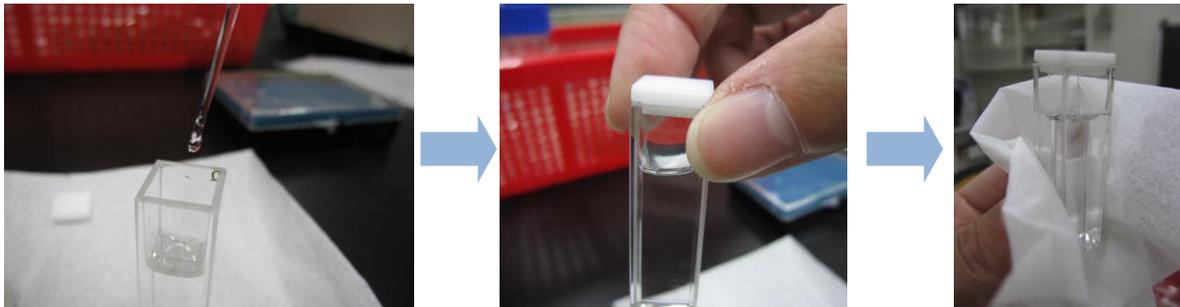


Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

■ 螢光光譜儀 (Jasco Spectrofluorometer FP -8250)



■ 樣品槽 (Cell)

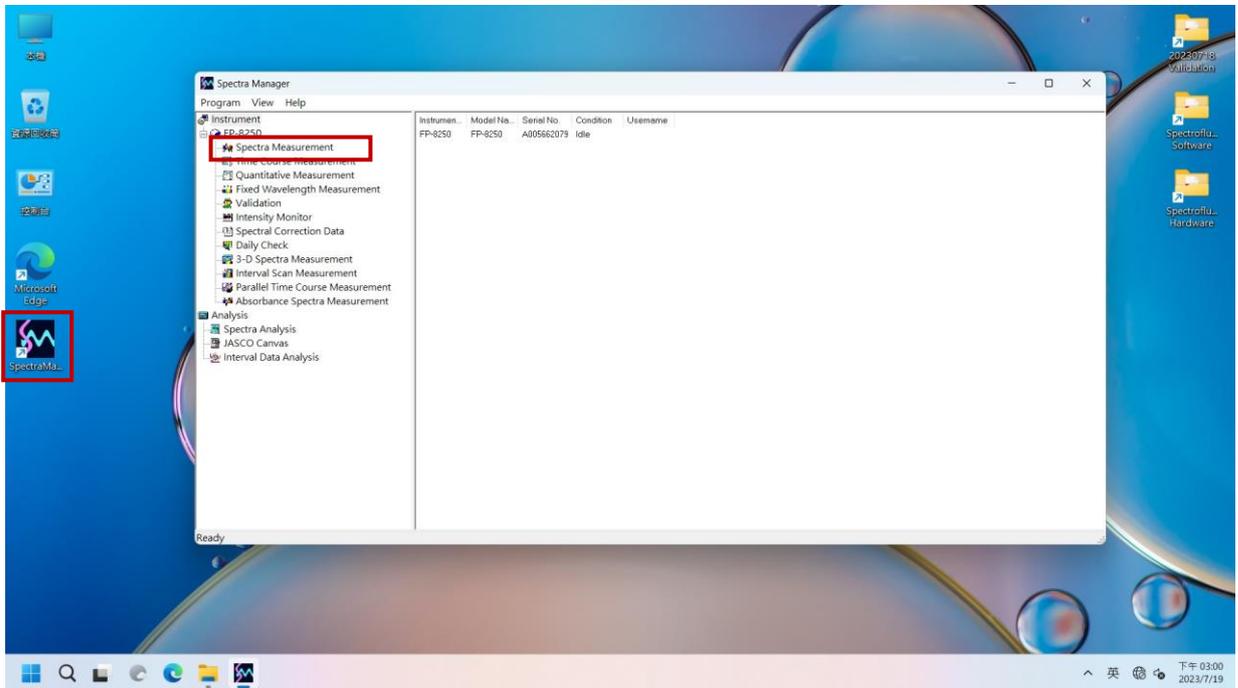


- ◎ 吸取待測液至樣品槽中(約半滿)，蓋上白色蓋子。
- ◎ 拿取樣品槽四角，以拭鏡紙將透光面擦拭乾淨後放入樣品室。

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

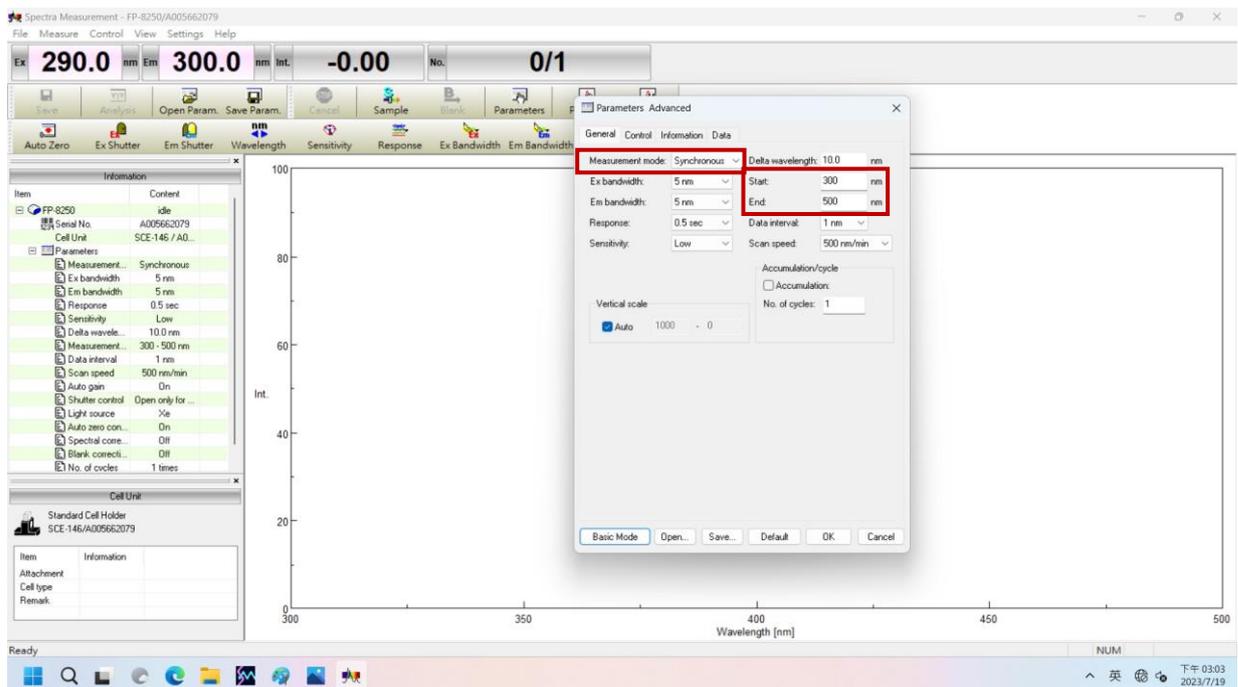
■ 操作流程

1. 開啟螢光光譜儀電源，暖機 1 小時。
2. 開啟電腦，點選桌面圖示「SpectraManager2.5」，點選「Spectrum Measurement」。



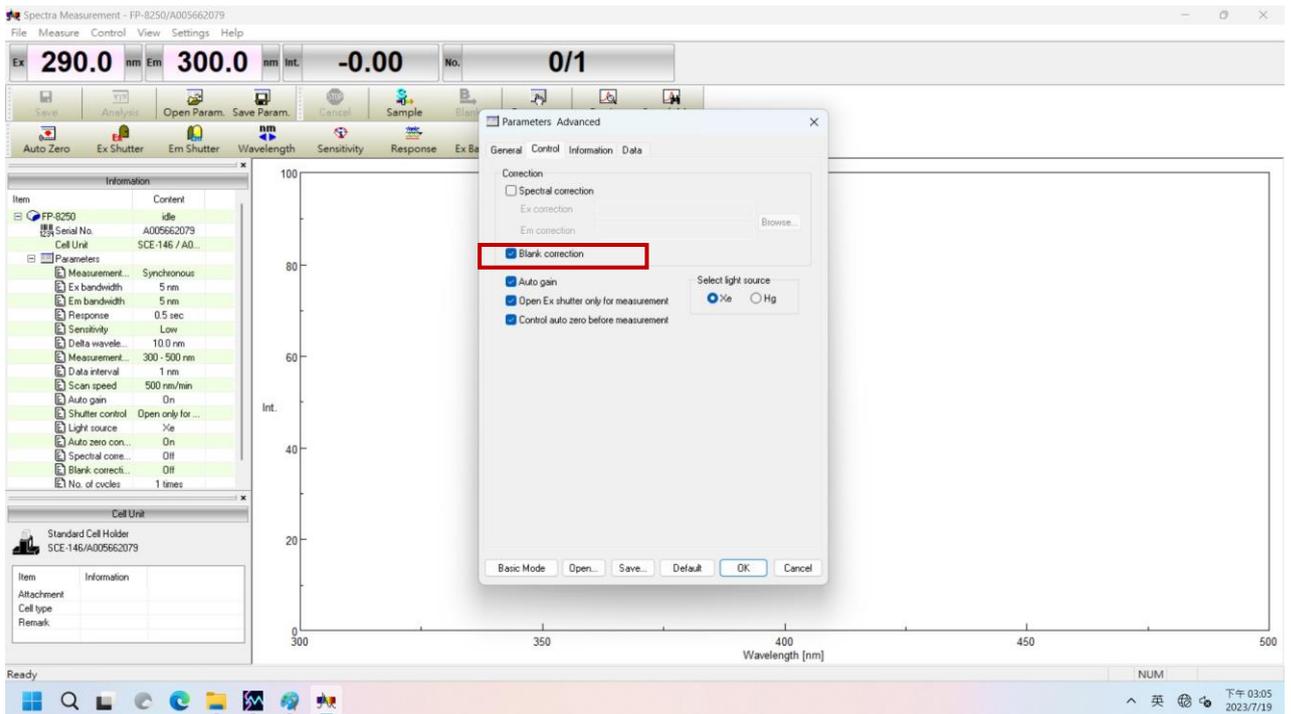
3. <Mode1> 選擇圖示「Parameters」，設定儀器參數及方法：

(1) General 分頁：設定 Measurement Mode 為 **Synchronous**、波長範圍 **300-500 nm**。



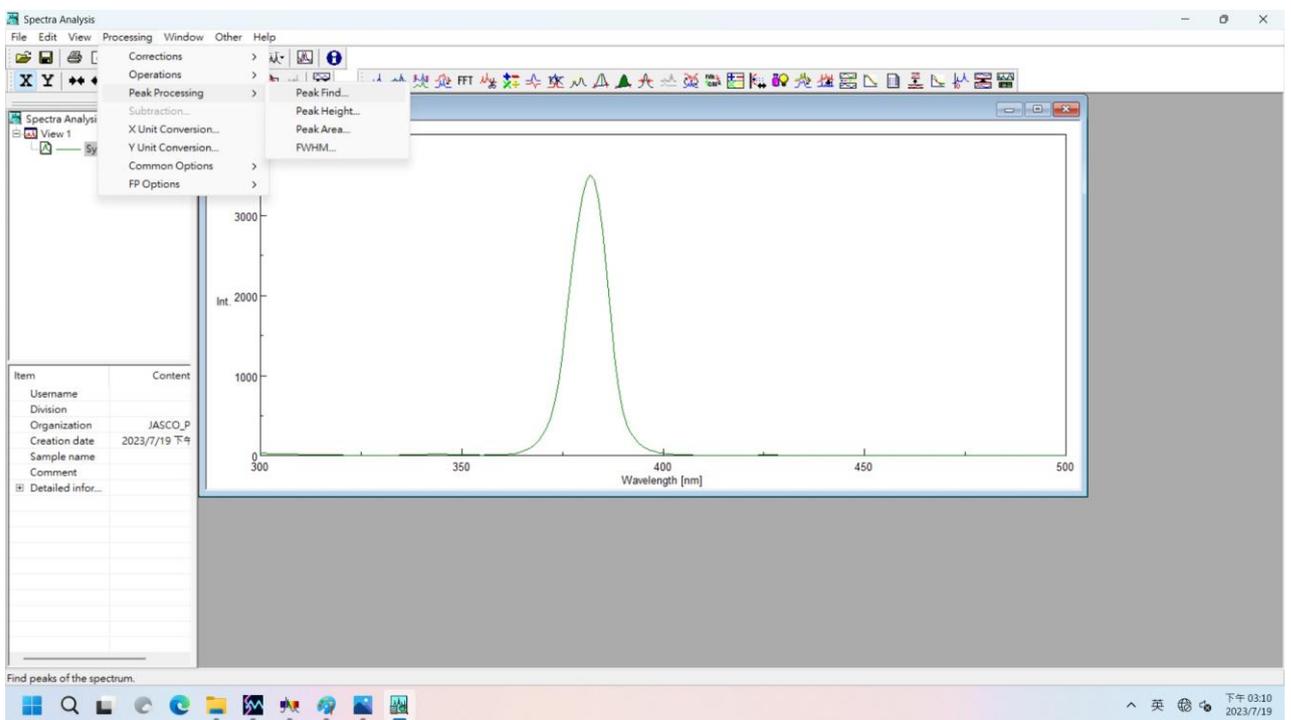
(2) Control 分頁：將「Blank correction」選項打勾，按 OK。

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程



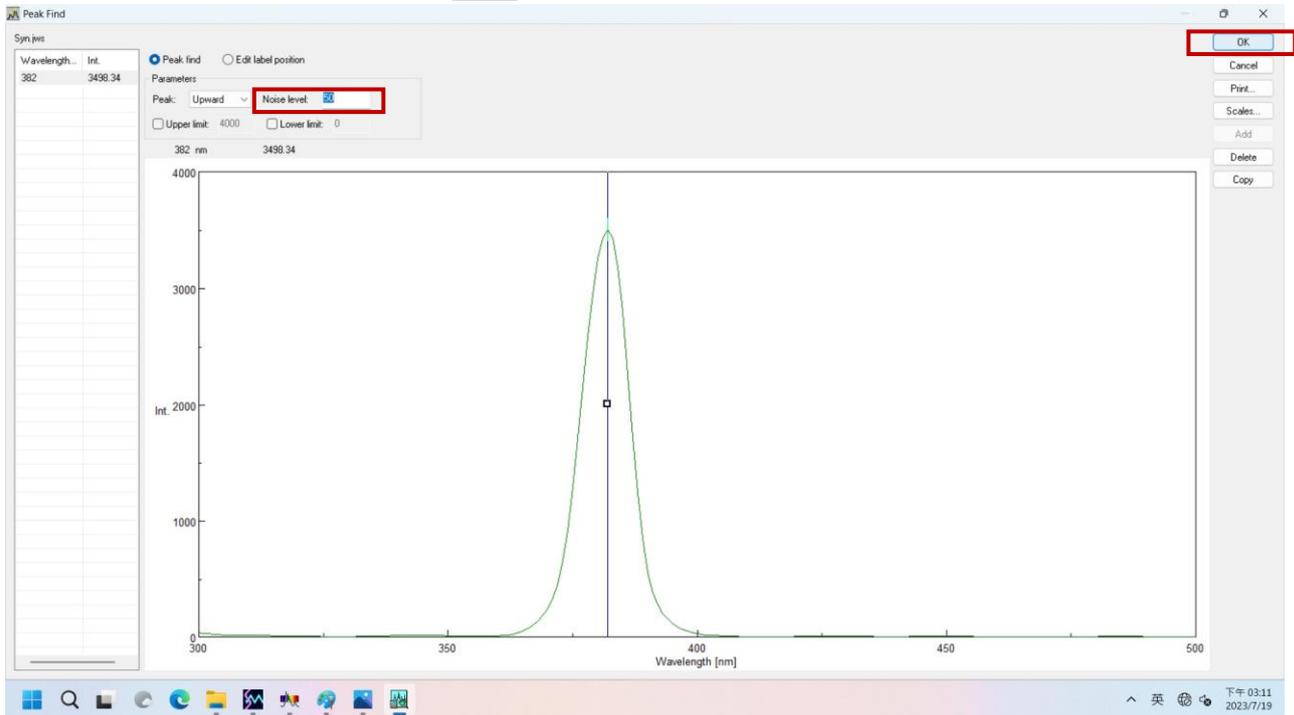
4. 將溶劑吸入 Cell 後放入樣品室，按圖示「Blank」進行背景校正。
5. 取出 Cell、換成標準液(No.1)，點擊圖示「Sample」取得圖譜。
6. 找出放射波長(λ_s)：

(1) 在 Spectra Analysis 視窗中，選擇工具列 Processing→ Peak Processing→ Peak Find。



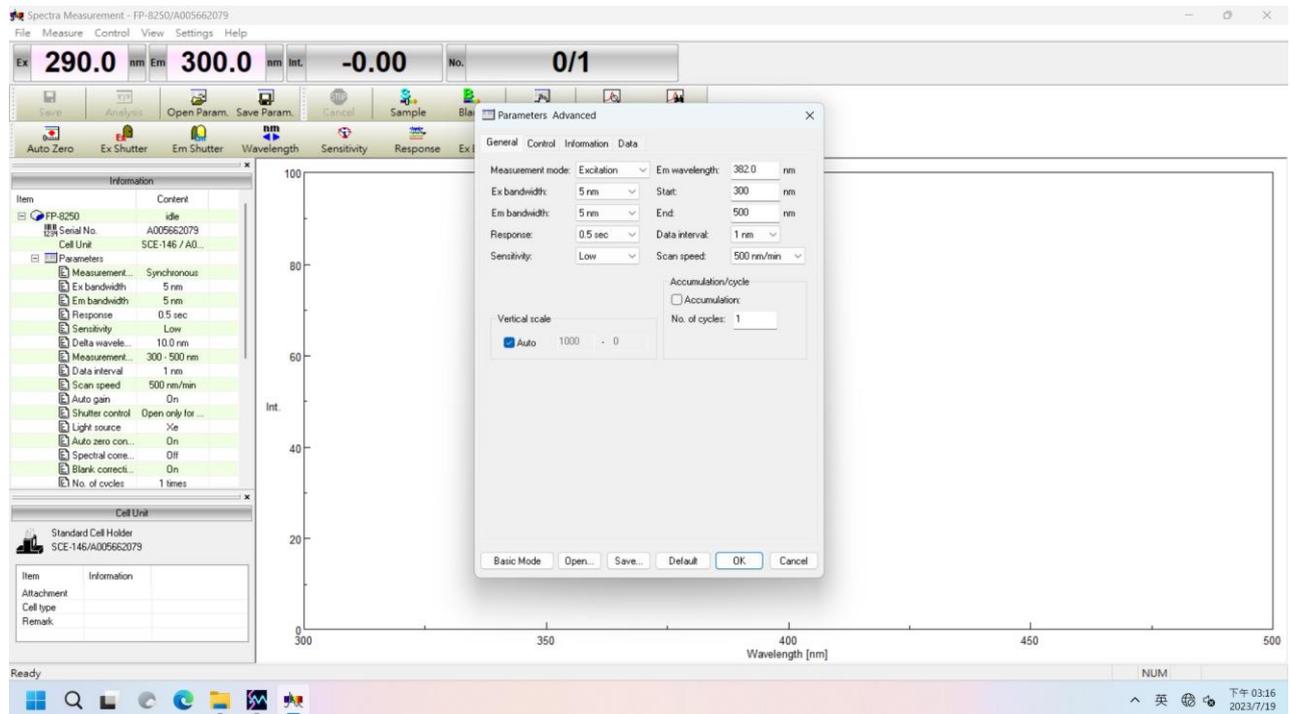
Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

(2) 在「Noise level」欄位輸入雜訊強度(即此值以下視為雜訊，不標示為訊號)，此時可從左方欄位讀取放射波長(λ_s)與強度，完成後按「OK」。



7. <Mode2> 選擇圖示「Parameters」，設定儀器參數及方法：

(1) General 分頁：設定 Measurement Mode 為 **Excitation**、波長範圍 **300-500 nm**、Em Wavelength 設定為 λ_s 。



(2) Control 分頁：將「Blank correction」選項打勾，按 OK。

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

8. 重複「步驟 4-5」，取得圖譜(Excitation Spectrum)。
9. 在 Spectra Analysis 視窗中，找出最佳激發波長(λ_{ex}) (方法同「步驟 6」)。
10. <Mode3> 選擇圖示「Parameters」，設定儀器參數及方法：
 - (1) General 分頁：設定 Measurement Mode 為 **Emission**、波長範圍 **300-500 nm**、Ex Wavelength 設定為 λ_{ex} 。
 - (2) Control 分頁：將「Blank correction」選項打勾，按 OK。
11. 重複步驟 4-5，取得圖譜(Emission Spectrum)。
12. 在 Spectra Analysis 視窗中，找出最佳放射波長(λ_{em}) (方法同「步驟 6」)。
13. 以「步驟 9 與 12」所得之最佳激發(λ_{ex})與最佳放射波長(λ_{em})進行定量分析。

■ 定量分析

- I. 由低濃度(No.5)至高濃度(No.1)量測各標準液之螢光強度(各濃度測量三次)。
- II. 製作檢量線：以螢光強度(三次平均)對濃度(ppm)作圖。
- III. 標上檢量線公式、 R^2 值與 error bar(以標準差表示)。
- IV. 測量未知物螢光強度，代入檢量線求得未知物濃度。