

【發明說明書】

【中文發明名稱】 激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統及其激發光選擇模組

【英文發明名稱】 TUNABLE EXCITATION WAVEBAND TEMPORAL FOCUSING MULTIPHOTON EXCITATION FLUORESCENCE MICROSCOPE SYSTEM AND EXCITATION WAVEBAND SELECTIVE MODULE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明關於一種激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統及其激發光選擇模組，特別是一種用於多樣化生物組織檢測之螢光顯微鏡系統及其波長選擇模組結構。

【先前技術】

【0002】 多光子激發螢光顯微鏡可應用在生醫領域中，使用時可依照不同的螢光染料選擇所要用以激發的光波段，將掃描得到的螢光影像顯現並進行分析與研究。然而，現有使用固定波長脈衝雷射作為光源的多光子激發顯微鏡在多螢光團呈像中，利用不同的雙光子吸收光譜執行螢光團的有效激發是不夠的。

【0003】 現有研究中已經證明了，用於生物醫學研究的許多螢光蛋白和螢光團，顯示了多光子吸收的具體光譜，其中螢光團中的高效多光子激發(multiphoton excitation, MPE)提供了MPE呈像更好的訊雜比SNR(signal-to-noise ratio, SNR)，而SNR更是關係到深度呈像的重要因

素。儘管具有單一激發波長的習知多光子激發螢光顯微鏡，可以激發具有重疊雙光子吸收光譜的兩種不同螢光團的螢光，但在生物醫學應用上，螢光團的選擇仍舊受到限制。

【0004】 在空間聚焦只有使用GALVO掃描儀映射MPE螢光圖像的MPE顯微鏡，可以簡單地透過調整脈衝雷射的入射波長，以匹配不同螢光團中多光子吸收最大值的波長。然而，時域聚焦的MPE顯微鏡由於使用以不同繞射角分離入射脈衝光的頻率的繞射裝置，因此難以適時的調整多光子激發螢光顯微鏡的入射波長並獲得較佳的影像品質。

【發明內容】

【0005】 本發明為一種激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統及其激發光選擇模組，其主要係要改善多光子激發螢光顯微鏡系統的成像影像品質。

【0006】 本發明提供一種激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其包括：一激發光產生模組，用以產生一特定波段之一激發光，並形成一光路徑；一激發光選擇模組，其包括：一角度調整單元，其包括：一位移元件，其係被設置於光路徑上移動；及一反射元件，設置於位移元件上用以反射激發光；一控制單元，依照激發光之特定波段以驅動角度調整單元，以使激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；及一繞射單元，用以接收反射激發光以產生一檢測激發光；以及一螢光顯微鏡，其照明光學鏡組之入射端用以接收檢測激發光，以對一待測物件進行檢測。

【0007】 本發明又提供一種激發光選擇模組，其包括：一角度調整單元，其包括：一位移元件，其係被設置於一激發光之一光路徑上移動；及一反射元件，設置於位移元件上用以反射激發光；一控制單元，依照激發光之一特定波段以驅動角度調整單元，以使激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；以及一繞射單元，用以接收反射激發光以產生一檢測激發光；其中角度調整單元係沿著一斜線進行移動，又反射元件之反射端設置且連動有一第一光擴束元件，又繞射單元之入射端設置且固定有一第二光擴束元件，其中第一光擴束元件與第二光擴束元件係組合成為一第一光束擴束器。

【0008】 本發明還提供一種激發光選擇模組，其包括：一角度調整單元，其包括：一位移元件，其係被設置於一激發光之一光路徑上移動；及一反射元件，設置於位移元件上用以反射激發光；一控制單元，依照激發光之一特定波段以驅動角度調整單元，以使激發光形成一特定角度之一反射激發光；以及一繞射單元，用以接收反射激發光以產生一檢測激發光；其中在激發光入射至反射元件前之光路徑上設有角度調整單元係沿著一直線進行移動及旋轉，又反射元件其入射端前端之位置設有一第二光束擴束器。

【0009】 本發明再提供一種激發光選擇模組，其包括：一角度調整單元，其為一定點旋轉之一反射元件，用以反射激發光；一控制單元，依照激發光之一特定波段以驅動角度調整單元，以使激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；以及一繞射單元，用以接收反射激發光以產生一檢測激發光；其中反射元件之反射端後端之位置設有一第三光束擴束器。

【0010】 藉由本發明之實施，至少可以達成下列功效：

- 一、 透過激發光選擇模組可以達到即時調整激發波長之功效。
- 二、 即時動態的進行檢測光源的調整，以得到更佳的影像效果。

【圖式簡單說明】

【0011】

〔第1圖〕為本發明之一種使用斜線移動激發光選擇模組之螢光顯微鏡系統實施例圖；

〔第2圖〕為本發明之一種使用直線移動激發光選擇模組之螢光顯微鏡系統實施例圖；

〔第3圖〕為本發明之一種使用轉動調制激發光選擇模組之螢光顯微鏡系統實施例圖；

〔第4圖〕為本發明之一種波長選擇模組沿著一斜線進行移動之動作實施例圖；以及

〔第5圖〕為本發明之一種波長選擇模組沿著一直線進行移動之動作實施例圖。

【實施方式】

【0012】 如第1圖、第2圖及第3圖所示，本實施例首先提供一種激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統100，其包括：一激發光產生模組10；一激發光選擇模組20；以及一螢光顯微鏡30。

【0013】 激發光產生模組10，主要是使用雷射光產生生物樣本檢測用之激發光11，所產生的激發光11可以依照螢光顯微鏡30之待檢測生物樣本的需要，選擇產生適合照明的波段，產生一特定波段 λ 之一激發光11，又激發光11產生後在運作的過程中將形成一光路徑。

【0014】 為了滿足不同照明光源的需要，激發光產生模組10的輸出端可設有一功率調整器110，以調整激發光11之輸出功率，或者可以設置有一遮光器120，如此功率調整器110可達成光強調整之功效，又遮光器120可以達成快門之功效。

【0015】 激發光選擇模組20，主要係要讓檢測者能於檢測生物樣本時，依照檢測當時的需要，快速的從上述特定波段之激發光11中，藉由繞射單元23，選擇出適合當下的照明光源，因此激發光選擇模組20主要包括：一角度調整單元21；一控制單元22；及一繞射單元23。

【0016】 角度調整單元21，其主要包括：一位移元件211及反射元件212。位移元件211，例如可以由一滑軌結合一用以驅動滑軌移動之驅動馬達所組成，位移元件211其主要係被設置於上述激發光11之光路徑上移動；反射元件212，例如可以為一反射鏡結合一使反射鏡進行角度變換之旋轉馬達。

【0017】 反射元件212設置於位移元件211上，用以反射激發光11並形成一反射激發光24；由於激發光11之光路徑是在一固定的情況下，因此藉由位移元件211的位置變換或反射元件212的角度改變，可以將激發光11於反射後，形成具有不同聚焦位置之反射激發光24或不同出光角度之反射激發光24。

【0018】如第3圖、第4圖及第5圖所示，上述之激發光選擇模組20，依照其作動方式，可以區分為斜線L1移動之斜線移動激發光選擇模組201、直線L2移動之直線移動激發光選擇模組202及轉動調制激發光選擇模組203三種態樣，有關斜線L1或直線L2的定義，係依照激發光11被一路徑元件130反射後光路徑所形成的態樣而命名，然而激發光11亦可不被路徑元件130反射而直接投射至激發光選擇模組20。

【0019】由於本實施例係使用光柵作為繞射單元23，而光柵的繞射方程式可以表示為：

$$\text{【0020】 } m \lambda = a(\sin \theta_i + \sin \theta_m) \quad (\text{方程式1})$$

【0021】其中m是整數的繞射級數； λ 是激發光11的中心波長；a是繞射單元23或者一光柵的等效周期性結構間距； θ_i 是反射激發光24入射至光柵23之入射角，也就是反射激發光入射角；以及 θ_m 是第m階繞射的繞射角。

【0022】如第1圖及第4圖所示，激發光選擇模組20為斜線移動之斜線移動激發光選擇模組201，其位移元件211被設置於一激發光11之一光路徑上斜向移動，反射元件212，設置於位移元件211上用以反射激發光11，因此角度調整單元21係沿著一斜線L1進行移動。

【0023】如第4圖所示， $\lambda a = 770 \text{ nm}$ ， $\lambda b = 850 \text{ nm}$ ， $\lambda c = 920 \text{ nm}$ 係分別以三種不同特定波段 λ 激發光11之中心波長 λa 、 λb 、 λc 所對應之移動位置，又反射元件212之反射端設置有一第一光擴束元件251，且第一光擴束元件251與反射元件212係同方向、同角度的相互連動及移動。

【0024】又第二光擴束元件252固定設置於繞射單元23之入射端，且第二光擴束元件252與繞射單元23間具有固定距離及固定角度之設置關

係，第一光擴束元件251與第二光擴束元件252係組合成為一第一光束擴束器25，第一光擴束元件251係用以接收反射激發光並進行反射激發光之光擴束。

【0025】 在設定上，本態樣是將第一階繞射光($m = 1$)的方向設定為 0° ，也就是 $\theta_1 = 0^\circ$ ，以確保儘管激發光11波長發生變化時，光束在空間上分散，光束的中心頻率之分量仍是沿著系統光軸的中心頻率行進。根據繞射方程，反射激發光入射角 θ_i 必須因應不同的雷射中心波長而被調整，因此反射激發光入射角 $\theta_i(\lambda)$ 的方程式將被重寫為：

$$\text{【0026】 } \theta_i(\lambda) = \sin^{-1}(\lambda / a) \quad (\text{方程式2})$$

【0027】 又第二光擴束元件252的輸出光束的角度變化 \emptyset 與第一光擴束元件251的位置移動 d 之間的關係式，可以表示為：

$$\text{【0028】 } \emptyset = \sin^{-1}(d / f_2) \quad (\text{方程式3})$$

【0029】 其中 f_2 是第二光擴束元件252的焦距。在本實施例中，激發光的初始設定是920nm的中心波長，且此中心波長以和檢測激發光231之中心軸L3之夾角 θ_c 入射進行；藉由結合方程式2與方程式3，可以計算當激發光11中心波長為 λ_i 時角度調整單元21的偏移量 d 可以表示為：

$$\text{【0030】 } d = f_2 \sin[\sin^{-1}(\lambda_i / a) - \sin^{-1}(920\text{nm} / a)] = f_2 \sin[\sin^{-1}(\lambda_i / a) - \theta_c] \quad (\text{方程式4})$$

【0031】 如第2圖及第5圖所示，激發光選擇模組20為直線L2移動之直線移動激發光選擇模組202，其中位移元件211被安排成直向，因此角度調整單元21係沿著一直線L2進行移動，此時不需要設置第一光束擴束器25，

但在激發光11入射至反射元件212前之光路徑上需設有一第二光束擴束器26。

【0032】 在本態樣中，激發光11可以藉由反射元件212在位移元件211上進行移動和旋轉，以使角度調整單元21改變激發光11進入繞射單元23的入射角，反射角藉由方程式1對應於特定的入射角並且為不同的中心波長保持繞射單元23相同的照明位置。基於特定波長的幾何設定，其中檢測激發光231之中心軸L3與反射元件212沿著直線L2移動間的距離，也就中心軸L3與直線L2間的平行距離為D，又反射激發光入射角 $\theta_i(\lambda)$ ，可以表示為：

$$\text{【0033】 } \theta_i(\lambda) = \sin^{-1}(\lambda / a) = \tan^{-1}(D/x(\lambda)) \quad (\text{方程式5})$$

【0034】 又位移元件211之線性移動位置 $x(\lambda)$ 也就是從繞射單元23接收激發光11之平面至位移元件211間的距離，可以表示為：

$$\text{【0035】 } x(\lambda) = [\sqrt{(a^2/\lambda^2) - 1}]D \quad (\text{方程式6})$$

【0036】 如第3圖所示，有關轉動調制激發光選擇模組203，由於時域聚焦技術中，繞射單元23主要功能將激發光產生模組10之超快雷射發射出來的超短脈衝之所含頻率在空間中分開。因此，當使用光柵做為繞射單元23，此處初步的架設是利用週期為1,200 條/mm的繞射光柵，以780nm的單一波長激發光，其繞射角接近70°，其繞射公式表示如方程式1。

【0037】 由於方程式1意指光柵使用不同波長平面波照射，所產生的繞射角度與效率等皆不相同，又因時域聚焦的光學系統中，物鏡聚焦平面與繞射光柵平面屬於共軛平面，若光柵平面沒有調整到使一階繞射光垂直光柵表面，也就是光柵有個傾斜角，因此在激發樣品的激發面與成像面間，也會有的對應的傾斜角，會造成影像的模糊。

【0038】如第3圖所示，激發光選擇模組20，為轉動調制激發光選擇模組203，其中一角度調整單元21，其為一定點旋轉之一反射元件212，用以反射激發光11，此外反射元件212之反射端後端之位置設有一第三光束擴束器27，具體而言激發光選擇模組203，是在一定點依照不同激發光11之波長以旋轉方式調整反射激發光入射角 θ_i ，進而讓第1階繞射光沿著檢測激發光231之中心軸L3上($\theta_m=1$ 為 0°)，而針對此條件可以使用市售光柵週期830條/mm、600條/mm，在雷射的中心波長700nm至1000nm，達到所需的人射角度。

【0039】依據所需的繞射角度，將設透過掃描式鏡組調制並通過顯微鏡的光學鏡組，來達到各個波長的激發光之激發工作。另外，為了使轉動調制激發光選擇模組203有效調整反射激發光入射角 θ_i ，也可透過馬達驅動掃描鏡旋轉，使雷射光反射進入第三光擴束器27，最後使雷射光以不同角度的平行光，入射於繞射單元23上的同一個位置，其激發波長 λ_i 與反射元件212轉動角度 $\theta_m(\lambda)$ 的關係如下：

$$\text{【0040】 } \theta_m(\lambda_i) = \tan^{-1}[M \times \tan(\sin^{-1}(\lambda_i / a) - \theta_c)] \quad (\text{方程式7})$$

【0041】其中M為第三光擴束器27的放大倍率； θ_c 是起始波長的人射角，起始波長例如是920nm之波長。

【0042】控制單元22，應用於上述三種激發光選擇模組中，將能有效的使角度調整單元21進行系統化的控制及運作，藉由控制單元22讀取激發光產生模組10所產生激發光11之中心波長，然後依照不同的中心波長以驅動角度調整單元21，進行位移元件211之位置移動或者反射元件212之角度

旋轉，藉此以精準的使激發光11形成一特定聚焦位置之一反射激發光24或一特定出光角度之一反射激發光24。

【0043】 繞射單元23，應用於上述三種激發光選擇模組20中，其係分別依照不同的激發光選擇模組20選擇性的接收特定入射角度之反射激發光24，並將反射激發光24予以分光產生一第一色光(紅色)C1、一第二色光(草綠色)C2及一第三色光(青綠色)C3…等之檢測激發光231，以作為後續螢光顯微鏡30之照明使用，其中繞射單元23可以為一繞射光柵或數位微型反射鏡元件。由於可以改變具有不同中心波長的反射激發光24入射於繞射元件23的入射角度，並且維持相同的照射位置與繞射角度，因此可以達成快速調整激發波長之功效。

【0044】 螢光顯微鏡30，於進行生物樣品檢測時需要照明之光源，因此螢光顯微鏡30其照明光學鏡組之入射端，用以接收檢測激發光231，又檢測激發光231經過螢光顯微鏡30內部光學鏡組的安排，最終可以對一待測物件進行檢測。

【0045】 使用時，檢測人員可以依照觀察到的影像狀態，即時動態的進行檢測光源的調整，以得到更佳的影像效果；又在整體運作時，可以藉由一電腦設備40進行有關激發光產生模組10、激發光選擇模組20、螢光顯微鏡30之控制及後續之影像處理…等。

【0046】 惟上述各實施例係用以說明本創作之特點，其目的在使熟習該技術者能瞭解本創作之內容並據以實施，而非限定本創作之專利範圍，故凡其他未脫離本創作所揭示之精神而完成之等效修飾或修改，仍應包含在以下所述之申請專利範圍中。

【符號說明】

【0047】

- 100 激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統
- 10 激發光產生模組
- 11 激發光
- 110 功率調整器
- 120 遮光器
- 130 路徑元件
- 20 激發光選擇模組
- 201 斜線激發光選擇模組
- 202 直線激發光選擇模組
- 203 轉動調制激發光選擇模組
- 21 角度調整單元
- 211 位移元件
- 212 反射元件
- 22 控制單元
- 23 繞射單元
- 231 檢測激發光
- 24 反射激發光
- 25 第一光束擴束器
- 251 第一光擴束元件
- 252 第二光擴束元件
- 26 第二光束擴束器

27	第三光束擴束器
30	螢光顯微鏡
40	電腦設備
λ	特定波段
λa	中心波長
λb	中心波長
λc	中心波長
C1	第一色光
C2	第二色光
C3	第三色光
L1	斜線
L2	直線
f_2	第二光擴束元件的焦距
θc	起始波長的人射角
d	偏移量
D	平行距離
$\theta_i(\lambda)$	反射激發光入射角
$x(\lambda)$	線性移動位置
M	第三光擴束元件的放大倍率
$\theta_m(\lambda_i)$	轉動角度



201901233

申請日:106/05/22

IPC分類:

【發明摘要】

【中文發明名稱】 激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統及其激發光選擇模組

【英文發明名稱】 TUNABLE EXCITATION WAVEBAND TEMPORAL FOCUSING MULTIPHOTON EXCITATION FLUORESCENCE MICROSCOPE SYSTEM AND EXCITATION WAVEBAND SELECTIVE MODULE THEREOF

【中文】

本發明為一種激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統及其激發光選擇模組，其多光子激發螢光顯微鏡系統包括：一激發光產生模組，產生一激發光；一激發光選擇模組，依照激發光形成一特定出光角度之一反射激發光，又藉由一繞射單元，產生一檢測激發光；以及一螢光顯微鏡。藉由本發明之實施，可藉由激發光選擇模組快速選擇適當的激發光波長，針對不同的螢光分子以波長掃瞄激發，進而得到較佳的螢光訊號並改善成像品質。

【英文】

The invention provides a tunable excitation waveband temporal focusing multiphoton excitation fluorescence microscope system and an excitation waveband selective module thereof. The multiphoton excitation fluorescence microscope system comprises: an excitation light generating module for generating an excitation light, an excitation light selecting module for reflecting the excitation light in accordance with one of the specific light exit angles of the excitation light and generating a detection excitation light by a diffraction unit, and a fluorescent microscope. With the practice

of the present invention, the wavelength of the light source can be quickly selected by the excitation light selection module to excite different fluorospheres with proper wavelength so as to obtain better fluorescent signals and improve the image quality of the multiphoton excitation fluorescence microscope system.

【指定代表圖】 第 1 圖

【代表圖之符號簡單說明】

100	激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統
10	激發光產生模組
11	激發光
110	功率調整器
120	遮光器
130	路徑元件
20	激發光選擇模組
21	角度調整單元
211	位移元件
212	反射元件
22	控制單元
23	繞射單元
24	反射激發光
25	第一光束擴束器
251	第一光擴束元件
252	第二光擴束元件

30	螢光顯微鏡
40	電腦設備
C1.....	第一色光
C2.....	第二色光
C3.....	第三色光
L1	斜線

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種激發波段可調式之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其包括：

一激發光產生模組，用以產生一特定波段之一激發光，並形成一光路徑；

一激發光選擇模組，其包括：

一角度調整單元，其包括：

一位移元件，其係被設置於該光路徑上移動；及

一反射元件，設置於該位移元件上用以反射該激發光；

一控制單元，依照該激發光之該特定波段以驅動該角度調整單元，以使該激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；及

一繞射單元，用以接收該反射激發光以產生一檢測激發光；以及

一螢光顯微鏡，其照明光學鏡組之入射端用以接收該檢測激發光，以對一待測物件進行檢測。

【第2項】 如申請專利範圍第 1 項所述之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其中該繞射單元為一繞射光柵或數位微型反射鏡元件。

【第3項】 如申請專利範圍第 1 項所述之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其中該角度調整單元係沿著一斜線進行移動，又該反射元件之反射端設置且連動有一第一光擴束元件，又該繞射單元之入射端設置且固定有一第二光擴束元件，其中該第一光擴束元件與該第二光擴束元件係組合成為一第一光束擴束器。

【第4項】 如申請專利範圍第 1 項所述之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其中該角度調整單元係沿著一直線進行移動及旋轉，又該反射元件其入射端前端之位置設有一第二光束擴束器。

【第5項】如申請專利範圍第1項所述之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其中該角度調整單元係在一定點上依照 $\theta_m(\lambda_i) = \tan^{-1}[M \times \tan(\sin^{-1}(\lambda_i / a) - \theta_c)]$ 之公式計算結果進行旋轉且該反射元件之反射端後端之位置設有一第三光束擴束器，其中該 $\theta_m(\lambda_i)$ 為該反射元件轉動角度，該 M 為該第三光擴束元件的放大倍率，該 λ_i 為該激發光之中心波長，該 θ_c 為起始波長的人射角。

【第6項】如申請專利範圍第1項所述之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其中該激發光產生模組之輸出端設有一功率調整器。

【第7項】如申請專利範圍第1項所述之時域聚焦多光子激發螢光顯微鏡系統，其中該激發光產生模組與該反射元件間設有一遮光器。

【第8項】一種激發光選擇模組，其包括：

一角度調整單元，其包括：

一位移元件，其係被設置於一激發光之一光路徑上移動；及

一反射元件，設置於該位移元件上用以反射該激發光；

一控制單元，依照該激發光之一特定波段以驅動該角度調整單元，以使該激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；以及

一繞射單元，用以接收該反射激發光以產生一檢測激發光；

其中該角度調整單元係沿著一斜線進行移動，又該反射元件之反射端設置且連動有一第一光擴束元件，又該繞射單元之入射端設置且固定有一第二光擴束元件，其中該第一光擴束元件與該第二光擴束元件係組合成為一第一光束擴束器。

【第9項】如申請專利範圍第8項所述之激發光選擇模組，其中該繞射單元為一繞射光柵或數位微型反射鏡元件。

【第10項】如申請專利範圍第8項所述之激發光選擇模組，其中該角

度調整單元的偏移量 d 係由方程式 $d=f_2 \sin[\sin^{-1}(\lambda_i/a)-\theta_c]$ 計算而得，其中該 f_2 是該第二光擴束元件的焦距，該 λ_i 為該激發光之中心波長，該 a 是該繞射單元的等效周期性結構間距，該 θ_c 為起始波長的入射角。

【第11項】一種激發光選擇模組，其包括：

一角度調整單元，其包括：

一位移元件，其係被設置於一激發光之一光路徑上移動；及

一反射元件，設置於該位移元件上用以反射該激發光；

一控制單元，依照該激發光之一特定波段以驅動該角度調整單元，以使該激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；以及

一繞射單元，用以接收該反射激發光以產生一檢測激發光；

其中該角度調整單元係沿著一直線進行移動及旋轉，又該反射元件其入射端前端之位置設有一第二光束擴束器。

【第12項】如申請專利範圍第 11 項所述之激發光選擇模組，其中該繞射單元為一繞射光柵或數位微型反射鏡元件。

【第13項】如申請專利範圍第 11 項所述之激發光選擇模組，其中該位移元件之線性移動位置 $x(\lambda)$ 係由方程式 $x(\lambda)=[\sqrt{(a^2/\lambda^2)-1}]D$ 計算而得，又該反射激發光入射角 $\theta_i(\lambda)$ 係由方程式 $\theta_i(\lambda)=\sin^{-1}(\lambda/a)=\tan^{-1}(D/x(\lambda))$ 計算而得，其中該 a 是該繞射單元的等效周期性結構間距，該 λ 為激發光之中心波長，該 D 為平行距離。

【第14項】一種激發光選擇模組，其包括：

一角度調整單元，其為一定點旋轉之一反射元件，用以反射該激發光；

一控制單元，依照該激發光之一特定波段以驅動該角度調整單元，以使該激發光形成一特定出光角度之一反射激發光；以及

一繞射單元，用以接收該反射激發光以產生一檢測激發光；

其中該反射元件之反射端後端之位置設有一第三光束擴束器。

【第15項】如申請專利範圍第14項所述之激發光選擇模組，其中該角度調整單元係依照 $\theta_m(\lambda_i) = \tan^{-1}[M \times \tan(\sin^{-1}(\lambda_i / a) - \theta_c)]$ 之公式計算結果進行旋轉，其中該 $\theta_m(\lambda_i)$ 為轉動角度，該 M 為該第三光束擴束器的放大倍率，該 λ_i 為該激發光之中心波長，該 θ_c 為起始波長的人射角。

