

# 荧光光谱仪（FLS 980）稳态/瞬态操作说明书

## 一、仪器介绍

### 1.FLS 980 荧光光谱仪具有的功能

#### 稳态测量：

激发光谱(荧/磷光强度~激发波长)、

发射光谱(荧/磷光强度~发射波长)、

同步扫描谱(固定波长差、固定能量差、可变角)、

三维荧光光谱（荧/磷光强度~发射波长~激发波长(温度)）。

#### 瞬态测量：

荧光(磷光)寿命(~ns—长余辉)，

三维瞬态光谱（荧/磷光强度~发射波长~时间）

### 2.主要性能指标

光谱仪探测范围：(Red PMT: 200—870nm/ EXT Red PMT: 200-1010 nm/NIR PMT: 950-1700 nm； )

瞬态测量范围：~ns - +∞

信噪比：25000: 1(水峰 Raman)

配用冷阱系统：10—300K / 77-800K

激发光源： 450W 氙灯、微秒脉冲闪光灯、纳秒 OPO 激光器、皮秒超连续白光、飞秒激光器

激发光源输出波长范围：稳态光源：200-2000 nm，脉冲光源：200-2600 nm

F980 系统软件：控制硬件，包括变温系统，数据采集、分析

### 3.仪器主要部分结构图



图. 1

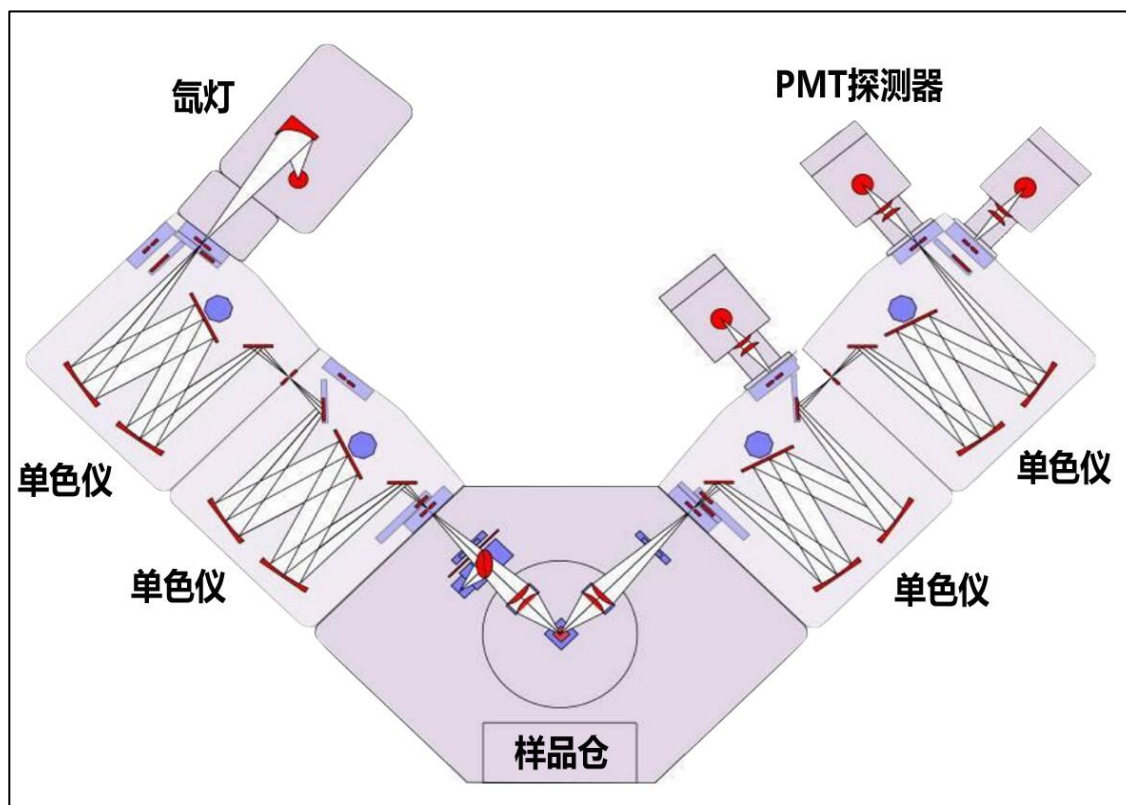


图. 2 仪器光路图

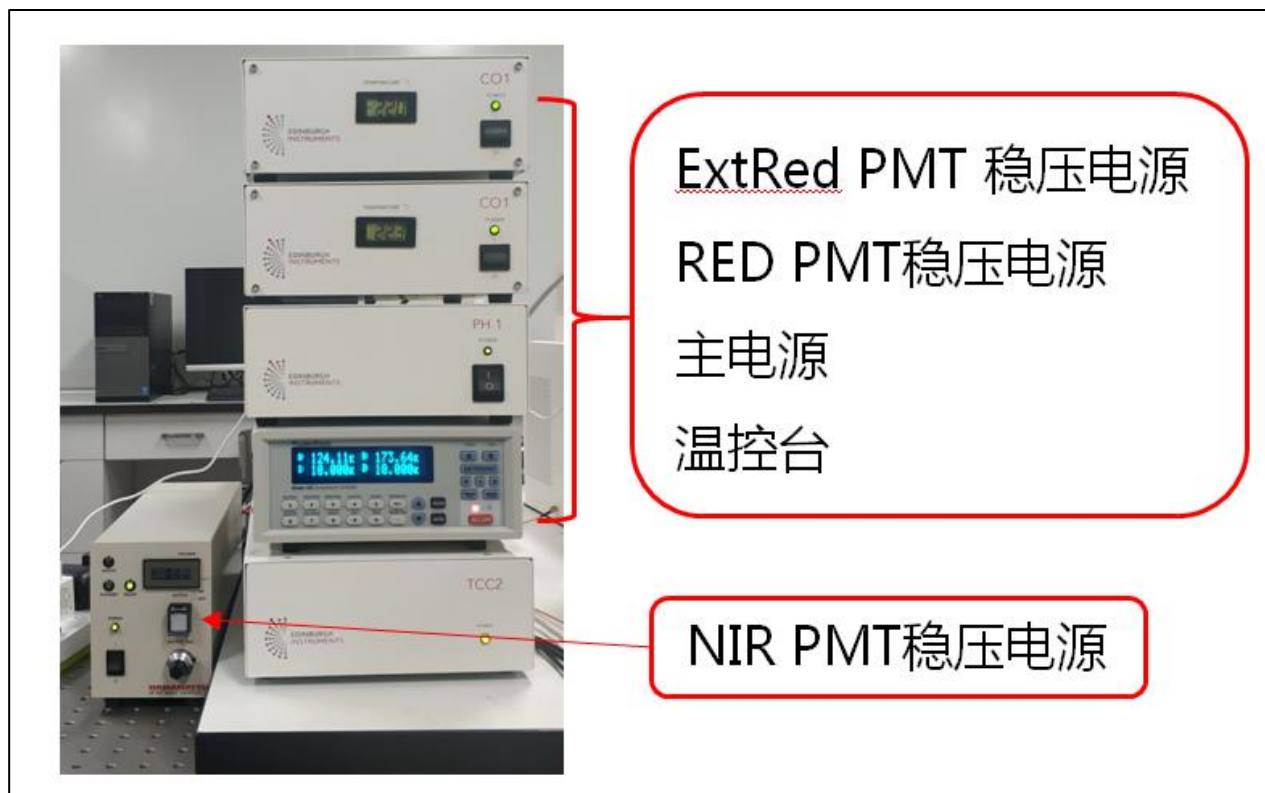


图 3. 仪器控制电源

## 二、仪器使用注意事项

1. 在切换光源、修改设置或放样品之前必须把狭缝 ( $\Delta\lambda$ ) 关到最小 (0.01nm)，否则会损坏光电倍增管！  
如果打开样品室盖子之后，Em1 的 Signal Rate 增加，请停止实验并立即与仪器管理员联系！
2. 测量样品的瞬态性质之前，先用荧光光谱仪对样品的稳态性质进行表征，了解样品的激发光谱和发射光谱及最佳激发波长和发射波长；
3. 用 PMT 检测时，必须等稳压电源 CO1（如图 3）的温度示数在  $-18^{\circ}\text{C}$  以下才可以开始采集数据；
4. NIR PMT (950-1700 nm)探测器（如图 3）接通电源后，POWER 和 STANDBY 指示灯会亮起，要等 STANDBY 指示灯灭掉，**READY 指示灯亮起之后，才能加高压**，即按下 OUTPUT 按钮，该按钮会亮起橙色的灯，开机完毕。
5. 当开样品仓盖后，Signal Rate 窗口中 Em1 Signal Rates 显示的就是探测器的暗噪声。各探测器噪声水平：Red PMT 400nm: <50 cps; EXT Red 750nm: <200 cps; NIR PMT 1200nm: <3000 cps，如果探测器已经降温到最低温度，然而噪声高于以上标注的数值请联系仪器管理员。
6. 在测量未知样品之前，先测样品的吸收谱，再根据吸收峰位置选取激发波长，用小的狭缝条件粗扫样品的荧光发射，再精修测试条件，测出高信噪比的发射谱，再根据需求来确定激发谱的发射波长，扫一张激发谱。最后根据激发谱，决定是否再扫一张发射谱。
7. 一般情况下，扫发射谱时，发射的起始波长要比激发波长大 15nm；扫激发谱时，监测的发射波长要比激发终止波长大 15nm。
8. 在测试过程中，如果发现纵坐标光子计数超过  $5 \times 10^5$ ，需即刻打开样品仓盖，重新设置狭缝宽度，调整至 Em1 读数不超过 25 万 CPS，视具体探测的波长适当调整。**特别注意探测器量子效率低的探测波段(如附图 11-13)，Em1 读数应不超过 5 万 CPS，例如 Red PMT(700-800 nm)、EXT Red (800-950 nm)、NIR PMT (1600-1650 nm)。越接近探测极限，探测效率越低，条件设置后，Em1 显示数值应越小。**
9. **狭缝范围 0.02~15nm，调节时注意不要超过其上限；**
10. 每次设置完参数后都要点击 Apply 或者回车键确定；
11. **用 TCSPC 模式测寿命时，发射信号不能超过脉冲光源重频的 6%；用 MCS 模式测寿命时，发射信号不大于 3000。**
12. 测瞬态的 Time Range 的选择需大于 10 倍的衰减寿命。
13. 文件保存路径为：H:\Data\XMIREM\导师\自己\日期文件夹；
14. **不得用优盘拷贝数据，只能把数据上传到 FTP 上；**
15. 如实填写仪器使用记录，爱护仪器；
16. **实验结束后，把激发跟发射端的狭缝都调整至 0.01，样品仓的盖子虚扣着即可（如图），需保证其平稳放置以防摔落变形；**
17. 实验进行中，不得离岗！
18. 未经考核，不得擅自操作实验室的仪器。

### 三、稳态荧光光谱的测定

#### (一)稳态荧光光谱的测定步骤

- 1.打开氙灯电源，待其稳定，稳定后电压约 14—17V，电流 25A；
- 2.依次打开 PH1 和 CO1 电源，如果测试发射波段在 950nm 以后的，需把 NIR PMT 的电源打开，具体操作参考注意事项说明；
3. 打开计算机，双击桌面上 F980 图标，进入工作站
- 4.点击窗口左上角的 signal rate 按钮(如附图 1),进入 Signal Rate 设置窗口,先将 Excitation Wavelength 和 Em1 Wavelength 处的  $\Delta\lambda$  均设置为 0.01nm，按回车键(Enter)或者点击 Apply 确认，再将 Source 设置为 Xe1[400nm(输出波长范围：200-800nm) / 1200nm (输出波长范围：800-1700nm)]，Em1 Detector 依据探测范围进行选择合适的探测器（如附图 2-3），然后点击 Apply；
- 5.打开样品室的盖子，放入待测样品，然后盖好；
- 6.在 Signal Rate 设置窗口内输入相应的 Excitation Wavelength 和 Em1 Wavelength 值，逐渐加大  $\Delta\lambda$ ，使 Em1 获得一个合适的 Signal Rate（注意：在设置后需要按下回车或者 Apply 按钮设置才真正生效，Ref 的 Signal Rate 不要超过  $2 \times 10^6$ ，Em1 的 Signal Rate 千万不要超过  $2.5 \times 10^5$ ）；
- 7.激发谱测试设置：单击工具栏中稳态测试按钮，选择 Excitation Scan，进入设置窗口，在 Emission1 栏内，将 Monochromator Wavelength 设置为待监测波长，然后在 Excitation Scan Parameters 内设置波长扫描范围、扫描间隔（step）、停留时间（Dwell Time）和扫描次数（Number of Scans）（如附图 3、5），设置完毕后点击 Start 即开始测量，得到激发光谱；
- 8.发射谱测试设置：单击工具栏中稳态测试按钮，选择 Emission Scan，进入设置窗口，在 Excitation 标签内，将 Monochromator Wavelength 设置为合适的激发波长，然后在 Emission Scan Parameters 内设置波长扫描范围、扫描间隔（step）、停留时间（Dwell Time）和扫描次数（Number of Scans）（如附图 4-5），设置完毕后点击 Start 即开始测量，得到发射光谱(荧光光谱)；

#### (二) 数据处理

1. 测量完成后，直接点击保存图标保存原始文件；
2. 数据处理的功能都在 Data 菜单下：

Scale:将当前的谱图坐标乘以输入的数值显示出来

Normalise: 归一化，用此功能可以比较峰位是否相同

Subtract Baseline: 扣基线

Crop Range: 设置横坐标显示范围

Differentiate: 显示微分曲线

Integrate: 积分

Reverse: 将横坐标刻度倒过来显示

Correction: 谱图校正

3. 谱图处理完了以后点击 File，选择 Export ASCII 即可以转换成文本文件。

## 五、荧光寿命的测量

备注：目前实验室的配置脉冲光源有微秒脉冲闪光灯、纳秒 OPO 激光器、皮秒超连续白光、飞秒激光器。

一般情况下衰减寿命在小于  $2\mu\text{s}$ ，选用激光器，衰减寿命大于  $2\mu\text{s}$ ，则选用微秒闪光灯，具体设置和步骤如下：

1. 打开 CO1，主机和脉冲光源的电源；
2. 把脉冲光源的同步信号线连接 TCC 模块电路板上的同步信号输入端口，用 MCS 模式测寿命时，同步信号线接 Trigger，用 TCSPC 模式测寿命时，同步信号线接 Sync 1。
3. 打开计算机，双击桌面上 F980 图标进入工作站；
4. 点击软件窗口左上角的 Signal Rate 按钮，进入 Signal Rate 设置窗口（如附图 6），先将 Excitation Wavelength 和 Em1 Wavelength 处的  $\Delta\lambda$  均设置为 0.01，按回车键(Enter)或者点击 Apply，再根据测试寿命的长短在 Source 选择合适的光源模式，探测器根据探测波段进行选择，然后点击 Apply；
5. 打开样品室，放入样品，盖好盖子，输入样品的 Excitation Wavelength 和 Em1 Wavelength 值，逐渐加大  $\Delta\lambda$ ，使 Em1 获得一个合适的 Signal Rate(具体参考注意事项的说明)；
6. 点击瞬态测试按钮（如附图 7），选择 Manual Lifetime，进入设置菜单，在 Excitation 栏内设置好激发波长和 Light Source，在 Emission 1 栏内设置好发射波长和 Detector，将 Live 选择框勾上，然后开始设置下部的 Lifetime Sample 1 菜单，在 Rates 标签内一边观察 Stop Rate 一边调节 Iris Setting，再在 Time Range 标签内选择一个合适的 Time Range 和 Channels，在 Stop Condition 标签内根据样品情况选择一个合适的条件（如附图 8-9），设置好之后，点击 New 开始测试；

### （二）数据处理

1. 测量完成后，点击保存将原始文件保存到 H:\Data\XMIREM\导师\自己\日期文件夹；
2. 点击“Zoom In”按钮，然后在图上选取一个需要进行拟合的范围，在 Data 菜单下选择 “Exponential Fit 中的 Tail Fit，在弹出的窗口内输入数值进行拟合，得到衰减寿命；
3. 对于寿命很短的样品，在样品测量完成后，要做仪器的衰减（即 IRF），液体样品用 30% 硅胶水溶液作散射体，固体样品用固体本身作散射体，在 Signal Rate 设置窗口中将 Excitation Wavelength 和 Em1 Wavelength 值都设置为 Excitation Wavelength 值，然后调整  $\Delta\lambda$  获得合适的 Em1 值，完成后关闭窗口。
4. 点击 按钮，选择 Manual Lifetime，进入设置菜单，将 Live、IRF 和 Add 选择框勾上，别的设置与样品一致，设置好之后，点击 New 开始测试；
5. 测量完成后，选择拟合范围，点击 Data 菜单，选择 Exponential Fit 中的 Rconvolution Fit 进行拟合；
6. 拟合完成后，保存拟合的文件，共三种类型的文件，原始文件，ASC II 文件和图片文件：直接点击保存可以保存原始文件，点击 File 选择 Export ASCII 即可以保存成文本文件；选择 save as，保存文件类型选择为 Windows MetaFile 可以保存成图片格式。

## 六、关机程序

1. 关闭 F980 程序和计算机；
2. 依次关闭 CO1 稳压电源，PH1 稳压电源；
3. 关闭氙灯电源（只需按银色电源按钮，由于氙灯关闭后还需散热，所以总电源无需关闭，让其给散热扇供电散热）以及其他使用过的仪器；
4. 在仪器使用记录本上做好使用记录。

附图：

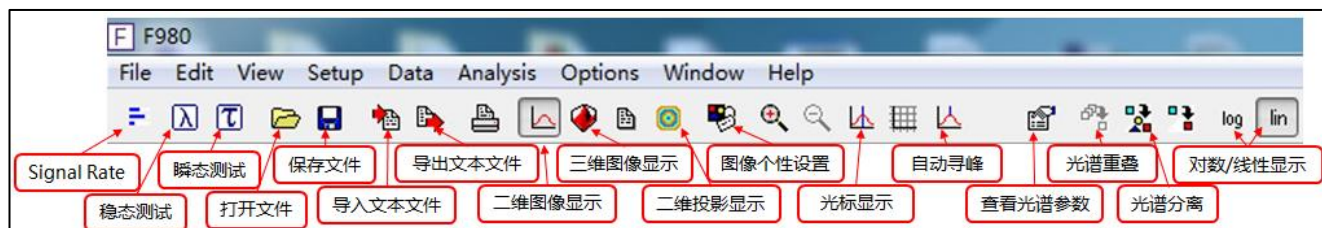


图. 1 工具栏功能介绍

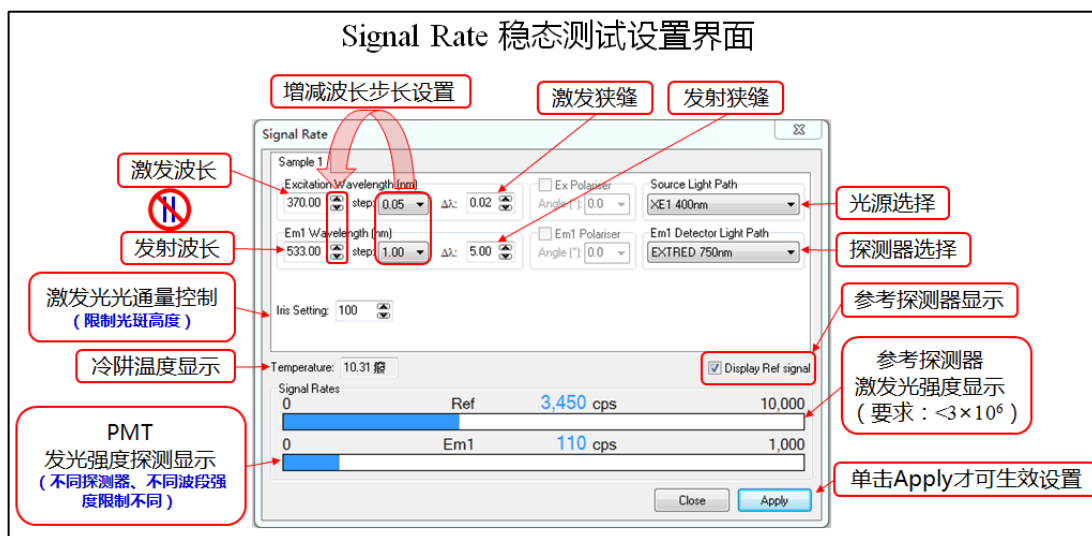


图. 2 Signal Rate 稳态测试设置界面

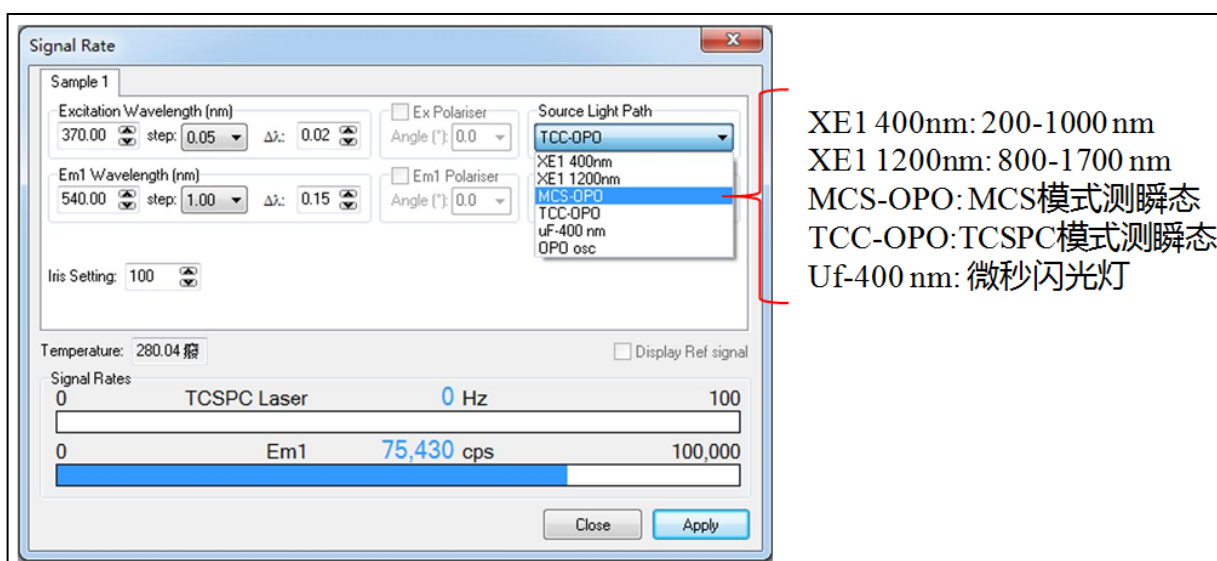


图.3 光源选择



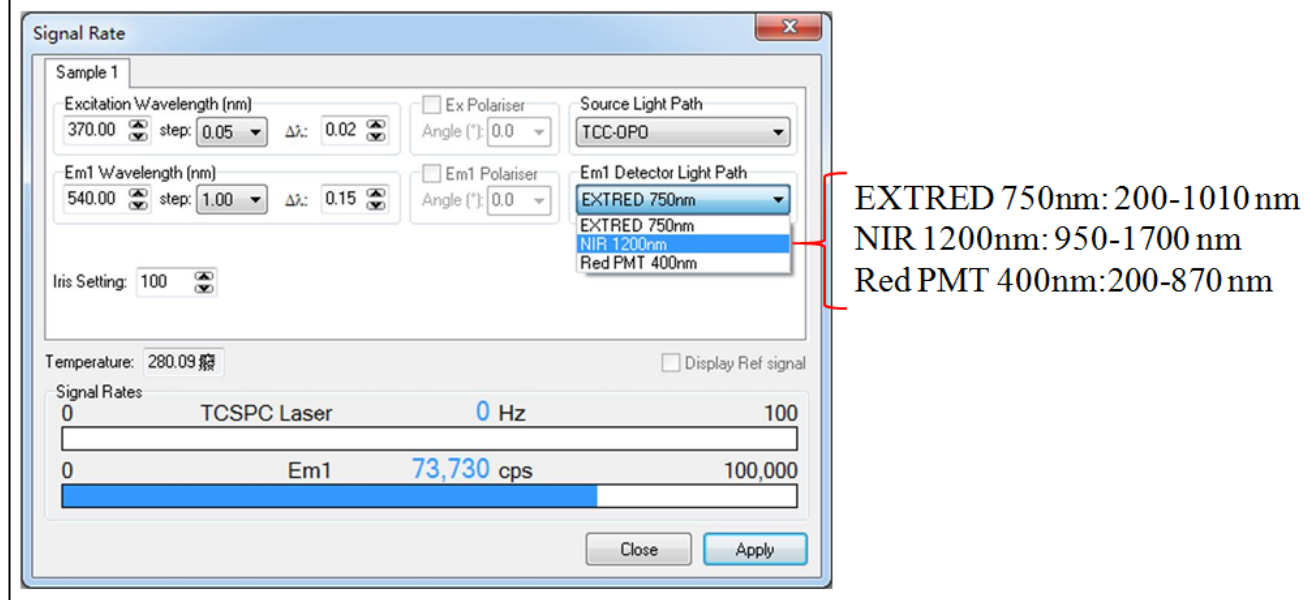


图 4. 探测器选择

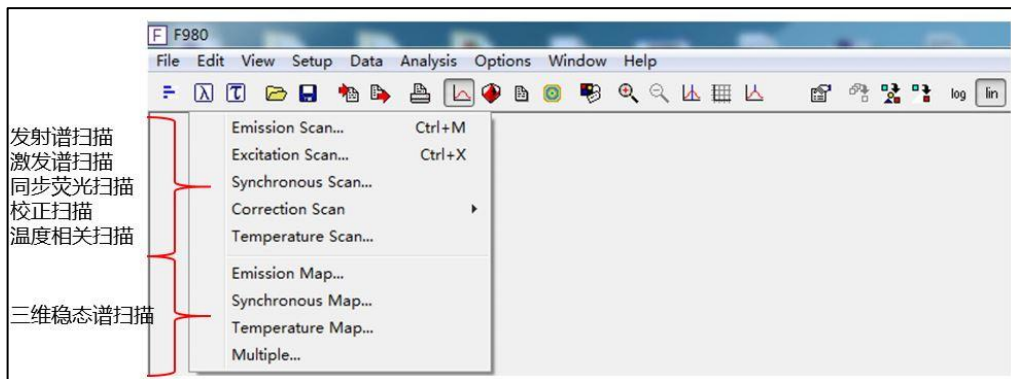


图. 3 稳态谱扫描功能界面介绍

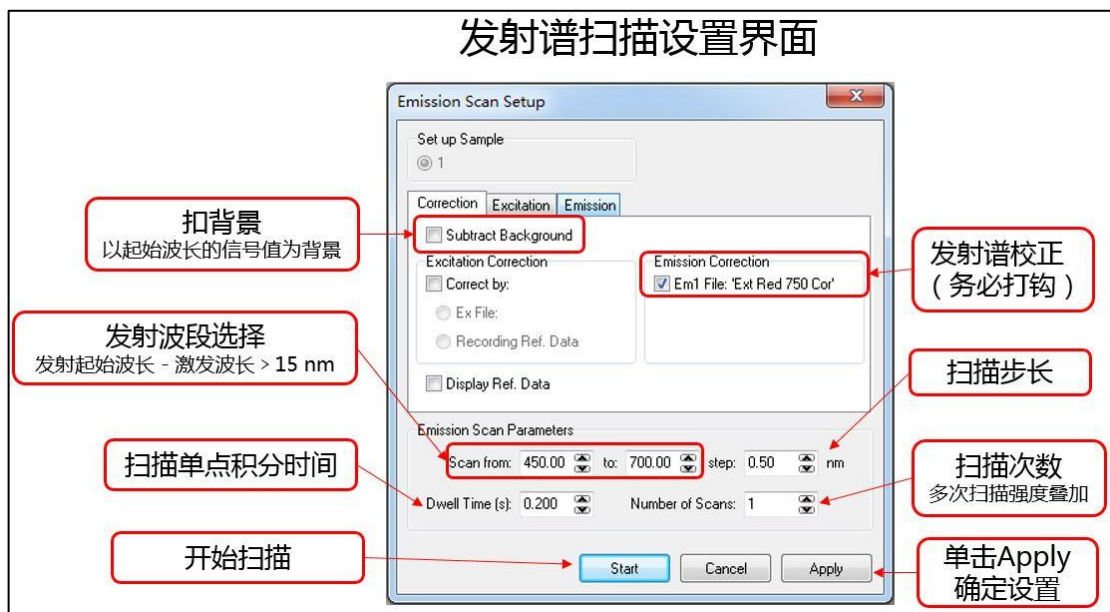


图. 4 发射谱扫描设置界面



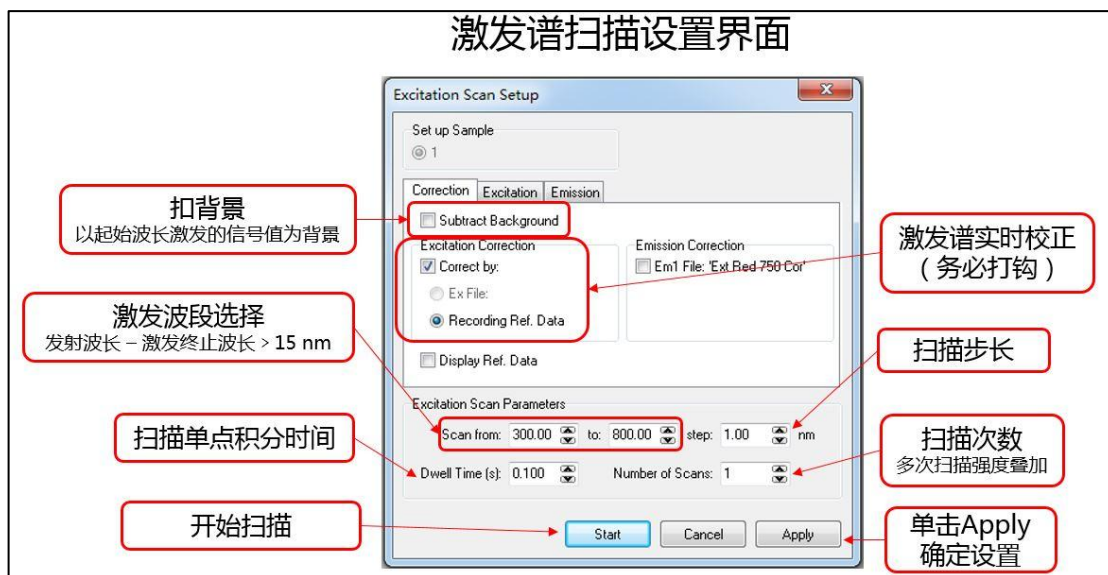


图. 5 激发谱扫描设置界面

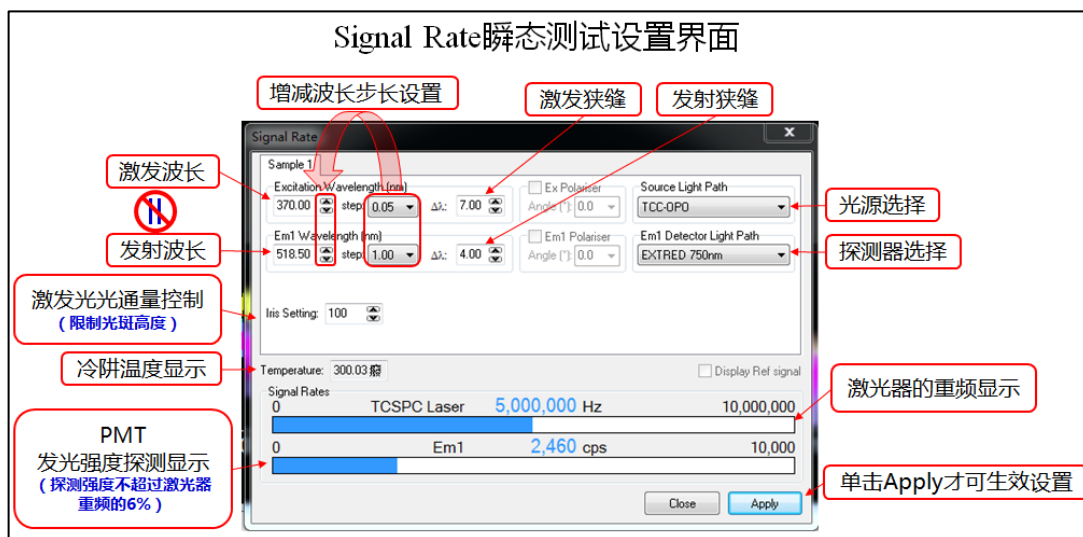


图. 6 Signal Rate 瞬态测试设置界面

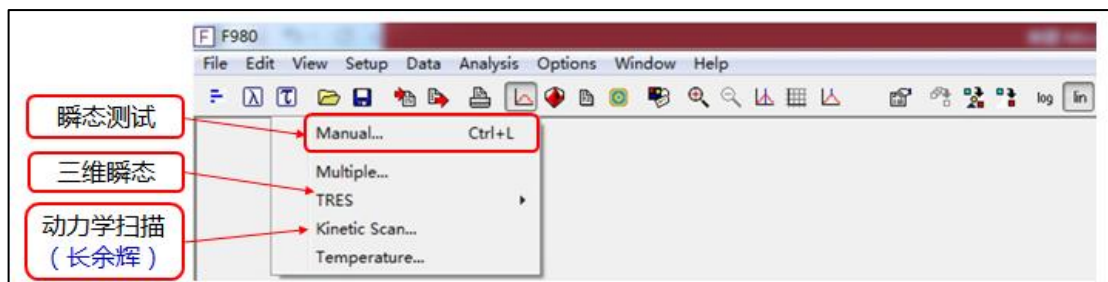


图. 7 瞬态功能界面介绍

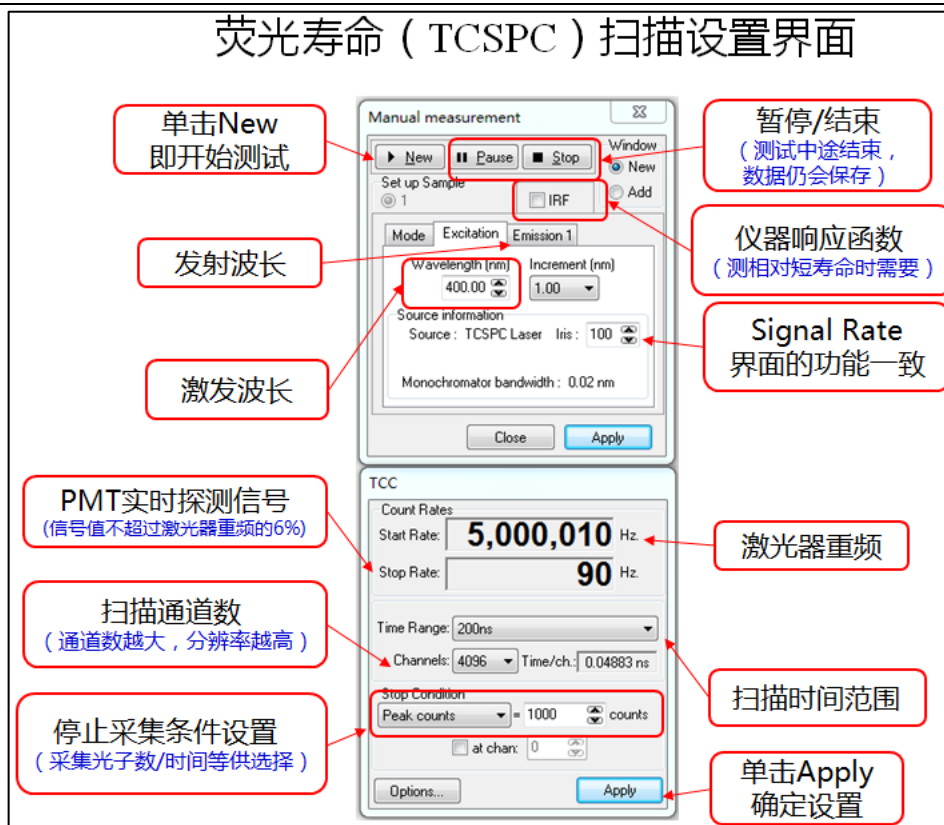


图. 8 TCSPC ( 寿命 $<2\ \mu\text{s}$  ) 扫描模式设置界面



图. 9 MCS ( 寿命 $>2\ \mu\text{s}$  ) 扫描模式设置界面

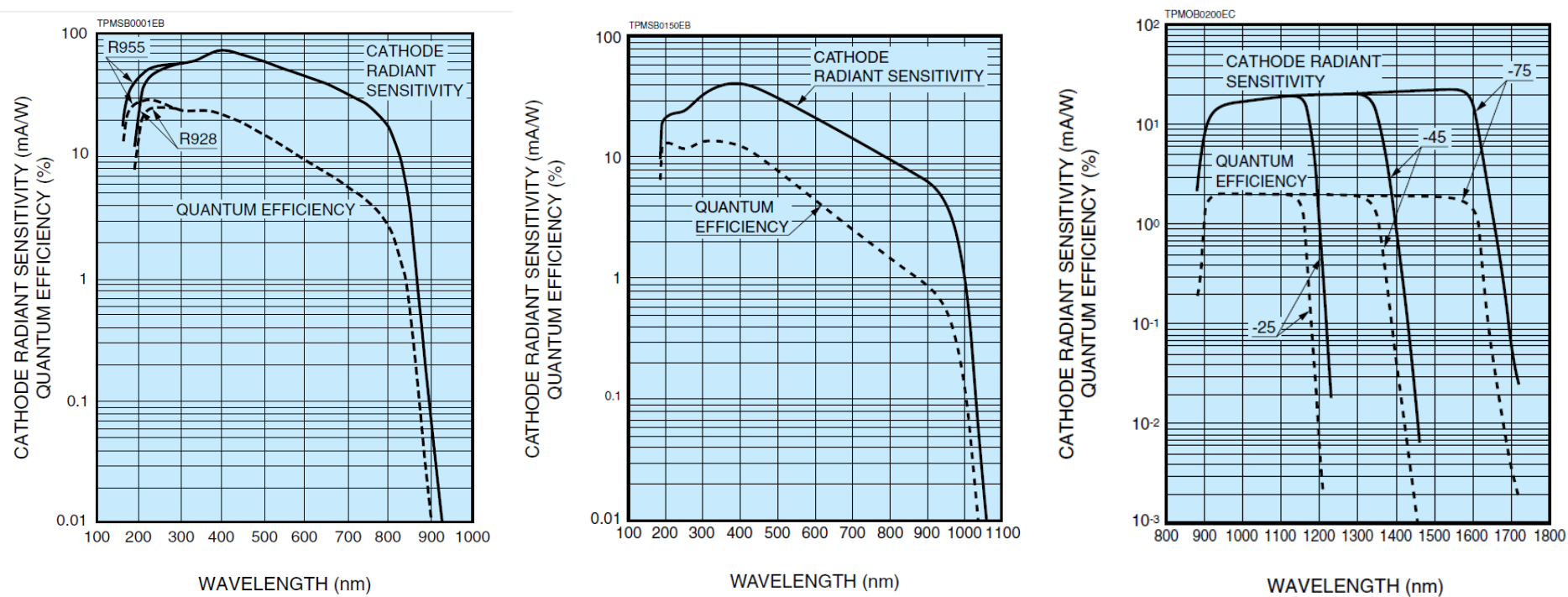


图. 10 探测器的不同波长的量子效率 ( 从左往右 : Red/EXT Red/NIR PMT )

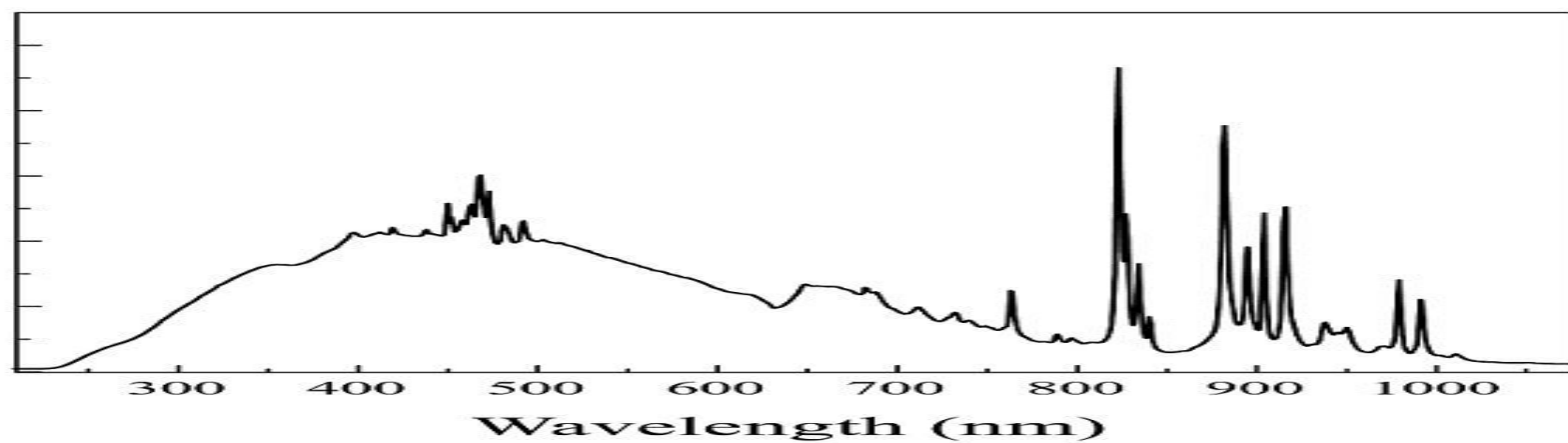


图. 11 汞灯不同波长光强输出分布