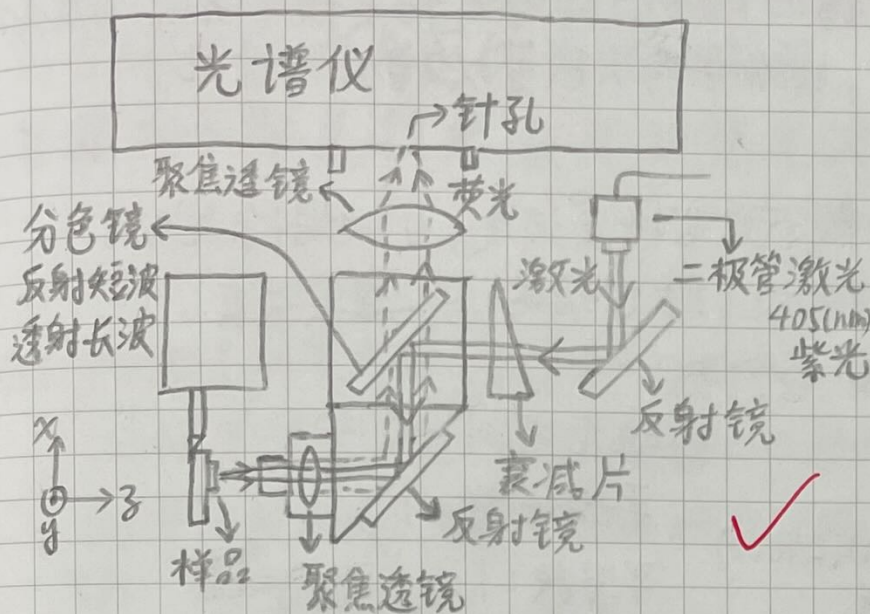


荧光光谱技术 (405nm 激光)

实作目标: 了解荧光光谱系统的光路架设与工作原理, 并学习操作系统和使用 U-Spec 软件获取高质量荧光光谱。

Q1 光路图



Q2 黄绿色荧光样品 ⇒ 调整样品的哪个方向对荧光亮度影响最大?

⇒ z 方向, 因为样品发出激光需要足够强的入射功率才能产生荧光, 调整 z 方向会影响聚焦透镜是否将激光准确聚焦在样品上。

另一个原因是由于激发的荧光是球面发散的, 如果发散位置不在聚焦透镜的焦点上, 荧光返回系统时不会是平行光。 good!

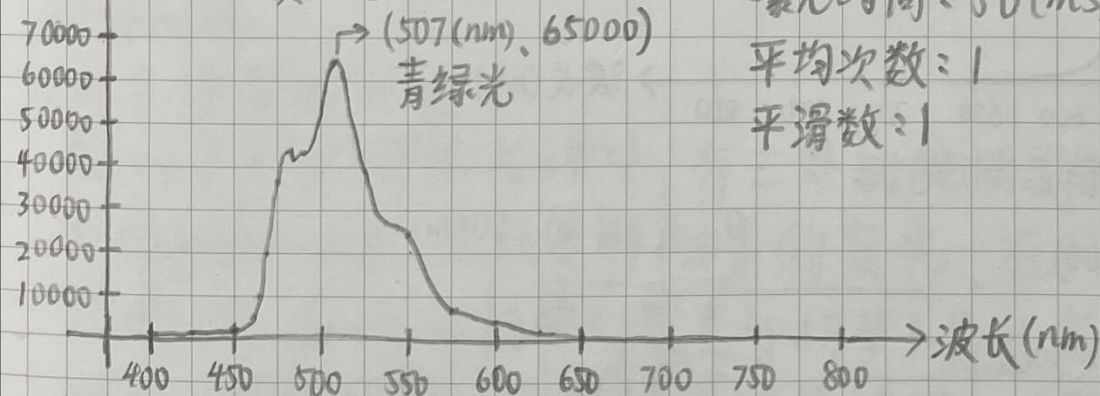
Q3

次数 黄绿色荧光样品的光谱

曝光时间: 50 (ms)

平均次数: 1

平滑数: 1



调整 z 方向, 光谱整体会大致进行缩放。当光强最大时, 荧光点几乎是从一个单点发出的, 此时样品正好在聚焦透镜的焦点上。

Q4 (a) 改变曝光时间: 从 50(ms) ~ 500(ms)

当曝光时间增加, 光强大致会等比放大 $\Rightarrow$ 光强增加但形状不变。
但是若曝光时间太长, 可能会超过 CCD 的极限强度, 导致过曝。

(b) 改变平均次数: 从 1 ~ 50

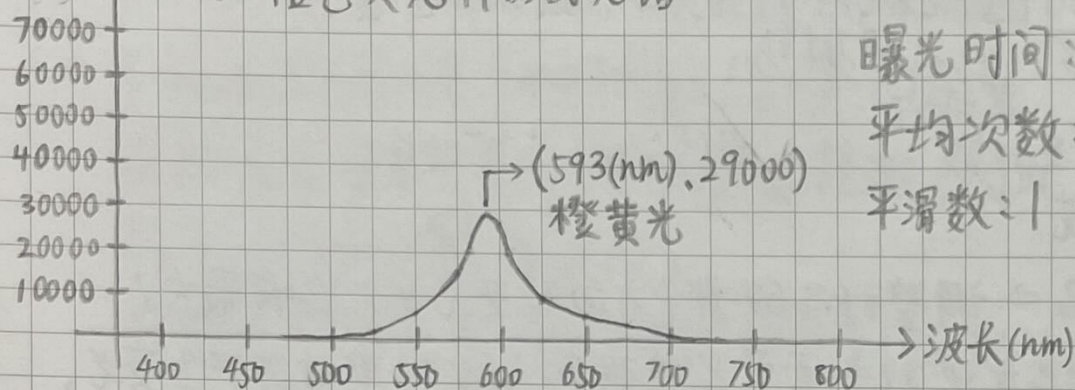
当平均次数增加, 原光谱上下跳动的噪点幅度被平均掉, 幅度减小。
噪点主要的热扰动导致, 增加平均次数可以增加信噪比。

(c) 改变平滑数: 0 ~ 50

当平滑数增加, 光谱中较小的窄峰会消失, 可以消除扰动。
但是平滑数太大会导致较大的峰也消失, 光谱会失真。

Q5

次数 橙色荧光样品的光谱

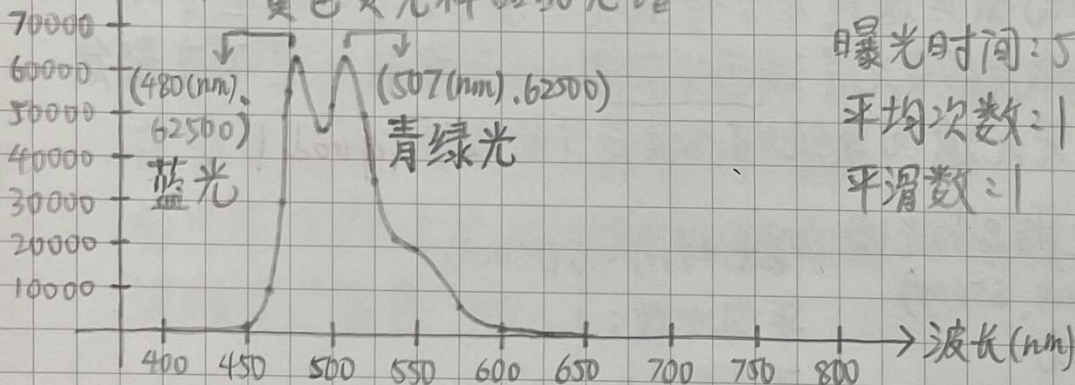


曝光时间: 50(ms)

平均次数: 1

平滑数: 1

次数 黄色荧光样品的光谱

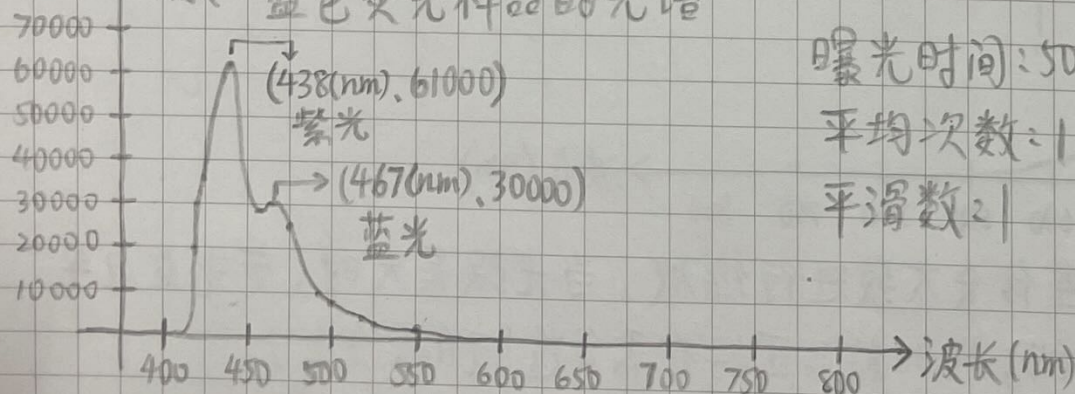


曝光时间: 50(ms)

平均次数: 1

平滑数: 1

次数 蓝色荧光样品的光谱



曝光时间: 50(ms)

平均次数: 1

平滑数: 1

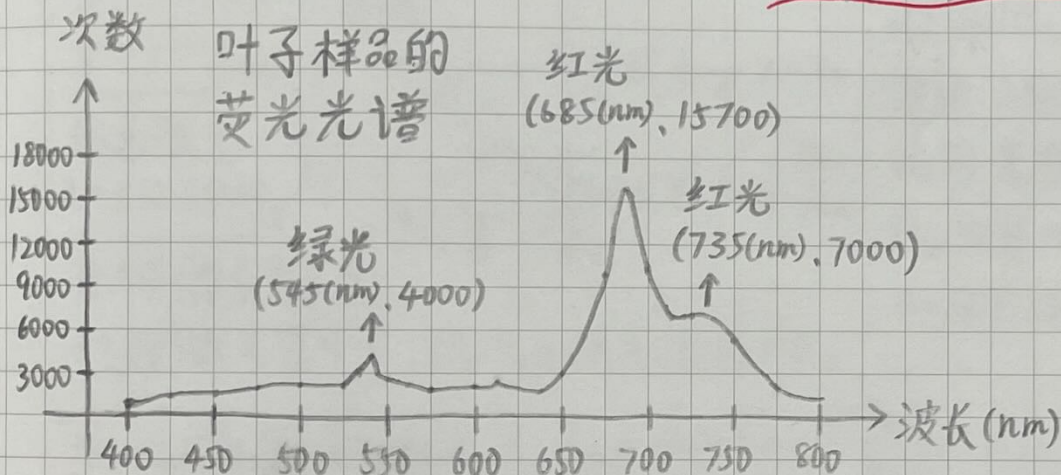
橙红色样品 $\rightarrow$ 橙黄色荧光、黄色样品 $\rightarrow$ 蓝色与青绿色荧光、
黄绿色样品 $\rightarrow$ 青绿色荧光、蓝色样品 $\rightarrow$ 紫色荧光。

似乎 405(nm) 紫色激光激发的荧光波长普遍小于实验室汞灯激发的荧光波长。从能量角度来看, 荧光波长势必大于入射光波长。而实验中使用的是较短波的紫色激光, 相对的汞灯最强的光谱落在绿光区, 紫光区的光谱相对弱。因此汞灯激发的荧光波长普遍大于紫色激光激发的荧光波长。

Q6 (a) 激光功率太强: 可能会破坏样品, 或导致 CCD 过曝。

(b) 曝光时间太长: 可能会导致 CCD 过曝

(c) 平滑数太大: 可能会导致较大的峰消失, 光谱失真。



额外问题

1. 叶子样品的荧光

在叶子样的荧光光谱中, 有三处比较明显的峰值。在波长 545(nm) 的绿光, 应该是 叶绿素的荧光、在 685(nm) 与 735(nm) 处的峰值, 应该分别是 叶黄素与胡萝卜素的荧光。Any reference?

叶绿素呈现绿色, 荧光位于绿光波段、叶黄素呈现黄色, 荧光位于红光波段、胡萝卜素呈现橙色, 荧光位于红光波段。✓