


# LabRAM HR evolution 显微拉曼仪操作规程

## 一、开机

仪器主机和电脑软件平常不关闭，实验前只需开启所需激发波长激光器的开关以及显微镜照明灯的开光即可。

## 二、仪器校准

峰位校准以单晶硅的一阶峰（ $520.7\text{ cm}^{-1}$ ）作为参考峰位来进行。校准在进行校准之前，确保用于校正的激光器已打开，并且最少预热 10 分钟，使激光器达到稳定状态。采用如下自动校准方式进行峰位：

a) 硅片样品聚焦：打开白光灯，点击 video 图标 ，将标准样品放置于 10 倍镜头下方，调节显微镜上的粗调旋钮，直至 video 中观察到 Si 表面后，改为调节细调旋钮或旋转调节遥感细调聚焦，直至硅片聚焦清楚；然后将物镜切换至 50 倍镜头，继续细调聚焦，直至硅片聚焦清楚；最后将物镜切换至 100 倍镜头，继续小心细调聚焦，直至硅片聚焦清楚；**注意：100 倍物镜工作距离短，应小心缓慢调节聚焦，避免物镜撞至样品上，损坏物镜。聚焦样品一定要先从低倍物镜开始聚焦，再转至 100 倍物镜进行聚焦，严禁直接使用 100 倍物镜聚焦。**

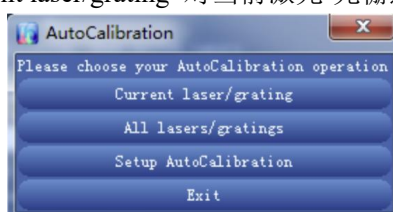
b) 点击图标 ，停止白光图像采集；

c) 选择待校准的激光和光栅；

d) 点击软件右下角的 AC 图标（AC 为红色时，代表未进行峰位校准；AC 为绿色时，代表已校准）；

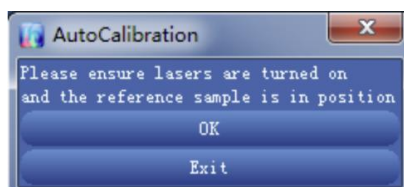


在弹出的选项中选择 Current laser/grating 对当前激光-光栅进行峰位校准

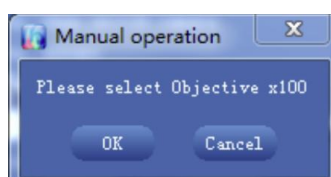


e) 自动校准过程中会出现如下窗口：

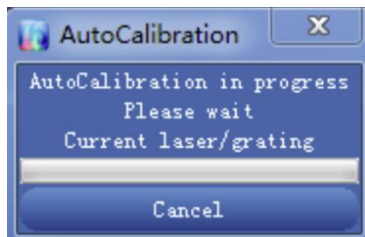
如果激光已打开，则点击 OK（请确保激光器已开）



确认是否使用的是对应物镜，之后点击 OK

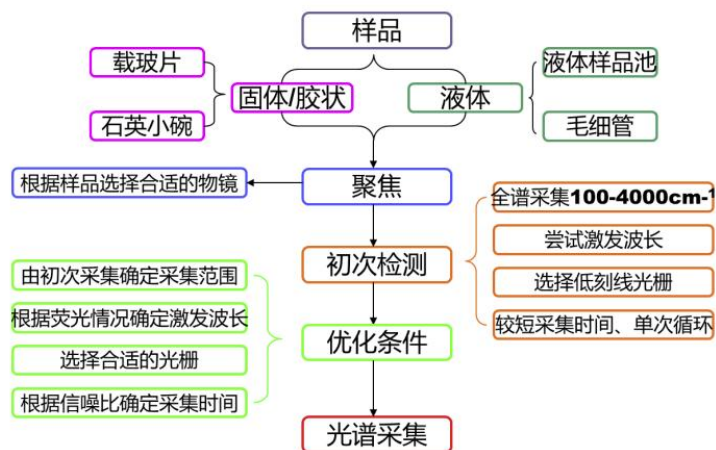


f) 等待，直到校准结束



### 三、样品测试


样品测试流程如下图所示：



#### 3.1 样品制备：

- 固体：直接放在载玻片上即可
- 液体：
  - 有毒、易挥发的，可以封装在毛细管里
  - 无毒、不挥发的：可以滴到金属（如硬币）表面或置于石英比色皿或 HORIBA 液体样品池

#### 3.2 样品聚焦：

打开白光灯，点击 video 图标 ，具体聚集方法如上仪器校准中的 3.1 步骤，直至样品的显微图像聚焦清楚。

#### 3.3 采谱条件参数设置

聚焦完毕后，点击图标  停止白光图像采集（如果采用信号聚焦则无需该步点击操作），开始进行参数设置。主要设置参数如下：

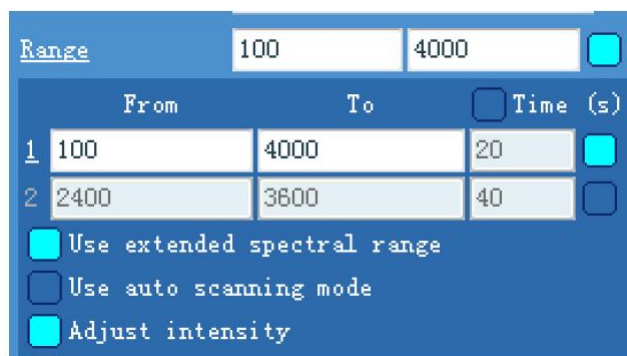
Acquisition -> Acquisition parameters 选项：

**Spectro (cm<sup>-1</sup>)**：RTD（实时显示采集）和单窗口采集模式下时使用，输入光栅中心位置后回车，光谱将以设置的值为中心采一段谱（取谱范围与激发波长及光栅有关）

**Range**：若“Range”右边的方框没有激活，则是单窗口采集模式；激活“Range”右边方框使其呈绿色，然后输入采谱范围，例如 100-4000，可将采谱分为分成多段采集再进行拼接。

“Range”附加参数：

点击“Range”文字，可打开范围表格如下图所示



- 若要分段采谱，避开某个强峰以避免 CCD 饱和，可在范围表格内的“From”和“To”文本框里输入各段采谱范围，进行分段采谱。
- 若要获取光滑的 PL 光谱，勾选 Use auto scanning mode，一般拉曼采谱不需要勾选此项；
- 勾选 Adjust intensity 实现自动调整基线进行无缝拼接，一般需勾选此项。

**Acq. time(s):** 单次采谱曝光时间，曝光时间越长，信号越强，但注意避免信号饱和（信号强度须 <60000），需优化设置合适采谱时间

**Accumulation:** 循环次数，次数越多，光谱越平滑

**RTD time(s):** 实时采集曝光时间



**Spike Filter:** 选择 Multiple accumulations，并将循环次数 Accumulation 设置为 $\geq 2$ ，可以实现自动扣除宇宙射线。注：Mapping 时为节省时间，可取消这个功能，通过后续数据处理扣除宇宙射线。

**ICS correction:** 强度校准，可见激光器建议将 ICS 设为“on”，以校准仪器在不同光谱范围的灵敏度。

其它选项一般无须更改。

除以上 Acquisition parameters 选项外还需设置或检查如下 Instrument setup 选项。

**Acquisition -> Instrument setup 选项:**

**Objective:** 选择使用对应的物镜，如软件中此处选择物镜与实际使用物镜不符，会导致白光成像 Video 窗口中的比例尺不正确。


**Grating:** 选择合适的光栅，数值越大光谱分辨率越高，可区分更多的细节峰，但信号强度会有所降低，可根据样品信号特征选择合适的刻线数光栅；

**ND Filter:** 可以根据信号的强弱及样品选择适当级别的衰减片。（有多档可选，如 10%代表激光功率衰减至全功率的 10%）。如果样品对激光敏感或易被灼伤时，应选择较小数值的 ND Filter，降低激光功率。


**Laser:** 根据样品选择合适的激发波长。如样品有荧光，可选择不同激发波长避开荧光干扰；如需测表面几个 nm 到几百个 nm 的膜，可选择紫外激光器。

**Hole:** 默认为 100 微米。若样品比较均匀，不追求空间分辨率，则可以把孔开大（可见检测部分：400 微米；紫外/近红外检测部分：200 微米）。

### 3.4 光谱采集:

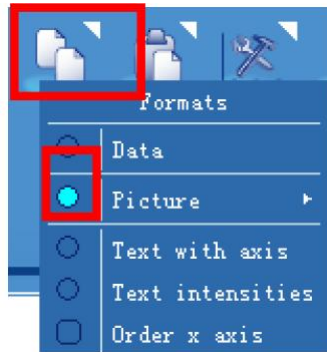
设置好参数后，点击图标 ，进行光谱采集，采集到的光谱会出现在 spectra 窗口中。

### 3.5 结果保存

a) 保存光谱数据：采集完光谱后，激活 spectra 窗口保存光谱：点击 save 图标 ，在弹出窗口中选择 txt 格式进行保存。

b) 将显微图像或者光谱图保存成图片格式（根据需要保存）：

- 激活需要保存的窗口（可以是光谱窗口、显微图像窗口，也可以是 mapping 图像结果）
- 右键点击 copy，选中 picture




- 在 picture 下拉菜单中修改 size 和 Text 调整图片的像素和坐标字体大小，然后点击 copy to file, 在弹出的窗口中选择图片格式（wmf、jpg 或 bmp）。

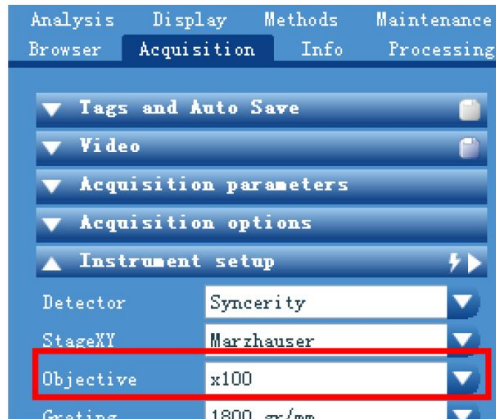
## 四、拉曼成像

在开始拉曼成像之前，先按上述第四部分的样品测试方法找好单点的测试条件，再按如下方式进行 XY 二维或者 Z 方向拉曼成像

### 4.1 XY 面成像

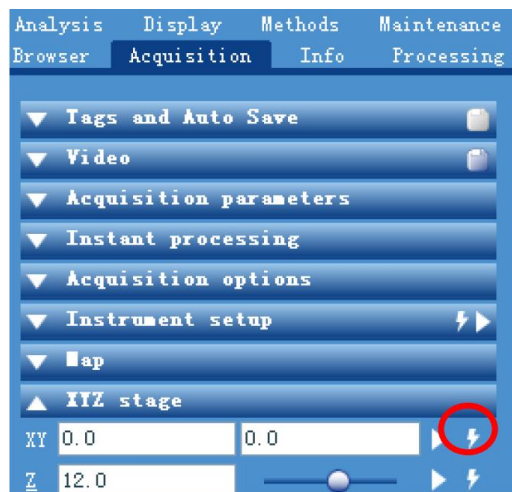
a) 定位成像区域

- 点击“video”按钮 ，选择合适的物镜，聚焦好样品
- 选择比较平整的地方作为成像区域，移动样品台使成像区域在绿点附近
- 在软件上选择跟硬件匹配的物镜（如下图）




- 在 Acquisition->XYZ stage 下面，点击 XY 这一行的旋钮（如下图），对 X、Y 进行归零操作，将绿点位置作为零点

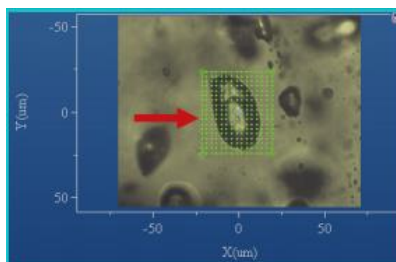
注意：并不是所有成像都需要这一步操作，归零的好处是：假如通过成像找到比较的数据点，想要将平台自动定位到该数据点进行详细分析，可直接在 XYZstage 中输入该点的位置坐标位置，点击回车即可。



#### b) 选择成像位置

方法 1：在左边工具栏中选择成像类型，如矩形框 ；如果显微图像上没有显示出矩形框，则

点击图标工具栏中的 Initialize cursors 图标 ，使矩形框显示在显微图像上；然后将矩形框移到待成像的位置，拉大或缩小矩形框至合适尺寸。



方法 2：在 Acquisition->map 下面，勾选 X、Y 行的选框，在“From”和“to”方框里输入待分析的位置

	From	To	Size	Step
Z	-500.00	500.00	51	20.0 <input type="checkbox"/>
Y	-25.00	25.00	1	1.0 <input checked="" type="checkbox"/>
X	-25.00	25.00	1	1.0 <input checked="" type="checkbox"/>
t	0.00	100.00	11	10.0 <input type="checkbox"/>

c) 设置步长

在 acquisition-> map 的 Step 里设置步长 (如 1  $\mu\text{m}$ )


注意: 平台的最小精度可以到 0.01  $\mu\text{m}$ , 光斑尺寸  $\approx 1\mu\text{m}$ , 建议最小步长可设为 0.3 $\mu\text{m}$


d) 设置采集参数


在 Acquisition 里设置采集参数: 选择合适的激光、功率、共焦针孔 hole、光栅;

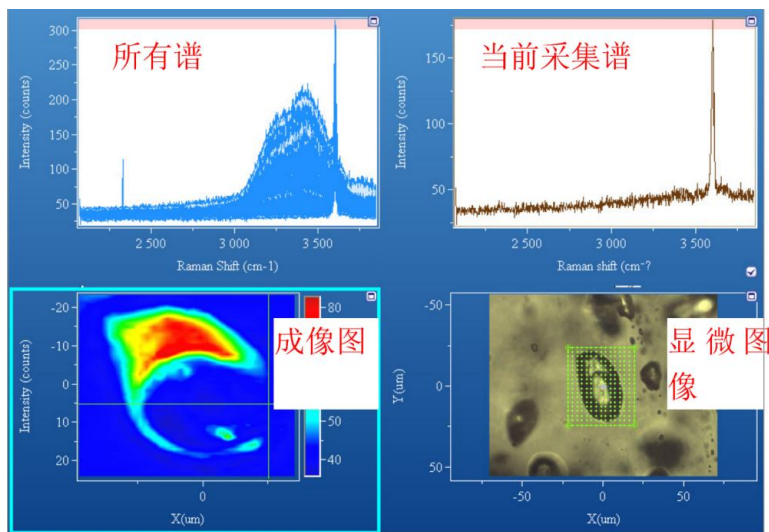
选择扫描模式: 单窗口或多窗口, 如有可能, 尽可能选择单窗口模式以提高成像速度; 选择合适的曝光时间和循环次数;

f) 开始成像采集

- 点击 stop video acquisition  停止图像采集

- 点击 start spectrum acquisition  图标, 采集一条光谱, 检查参数是否设置正确

- 点击 start mapping acquisition  开始成像。此时在 Maps 数据窗口会有四个数据, 所有谱(左上角), 当前采集谱(右上角)及鼠标夹峰法成像图(左下角)及显微图像(右下角)



g) 数据保存

- 采集完之后, 激活右下角显微图像, 点击 save 保存为.l6v 格式
- 激活左上角窗口, 点击 save 保存为.l6m 格式
- 根据需要可将成像图(左下角)和显微图像(右下角)保存成图片格式

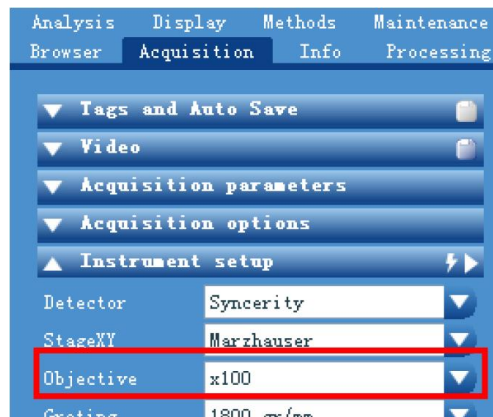
## 4.2 Z 方向成像

a) 定位成像区域

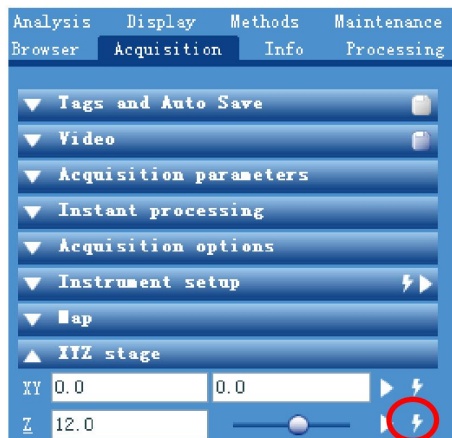
- 点击“video”按钮 , 选择合适的物镜,




- 聚焦好样品后，将待成像的样品点移到绿点上，然后在软件上选择跟仪器上的物镜匹配的物镜（如下图）



- 在 Acquisition->XYZ stage 下面，点击  按钮（如下图），将焦平面作为零点




b) 确定 Z 正负方向：使用微调，观察 Z 值是随着平台升高往正数方向偏大，还是往负数方向偏大，若平台升高，Z 值往正数方向偏大，说明 Z 值越正，激光越深入样品，否则，反之

c) 点击 stop video acquisition  停止图像采集

d) 在 Acquisition->map 下面，勾选 Z 这一行的方框，取消勾选其它选项并输入需要分析的深度，如 100 um:

- 若平台升高，Z 值往正数方向偏大，则可以在 From 里输入 0，在 to 里输入 100，在 step 里输入步长
- 若平台升高，Z 值往负数方向偏大，则可以在 From 里输入-100，在 to 里输入 0，在 step 里输入步长

e) 设置好采集参数后，点击 start map acquisition  按钮即可开始成像

## 五、关机

实验结束后**无需关闭**软件以及电脑和仪器主机，只需**关闭激光器的开关以及显微镜照明灯的开关**即可。之后刷卡下机并在**仪器使用登记本上登记使用记录**。