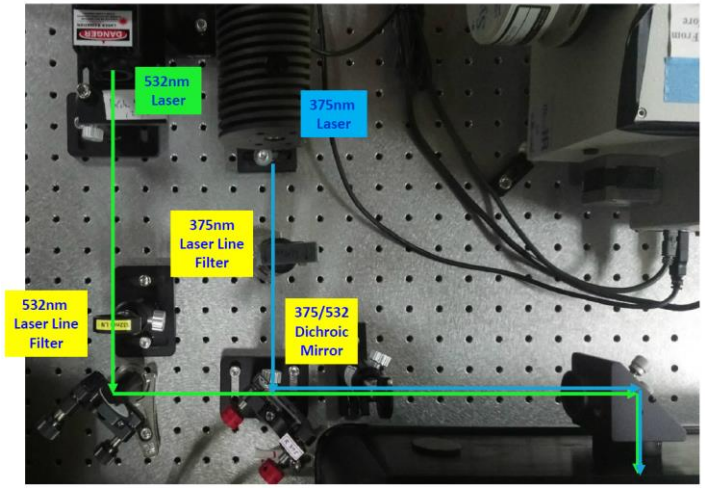
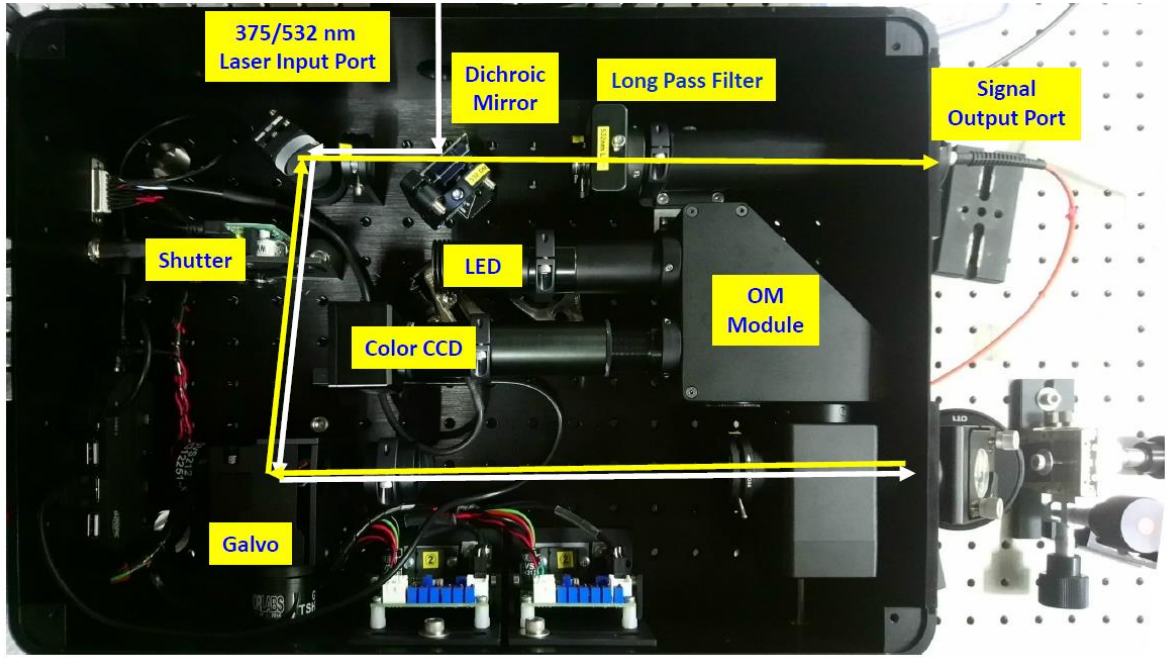
2023光電工坊教育訓練課程@NTOU
雷射掃描共軛焦光譜顯微鏡

2023/11/28

By 黎文鴻博士

Optical Layout of LSCM 4.0





開機流程

1. 開啟各項設備電源

- 檢查各儀器間的連線狀態

2. 開啟軟體

- 執行Scanner4.3軟體
- 檢查參數檔
- 檢查DAQ和Shutter連接狀態
- 確認PMT訊號源設定
- 檢查Galvo是否正常工作，置中Galvo
- 檢查COM和CCD連接狀態
- CCD降溫
- 設定與微調光譜儀

3. 檢查/優化系統光路

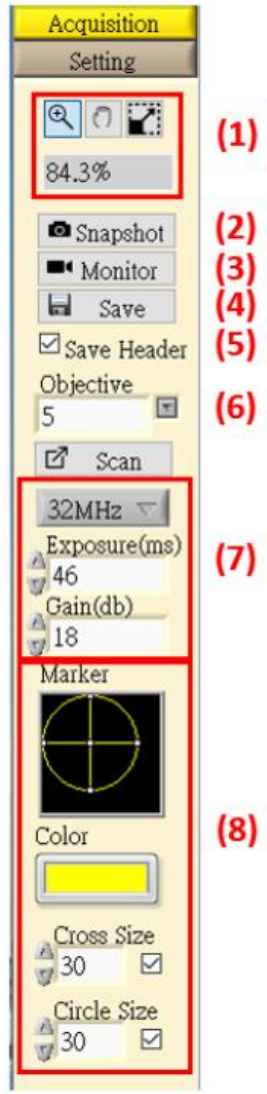
- 切換雷射光路
- 使用pinhole檢查光路，必要時微調外部鏡子
- 使用標準樣品測試系統效率
- 優化共軛焦點（樣品和收光端）

量測: 1) OM影像

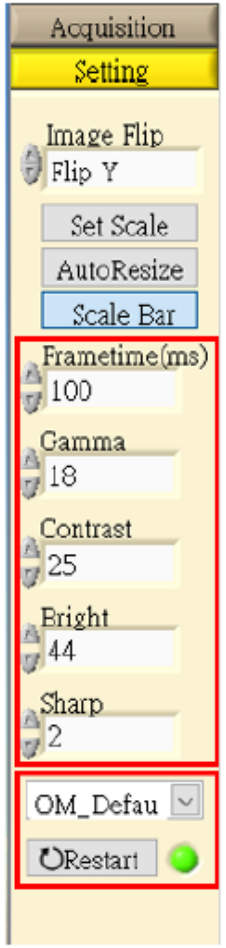
- 開LED燈
- 切換雷射/OM光路
- 調整樣品聚焦和移動視野
- 設定各參數
- 存取

OM分頁

Acquisition tab

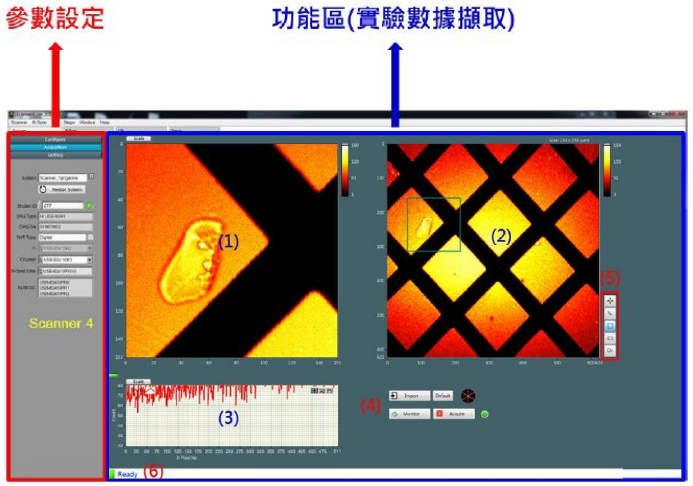


Setting tab

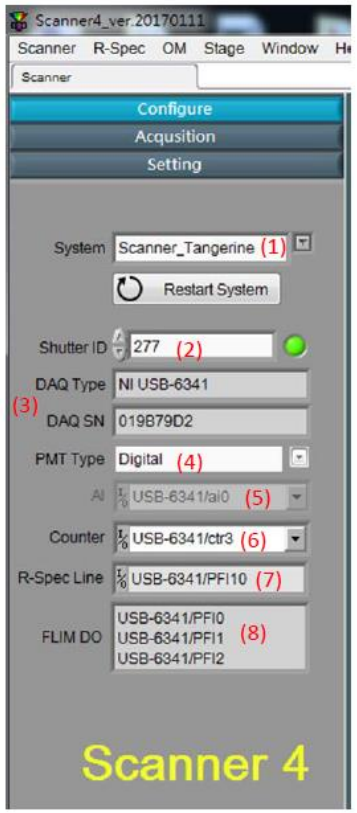


量測: 2) PMT掃描

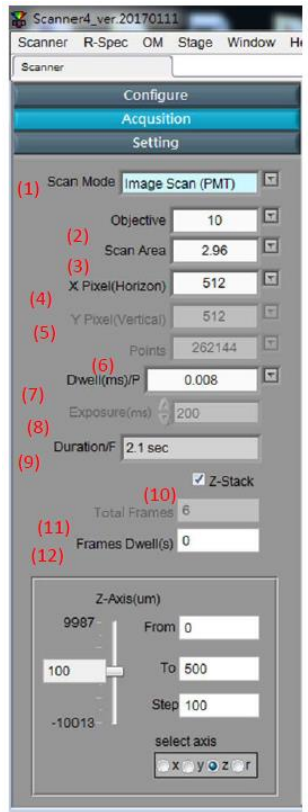
- 切換雷射/OM光路
- 連接光纖到PMT
- 開啟PMT
- 設定各參數
- 開始掃描（Monitor）！ **注意：避免PMT過曝**
- 調整樣品聚焦
- 根據掃描影像品質進一步調整各參數
- 各種掃描模式
- Import reference 影像



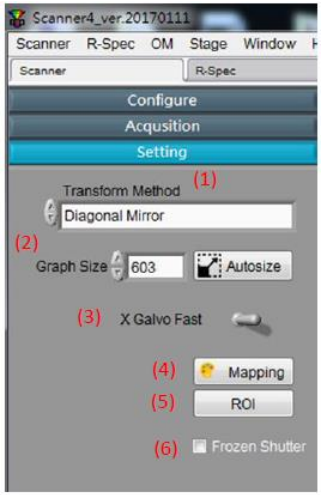
Configure tab



Acquisition tab

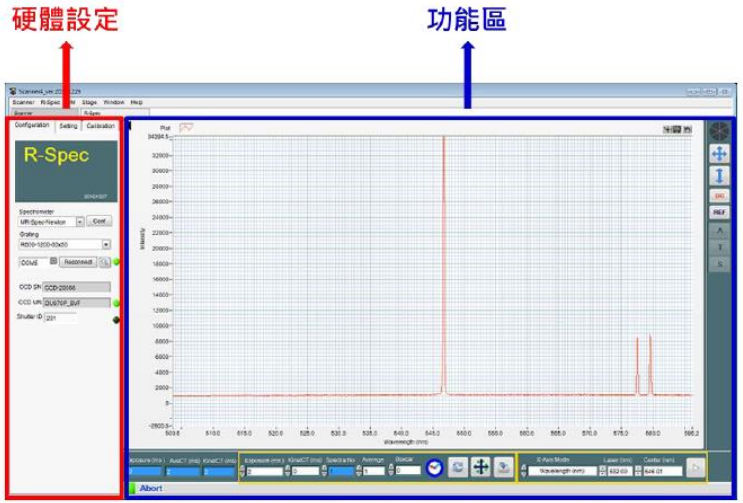


Setting tab



量測: 3) 單點光譜

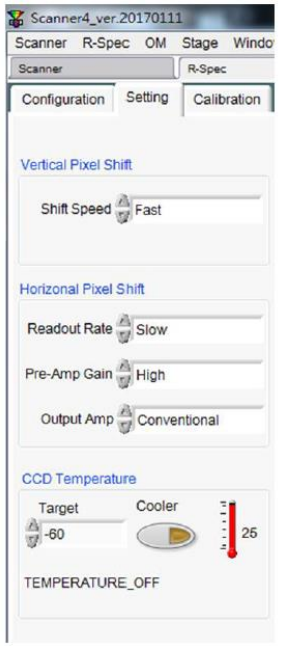
- 連接光纖到光譜儀
- 設定量測中心波長 （Center)
- 設定積分時間（Exposure）
- 連續單點光譜量測（Monitor）
- 調整樣品聚焦
- 根據光譜品質進一步調整各參數
- 去除背景光譜
- 各種光譜擷取模式



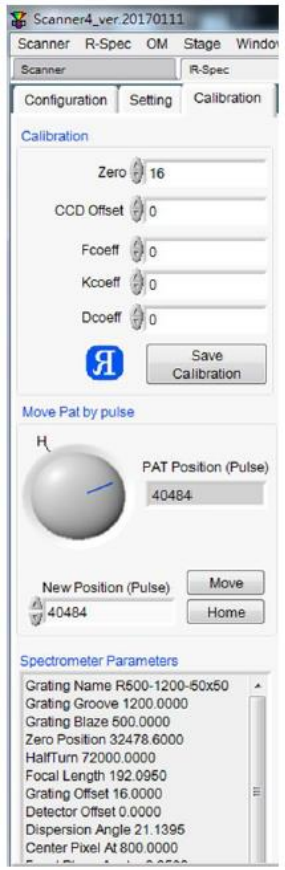
！注意：避免CCD過曝

Configuration

Setting



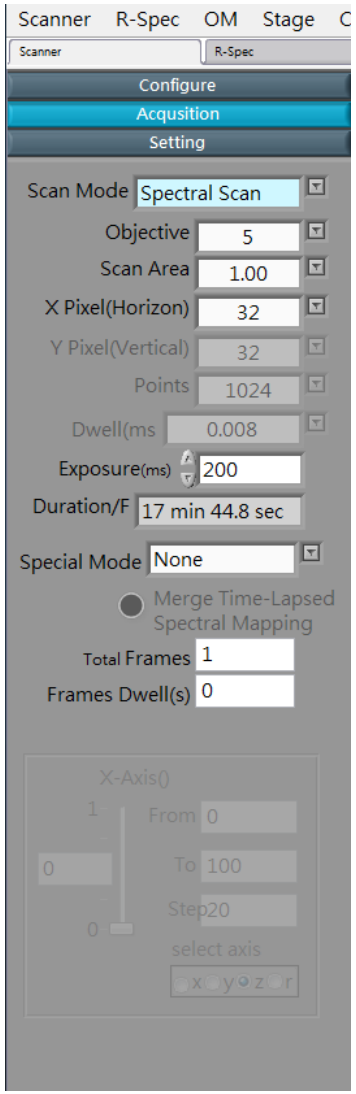
Calibration



量測: 4) 光譜掃描

- 根據單點光譜量測確定量測參數後，切換到Scanner主頁
- Scan Mode切換到Spectral Scan
- 設定各量測參數
- 開始光譜掃描（Acquire）
- 各種掃描模式

Acquisition tab



關機

- CCD回溫
- 關閉所有軟體
- 關閉所有儀器電源（CCD溫度回到室溫後）

雷射

波長影響：

- 螢光效應
- 激發效率
- 共振效應
- 損壞樣品

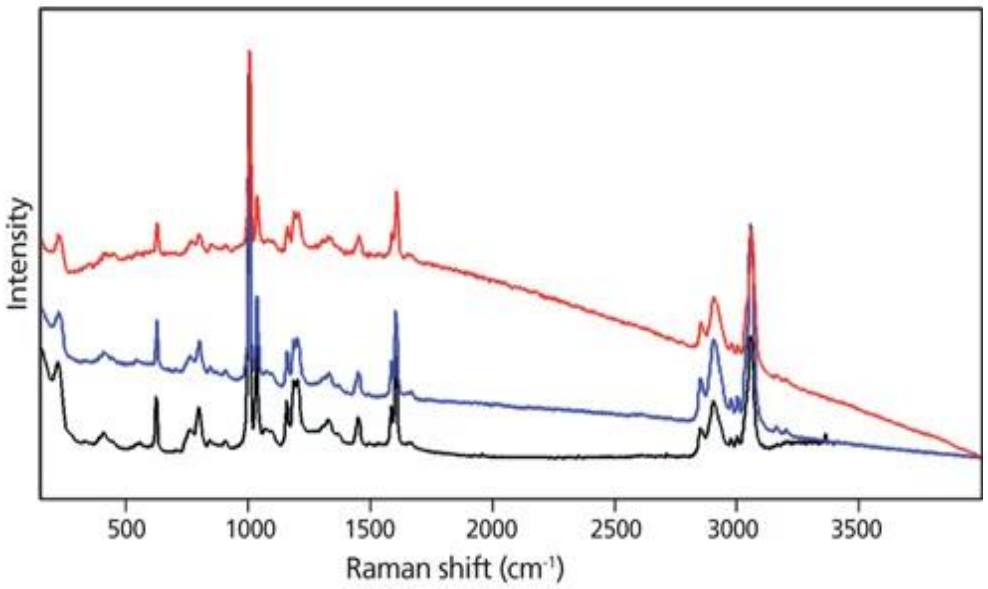
頻寬影響：

- 光譜解析度
- 低頻拉曼光譜

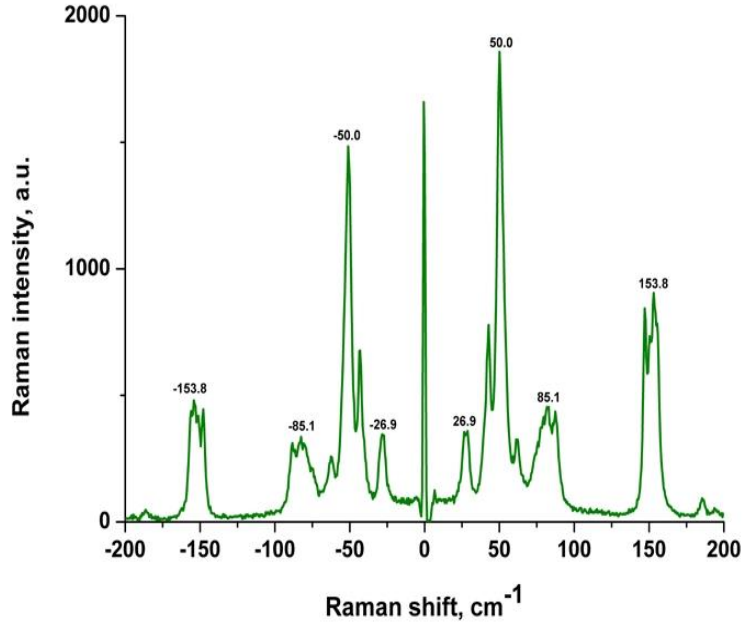
功率影響：

- 損壞樣品

Raman spectrum of polystyrene under different excitation wavelength



Raman spectrum of sulfur

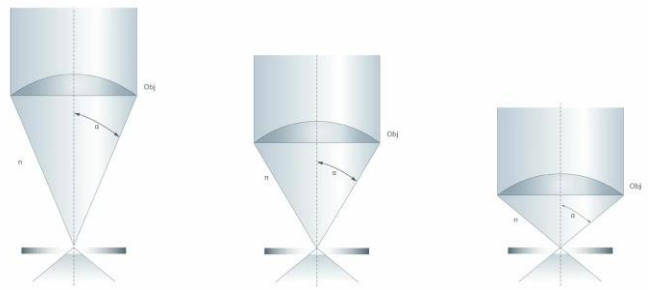


光學濾片種類

- **Laser line filter**
- **Dichroic mirror/Beamsplitter**
- **Long-pass filter**
- **Notch filter**
- **ND filter**

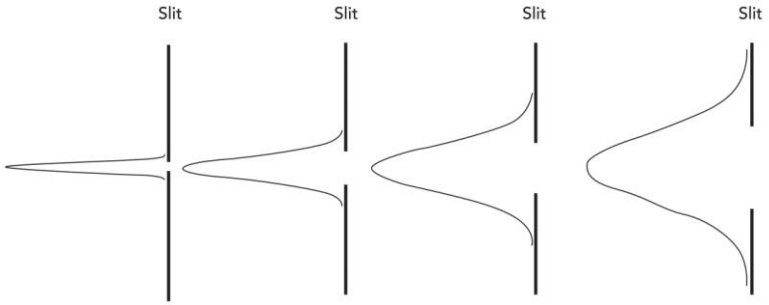
物鏡影響

- 激發强度
- 掃描解析度



光譜儀影響

- 狹縫寬度： 光譜解析度
- 光柵： 光譜解析度, 光譜頻寬,分光效率

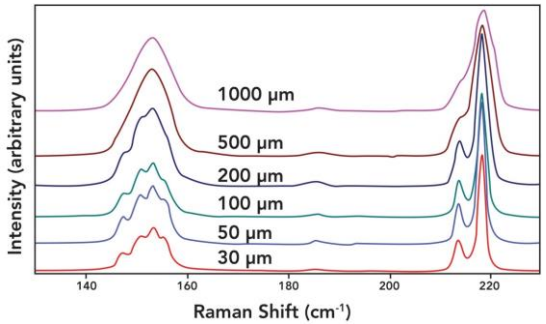


光偵測器 (PMT/CCD)影響

- 感光效率
- 光譜解析度(CCD)

光纖孔徑大小影響

- 訊號强度
- 光譜與掃描解析度



Reader2

- 讀取Scanner4.3存取的影像和光譜
- 把檔案轉存成ASCII檔

1. File -> Load
2. Reference影像
3. 光譜或訊號强度
4. 檔案資料
5. Scale
6. 切換ROI
7. 改變影像顏色