

ラマン顕微鏡
XploRA
LabSpec6用

ユーザーガイド

CODE:GZ0000368749

はじめに

本書は、ラマン顕微鏡 XploRAを取り扱う方を対象に書かれています。
ご使用になる前に、本書を必ずお読みください。お読みになった後は必要なときにすぐに取り出せるように大切に保管してください。
製品の仕様・外観は、改良のため予告なく変更することがあります。
また、本書に記載されている内容も予告なく変更される場合があります。あらかじめご了承ください。

保証と責任の範囲

本製品の保証期間は納入後1年間です。万一、保証期間中に弊社の責任による故障が発生した場合は、無償にて修理または部品の交換をします。ただし、次のような場合は保証の対象から除外します。

- 誤操作による故障の場合
- 弊社以外で修理や改造をした場合
- 不適切な環境で使用した場合
- 本書記載以外の方法で使用した場合
- 弊社の責任外の事故による場合
- 災害による場合
- 本体落下による故障の場合
- 腐食・さびなどによる故障、または外観の劣化
- 消耗品

本製品の故障による損害、データの抹消による損害、その他本製品を使用することによって生じた損害について、弊社は一切その責任を負いかねますので、ご了承ください。

商標について

- Microsoft、Windows、Windows Vistaは、米国Microsoft Corporationの、米国、日本およびその他の国における登録商標または商標です。
- 記載されている会社名、商品名は、各社の商標または登録商標です。本書では、Rマーク、TMマークは省略している場合があります。

安全にお使いいただくために

警告の種類と表示方法

本書および製品では、次のような警告表示をしています。内容をよく理解して、正しく安全にご使用ください。

■ 警告表示の意味

- | | | |
|--|-----------|--|
|  | 危険 | 取り扱いを誤った場合、使用者が死亡または重傷を負うことがあり、かつその切迫の度合いが高いもの |
|  | 警告 | 取り扱いを誤った場合、使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの |
|  | 注意 | 取り扱いを誤った場合、使用者が傷害を負うことが想定されるか、または物的損害の発生が想定されるもの |

■ 図記号

- | | |
|---|--------------|
|  | 強制：必ず実行する内容 |
|  | 禁止：してはいけない内容 |

製品の取り扱いについて

製品の廃棄に関して

本製品を廃棄する場合は、各地の法規に従って処理をしてください。

マニュアルについて

本書の表記の説明

注記

製品を正しく動作させるために必要なことを記載しています。

参照

関連情報の記載箇所を示しています。

— ヒント —

製品を扱ううえで参考となる情報を記載しています。

オリジナル言語について

本書は、日本語で作成された原文です。

本製品の関連ドキュメント

■ XploRA ラマン顕微鏡 LabSpec6用ユーザーガイド(本書)

基本操作から応用操作(補正や演算処理など)に関する内容を主体に書かれています。
対象ソフトウェア：LabSpec 6.3 以上

■ ラマン顕微鏡 XploRA 取扱説明書

日常の測定作業の際に必要な操作および作業に関する内容を主体に書かれています。

目次

概要	1
ラマン顕微鏡XploRAソフトウェアLabSpec6について.....	1
LabSpec6の画面構成.....	2
画面構成.....	2
立ち上げと校正	3
電源投入.....	3
校正.....	5
ポイント分析	9
サンプリング.....	9
観察.....	10
測定条件の決定と測定.....	11
A) テンプレート機能を使う.....	11
B) 測定条件を設定して行う.....	12
保存.....	18
スペクトルの表示設定.....	19
データの選択.....	19
マッピング測定	20
マッピング測定とは.....	20
試料のセット.....	20
スペクトル測定条件の決定.....	20
測定エリアの決定.....	21
測定.....	22
保存.....	22
ポイント分析結果のデータ処理	23
ベースライン補正.....	23
スムージング/フィルタリング.....	25

ピークフィッティング	26
演算処理	28
データサイズ処理	30
マッピングデータの編集	31
カーソルを使ったイメージの表示	31
イメージの表示方法の選択	33
表示色の選択	33
スムージング	33
スムージングの強度	34
顕微鏡像との重ね書き	34
ベースライン補正	35
スムージング/フィルタリング	37
ピークフィッティング	38
CLS解析	41

概要

ラマン顕微鏡XploRAソフトウェアLabSpec6について

LabSpec6は、弊社ラマン分光装置に使用されるソフトウェアです。スペクトルおよび多次元マッピングデータの測定と解析を行うことができます。

参照

LabSpec6の機能の詳細については、装置に付属のラマン顕微鏡 XploRA取扱説明書をご参照ください。

LabSpec6の画面構成

■ 画面構成

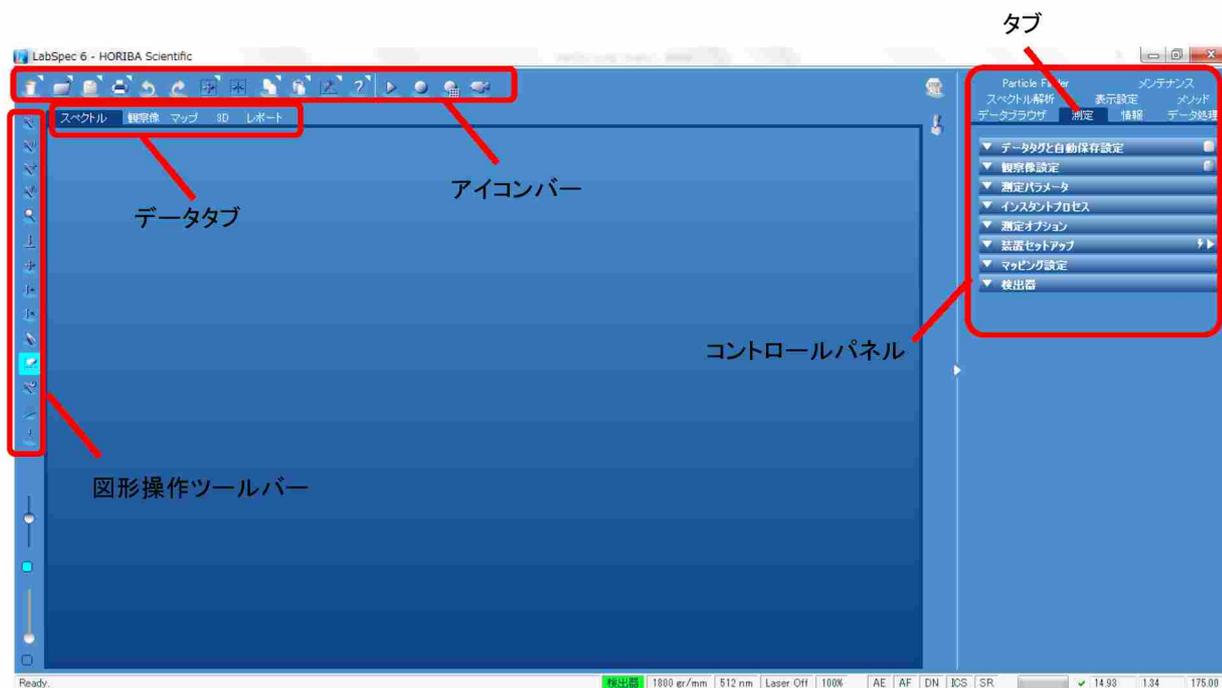


図1 LabSpec6ソフトウェアメイン画面

名称	説明		
アイコンバー	データの保存、印刷、表示に関わるアイコンと、測定を実施するためのアイコンがあります。		
データタブ	測定データを表示します。 データはそれぞれ種類に応じたタブに表示されます。		
コントロールパネル	タブ	測定、データ処理などの目的に応じたタブを選択します。 各タブを選択すると各セクションの機能一覧の確認、選択を行います。	
		データブラウザ	読み込んだデータの一覧を表示します。 データ左側のボックスをクリックして、データの表示/非表示を切り替えます。
		測定	測定に関する機能がすべて納められています。 測定条件、装置設定、観察像の設定ができます。
		情報	選択したデータの測定条件やデータ処理の履歴を表示します。
		データ処理	スムージング、演算、ベースライン補正などの、データを編集するための機能です。
		スペクトル解析	多変量解析、ピークフィッティングなどデータの解析機能を選択します。
		表示設定	データ表示色、3Dの設定など、表示方法を選択、およびオプション機能設定を行います。
		メソッド	測定条件、データ処理などの一連の動作を保存し、実行します。
メンテナンス	マニュアルで装置校正を行います。		
図形操作ツールバー	各データの種類に応じた表示、データ処理を行うカーソルを選択できます。 詳細は装置に付属のラマン顕微鏡 XploRA取扱説明書をご参照ください。		

立ち上げと校正

電源投入

1. テーブルトップの電源を入れる

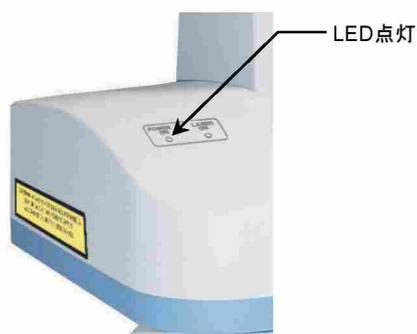


図2 装置本体(LED点灯部)

装置本体と検出器の電源が入ります。装置本体の電源が入るとLEDが点灯します。

2. レーザー安全キーのスイッチをONにする

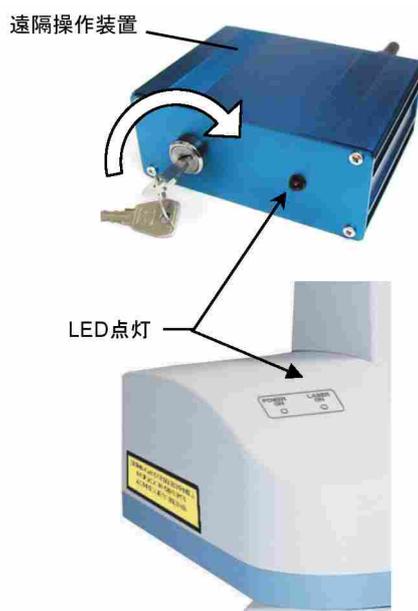


図3 レーザースイッチ

遠隔操作装置のキーを時計回りに回し、レーザーを発振させます(遠隔操作装置は図3と色が異なる場合があります)。レーザー安全キーのスイッチがONになると、装置本体のLEDが点灯します。

3. PCを立ち上げる

4. LabSpec6の起動



図4 LabSpec6アイコン

デスクトップのLabSpec6アイコンをダブルクリックして立ち上げます。

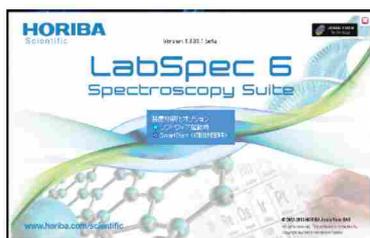


図5 スタート画面

装置の初期化の設定画面が表示されます。

- ソフトウェア起動時
- SmartStart(初回測定時)

ユーザーアカウントを登録し、起動時にパスワードを設定することができます。

参照

設定方法は、装置に付属のラマン顕微鏡 XploRA取扱説明書をご参照ください。

校正

注記

校正は装置を立ち上げた時に、十分に暖機された状態で行ってください。校正には校正用試料のSiを用います。

1. 校正用試料の設置



図6 粗動ハンドル

作業スペースを確保するために、粗動ハンドルを回し、ステージを十分に下げてから校正用試料をステージの上にセットします。

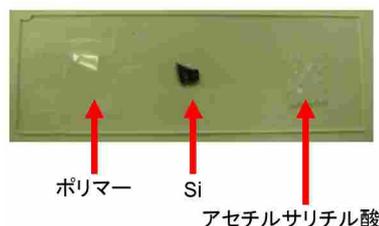


図7 校正用試料

校正には中央のSiを使用します。

2. 焦点を合わせ



図8 対物レンズ

対物レンズ10倍(黄色いライン)で焦点を合わせます。使用するレンズが真下を向くようにレボルバーを持って回します。



図9 顕微鏡用電源スイッチ

顕微鏡側面の電源スイッチを入れ観察用照明を点灯し、手前にあるつまみを回転させて光量の調整をします。透過像の取り込みを行う場合は、落射照明と透過照明切り替えスイッチから、照明を変更します。



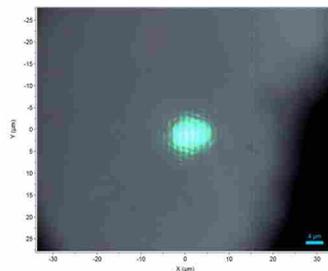
図10 切替ダイヤル

アイコン[観察像の取得開始]  をクリックします。観察像画面が表示されます。観察像画面に切替ダイヤルの設定を変更するメッセージが表示されます。顕微鏡本体の切替ダイヤルを変更してください。

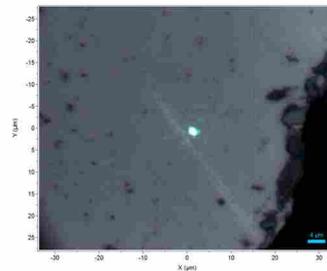
— ヒント —

● 焦点合わせのヒント

試料のエッジにフォーカスを合わせると表面に焦点を合わせられます。試料が鏡面で焦点が合わせにくい場合は、レーザーの焦点位置で合わせます。



焦点が合っていない



焦点が合っている

● 観察像とレーザーを同時に表示する方法



[測定]タブの[観察像設定]セクションを開き、以下のように設定します。

- [観察用カメラ]
[スタンダード]を選択
- [減光フィルタ]
適切な値を選択し、チェックを入れる
- [レーザー]
[使用する]を選択し、チェックを入れる

3. 自動波長校正



ソフトウェアメイン画面右下の[AC]ボタンをクリックします。



図11 自動波長校正ウィンドウ

校正の種類を選択します。

- [Current laser/grating]
現在選択されているレーザーとグレーティングの組み合わせで校正をします。
- [All lasers/gratings]
すべてのレーザーとグレーティングの組み合わせで校正をします。標準的なXploRAは、こちらを選択します。
- [Custom lasers/gratings]
あらかじめ設定したレーザーとグレーティングの組み合わせで校正をします。
- [設定変更]
自動波長校正における測定条件などの設定変更を行います。

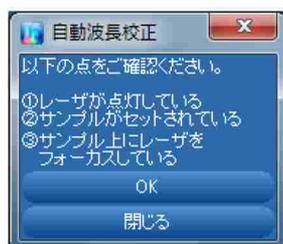


図12中の項目①から③を確認し、[OK]ボタンをクリックして校正を行います。

図12 校正開始



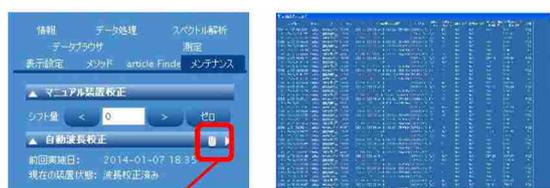
校正中は図13が表示されます。

図13 校正中



校正が終了するとメッセージが表示され、ソフトウェアメイン画面右下の[AC]ボタンが緑色で表示されます。

図14 校正終了



ログファイルの表示

校正の履歴は、[メンテナンス]タブの[自動波長校正]セクションを開きます。ログファイルの表示で確認することができます。

図15 自動波長校正

注記

校正に失敗すると下図のメッセージが表示されます。



以下を確認して再度測定をします。

- レーザーは発振していますか？
- 装置カバーにはインターロックが取り付けられています。カバーは正しく閉じていますか？
- 対物レンズは100倍を使用していますか？

ポイント分析

サンプリング

- バルク
大きいものはステージに載せられる大きさにカットします。
- 粉末
スライドガラス上に少量分取します。
サンプリング後、凹凸が少なくなるように平らにすると、焦点が合わせやすくなります。
このときサンプルを潰さないよう注意してください。
- フィルム
レーザーの熱により試料が動く可能性があります。サンプルをカットして、スライドガラスなどに貼り付けてください。両面テープなどで固定する場合は、粘着材の影響を避けるために測定する位置の下にテープが無いようにします。
- 液体
量が少ない、粘度が高い、色が付いている場合は、スライドガラスか金属板に1滴分取します。蒸発しやすい試料の場合は、カバーガラスで蓋をします。それ以外では、マクロセルホルダー(液体測定用ユニット)を使用します。容器ごと測定する場合は、容器をステージ上に載せ、マクロセルホルダーのセルホルダーを取りはずし、かわりに対物レンズを取り付けて使用します。
- 気体
容器に封入します。

観察

1. サンプルのセット



図16 粗動ハンドル

作業スペースを確保するために、粗動ハンドルを回し、ステージを十分に下げてから試料をステージの上にセットします。

2. 焦点合わせ

アイコン[観察像の取得開始]  をクリックして観察像を起動します。

観察像を確認しながら対物レンズ10倍で焦点を合わせます。さらに測定に使用する倍率の対物レンズに変えて焦点を合わせます。焦点合わせの詳細については、「校正」(5 ページ)をご参照ください。

3. 観察像の保存

焦点が合ったらアイコン[STOP]  をクリックして観察像を止めます。

必要に応じてアイコン[データとして保存]  から観察像を保存します。

— ヒント —

● 対物レンズ選択の目安

バルク :	対物レンズ100倍
粉末 白色または透明 :	対物レンズ50倍
着色あり :	対物レンズ100倍
フィルム :	対物レンズ100倍
液体 :	対物レンズ10倍
気体 :	対物レンズ10倍

- 試料がレーザーによるダメージを受けやすい場合は、パワー密度を下げるため低倍の対物レンズを使用します。
- 蛍光が強い試料の場合は、高倍率の対物レンズを使用します。
- 凹凸が大きい試料の場合は、長作動の対物レンズを使用し、試料と対物レンズが接触しないようにします。

測定条件の決定と測定

測定条件は、以下の2種類の方法から選択します。

- A) テンプレート機能を使う
 テンプレートは、測定条件を登録する機能です。あらかじめ作成したテンプレートを読み込むと、装置設定を登録した条件と入れ替えることができます。
- B) 測定条件を設定して行う
 レーザー、グレーティング、ホール径などのすべての条件を試料に合わせて設定します。一度決めた測定条件は、テンプレートとして保存することができます。

■ A) テンプレート機能を使う

1. テンプレートの読み込み



図17 測定タブ

[測定]タブを選択します。



図18 テンプレートウィンドウ

各セクション名上でクリックするとテンプレートウィンドウが開きます。
 [すべてに適用]にチェックを入れ、[テンプレートを開く]をクリックします。



図19 テンプレートの選択

保存したフォルダから使用するテンプレートを選択して読み込みます。

2. 測定の開始

アイコン[シングルスペクトルの測定を開始]  をクリックして測定を開始します。

■ B) 測定条件を設定して行う

1. グレーティングの選択



図20 装置セットアップ

[測定]タブを選択し、[装置セットアップ]セクションを開きます。

[グレーティング]のプルダウンメニューからレーザー、測定目的に合わせたグレーティングを選択します。

励起レーザーが未定の場合は、刻線数の少ないグレーティングを使って励起波長を決める測定を行います。



図21 グレーティングの選択

[グレーティング]のプルダウンメニューには、装置に搭載されているグレーティングが表示されます。

600、1200、1800、2400 gr/mmの4枚から選択すると自動的にセットされます。

— ヒント —

● グレーティング選択のヒント

- 感度： 刻線数が少ないと感度が高い
- 測定スピード： 刻線数が少ないと1度に測定できる横軸の範囲は広がるので、測定スピードが上がる
- 分解能： 刻線数が多いと高分解能で測定ができる

● 励起レーザーごとのグレーティング選択の目安

532・638 nmレーザー

- ベクトル全体を見る： 600 gr/mmまたは1200 gr/mm
- 細かい差に着目する： 1800 gr/mmまたは2400 gr/mm

785 nmレーザー

- スペクトル全体を見る： 600 gr/mm
- 細かい差に着目する： 1200 gr/mmまたは1800 gr/mm

*2400 gr/mmは785 nmレーザーによる測定に適しません。

2. 励起レーザー波長の決定

[測定]タブから[装置セットアップ]セクションを開きます。[レーザー]のプルダウンメニューから試料に合わせた励起レーザーを選択します。

— ヒント —

ラマン顕微鏡XploRAには、最大で3本のレーザーを内蔵することができます。装置の仕様を確認してください。

レーザー選択の目安



- 532 nm : 無機材料・無色の有機物
- 638 nm : 有機物
- 785 nm : 色の付いている試料 (蛍光を発する試料)

レーザーを変更すると、XploRA内部のエッジフィルタが連動して自動で切り替わります。

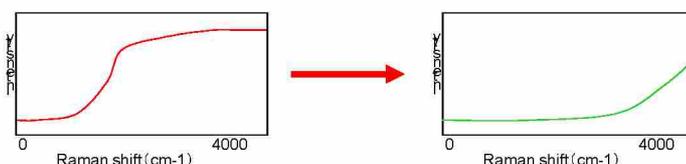
エッジフィルタについては、ラマン顕微鏡XploRA取扱説明書をご参照ください。

図22 レーザーの選択

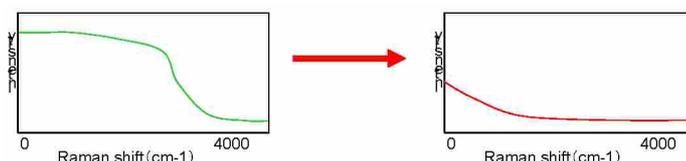
— ヒント —

励起レーザー選択のヒント

- 刻線数の少ないグレーティングと、装置の感度の高い励起レーザー（緑～赤）でテスト測定を行い、ダメージ、蛍光の出方をみてレーザーを決めます。
短波長のレーザーを使用（高波数側に蛍光が強くなる場合）



長波長のレーザーを使用（高波数側に蛍光が弱くなる場合）



- レーザーを試料に照射すると、レーザーにより試料が変質することがあります。あらかじめ[装置セットアップ]セクションの[減光フィルタ]のプルダウンメニューから50%または10%を選択し、確認しながら段階的にパワーを上げて測定をします。

3. ホールとスリットの設定



図23 ホールとスリットの設定

[共焦点ホール]は空間分解能、[スリット]は波数分解能のコントロールに効果のあるパラメータです。[スリット]は、通常測定時100 μm を入力し、波数分解能を上げた測定をする場合は、50 μm を入力します。[共焦点ホール]は小さい値を入力すれば空間分解能が高くなりますが、同時にシグナル強度は下がります。測定目的に応じた測定値をプルダウンメニューから選択してください。

4. 露光時間と積算回数の決定

露光時間・積算回数を決める



図24 RTD時間設定

1秒でリアルタイム測定を行い、シグナルの強さを確認して、露光時間を決めます。[側定]タブの[測定パラメータ]セクションの[分光器(cm^{-1})]へ、ラマンピークが見られる値を入力し、Enterキーを押します。

- 入力例

600 gr/mm使用時：2000 cm^{-1}

[分光器(cm^{-1})]は、分光器の中心波数を表示し、この値を中心としたスペクトルが表示されます。

[RTD時間(秒)]に1秒を入力します。

アイコン[リアルタイム表示を開始]  をクリックして測定を開始します。

— ヒント —

リアルタイム表示を開始する機能は、積算を行わずRTD時間に入力された時間に従って測定を繰り返す機能です。



図25 露光時間・積算回数設定

自動露光機能を使用する



図26 自動露光機能設定

AEレベル(cnt)	10000	<input checked="" type="checkbox"/>
測定波長範囲 (cm ⁻¹)	800	1000 <input checked="" type="checkbox"/>
最小露光時間(秒)	0.3	
最大露光時間(秒)	60	
初期露光時間(秒)	1	
AEレベル(cnt)	10000	

図27 AEレベル設定

表示されたスペクトルの強度を確認し、[露光時間]と[積算回数]を決めます。

- [露光時間]
設定時間に比例して、ラマンスペクトル強度が増加します。
- [積算回数]
積算回数分の平均スペクトルが表示されます。ショットノイズ除去のため、2回以上に設定します。

自動露光は、指定した波数範囲のピーク強度が一定になるように露光時間を自動で設定する機能です。[AEレベル(cnt)]チェックボックスにチェックを入れ、[AEレベル(cnt)]をクリックすると図27が表示されます。

- [測定波長範囲(cm⁻¹)]
チェックボックスにチェックを入れ波長範囲を入力します。
- [最小露光時間(秒)]
[最大露光時間(秒)]
測定の最小・最大露光時間を入力します。
- [初期露光時間(秒)]
テスト測定の露光時間を入力します。
- [AEレベル(cnt)]
測定データの目標強度

5. 測定波長範囲の設定 ワンショット測定



図28 測定波長範囲設定

分光器の値を中心とした測定範囲を測定します。[分光器 (cm⁻¹)]に中心波数を入力し、Enterキーを押します。手順6.へ進みます。

範囲指定測定



図29 範囲設定

測定範囲の拡張は、広い波数範囲のスペクトルを測定するためにグレーティングを動かして測定するモードです。図28[測定波長範囲]をクリックすると図29が表示されます。

[測定波長範囲の拡張]にチェックを入れます。[始点]と[終点]に範囲を入れるには、右側にあるチェックボックスにチェックを入れます。複数範囲を入力する場合は、2段目のチェックボックスにチェックを入れます。

手順6.へ進みます。

オートスキッピングモード(推奨)

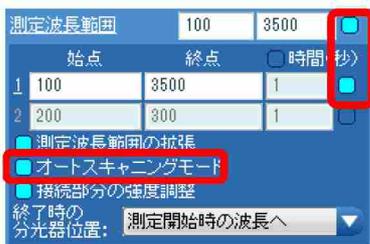


図30 オートスキッピングモード設定

オートスキッピングモードは、設定した波数範囲の測定をするためにグレーティングを動かして測定するモードです。データの重なりを増やすことができるため、つなぎ面の段差がない滑らかなスペクトルが得られる測定方法です。図28[測定波長範囲]をクリックすると図29が表示されます。

[測定波長範囲の拡張]にチェックを入れます。[始点]と[終点]に範囲を入れるには、右側にあるチェックボックスにチェックを入れます。複数範囲を入力する場合は、2段目のチェックボックスにチェックを入れます。

[オートスキッピングモード]にチェックを入れます。

図28の[積算回数]の推奨は8以上です。

6. 測定

アイコン[シングルスペクトル測定を開始]  をクリックして測定を開始します。測定中は、ソフトウェアメイン画面右下に測定中であることを示すバー  が、左下には残り時間が表示されます。測定中に測定を停止するときは、アイコン[STOP]  をクリックしてください。

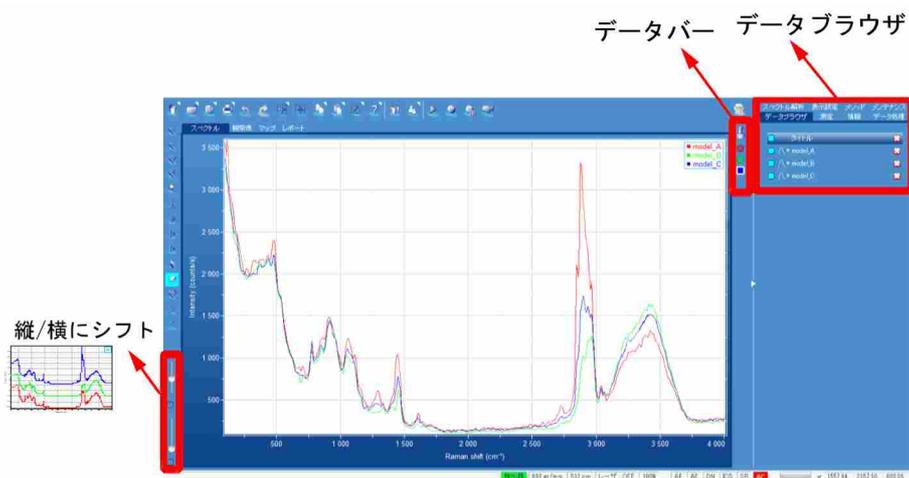
保存

アイコン[データとして保存]  をクリックします。保存先を指定し、名前を付けて保存してください。拡張子は、下表から選択できます。

LabSpec6(.ls6)	推奨
LabSpec5(.ngs)	旧LabSpec拡張子
LabSpec4(.tsf)	
GRAMS(.spc)	ライブラリ用(SpectralID)
Text(.txt)	テキストデータ

スペクトルの表示設定

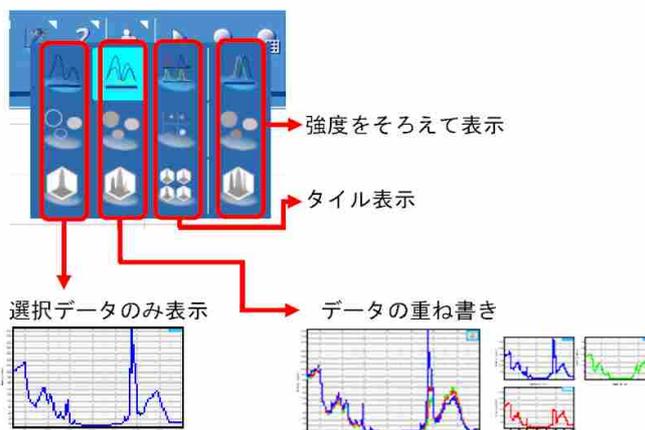
■ データの選択



- データブラウザ
[データブラウザ]タブの各チェックボックスにチェックを入れると読み込んだデータの一覧が表示されます。[×]ボタンをクリックするとLabSpec6から削除することができます。読み込んだデータをすべて削除する場合は、[タイトル]の[×]ボタンをクリックしてください。
- データバー
データの選択ができます。[データブラウザ]タブに表示されているスペクトルと同色のドットが表示されており、選択したドットには白枠が表示されます。

● 表示方法の変更

アイコン[表示形式]  で選択画面を開き表示方法を変更することができます。



マッピング測定

マッピング測定とは

マッピング設定では、X・Y・Zモーターの組み合わせによる1～3Dマッピング、Timeパラメータによる経時変化、温度コントロールステージとの組み合わせによる加熱、冷却時のスペクトル変化を設定することができます。マッピングをするためには、モーターステージ、DuoScan、高速マッピング機能SWIFTなどのオプションが必要です。ここでは、ベーシックなマッピング手法として、モーターステージによるポイントマッピングについて説明します。

試料のセット

マッピングでは、ステージが動いて各ポイントの測定を行います。必要に応じて試料を固定してください。試料を観察し、マッピング測定エリアを観察像の中央に表示します。

参照

焦点合わせの方法と対物レンズの選択については、「校正」(5 ページ)手順2.をご参照ください。

スペクトル測定条件の決定

「測定条件の決定と測定」(11 ページ)に従ってスペクトルの測定条件を決めます。測定目的によって異なりますが、ポイントごとにグレーティングを動かすと測定に時間がかかるため、ワンショットで各成分のスペクトルの違いが判別できる波数範囲を選択します。

比較的大きなスペクトル形状の違いの分布を作成をする場合、1ポイントのS/Nが低くてもイメージを作成することは可能です。露光時間はポイント分析よりも短く、積算回数は1回に設定します。

測定エリアの決定

1. マッピング形状の決定

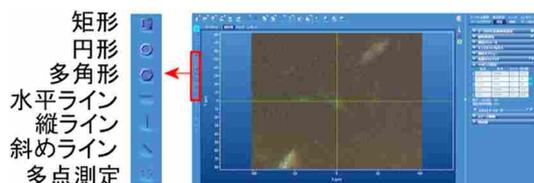


図31 観察像画面

マッピングの形状は、図31の図形操作ツールバーから選択します。

観察像中央位置での深さ方向分析、Timeマッピングを行う場合は、エリアの選択は必要ありません。「ベースライン補正」(23 ページ)手順2.に進んでください。

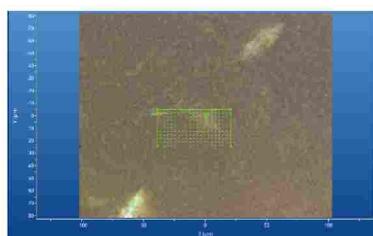


図32 測定位置とサイズ調整

観察像内で測定位置とサイズを調整します。

カーソルが観察像画面に表示されない場合は、アイコン[カーソル位置の初期化]  をクリックして、カーソルを観察像の中央に表示します。

2. 測定間隔の決定

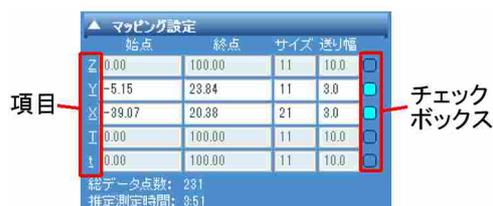


図33 [マッピング設定]

[測定]タブから[マッピング設定]セクションを開きます。測定する項目のチェックボックスにチェックを入れます。

- 例
 矩形平面のマッピング : X・Y
 断面のマッピング : X・Z、Y・Z
 深さ方向 : Z

サイズまたは送り幅に値を入力します。

- [サイズ] : 測定ポイント数
- [送り幅] : 測定の間隔
 $X \cdot Y \cdot Z : \mu\text{m}$ $T : ^\circ\text{C}$ $t : \text{秒}$

入力した値に従って、データポイント数と測定時間が表示されます。

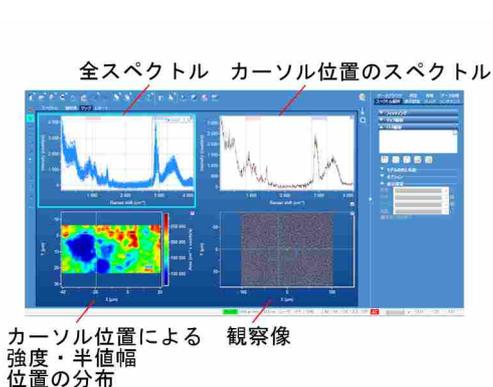
マッピング測定方向

通常、[マッピング設定]セクションで下にある項目から、マッピング測定が行われます。例えば図33の場合、X方向の測定後、Y方向が動きます。測定の順番を変えるには各項目をクリックし、表示される項目から[上へ]または[下へ]をクリックします。また、[マッピング設定]に表示する項目が選択できます。



図34 マッピングの測定方向を設定

測定



アイコン[マッピング測定を開始]  をクリックすると、測定が開始されます。
[マップ]タブにデータが表示されます。

図35 測定結果複数表示

保存

アイコン[STOP]  がグレーアウトしたら測定終了です。スペクトルが重ね書きされているウィンドウを選択して、アイコン[データとして保存]  をクリックして保存します。拡張子は、下表から選択できます。

LabSpec6(.l6m)	推奨
LabSpec5(.ngc)	旧LabSpec拡張
LabSpec4(.tvf)	
Text(.txt)	テキストデータのみ イメージは保存されない
Image(.tif)	スペクトルをイメージとして保存

注記

- すべてのスペクトルが表示されたウィンドウを保存すると自動的にイメージとカーソル位置のスペクトルが保存されます。
- 観察像はマッピングデータと同時に保存されないため、個別に保存してください。

ポイント分析結果のデータ処理

ベースライン補正

蛍光により高くなったスペクトルのバックグラウンドをフラットに補正します。

1. データを開く

アイコン[開く]  からベースライン補正をするスペクトルを読み込みます。

2. ベースラインの設定を選択



図36 ベースライン補正

[データ処理]タブから[ベースライン補正]セクションを開きます。

- [種類]
 - [線形]：直線でベースライン近似します。
 - [多項式]：多項式でベースラインを近似します。

データのベースラインが直線的な傾斜を持っている場合は、線形、曲線の場合は、多項式を選択します。

- [次数]

種類で多項式を選択した場合、次数を選択します。次数5を初期値として、データに合いやすい次数を選びます。
- [最大点数]

ベースラインの補正に用いるデータ点数を変更できます。
- [ノイズ点数]

[ノイズ補正]にチェックを入れると有効になります。次数4をデフォルトとしています。
- [スペクトル形状に沿わせる]

チェックを入れると有効になります。ベースラインを作成するポイントをデータ上に載せるか、クリックした位置から引くかの選択をします。ベースラインが複雑な形状をしている場合や、ピークの本数が多い場合、チェックをはずすと使いやすくなります。

3. ベースラインのフィット 自動で補正する

[ベースライン補正]セクションの[フィット]ボタン  をクリックすると、スペクトルウィンドウにベースラインポイント(図37)が表示されます。

—ヒント—

ベースラインの形状が合わない場合は、ベースラインの候補を表示したまま、手順2の種類・次数・最大点数を変えて、データに近いベースラインとなる値を探します。

ベースラインポイントを自分で決める

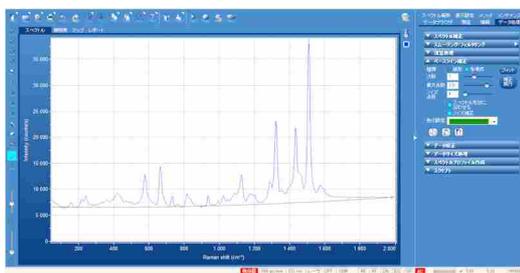


図37 ベースラインポイント

図形操作ツールバーからアイコン[ベースライン補正点の追加]  をクリックします。

スペクトルウィンドウ内でクリックしてベースラインポイントを追加し、ベースラインを作成します。

ポイントを補正する場合

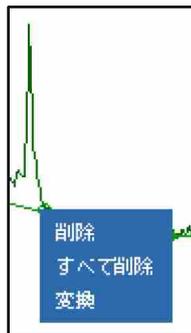


図38 ベースラインポイントの修正

補正するポイントが合っていない場合は、図形操作ツールバーのアイコン[ベースライン補正点の追加]  をクリックすると、十字カーソル  となり、ベースライン補正点を操作することができるようになります。

- 位置修正
補正点にカーソルを合わせ、十字カーソル  になったら、ドラッグして位置調整します。
- 削除/変換
補正点にカーソルを合わせ表示される画面から[削除]を選択すると補正点を個別に消去することができます。[変換]を選択すると、スペクトルがベースライン波形に置き換わります。

4. 補正の実行

[ベースライン補正]セクションの[補正実行]ボタン  をクリックすると、ベースラインが補正されます。

ベースラインのコピー・消去



コピーボタンとペーストボタンを使用するとベースラインを他のデータに貼り付けることができます。削除ボタンを使用すると、作成したベースラインを消去することができます。

スムージング/フィルタリング

スムージングや微分処理を行います。

1. データを開く

アイコン[開く]  からベースライン補正をするスペクトルを読み込みます。

2. スムージング/フィルタリングの起動

[データ処理]タブから[スムージング/フィルタリング]セクションを開きます。

3. フィルタリングの選択

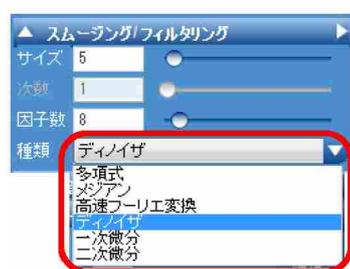


図39 スムージング/フィルタリング

[種類]のプルダウンメニューから各スペクトルに応じたパラメータを設定します。演算前のデータに戻すにはアイコン[元に戻す]  かCtrlキー+Zキーで戻すことができます、設定の確認ができます。

- [多項式]

Savitzky-Golayスムージングを行います。次数欄に入力した数字は、使用する多項式関数の次数(例、2:二次関数、4:四次関数)を表します。サイズはスムージング効果の度合いに対応します。サイズが大きければ大きいほど、スムージング効果は高くなります。

- [メジアン]

サイズで指定した値の点数のメジアン(中央値)を使ってスムージングを行います。

- [高速フーリエ変換]

高周波成分を取り除くスムージングで、因子数(周波数)が大きいほど、スムージングは強く働きます。

- [デノイザ]

Labspec6専用のノイズ低減アルゴリズムです。サイズと因子数が大きいほどスムージングは強く働きます。

- [一次微分]、[二次微分]

Savitzky-Golayのアルゴリズムで、微分演算を行います。次数、前後点数を設定します。

4. スムージングの実行

[スムージング/フィルタリング]セクションの右側にある実行ボタン  をクリックして実行します。

ピークフィッティング

ピーク位置、強度、半値幅などを算出します。

1. データを開く

アイコン[開く]  からスペクトルを読み込みます。

2. ピークフィッティング前のデータ処理

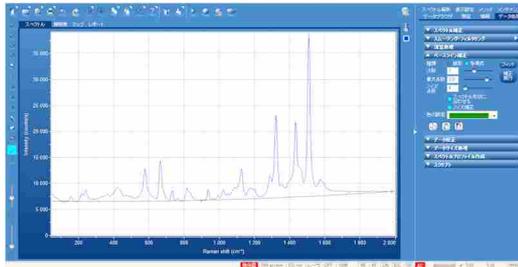


図40 データのフィッティング

蛍光によりスペクトルのバックグラウンドが高い場合は、ベースライン補正をするとピークフィッティングを行いやすくなります。また、S/Nが低い場合は、あらかじめフィルタリングを行うことを推奨します。

蛍光の出ているデータ上にフィッティング結果を載せる場合は、減算をせず、補正のラインのみを引いておきます。補正ラインの作成は「ベースライン補正」(23 ページ)を参照してください。

3. 関数の選択



図41 関数の選択

[スペクトル解析]タブから[フィッティング]セクションを選択します。[関数]のプルダウンメニューから使用する関数を選択します。各関数の最初に付いているAは非対称形状のスペクトルに対し有効な関数を表わしています。

4. ピーク検索

[ピーク検索]ボタン  をクリックすると、フィッティングの[強度]と[サイズ]の設定をしきい値として、自動的にピーク検索が行われます。

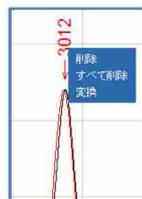


図42 ピークの設定

- 手動でのピーク追加
図形操作ツールバーからアイコン [ピークの追加]  を選択します。スペクトルのピークトップ付近をクリックするとピークが追加されます。
- ピークの削除
削除したいピークにカーソルを合わせ、表示されたポップアップから [削除] を選択します。

5. ピークフィッティングの実行

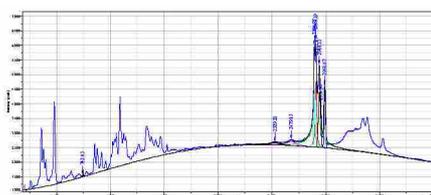


図43 フィッティング結果例



図44 フィッティングカーブ

	p	a	g	w	area
1	1322.18	15759.2	0.802915	15.6445	410210
2	1433.23	14871.2	0	18.9441	441068
3	1509.86	31218.3	0.489443	16.7284	609642
4	1578.69	2670.74	0	60.7616	252276
5	1462.79	3420.81	0.485993	21.2707	99118.6
6	1286.24	3317.63	0	25.123	130389

図45 フィッティング調整

フィッティング結果の修正をする

[フィット]ボタン **フィット** をクリックすると、検索されたピークに対してフィッティングが開始されます。フィッティングの数値結果は、[フィッティングカーブ]を選択すると図45で閲覧できます。

ピークフィッティングが行われたスペクトルの本数だけ、ナンバリングして表示されます。

- p: ピーク位置
- a: ピーク強度
- g: Gaussian関数の寄与率 (GaussLoren選択時)
- w: 半値幅
- Area: ピーク面積

ウィンドウ化ボタンをクリックするとフィッティングの結果(図43)を表示します。

ピーク位置を修正し、再度フィッティングします。

レフトバーのカーソルのリストからアイコン[ピークの追加]を選択します。データタブの[スペクトル]の表示から、修正したいピーク位置を選び、数値の位置へ十字カーソル \cross を重ねます。ピークにカーソルを合わせて修正したい位置までドラッグします。

[フィット]ボタン **フィット** をクリックすると、ピークフィッティングが再度開始されます。

ヒント

図44の[固定]チェックボックスにチェックを入れ、フィッティングするとそれ以外のパラメータのみを変更して演算します。

演算処理

1つまたは、2つ以上のデータの演算を行います。

1. スペクトルの読み込み

アイコン[開く]  からスペクトルを読み込みます。

2. 演算処理の設定

[データ処理]タブから、[演算処理]セクションを開きます。



図46 演算処理

— ヒント —

演算式を入力の際には半角大文字のX、Y、A、Bを使用してください。

3. データ内の演算

データ内の演算は1つのスペクトルデータに対して演算を行います。演算式に、X、Yなど適切な式記号をキーボードで入力してください。

- 各データの呼称と内容
 - X: アクティブデータの横軸
 - Y: アクティブデータの縦軸
 - A: アクティブデータ
 - B: 指定したデータ

- 式記号の一例

+ : 加算 - : 減算 * : 乗算 / : 除算

その後、図46演算式欄右側にある実行ボタン  をクリックすると演算処理を開始します。

参照

有効な式記号の詳細については、ラマン顕微鏡 XploRA取扱説明書をご参照ください。

4. データ間の演算

1. 演算式を入力

データ間の演算は複数のスペクトルが表示されている場合、スペクトルデータ間で演算を行います。

2. データBを指定

データ間の演算の演算式の欄内に、A、Bほか適切な式記号をキーボードで入力してください。

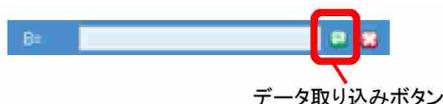


図47 データBを指定

データ取り込みボタンをクリックすることで、アクティブなデータを、演算用データBとして取り込みます。演算実行時にアクティブなデータがAになります。

3. 演算を実行

演算式欄の右側にある実行ボタン▶をクリックすると、演算が開始されアクティブなデータAが演算後のデータCに置き換わります。

5. データの結合



図48 データの統合

複数のデータを表示した状態で図46の[重なり合う領域の強度調整]の実行ボタン▶をクリックすると、表示されているデータが1つに結合されます。

[重なり合う領域の強度調整]にチェックを入れてデータの結合を行うと、重なり合う領域のスペクトル強度が平均化されます。

機能を使うことで、同じスペクトル測定範囲のデータを複数用意し、データの平均化を行うことが可能です。

データサイズ処理

スペクトル、マッピングデータおよびイメージから任意の範囲を抽出したり、ビンニングをしたりして分解能を変更するための機能です。ここでは、スペクトルの抽出方法を説明します。

1. データの読み込み

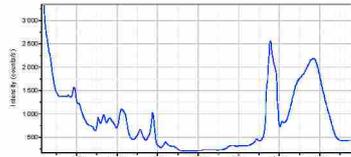


図49 データの読み込み

アイコン[開く]  から編集するデータを読み込みます。

2. データサイズ処理を起動



図50 データサイズ処理

[データ処理]タブから[演算処理]セクションを開きます。

3. データの抽出

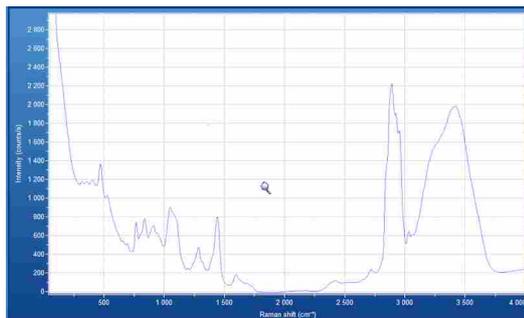


図51 データの抽出

データから抽出する範囲を拡大表示します(ズームカーソル  または表示設定タブ軸目盛)。

▲ データサイズ処理				
	サイズ	送り	始点	終点
S	697	5.47253	92.281	3901.16
I			212.197	3325.26

図52 データサイズの設定

[始点]または[終点]にカーソルを合わせクリックすると、[グラフからコピー]ボタン  が表示されます。[グラフィックからコピー]ボタン  をクリックします。

[始点]、[終点]にスペクトルが表示されている範囲が表示されます。

[抽出]ボタン  をクリックして、表示範囲を抽出します。[始点]、[終点]の範囲設定は、数値を直接入力することでも行えます。

マッピングデータの編集

カーソルを使ったイメージの表示

データ処理をすることなく、カーソルで選択した範囲の強度、半値幅などの分布を表示することができます。(LabSpec6.2以前は強度のみ)作成したイメージは、顕微鏡観察像に重ねることができます。

1. データを開く

アイコン[開く]  からマッピングデータを読み込みます。顕微鏡像と比較をする場合は、観察像を合わせて読み込みます。

2. カーソルの選択

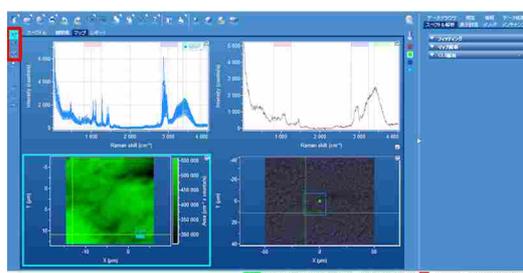


図53 測定結果複数表示

スペクトルの表示されたウィンドウをアクティブにすると、図形操作ツールバーに3色のポインタが表示されます。このポインタを選択するとウィンドウ内の3色のカーソルの位置調整ができます。

3. カーソルの設定



図54 マップ解析

カーソルの設定は、[スペクトル解析]タブの[マップ解析]セクションから行います。

- [強度]、[シフト]、[半値幅]から選択します。
- [ベース]チェックボックスにチェックをするとカーソルとスペクトルの交点でベースラインを引いた値を分布図として表示します。
- [ベース]チェックボックス右側のチェックボックスにチェックを入れるとイメージを表示します。

— ヒント —

積分強度分布の例

強度分布の作成時、蛍光によってバックグラウンドが高くなっている場合があります。ベースのチェックの有無で蛍光を含めたイメージか、ラマンピークの強度だけの分布を作成するかを選択することができます。

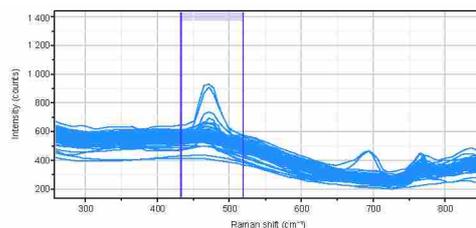
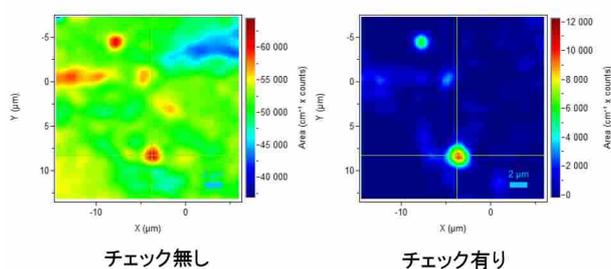


図55 ベース調整

青ラインで選択した範囲の積分強度を表示する場合、ベースにあるブロードなピークの強度を含めるかどうかでイメージのコントラストが変わります。



イメージの表示方法の選択

■ 表示色の選択

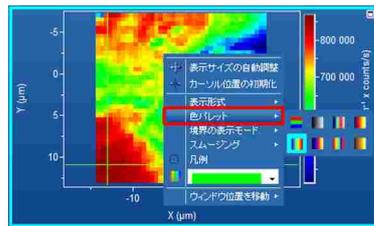


図56 表示色の選択

イメージウィンドウ内で右クリックし、色パレットから表示色を選択します。

■ スムージング

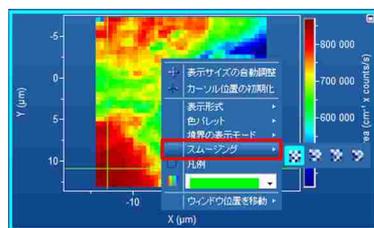
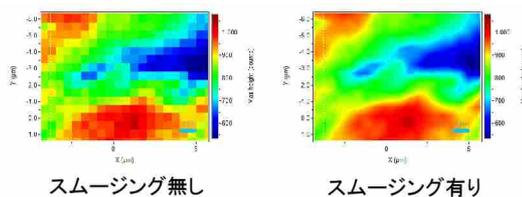


図57 スムージングの設定

イメージウィンドウ内で右クリックし、スムージングからスムージングの種類を選択します。



スムージング無し

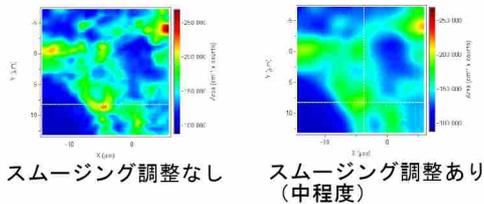
スムージング有り

■ スムージングの強度



[表示設定]タブから[2D & 3Dイメージ表示形式]セクションを開きます。[色パレット]、[スムージング]の設定をします。
スライドバーでスムージングの強度調整を行います。

図58 スムージングの強度調整



■ 顕微鏡像との重ね書き

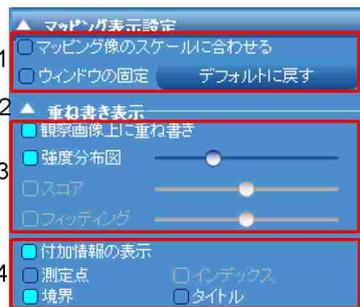


図59 マッピング表示設定

測定範囲、測定点、インデックス、イメージを顕微鏡像に重ね書きすることができます。[表示設定]タブから[マッピング表示設定]セクションを開きます。

1. 観察像表示範囲の設定
2. 重ね書きイメージを選択
3. 重ね書きするイメージを選択、色の濃さをスライドバーから設定
 - 強度分布：カーソルによるイメージ
 - スコア：CLS解析
 - フィッティング：ピークフィッティングパラメータの分布
4. 測定点などを観察像に重ね書きする場合
チェックを入れ表示する項目を選択

ベースライン補正

蛍光により高くなったスペクトルのバックグラウンドをフラットに補正します。マッピングデータの全スペクトルの表示されたウィンドウに対してベースライン補正を行うと、すべてのスペクトルを補正することができます。

1. データを開く

アイコン[開く]  からベースライン補正をするマッピングデータを読み込みます。

2. 設定の選択



図60 ベースライン補正

[データ処理]タブから[ベースライン補正]セクションを開きます。設定については、ポイント分析のデータ処理と解析「ベースライン補正」(23ページ)の手順2.をご参照ください。

3. ベースラインのフィット

注記

マッピングデータでは、蛍光によるバックグラウンドの傾きがスペクトルによって異なる可能性があります。自動で補正することをお勧めします。

自動で補正する

[フィット]ボタン  をクリックすると、スペクトルウィンドウにベースラインの候補が表示されます。ベースラインの形状が合わない場合には、ベースラインの候補を表示した状態で、種類・次数・最大点数を変えて、データに近いベースラインとなる値を探します。

ベースラインポイントを自分で決める

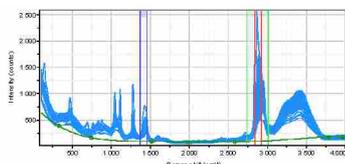


図61 ベースライン作成

図形操作ツールバーのアイコン[ベースライン補正点の追加]  をクリックします。ウィンドウ内でクリックしてベースラインポイントを追加し、ベースラインを作成します。ベースラインポイント位置などの修正は、ポイント分析データと同様に行います。

4. 補正の実行

[補正実行]ボタン  をクリックすると、ベースラインが補正されます。

5. ポイントデータの修正

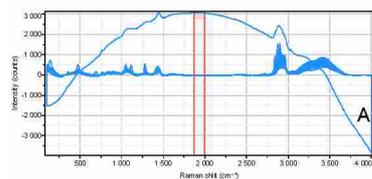
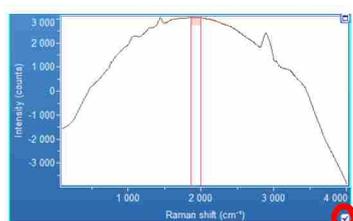
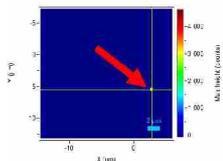


図62 ベースライン修正



スペクトル補正ボタン

図63 スペクトル補正

ベースライン補正が合わないポイントは、個別に修正します。

カーソルを使ってピークの高さや積分強度の分布を作成し、ベースライン補正がうまくいっていないポイントを見つけます。図62ではAポイントのデータを修正します。

ベースラインが正しく作成されたスペクトルに対して、差の大きい範囲を選択し、高さの分布を作成します。

差の大きいポイントは輝度が高く表示されるので、カーソルでそのポイントを選択します。

表示されたスペクトルを編集した後、スペクトル補正をクリックして、補正後のスペクトルをマッピングデータに登録します。

スムージング/フィルタリング

スムージングや微分処理を行います。

マッピングデータの全スペクトルが表示されたウィンドウに対してスムージングを行うと、すべてのスペクトルにスムージングを行うことができます。

参照

詳細については、ポイント分析データ処理と解析の「スムージング/フィルタリング」(25 ページ)をご参照ください。

ピークフィッティング

ピーク位置、強度、半値幅などを算出します。マッピングデータの全スペクトルの表示されたウィンドウに対してピークフィッティングを行うと、すべてのスペクトルにフィッティングを行うことができます。

1. データを開く

アイコン[開く]  からマッピングデータを読み込みます。

2. ピークフィッティング前のデータ処理

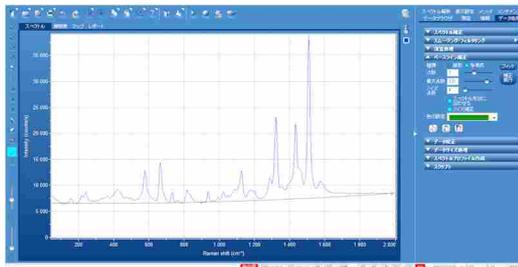


図64 データのフィッティング

蛍光によりスペクトルのバックグラウンドが高い場合は、ベースライン補正をするとピークフィッティングを行いやすくなります。また、S/Nが低い場合には、あらかじめスムージングを行うことを検討してください。

蛍光の出ているデータ上にフィッティング結果を載せる場合は、減算をせず、補正のラインのみを引いておきます。補正ラインの作成は「ベースライン補正」(23 ページ)をご参照ください。

3. 関数の選択



図65 関数の選択

[スペクトル解析]タブから[フィッティング]セクションを開きます。関数プルダウンメニューから使用する関数を選択します。各関数の最初に付いているAは非対称形状のスペクトルに対し有効な関数を表わしています。

4. ピーク検索

[ピーク検索]ボタン  をクリックすると、フィッティングの[強度]と[サイズ]の設定をしきい値として、自動的にピーク検索が行われます。

● 手動でのピーク追加

図形操作ツールバーからアイコン[ピークの追加]  を選択します。スペクトルのピークトップ付近をクリックするとピークが追加されます。

● ピークの削除

削除したいピークにカーソルを合わせ、表示されたポップアップから削除を選択します。

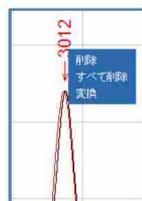


図66 ピークの設定

5. フィッティングの実行

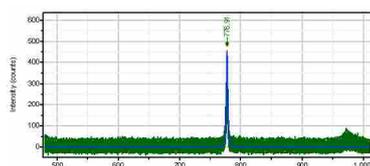


図67 フィッティング結果例

[フィット]ボタン **フィット** をクリックすると、検索されたピークに対してフィッティングが開始されます。

[フィッティングカーブ]を選択するとフィッティングの数値結果が閲覧できます。



図68 フィッティング調整

ピークフィッティングが行われたスペクトルの本数分ナンバリングして表示されます。

- p: ピーク位置
- a: ピーク強度
- g: Gaussian関数の寄与率 (GaussLoren選択時)
- w: 半値幅
- Area: ピーク面積

ウィンドウ化のボタンをクリックするとフィッティングの結果(図67)を表示します。

フィッティングパラメータの分布イメージ

	p	a	g	w	area
1	1322.19	15750.2	0.002915	16.6446	410210
2	1493.23	14871.2	0	18.9441	441008
3	1509.86	31218.3	0.489449	16.7264	609642
4	1578.69	2870.74	0	60.7616	252276
5	1462.79	9420.81	0.485033	21.2707	99118.6
6	1266.24	3917.63	0	25.123	130388

分布図を作成する場合、各パラメータの[フィッティングカーブ]の[分布図]にチェックを入れて、分布イメージを表示します。

図69 フィッティングカーブ

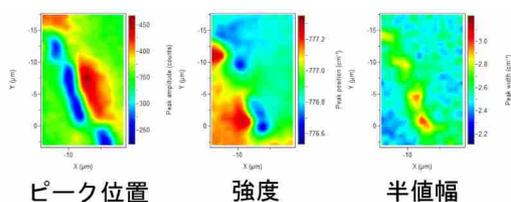


図70 分布イメージ

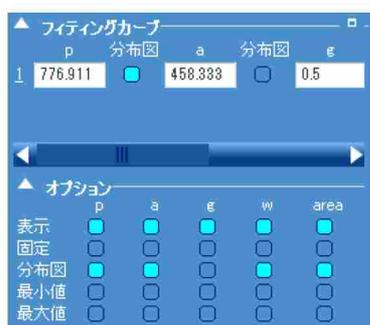
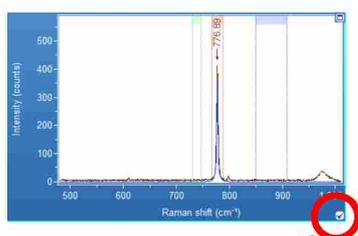


図71 フィッティングカーブの設定

[分布図]にチェックを入れても分布イメージが表示されない場合、[オプション]を開き、表示するパラメータにチェックを入れます。

6. ポイントデータの修正



スペクトル補正ボタン

図72 ポイントデータの修正

ポイントデータを修正する場合は、修正したいポイントのデータを表示し、修正後に、スペクトル補正をクリックして、修正後のスペクトルをマッピングデータに登録します。

参照

修正方法の詳細は、「ピークフィッティング」(26 ページ)をご参照ください。

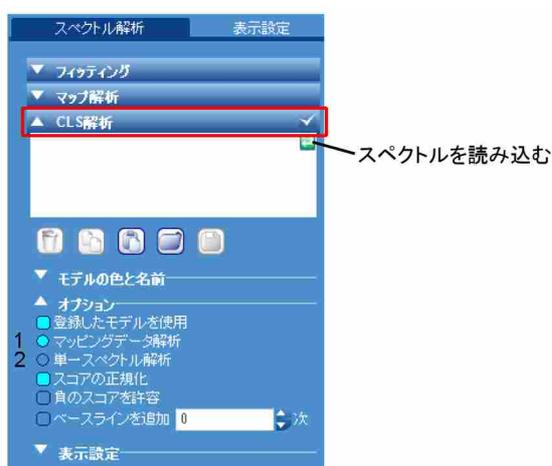
CLS解析

CLS解析は、参照成分スペクトル>Loading)を使用して、単一のスペクトルまたはマッピングデータへ古典的最小二乗法(Classical Least Square,CLS)によりフィッティングをする多変量解析機能です。CLS解析機能を用いると、多数の成分由来のバンドが重複するようなデータであっても、それぞれの成分を区別することができ、任意の数の成分分布を見ることが可能です。

1. データの読み込み

アイコン[開く]  からマッピングデータを読み込みます。

2. CLS解析の選択



[スペクトル解析]タブから[CLS解析]セクションを開きます。

表示がグレーアウトしている場合は、[CLS解析を使用]をクリックします。

- 1.CLS解析をマッピングデータに適用
- 2.CLS解析を単一のスペクトルに適用

図73 CLS解析

3. 参照スペクトルの登録

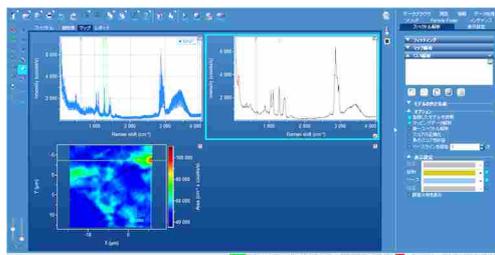
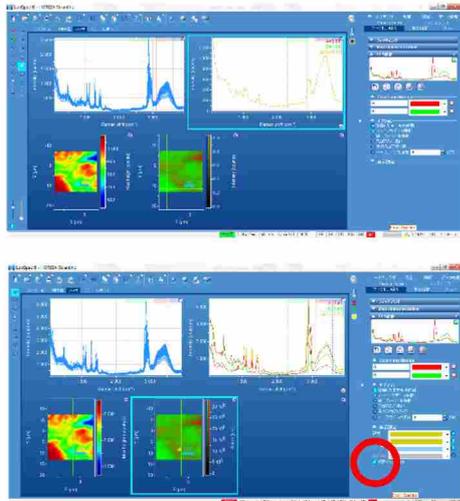


図74 参照スペクトルの登録

登録するスペクトルは、あらかじめ測定した単一のスペクトルでも、マッピングデータ内のポイントスペクトルでも使用できます。マッピング内から、登録するスペクトルを見つける場合には、カーソルを使って作成したイメージなどを参考にしてください。参照成分として登録するスペクトルを表示します。

選択しているスペクトルを読み込むボタン  をクリックして、スペクトルを登録します。



黄色で誤差分布を表示

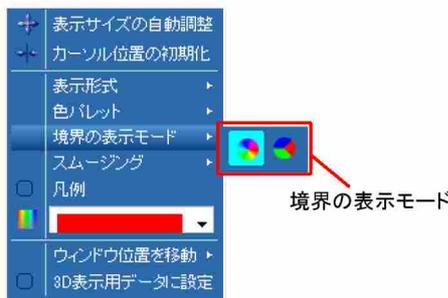
図75 CLS解析の分布図

選択しているスペクトルを読み込むボタンをクリックすると、スペクトルが登録され、CLS解析による分布図が表示されます。

必ず2成分以上登録してください。1成分だと次のシーケンスに進みません。

参照スペクトルの追加時には、誤差分布の表示を使用すると便利です。誤差分布は、参照成分のスペクトルとのかい離が大きい部位の輝度を高く表示します。誤差がある分布を持っていた場合、現在ある参照成分以外の成分が分布している可能性があります。

4. 表示モードの選択



境界の表示モード

図76 表示モード

図75イメージウィンドウ内で右クリックすると図76が表示されます。境界の表示モードを選択します。

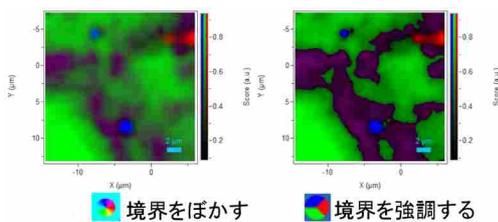


図77 境界の表示モードイメージ図



図78 2D & 3Dイメージ表示

[境界の表示モード]から境界を強調するを選択すると、[表示設定]タブから[2D & 3Dイメージ表示]セクションを開きます。[領域面積]からそれぞれの成分のカバー率を算出することができます。

株式会社 堀場製作所

〒601-8510 京都市南区吉祥院宮の東町2番地
<http://www.horiba.com>

製品に関する技術的なお問い合わせ、ご相談は下記へお願いします。

株式会社 堀場製作所 カスタマーサポートセンター
フリーダイヤル **0120-37-6045**

サービスに関するお問い合わせは、最寄りのサービスステーションへご連絡ください。
