



中国人民大学化学与生命资源学院

SCHOOL OF CHEMISTRY AND LIFE RESOURCES, RENMIN UNIVERSITY OF CHINA

理化分析测试中心

INSTRUMENTAL ANALYSIS CENTER (IAC)

荧光分光光度计 Edinburgh-FS5 操作指南

制作团队：王灿灿，牛文博

指导老师：杨旻

中国人民大学化学与生命资源学院

一、仪器基本信息



1. 仪器型号：Edinburgh-FS5 荧光分光光度计
2. 生产厂家：Edinburgh Instruments Ltd
3. 核心功能：可进行稳态荧光、荧光量子产率测定、动力学扫描、同步光谱和三维光谱等多种测量，操作简单，配备专用软件 Fluoracle，便于数据处理和分析。
4. 关键参数：激发光谱范围为 200-1000 nm，发射光谱范围为 200-900 nm，适用于多种样品的荧光分析。
5. 放置位置：理工楼 112 实验室
6. 责任人：杨昉 13811611012

二、操作前准备

2.1 人员要求

- 操作人员需完成 Edinburgh-FS5 荧光分光光度计专项培训并通过考核，持“仪器操作资格证”预约使用；

- 操作人员在测试前，需在“中国人民大学大型仪器共享管理系统”进行预约；在完成测试后，需按实际情况填写中国人民大学大型仪器设备使用记录本。

2.2 仪器检查

- 外观检查：确认仪器外壳无破损、接口无松动，电源线 / 数据线连接牢固。
- 样品仓检查：操作前，最好确认使用什么样品仓，开机之前，先把样品仓安装好，并且检查样品仓是否完好。

三、标准操作流程

3.1 仪器基本操作

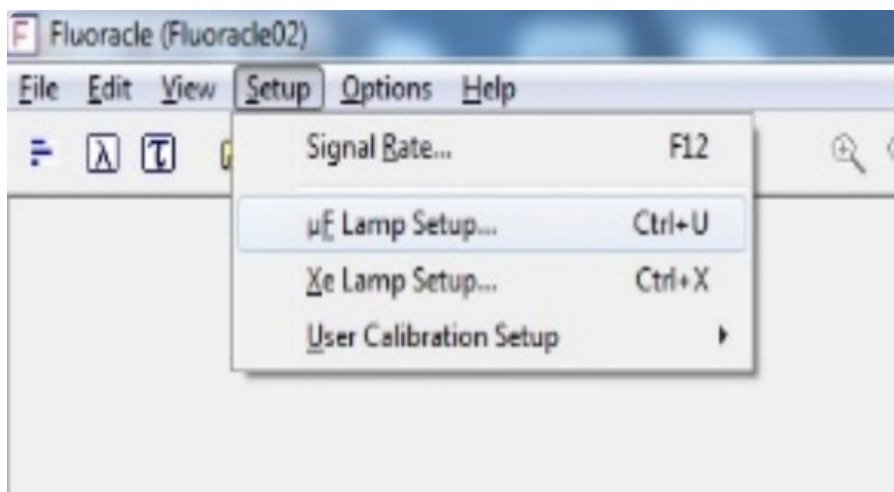
1. 本仪器只提供稳态荧光测试，瞬态荧光测试需在爱丁堡 FLS1000 稳态/瞬态荧光光谱仪上进行。
2. 样品仓的使用需根据具体实验需求确定。更换时，取下原样品仓，替换为所需类型即可。实验室配备两种样品仓，分别用于放置比色皿和薄膜。

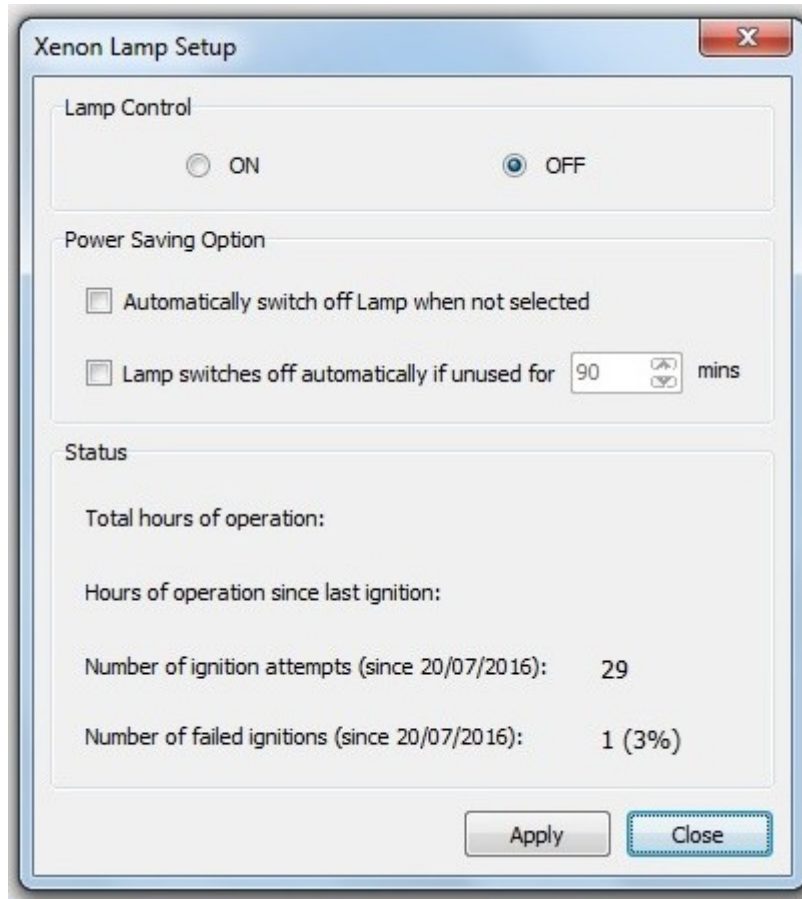
3.2 开机和启动软件

1. 如图所示，爱丁堡 FS5 荧光分光光度计的正面和右侧面，主机电源键在仪器右侧面开机时直接按下打开仪器，显示如图绿灯亮。同时打开电脑。开机时直接按下打开仪器，显示如图绿灯亮。



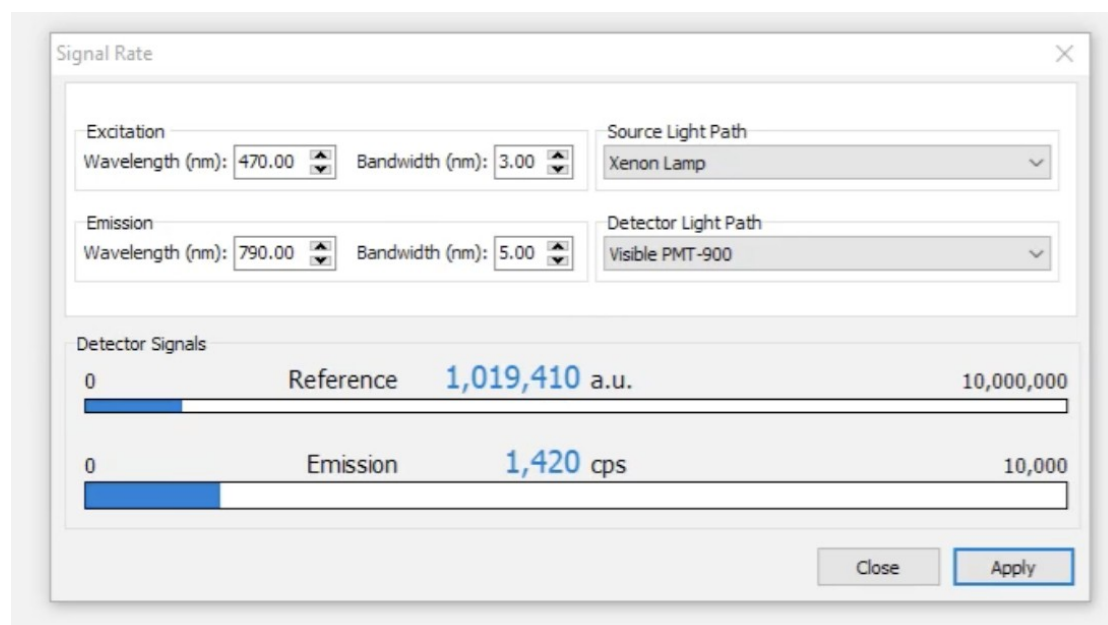
2. 打开软件 Fluoracle，注意打开软件和点亮氙灯是同步进行的（如图的右边白灯会亮），若氙灯未自动点亮，在 setup 中，选择 Xe lamp。点击 On，不用点击 Apply，氙灯点亮。氙灯一般开机 20 分钟后保持稳定，不要频繁地打开和关闭软件。



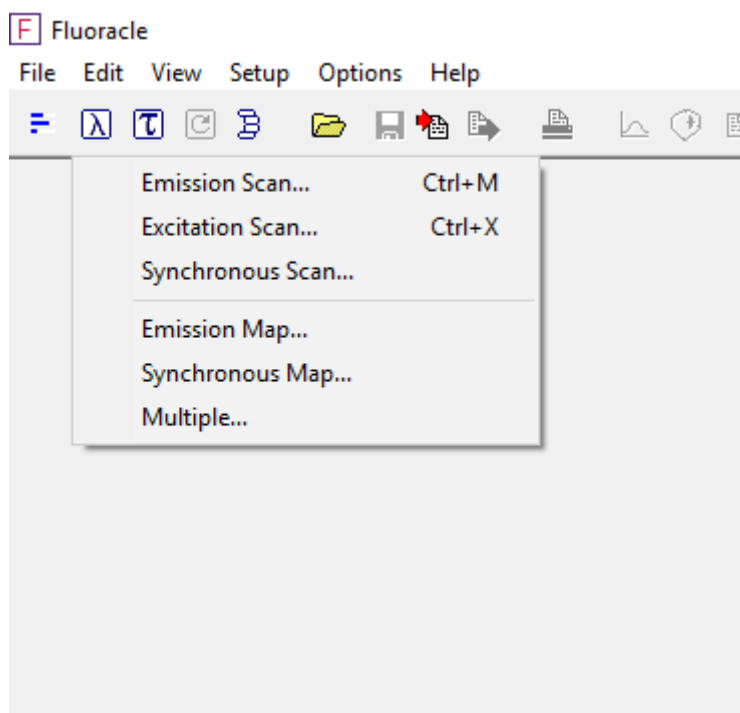


3. 软件初始化后，软件跳出 Signal rate 对话框，本仪器中【source of light path】和【detector of light path】只有默认选择，无需调节。输入波长，调试狭缝，Emission 信号不能超 1,000,000cps，可以开始实验。
4. 【Signal rate】对话框给出了两组信息，其中【Reference】为参比检测器的信号值，不能超过 4,000,000, 【Transmission】为吸收检测器的信号值，一般不能超过 2,000,000。
5. 测试时，应将 Ex 和 Em 的 bandwidth (也就是狭缝) 调到最小，一般为 0.01 或者 0.02，点击 Apply。
6. 在输入对应的 Ex 和 Em 波长后，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。

7. 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】。

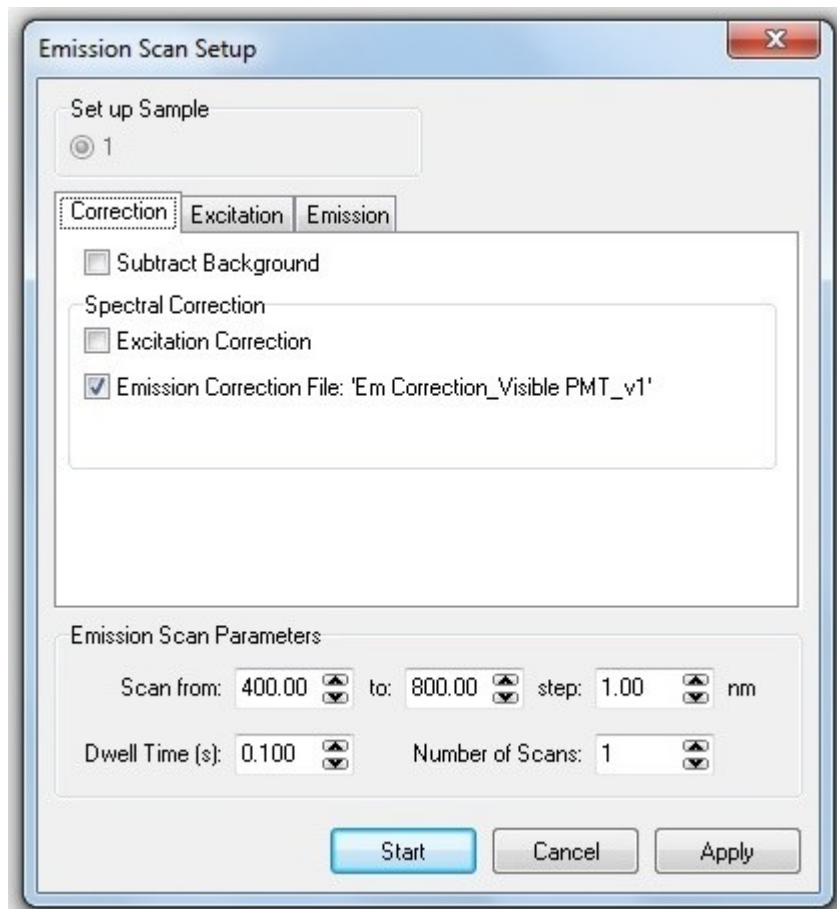


3.3 光谱测试



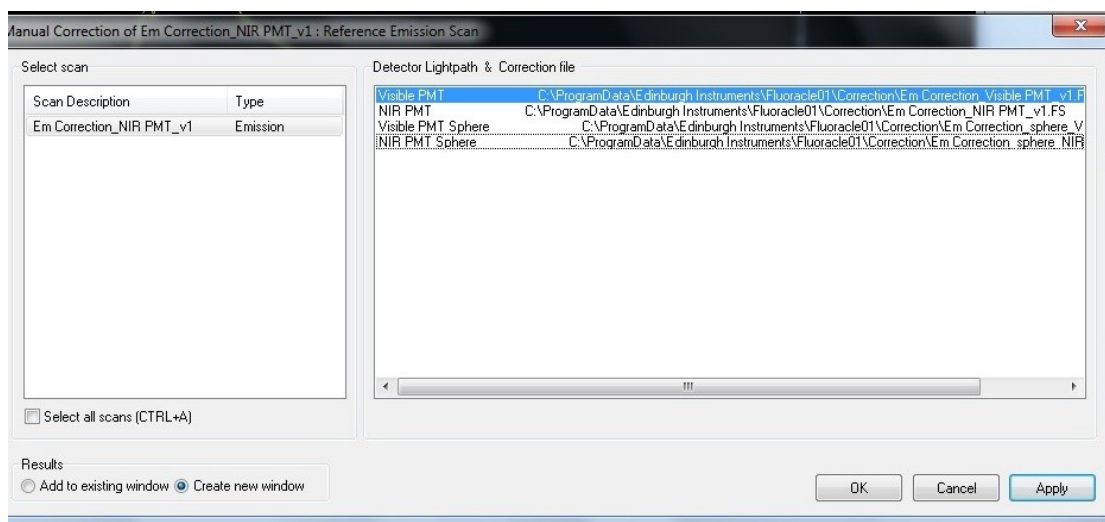
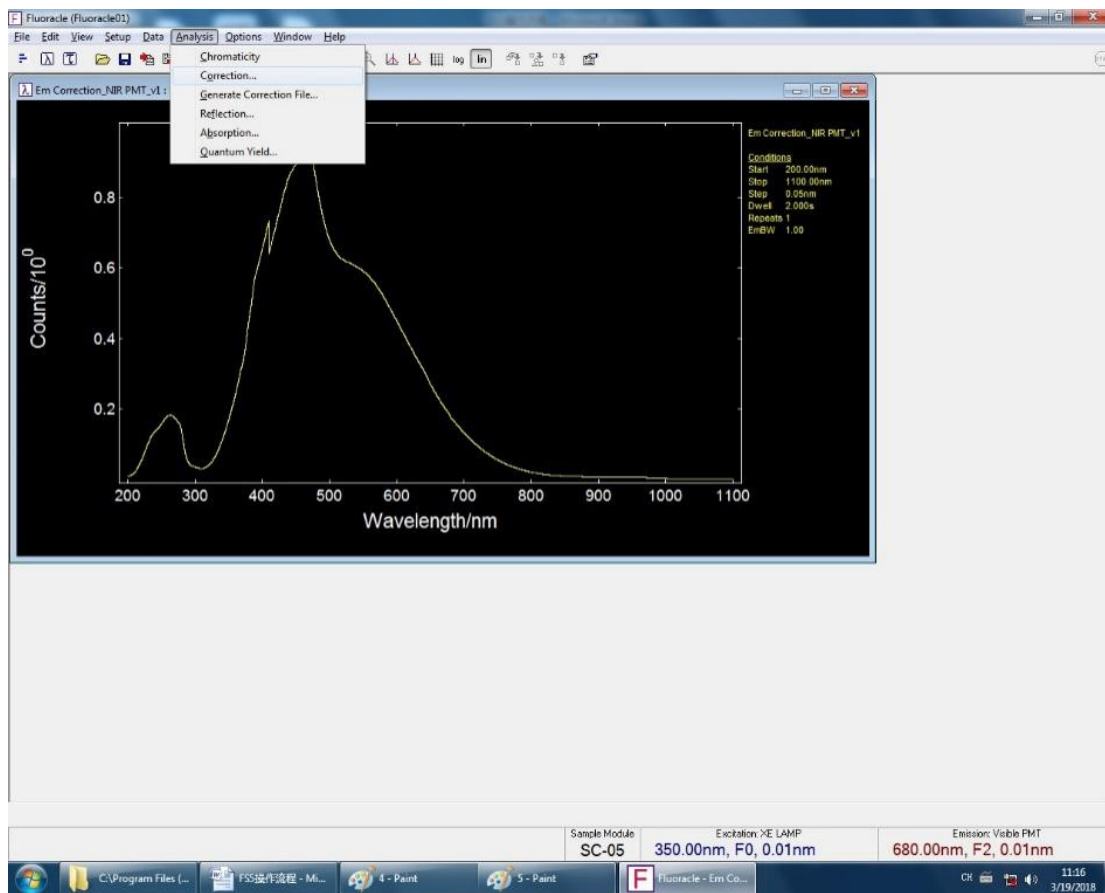
3.3.1 发射光谱与激发光谱扫描

1. 选中“λ”，根据测试需求点击【Emission scan】或【Excitation scan】，【Correction】校正文件全部勾选，建议勾选“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。也可以不勾选，在数据处理时再加载上校正文件。



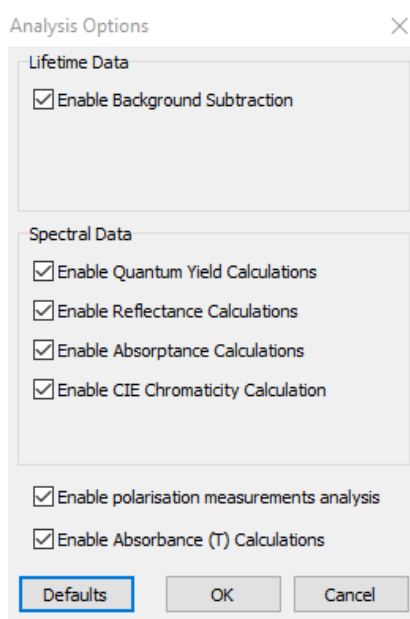
2. 【Scan __ from__】 设置波长起始；【step】设置步进，一般为 0.5、1 nm，越大扫描越快；【Dwell time】积分时间，一般设置 0.1~0.5 s，越大峰值越高；【Number of scans】扫描次数，最终的谱图是多次扫描的叠加。
3. 设置完成后，点击【Start】，开始测试。

4. 测试完成后，加载校正文件：在 Analysis 中的 Correction 中，选择需要加载的校正文件。



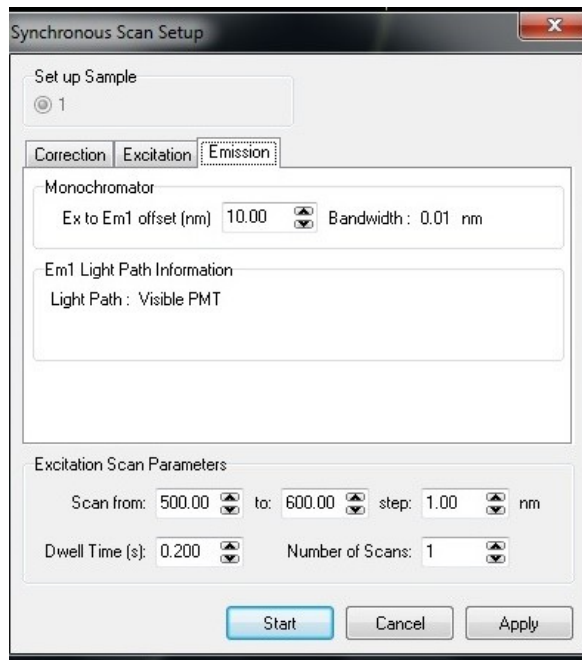
3.3.2 透射光谱扫描

1. 选中“ λ ”，点击【Transmission scan】，测试吸收光谱。需要测试空白溶液。
2. 设置方法和激发光谱以及发射光谱一样。
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，并默认全部勾选。



3.3.3 同步光谱扫描

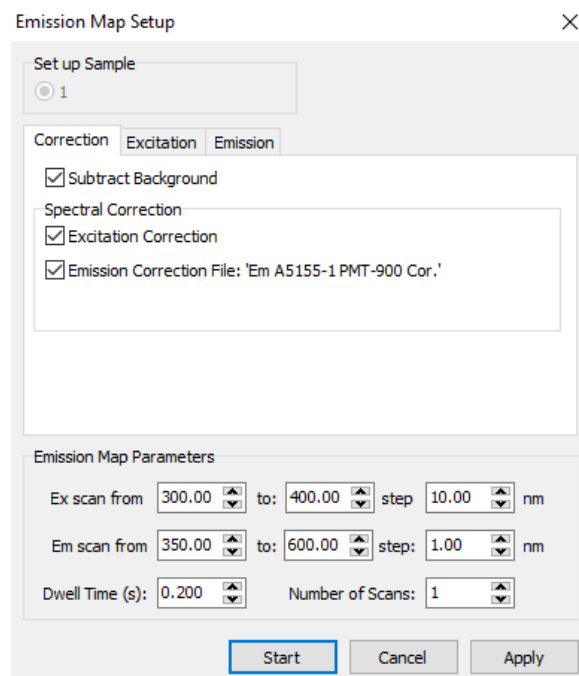
1. 选中“ λ ”，点击【Synchronous scan】，同步扫描。
2. 激发和发射同时变化，波长起始是 Ex 侧波长，需要设置 Offset，一般设置为 10 nm。



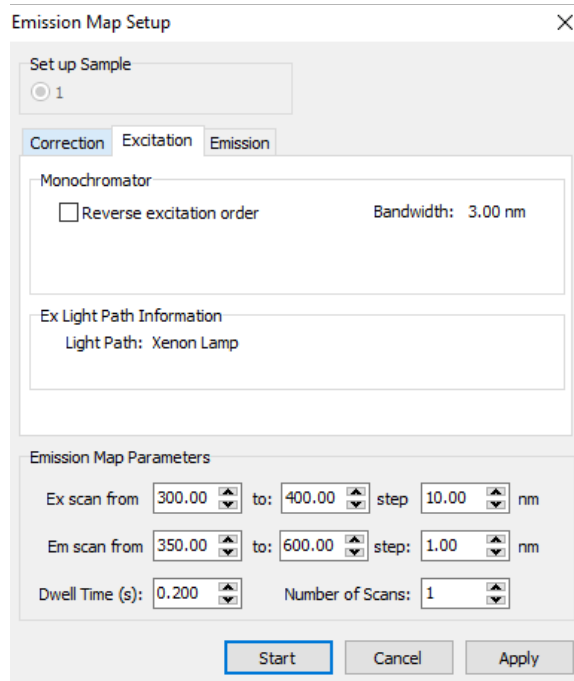
3.3.4 Map 扫描

1. Emission Map

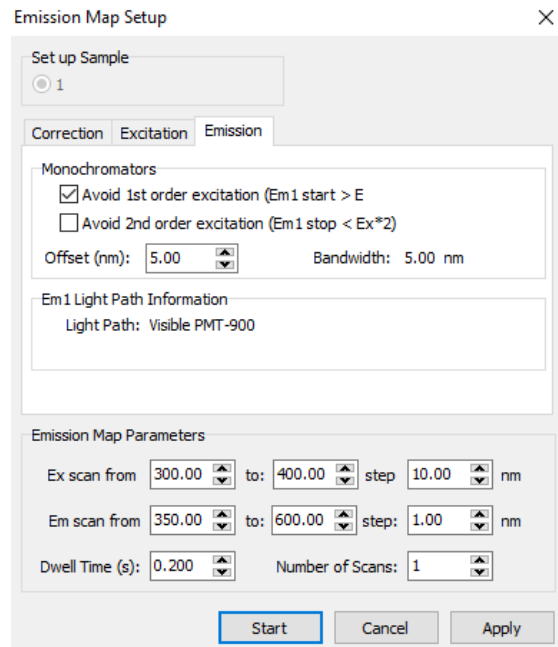
- 【Emission Map】测试需要设置激发波长范围和发射波长范围，分别设置【Excitation】和【Emission】内的参数即可。



- Reverse excitation order：一般 Ex 波长是由小变大的，勾选此选项，Ex 波长由大变小。



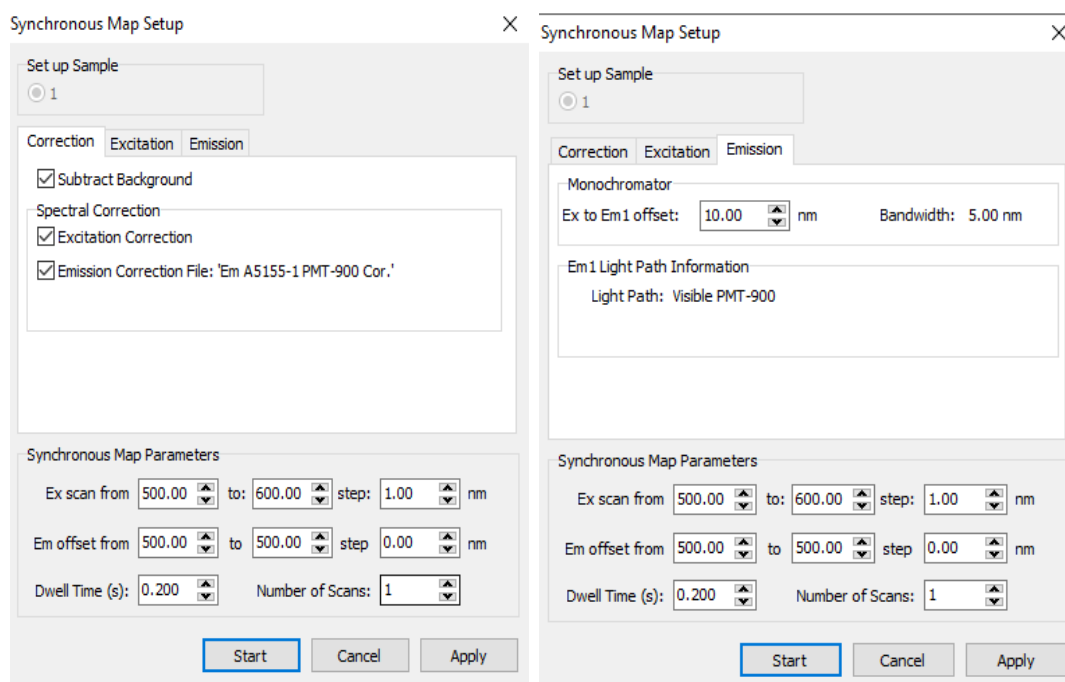
- 如果要去掉瑞利散射峰（一倍频）：勾选 Avoid 1st order excitation；
- 如果要去掉二倍频峰，勾选 Avoid 2nd order excitation。



- Offset 指的是 3D 图谱（等高线图）上散射峰的宽度，默认是 10 nm。

2. Synchronous Map

【Synchronous Map】的设置如图所示，设置激发和发射范围。



3.3.5 Multiply scan

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。

3.4 数据保存

1. 点击 File，选择下拉菜单中“保存 (Save as)”，数据可以保存为 fs 格式，这是仪器自带的原始数据格式，能完整保留所有测量信息，保存路径可自己选择。
2. 如果要保存为其它格式，可在文件下拉菜单中选择对应的格式点击保存。

3.5 关机

1. 准备关闭软件前，点击关闭 Xe 灯，将仪器狭缝设置为最小值，再退出 Fluoracle 软件，关闭电脑。

2. 仪器散热 15 min 后，再关闭仪器电源，主机电源键在仪器右侧面，仪器关机时直接按下关闭仪器，显示灯熄灭。

3.6 记录

实验结束后，在中国人民大学大型仪器设备使用记录本上记录使用信息。

四、数据处理

用 Origin 软件进行数据处理。

五、常见故障处理

5.1 故障现象一：荧光信号强度骤降

1. 故障原因：1) 氙灯使用寿命到期，FS5 氙灯有固定脉冲次数寿命；2) 单色器狭缝堵塞或错位；3) 光电倍增管老化。
2. 故障检修：1) 1. 更换原厂氙灯并校准；2) 拆解光学室，用压缩空气清洁狭缝；3)检测 PMT 响应度，必要时更换。

5.2 故障现象二：基线漂移 / 噪声过大

1. 故障原因：1) 实验室电压不稳，FS5 对电源稳定性要求高；2)光电倍增管高压电源滤波不良；3) 环境光干扰。
2. 故障检修：1) 配备稳压电源；2) 检修高压模块滤波电容；3) 确保样品室密闭，避开强光环境。

5.3 故障现象三：波长校准偏差

1. 故障原因：1) 单色器驱动电机故障；2)内部基准波长片污染。
2. 故障检修：1)重启仪器并执行“波长校准”程序；2) 清洁基准波长片，必要时联系厂家校准。

5.4 故障现象四：软件无法采集数据

1. 故障原因：1)数据采集卡驱动异常；2)放大器与主机通讯中断；3)氙灯触发电源故障。
2. 故障检修：1) 重装驱动程序；2)检查 USB / 网线连接；3) 检测触发电源输出信号。

六、注意事项

6.1 样品准备：

1. 需确保样品纯度，避免杂质荧光干扰，必要时通过离心、过滤等方式纯化。
2. 控制浓度在合适范围（通常 10^{-6} - 10^{-8} mol/L），浓度过高易引发自吸收或荧光猝灭，过低则信号微弱。
3. 溶剂需选用无荧光、与样品互溶且化学性质稳定的类型，避免溶剂自身截止波长与样品荧光波长重叠，且样品溶液需现配现测，防止光解、氧化等导致荧光强度变化。
4. 样品池需使用石英材质（玻璃会吸收紫外光），使用前需用溶剂润洗，避免交叉污染，操作时戴手套，不触碰光学面。

6.2 比色皿使用：

1. 拿比色皿时，手指只能捏住比色皿的毛玻璃面，不要碰比色皿的透光面，以免沾污。
2. 清洗比色皿时，一般先用水冲洗，再用蒸馏水洗净。如比色皿被有机物沾污，可用盐酸-乙醇混合洗涤液（1:2）浸泡片刻，再用水冲洗。不能用碱溶液或氧化性强的洗涤液洗比色皿，以免损坏也不能用毛刷清洗比色皿，以免损伤它的透光面。每次做完实验时，应立即洗净比色皿。

3. 比色皿外壁的水用擦镜纸或细软的吸水纸吸干，以保护透光面。
4. 测定有色溶液吸光度时，一定要用有色溶液洗比色皿内壁几次，以免改变有色溶液的浓度。另外，在测定一系列溶液的吸光度时通常都按由稀到浓的顺序测定，以减小测量误差。
5. 在实际分析工作中，通常根据溶液浓度的不同，选用液槽厚度不同的比色皿，使溶液的吸光度控制在 0.2-0.7。

6.3 仪器操作过程：

1. 仪器操作前需提前预热，确保光源（如氘灯）、检测器稳定。
2. 设置参数时，需合理选择激发波长（避开溶剂吸收峰）、发射波长（通过扫描确定最大发射峰）及狭缝宽度（狭缝过宽会降低分辨率，过窄则信号强度不足），测试前需进行基线校正，消除背景荧光干扰。
3. 测试时按“低浓度→高浓度”顺序进样，减少高浓度样品残留对低浓度样品的影响，实时观察谱图，若出现峰形异常（如肩峰、基线漂移），需排查样品污染或仪器光路偏移。
4. 不测定时必须将比色皿暗箱盖打开，使光路切断，以延长光电管使用寿命。

6.4 测试环境：

1. 保持测试室恒温（20-25℃），温度波动会影响荧光强度，控制湿度（40%-60%），湿度过高易导致光学元件受潮。
2. 远离强磁场、电场设备（如离心机、大功率电源），避免干扰检测器信号。
3. 测试结束后，需用溶剂清洗样品池，关闭仪器软件后再切断电源定期维护仪器（如清洁光路、更换老化光源），延长使用寿命。

七、维护与保养

7.1 荧光分光光度计主机的日常保养：

1. 每天检查室内的防尘设施，发现纰漏及时维修；
2. 每天清理仪器及周边的灰尘，仪器外壳使用干净的湿布，其它地方建议使用吸尘器；
3. 荧光分光光度计的电源要稳定，配备稳压器；
4. 荧光分光光度计应放置在不潮湿、无振动的地方；
5. 荧光分光光度计的放置应水平，荧光分光光度计周围保留 0.3 m 以上空间，便于散热；
6. 不要在荧光分光光度计上放置重物；
7. 不要用水及其它洗涤剂冲洗荧光分光光度计；
8. 检测结束后，请关闭荧光分光光度计的电源，从而延长其使用寿命；
9. 未经授权，不要擅自拆机；

注：荧光分光光度计一旦出现任何异常现象，及时汇报科室负责人。

7.2 氙灯的保养与维护：

1. 氙灯是荧光分光光度计的一个重要部件，它的正常使用寿命通常为 1500 h。氙灯在使用时不宜频繁开关，氙灯关闭，需要重新开启前，请确保氙灯完全冷却后再开启，以免缩短其寿命。而且关机时最好不要马上切断总电源，让风扇多转一会，降低灯的温度可延长灯的寿命。
2. 为了得到稳定准确的测试数据，同时也出于仪器使用安全的考虑在氙灯达到正常使用寿命时应及时更换新的氙灯。在更换新氙灯前，务必关断所有电源；而且要等氙灯完全冷却后再更换，这通

常需要 2h，以防烫伤。更换氙灯时，首先，注意不要用手触摸灯的表面，以防留下指纹、汗液，可戴手套操作；如果不小心用手触碰到了，可用擦镜纸或脱脂棉沾无水乙醇拭去。其次，注意不要用太大力或撞到氙灯；再次，安装氙灯时注意不能接反了正负极，否则可能引起爆炸事故。最后，注意不要用眼睛直视氙灯发出的光，以免对眼睛造成损伤。

3. 被更换下来的旧氙灯内同样充有高压氙气，务必要妥善处理旧灯通常的做法是：用厚布包住旧灯三层，然后用锤头打烂灯上的玻璃窗。

7.3 样品仓的保养与维护：

在使用中，样品仓的污染是经常会遇到的，如不采取必要的措施，会直接影响到测试的正常进行，严重的情况甚至会造成仪器损坏，所以需要特别注意保护样品仓不受样品污染。通常来说，需要注意的污染源如下：

1. 固体污染：主要是粉末污染，例如，高发光效率的发光粉末落在样品室，如果测量弱发光样品的时候就会干扰测试，需要特别留意。夹好的样品放入前，用洗耳球吹一下，可以减少洒落。
2. 液体污染：在取放样品时样品池中的液体若不小心溅到样品室里要及时进行清洗。
3. 气体污染：具有腐蚀性的酸性气体，对于光学元件的污染是不可逆的，直接影响到仪器的使用寿命。在测试此类气体时，样品室需要和周边的光学元件隔离，采用光学窗口保证测试正常进行。比如日立仪器公司生产的荧光分光光度计其机型设计就是隔离式

的，而爱丁堡仪器公司生产的荧光分光光度计机型设计属于开放式，就最好不要用来测此类样品。

4. 指纹污染：当狭缝开到比较大的时候，留在样品仓上的指纹、汗液可能会发光，影响测试，请在测试时戴上手套。
5. 水汽污染：做液氮低温或变温低温时，会导致窗口表面水汽凝结影响测量数据，可以用干燥空气或氮气吹扫样品仓，驱走水汽。

7.4 光电倍增管(PMT)的维护要点：

1. 在切换光源、修改设置或放样品之前必须把狭缝关到最小，防止强光照射时，通过光阴极的电流超过 PMT 的容许值，导致光阴极的光敏性下降，甚至损坏光电倍增管。
2. 经常清洁 PMT 外壳，保持干净无尘；也不要用手直接触摸其外壳。PMT 的光阴极具有光敏性，注意对其所有的操作都在弱光下进行。