

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

■ 螢光光譜儀 (SpectraMax iD3 Plate Reader)



■ 樣品盤



- ◎ 吸取溶劑、標準液與未知液至樣品盤的孔位中(吸取量:200uL)，完成後將樣品盤放入儀器中進行偵測。

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

■ 操作流程

點選圖示「SoftMax Pro 7.0.3」，開啟儀器程式。

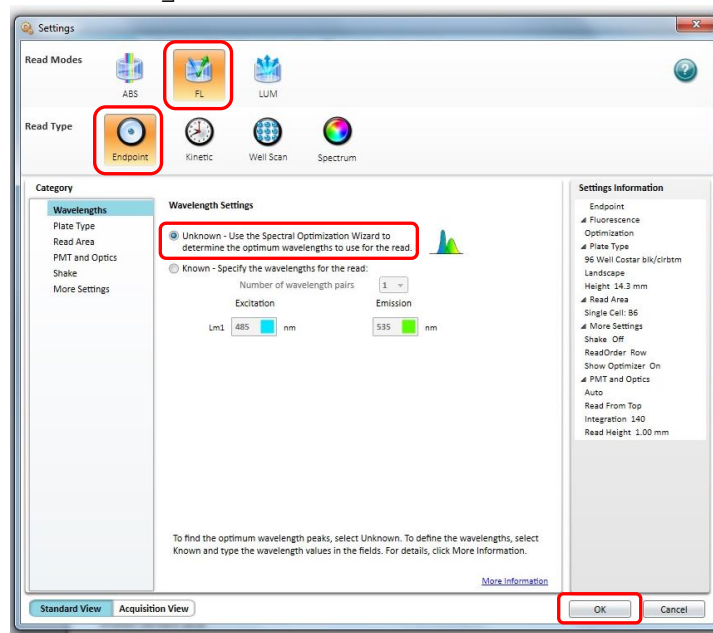


1. <Mode 1: Synchronize Mode>

1. 點選工具列「Settings」設定偵測模式

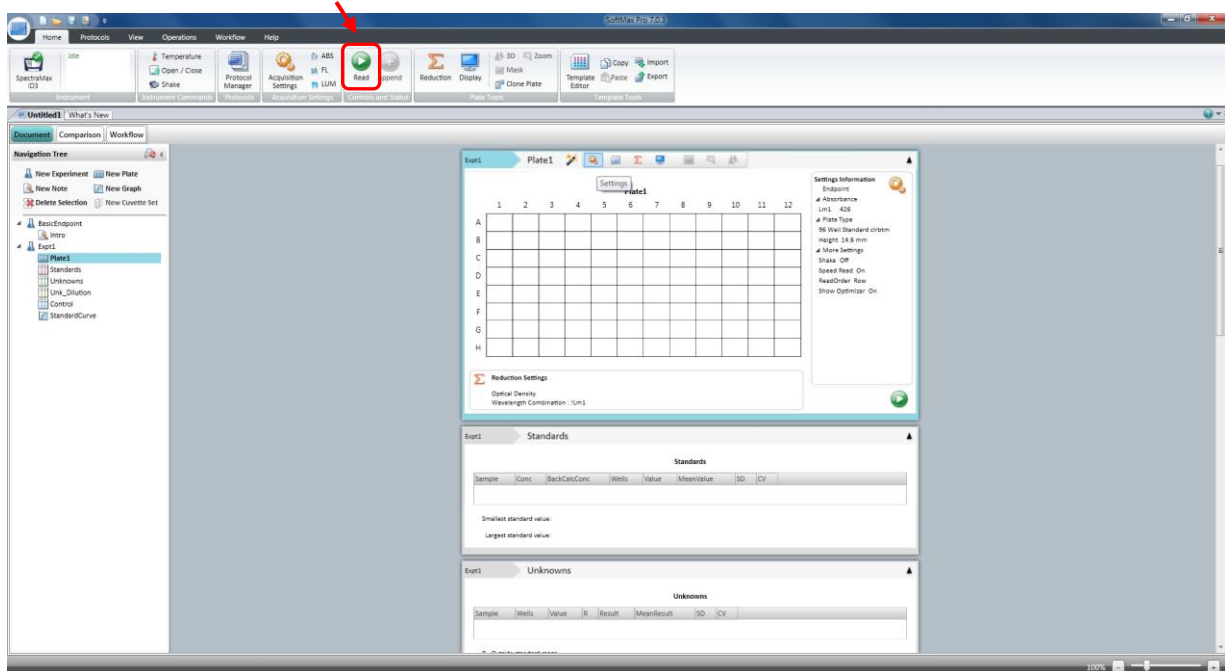
→ Read Modes 點選「FL」、Read Type 點選「Endpoint」

→ 點選「Unknown」，按 OK



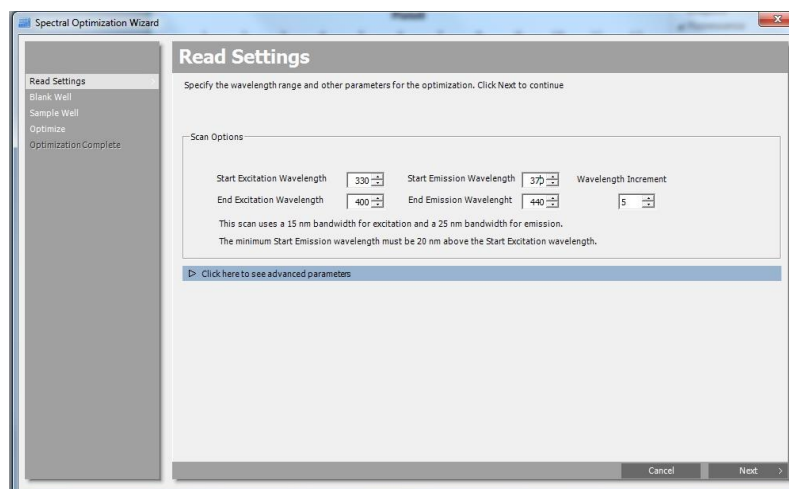
Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

II. 點選工具列「Read」，進行參數設定：



(1) Read Settings: 設定掃描波長

Excitation 設定為 330-400 nm、Emission 設定 370-440 nm。



(2) 選擇 Blank Well 與 Sample Well，進行偵測。

(3) 偵測完成後，讀取放光波長(Es)。

2. <Mode 2: Excitation Spectrum>

I. 點選工具列「Settings」

→ Read Modes 點選「FL」、Read Type 點選「Spectrum」

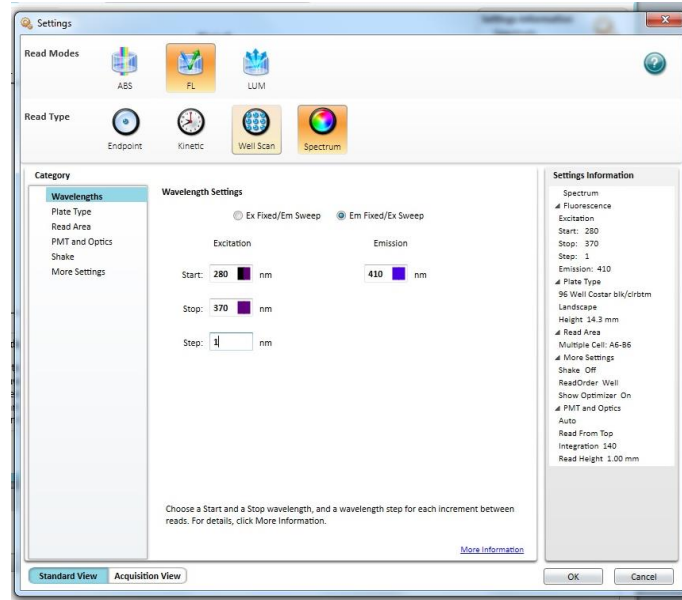
Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

→ 進行下方設定:

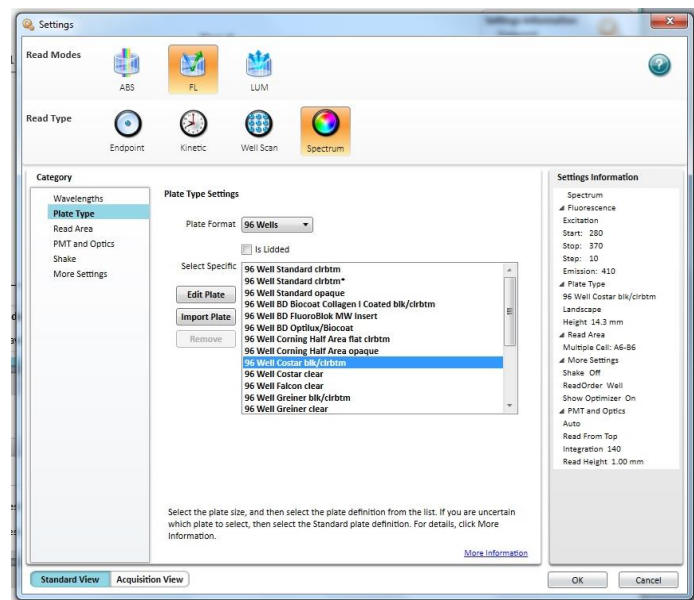
(1) Wavelengths (設定掃描波長):

Emission 設定為「步驟 1」所得之放光波長(Es)、

Excitation 設定 280-390 nm。

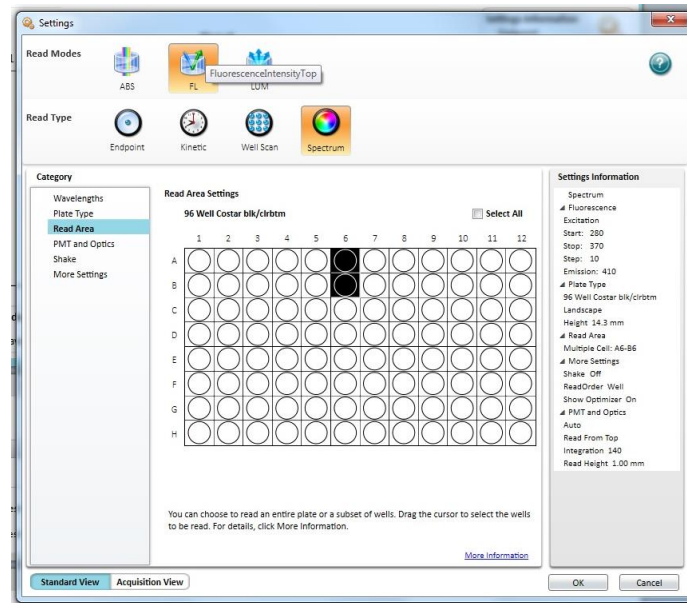


(2) Plate Type: 選擇樣品盤形式「96 Well Costar blk/clrbtm」



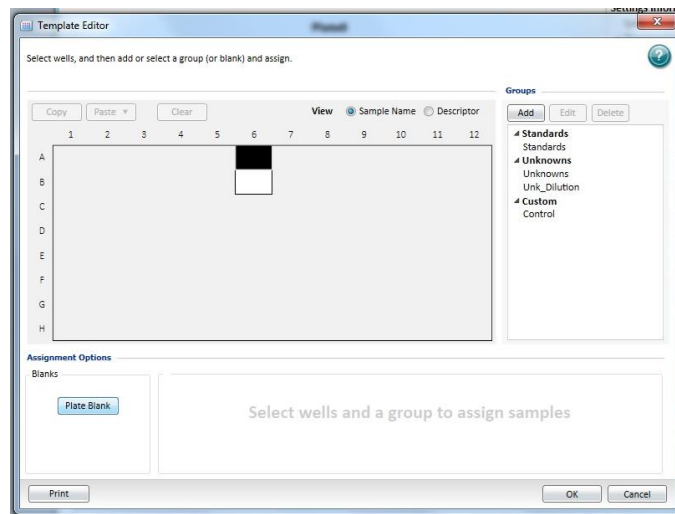
Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

(3) Read Area：選擇偵測孔位



II. 點選工具列「Template Editor」

→ 將溶劑的孔位反黑 → 點選「Plate Blank」。



III. 點選工具列「Read」圖示，進行偵測。

IV. 找出最佳激發波長(Ex)。

3. <Mode 3: Emission Spectrum>

I. 點選工具列「Settings」

→ Read Mode 點選「FL」、Read Type 點選「Spectrum」

→ 依序完成下方設定：

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

(1) Wavelengths :

Excitation 設定為「步驟 2」所得之最佳激發波長(Ex)、

Emission 設定 380-500 nm。

(2) Plate Type：選擇樣品盤形式「96 Well Costar blk/clrbtm」

(3) Read Area：選擇偵測孔位

II. 點選工具列「Template Editor」

→ 將溶劑的孔位反黑 → 點選「Plate Blank」。

III. 點選工具列「Read」圖示，進行偵測。

IV. 找出最佳放射波長(Em)。

4. 偵測標準液與未知液之放射光譜:

I. 點選工具列「Settings」

→ Read Mode 點選「FL」、Read Type 點選「Endpoint」

→ 依序完成下方設定:

(1) Wavelengths :

Excitation 設定為最佳激發波長(Ex)、

Emission 設定為最佳放射波長(Em)。

(2) Plate Type：選擇樣品盤形式「96 Well Costar blk/clrbtm」

(3) Read Area：選擇偵測孔位

II. 點選工具列「Template Editor」

→ 將溶劑的孔位反黑 → 點選「Plate Blank」。

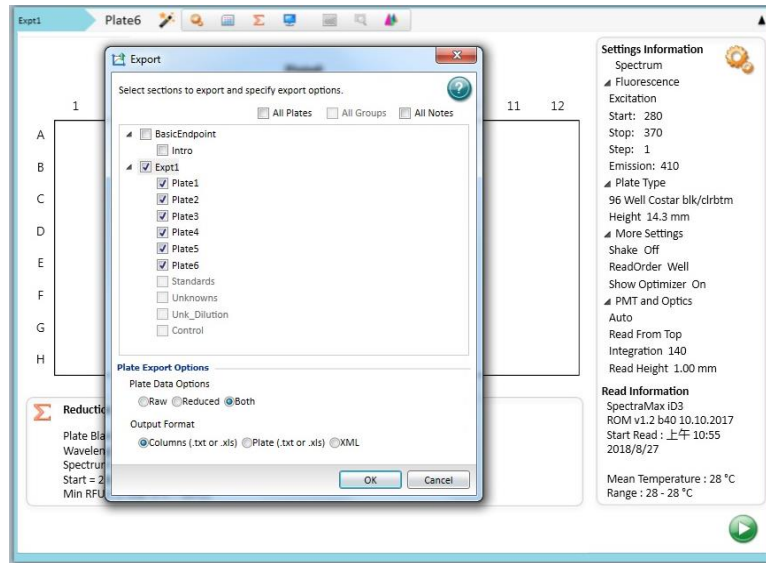
III. 點選工具列「Read」圖示，進行偵測。

IV. 記錄各圖譜在最佳放射波長(Em)下的螢光強度。

5. 存檔

Exp.1 Fluorescence Spectroscopy 標準操作流程

另存檔案為「.sda 檔」與「.txt 檔」。



■ 定量分析

- I. 製作檢量線：以螢光強度(三次平均)對濃度(ppm)作圖。
- II. 標上檢量線公式、 R^2 值與 error bar(以標準差表示)。
- III. 將未知液之螢光強度代入檢量線，求得未知液濃度。