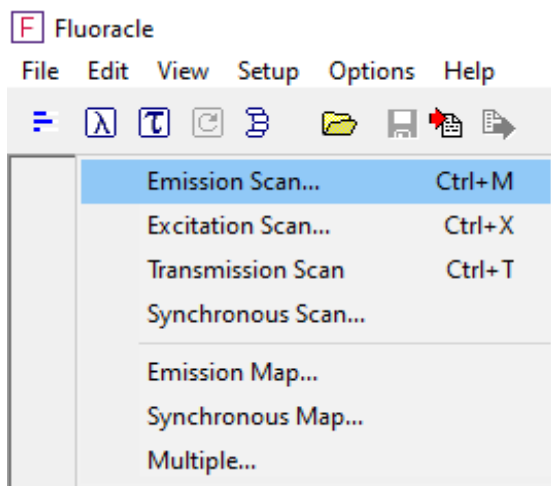


图 6-4 测试方法选择

6.4 发射光谱扫描

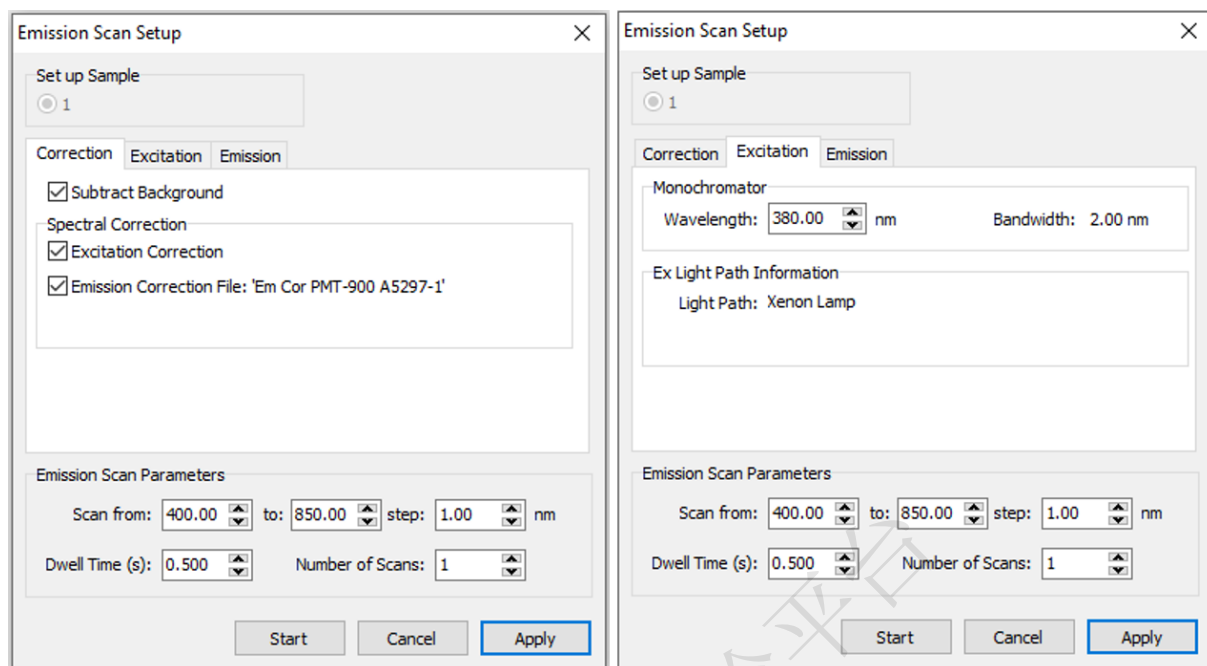


图 6-5 Emission Scan 参数设置

选中“λ”，点击【Emission Scan】，【Correction】校正文件全部勾选，勾选“Subtract Background”进行仪器背景信号矫正；“Excitation Correction”进行激发光源的校正；勾选“Emission Correction File”进行检测器校正。

在【Excitation】页面设置激发波长，【Emission】页面的参数设置为：

【Scan from】【to】分别设置起止波长；

【step】设置步进，一般为 0.5 nm 或者 1 nm，越大扫描越快；

【Dwell Time (s)】积分时间，一般设置 0.1s~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。

设置完成后，点击【Start】，开始测试。

注意 1：狭缝只能在 Signal Rate 中设置。

注意 2：发射光谱的起始波长至少要大于激发波长 10 nm。

6.5 激发光谱扫描

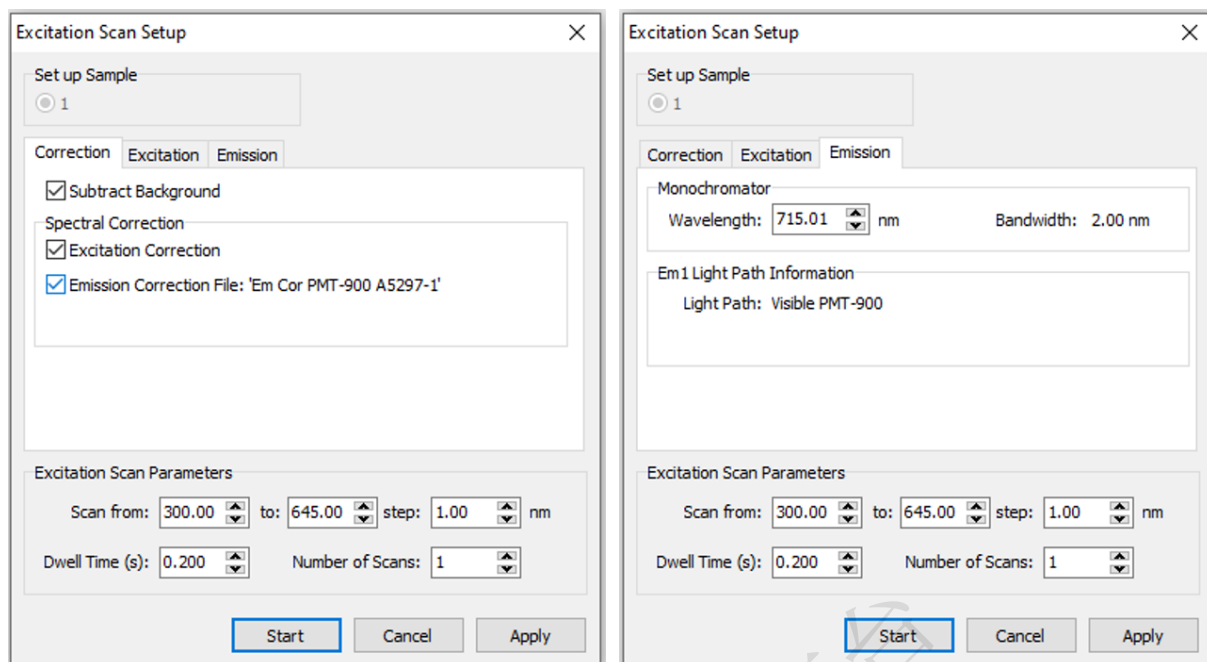


图 6-6 Excitation Scan 参数设置

选中“λ”，点击【Excitation Scan】，【Correction】校正文件全部勾选，勾选“Subtract Background”进行仪器背景信号矫正；“Excitation Correction”进行激发光源的校正（在激光光谱扫描中是必须的）；勾选“Emission Correction File”进行检测器校正。

在【Emission】页面设置好发射波长。

【Scan from】【to】 分别设置起止波长；

【step】设置步进，一般为 0.5 nm 或者 1 nm，越大扫描越快；

【Dwell Time (s)】积分时间，一般设置 0.1 s~0.5 s，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。

设置完成后，点击【Start】，开始测试。

注意：激发光谱的终止波长至少要小于发射波长 10 nm。

6.6 透射光谱扫描

【Transmission Scan】，测试吸收光谱。

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。

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。

6.7 同步光谱扫描

同步荧光光谱是同时扫描激发和发射两个单色器波长。由测得的荧光强度信号与对应的激发波长（或发射波长）构成光谱图，称为同步荧光光谱。扫描过程中激发和发射

保持一定的差值。

【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。

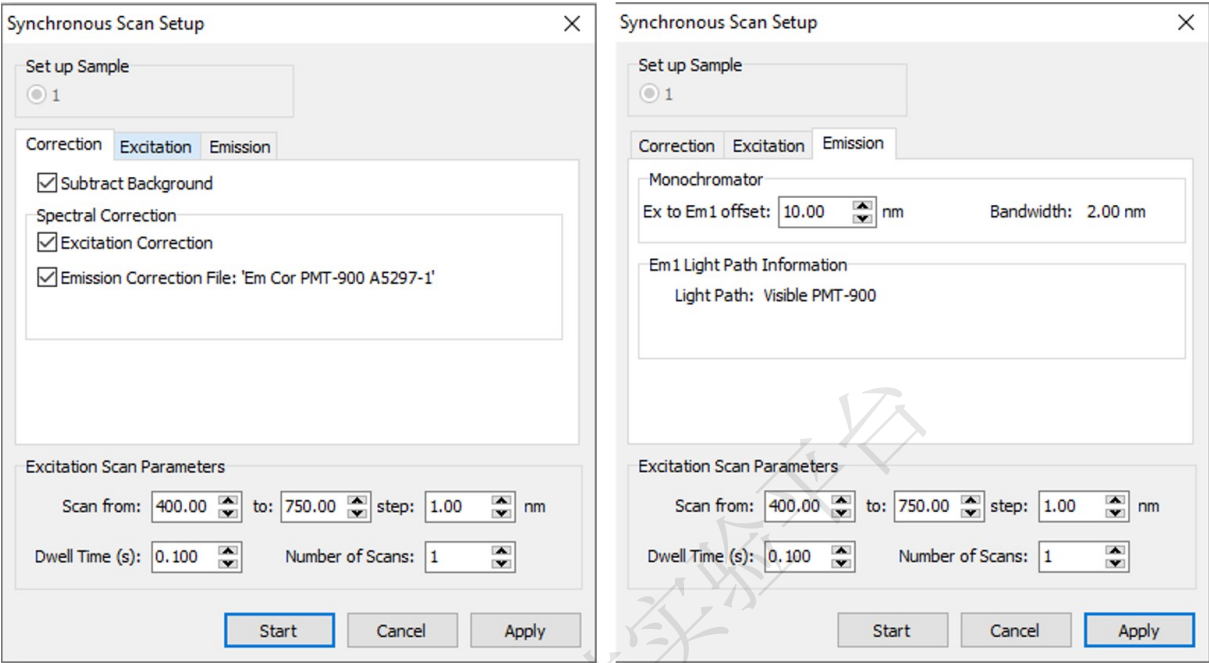


图 6-7 Synchronous scan 参数设置

6.8 三维荧光 Map 扫描

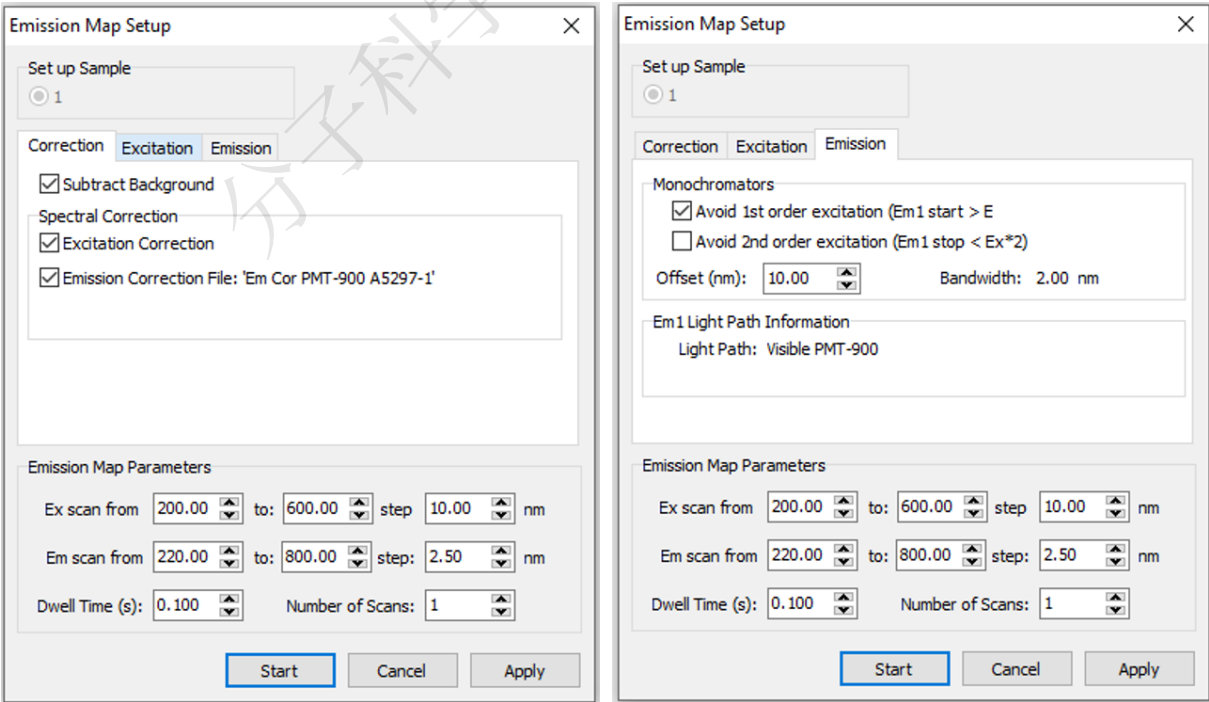


图 6-8 Emission Map 参数设置

【Emission Map】测试需要设置激发波长范围和发射波长范围，如图 6-8 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 Avoid 1st order excitation，【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。

【Synchronous Map】的设置如图 6-9 所示，设置激发和发射范围。

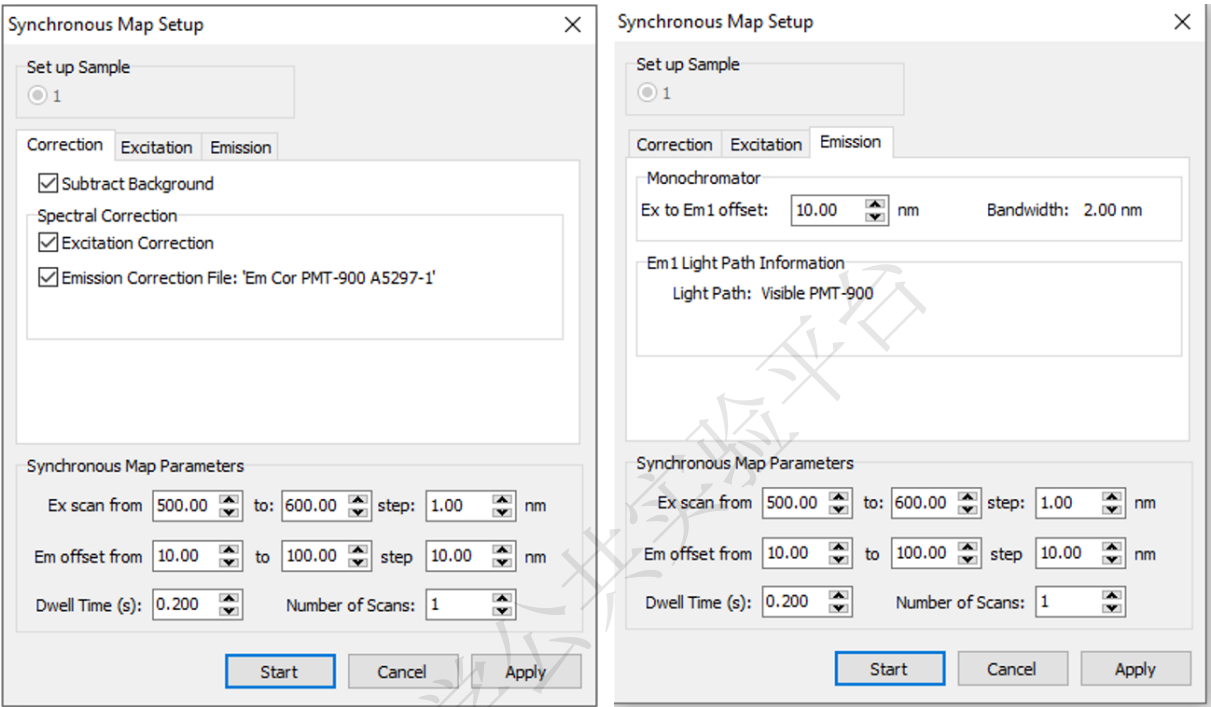


图 6-9 Synchronous Map 参数设置

6.9 Multiple Scan

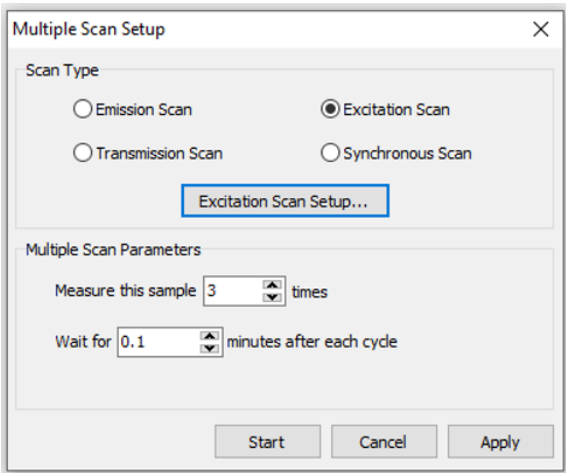


图 6-10 Multiple Scan 参数设置

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。
重复扫描，每次扫描的图，可以单独保存。

7. 相关/支撑性文件

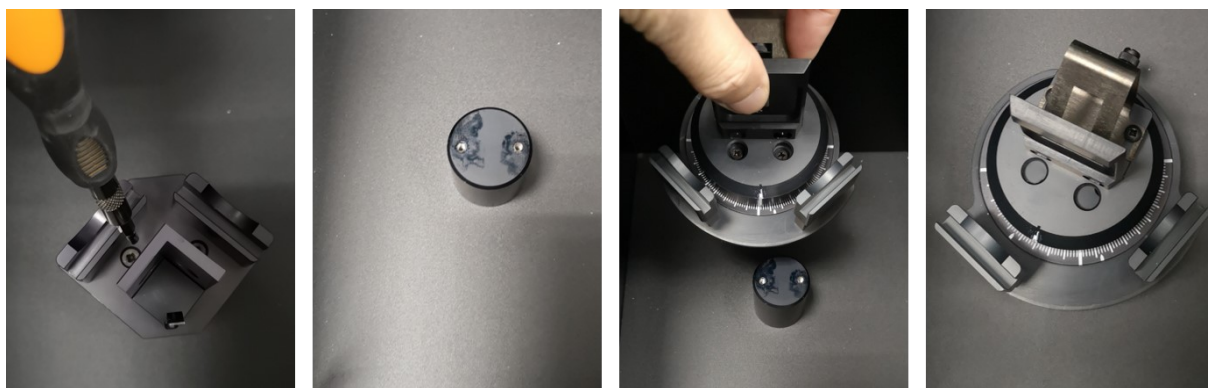
Q/WU FLHR001 文件编写规范

8. 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）

分子科学公共实验平台

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）。

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

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态正常，测试后记得取走样品再关机。紧急联系电话：18998382617，13656817706。