

Laboratory Notebook - TPOB GPH4102

Laboratory Notebook - TPOB GPH4102

Raman Spectroscopy

Preparation

Theory

To do before starting

Necessary information

In Lab

Discussion with Simon Rainville

Manipulations

Software exploration

Readout Noise characterization

Thermal noise characterization

Photon noise (statistical)

Étalonnage de la caméra sur l'axe des longueurs d'onde

Entre les deux périodes

Second period

Substances Raman spectrum

Discussion with Daniel and Simon about Fluo/Raman

Confocal microscopy

Preparation

In Lab

Observations montage

Manipulations

Trouver foyer

Résolution xy

Résolution z

Fluorescence

Hi-Lo Microscopy

Preparation

Hi-Lo

Microscopie

In Lab

SEMAINE 1 MICROSCOPIE

Optical tweezers

Preparation

In Lab

Oximetry

Preparation

In Lab

Raman Spectroscopy

Preparation

Theory

Raman effect: re-emission of radiation from an excited state of a sample. [raman spectroscopy](#)

Rayleigh scattering: re-emission at same wavelength

Stokes: loss of energy in vibrational states excitation of the sample, re-emission has a bigger wavelength

Anti-Stokes: synchronous phonon (vibrations) gives a virtual higher state of energy, re-emission has smaller wavelength

Vibration of certain molecules or molecule bonds are relative to the bond. Thus, the absorption in the vibrational states will be different for different bonds. It is possible to characterize a material looking at its bonds.

Raman scattering is really weak. It is important to reduce/minimize instrumentation noise and other sources like thermal, external photons, etc.

To do before starting

1. Download LightSpec software (should be with the camera)

Necessary information

1. Mercury Spectrum for CCD calibration

[Data of Hg spectrum](#)

Important peaks for calibration will be between 633nm and lower (around 800nm since a $\Delta\lambda = 230$ is rare) since we excite our sample with a 633nm laser. According to [this site](#), Stoke's shift is much higher than anti-stokes, since anti-stokes requires the superposition of a photon while the electron is in a virtual state. Stoke's shift occurs more naturally, since the excitation will lead to an eigen energy value.

Interesting peaks with high relative intensity: 404.656nm(1800), 435.833nm(4000), 546.074nm(1100), 614.950nm(1000), 690.752(250), 708.190(250).

The spectrum on the CCD should start at around 630nm, so it will be calibrated with the 546nm and 614nm peaks, which will be highly distinguishable.

2. Pixis 100 CCD

[Explication théorique](#)

[Pixis100 Datasheet](#)

The CCD has 2 modes:

- High well sensitivity : Well depth of 300 ke- (typical), 250 ke- (min)
- High well capacity : Well Depth of 1 Me- (typical), 750 ke- (min)

The probability that a photon excites an electron is a function of the spectrum. A python code here makes the necessary corrections on data taken with the PIXIS100-B CCD.

[img](#)

Figure - Quantum efficiency of the 100PIXIX

Code to correct the measurements of the CCD-PIXIS100-B

The number of photons necessary to increment a pixel by 1 will depend on the mode selected. A higher capacity will require a higher number of electrons. The camera captor is coded in 16 bits: 65535 values. Thus, if we use the typical values:

- High well sensitivity : $\frac{300000}{65535} \approx 4.57771$ /electron per pixel incrementation.
- High well capacity : $\frac{1000000}{65535} \approx 15.25902$ /electron per pixel incrementation.

[QE graph linear approximation](#)

3. Static Photon Noise / Noise Relative to Measure

The Datasheet specifies static noise. No measure-dependent noise seems to be in effect here.

For the PIXIS 100-B, there are 2 acquisition speed, which affect the noise:

- 100kHz: 3e- rms (typical), 5e- rms (max)
- 2 MHz: 11e- rms (typical), 16e- rms (max)

Assuming the noise is a varying *sinusoidal* signal. The peak noise will rather be $\sqrt{2} \cdot U_{rms}$

The **noise relative to the measure** @-80°C is typically 0.001 electron/photon/second

It doesn't mention a dependency to acquisition speed/mode. So the measurement noise is given by this relation:

[Graph of relation](#)

4. Vibration Frequency

Here is a [list](#) of the usual bonds with emission wavelength associated

The Raman wavelength is obtained by: $\nu = \frac{1}{632.8nm} - \frac{1}{\lambda(x)}$. With $\lambda(x) = 700nm$, it gives 1517.07 cm^{-1} .

With this [table](#), it is possible to predict the emission wavelength of different molecules, as these tables reveal the emission of specific bonds. The values were taken from [this table](#), [this document](#)

5. Noise Evolution With Time Integration

Here is a [table](#) ready for the Time/Noise measurements.

6. Chlorophyll Spectrum

[Values taken on this site](#)

Absorption peaks : 430nm and 662nm

Emission peaks : 669nm

7. Olive Oil

Chemical compound of Olive Oil is a triglyceride with 3 fatty-acids.

$C_{55}H_{98}O_6$ is an example of chemical formula for a fat.

Olive Oil Fatty-acids are unsaturated. There should be presence of C=C bonds.

Also, in the glycerol, C-C, C-O, C=O, C-H, bonds will also be present.

This gives the expected range of emission of these bond

- 13.8% saturated (C-C)

- 70% mono-unsaturated (C=C)
- 13.2% poly-unsaturated (many C=C)

In Lab

Discussion with Simon Rainville

1. Difference between fluorescence and Raman scattering

Fluorescence is the excitation of an electron at a specific energy level, which then leads to the energy loss in complex non-radiative processes. Fluorescence excitation happens only at specific wavelengths.

Raman scattering has the same output: a bigger wavelength, thus a lower energy photon. The difference is in the excitation processes. The electron doesn't have to be excited at a specific level. It will rather be excited at a virtual level, and then release its virtual energy into vibrational modes of certain electron bonds. These energy variations vary according to the bond excited.

2. Three types of noise

- **Measure noise:** the action of measuring generates noise in the process. It is constant a each measure.
- **Thermal noise:** There is a probability that (because of the Boltzmann distribution of energy) it is possible that an electron will be excited. That probability is a function of time. So for example, There is 0.005% of chance that an electron is excited per second because the thermal energy at -80celcius. (not exact numbers)
- **Schottky noise:** Physical phenomenon's are usually described by Poisson's distribution. It is the case for photon emission of a sample. It is possible that the number of photon emitted are not totally the same for two measures. For Poisson's distribution, The standard deviation of the emission of a photon is the square root of number of photons detected. Thus, because we are interested in the ratio between the average value and the deviation, we shall do the ratio. So the Signal Noise Ratio (SNR) = $\frac{N}{\sqrt{N}} = \sqrt{N}$

Manipulations

Setup exploration

Important parts of the setup :

- Notch filter : Blocks the laser emission of 633nm that could come from rayleigh scattering or the laser himself. Important, light collected must arrive normal to the lens.
- Vertical Slit : manages the resolution. a thinner slit means less light, but a thinner bar of light, the goal is to make the slit of light the width of a pixel, so no resolution is lost and the maximum light enters the spectrometer.

Software exploration

WINSpec32 is the software to acquire spectrum with the PIXIS100 CCD. Here are the different parameters used during all the experimentation:

- The rate was set to 100K Hz
- The mode is High Capacity
- The gain was 1

- The ASCII output is on
- The accumulation of spectrum will probably vary, but is set to 1, will notice if changed
- The integration time will change

Picture of the setup dialog box:

To acquire, the Acquire button is used.

Readout Noise characterization

In WINSpec32, we asked the software to output a ASCII file. It saves .txt files with (spectrum number, x, y) convention

Integration time (ms)	Filename [*.txt]
100	bruit_mesure_100ms
75	bruit_meusre_75ms
50	bruit_meusre_50ms
25	bruit_meusre_25ms
10	bruit_meusre_10ms
5	bruit_meusre_5ms
1	bruit_meusre_1ms
0.1	bruit_meusre_100us
0.001	bruit_meusre_1us

The average noise is approximately 600/65535 per pixel.

INFO Binning doesn't divide by the number of pixel, it adds. So the limit of the value on the software is $65535 \times 100 = 650k$.

Daniel verified our configuration, He changed the Rate from 100kHz to 2MHz. The Readout noise measures were retaken with that configuration so the name of the files don't change.

Thermal noise characterization

Thermal noise should appear on long integration time.

Temps d'intégration (s)	Nom du fichier
1	bruit_thermique_1s
10	bruit_thermique_10s
50	bruit_thermique_50s
100	bruit_thermique_100s

Observations : We noticed that long exposition increased the noise proportionally to the integration time. Also, there were weird spikes observable in the files. Even with all the lights off, the spikes are there. Maybe bleeding filter???

Photon noise (statistical)

We think that this noise should increased proportionally to \sqrt{N}

Temps d'intégration (s)	Nom du fichier
0.001	bruit_grenaille_1ms
0.1	bruit_grenaille_100ms
1	bruit_grenaille_1s
5	bruit_grenaille_5s
10	bruit_grenaille_10s
50	bruit_grenaille_50s

Observations : General shape of the spectrum stays the same

gossage avec Daniel :

bruit de mesure 79500

80300 \pm 150 pour 30ms

80850 \pm 150 pour 60ms

85200 \pm pour 240ms

Pour que laugmentation du signal soit linéaire, il faut donc soustraire le bruit de mesure. (et aussi le bruit thermique?) Pour le bruit de photon, on peut également considérer une zone du spectre ou l'intensité est constante (pixel 980 et 1020) pour caractériser la moyenne et l'écart type du signal obtenu afin d'éviter de prendre de tres longues acquisitions

Étalonnage de la caméra sur l'axe des longueurs d'onde

Trois gros pics, creux = Pics seront identifiés avec le tableau de pics du mercure afin de changer l'axe de pixels à un axe en longueur d'onde

On remarque que dans les données il y a un "creux " dans le signal, on détermine que c'est le manque de signal causé par le filtre qui bloque le 632.8nm, alors les longueurs d'ondes a droite de ceux creux sont les longueurs d'onde plus élevées (réseau de diffraction en transmission envoie les plus haute longueurs d'onde plus en angle). Les pics visibles sont donc des pics plus haut que 632nm

Entre les deux périodes

Les pics visibles dans le spectre du mercure sont aux valeurs de pixel 589, 844, 1092 et 1106. Selo [le tableau des pics du mercure](#), il y a des pics du mercure à environ 671, 690, 708 et 709nm. Si on graph ces valeurs, on remarque que que c'est très linéaire, alors les pics ont bien été identifié. On peut faire un polyfit linéaire pour trouver la fonction qui va transformer les valeurs de pixel en longueur d'onde en nm, ce qui donne $\lambda = 0.07343918330732058x + 627.8355813527794$.

[Lien vers spectre mercure](#) [Lien vers spectre olive oil](#)

Second period

Substances Raman spectrum

Substance	Spectrum File	Integration time[s]	Spectrum accumulation	
Olive oil	olive_oil.txt			
Sunflower oil	sunflower_oil.txt	60	5	
Peanut Oil	peanut_oil.txt	10	10	
Canola Oil	canola_oil.txt	60	10	
Corn Oil	corn_oil.txt	60	5	
Ethanol	ethanol.txt	50	1	
Methanol	methanol.txt	180	1	
Isopropanol	isopropanol.txt	120	1	
Sucrose	sucrose.txt.	120	3	
Glycerol	glucose.txt	120	1	
A,B,C,D,E,F,G,H	A.txt, B.txt, C.txt, etc.	20	1	

For C accumulation was 3, for D 8, for G 5.

For all these substances, gain was set to 1. Rate was 2MHz. Readout was "Low Noise"

Discussion with Daniel and Simon about Fluo/Raman

Daniel explained to us a fundamental thing about measuring Raman spectrum in the presence of fluorescence. Since the signal of fluorescence is much more important than the Raman signal. However, it is possible to detect the Raman signal in the fluorescence signal. Since our Fluorescence signal is very large , for example the olive oil: the max signal after 100ms of integrating is 12000. The fluorescence signal is very strong. No peaks on the fluorescence signal can be seen.

If we take a pure sample, let's say ethanol. For 50s of integration, we got a minimum signal of about 2 000 as well. Because we want to see those small peaks

Thus, the signal is approximatively 3000 times weaker. for 100ms the Raman is 4. The statistical noise of the fluorescence is $\sqrt{12000} = 110$. We want a Raman signal approx. 5 times bigger than the noise.

$$4t[ms]/100 = 5 * \sqrt{12000 * t/100}$$

isolating t , it gives approx.. 30min of integration for a 5 times bigger Raman signal over the noise of the fluorescence. Retaking the spectrum of the olive oil effectively shows some spikes that weren't seen before.

It has been found that the high peaks at about 200pixels is the filter bleeding. The 4f system before the spectrometer was not aligned, which caused the light of the fluorescence to enter the system at a weird angle. The filter must have collimated light at its input

Confocal microscopy

Preparation

Microscope confocal : permet d'uniquement détecter la lumière qui provient du plan focal à l'aide d'un sténopé, ce qui permet d'observer des échantillons avec une certaine épaisseur sans avoir de flou. Toutefois, il faut balayer l'échantillon car la lumière est captée par un PMT qui n'imite qu'un seul pixel.

Signal amplifié avec un photomultiplicateur (PMT). Éviter de mettre lumière ambiante directement dans PMT et de ne pas le saturer, toujours commencer avec gain nul.

Fluorescence : molécule absorbe photons à certaine longueur d'onde (spectre d'excitation) et le réémet des photons (spectre d'émission) à des longueurs d'onde plus longues car les photons perdent de l'énergie par vibration (Stokes shift). ϵ = coefficient molaire, q = qté de photons absorbés, σ_a = section efficace d'absorption, η = efficacité quantique

Marqueurs : Molécule endogène, molécules organiques, protéines fluorescentes, points quantiques

Photoblanchiment : durant excitation les molécules peuvent faire des réactions et perdre leur propriété fluorescente. Éviter les temps d'Acquisition très long.

In Lab

Observations montage

Explication générale :

1. laser --> galvanomètre = Balayage XY.
2. Balayage XY --> un système 4f grossissement 3x. (pour remplir le Back Aperture de l'objectif afin d'avoir la résolution maximale.).
3. Émission de fluorescence --> descannage
4. Miroir dichroïque : laisse passer la lumière jusqu'à une certaine longueur d'onde, puis la réfléchit.

Deux problèmes : on travaille en réflectance alors la longueur d'onde ne change pas, le laser devrait être réfléchi autant à l'allée et au retour. De plus, la fluorescence réémet de la lumière à plus haute longueur d'onde (à moins d'avoir anti-stokes, ce qui n'est pas le cas), alors le miroir devrait encore bloquer la lumière. Ces deux problèmes sont négligeables puisque que le miroir n'est pas parfaitement aligné à 45 degrés et qu'il n'est pas parfait, donc il y a toujours environ 1% du signal qui le traverse (SPEC SHEET). Ce 1% de signal est toutefois très suffisant pour que le PMT détecte et amplifie le signal.

PMT : ??? HAMAMATSU?

Objectif : [UPLSAPO-40x2](#)

La roulette sur l'échantillon est le "cover slip compensation". J'imagine que ça éloigne la focale un peu pour avoir plus de jeu à l'échantillon selon l'épaisseur du verre.

Manipulations

Trouver foyer

On met le gain du PMT à zéro. On place une feuille blanche sous l'échantillon et on peut voir le pattern de la cible USAF environ au centre pour bien s'enligner. À l'aide de APT user sur l'ordinateur, on déplace la plaque qui a l'échantillon. La projection du patron de calibration sur la feuille de papier va zoomer jusqu'à temps que l'on atteigne environ le focus, et l'image va dézoomer. Sachant la position approximative du focus, on augmente le gain jusqu'à ce qu'on voit le patron sur ScanImage. On peut ensuite descendre le step du moteur et ajuster la position de l'échantillon plus précisément en cherchant l'image avec les patrons les plus visible, en s'assurant de diminuer le gain pour ne pas saturer. Position sur APT user : -0.3922 , V range = 0.5

Oscilloscope : On voit un pic principal important à environ 10V et plusieurs petits pics qui suivent à environ 2V. L'intervalle en temps entre les pics est d'environ 60ns.

Résolution xy

Voici un tableau des images utilisées pour caractériser la résolution en x et en y pour différents zooms :

Groupe et sous-groupe	Zoom	Moyenne	Nom fichier	Résolution x (pixel, edge 90% à 10%)	Résolution y (pixel, edge 90% à 10%)	Pixel pour 1 ligne + un espace
5-6 (17.54)	x5	20	edge_g5_l6_x5.tif	4.6	4.2	94±1
7-6 (4.38)	x8	20	edge_g7_l1_x8.tif	6.0	5.8	34±1
5-6	x2	20	pixelres_g5_l6_x2.tif	2.6	2.4	35±1
5-6	x3	20	edge_g5_l6_x3.tif	3.1	3.0	52±1
5-6	x4	20	edge_g5_l6_x4.tif	3.7	3.6	70±1
7-1 (7.81)	x6	20	edge_g7_l1_x6.tif	4.7	4.5	47±1
7-1	x7	20	edge_g7_l1_x7.tif	5.3	5.1	53±1

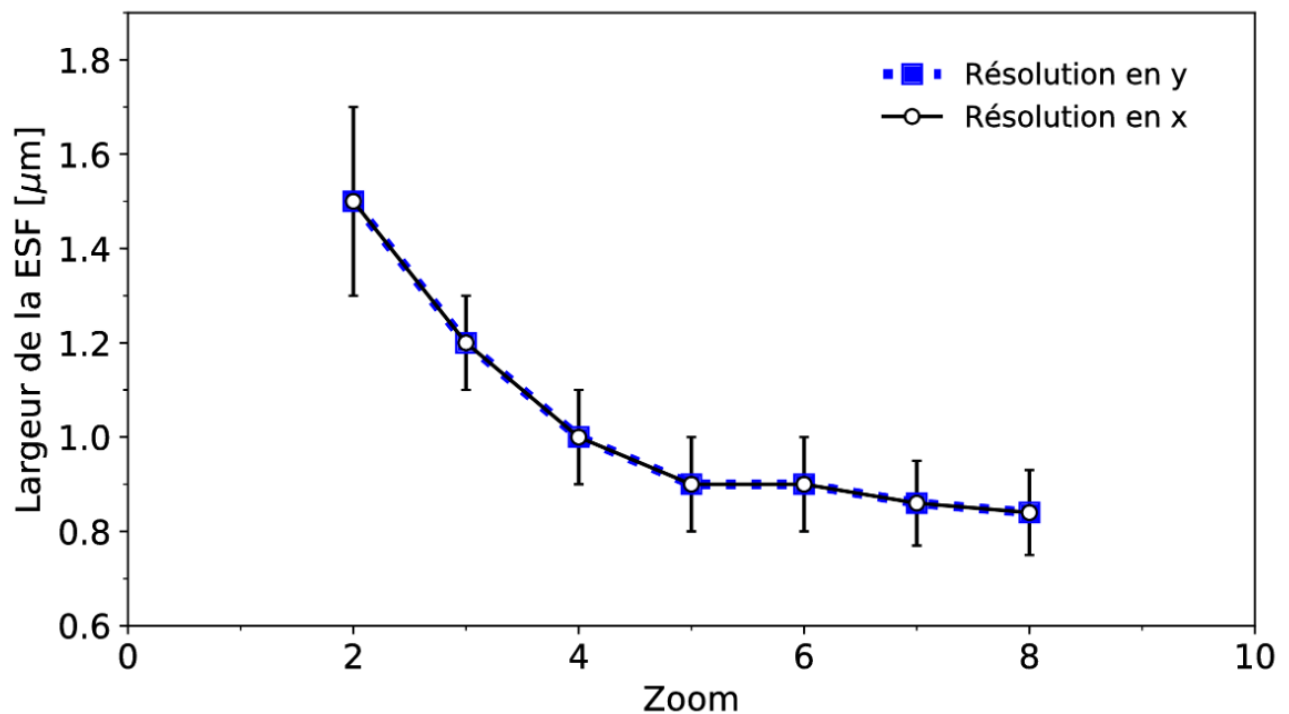
Avec ImageJ, on peut ensuite observer le profil des edges des lignes (edge transfer function). De plus, avec les mêmes images et les specs de la cible USAF, on peut déterminer un pixel en micron. résolution : largeur de la edge transfer function (90% à 10%) en micron.

Note : ne pas déplacer la plaque avec le "shift " sur ScanImage, cela désaligne les galvo. Les galvo ont été désalignés et il a fallu les réaligner.

MESURES DE LA LARGEUR DE LA EDGE FUNCTION

Zoom	Champ de vue (um x um)	Résolution x (um)	Résolution y (um)
x2	128.3 x 128.3	1.3	1.2
x3	85.2 x 85.2	1.0	1.0
x4	63.8 x 63.8	0.92	0.90
x5	47.7 x 47.7	0.86	0.80
x6	42.5 x 42.5	0.78	0.75
x7	37.3 x 37.3	0.77	0.74
x8	32.3 x 32.3	0.76	0.73

Graphique avec incertitudes



Plateau vers 6X.

Cela pourrait avoir rapport avec la résolution numérique du système qui était limitante?

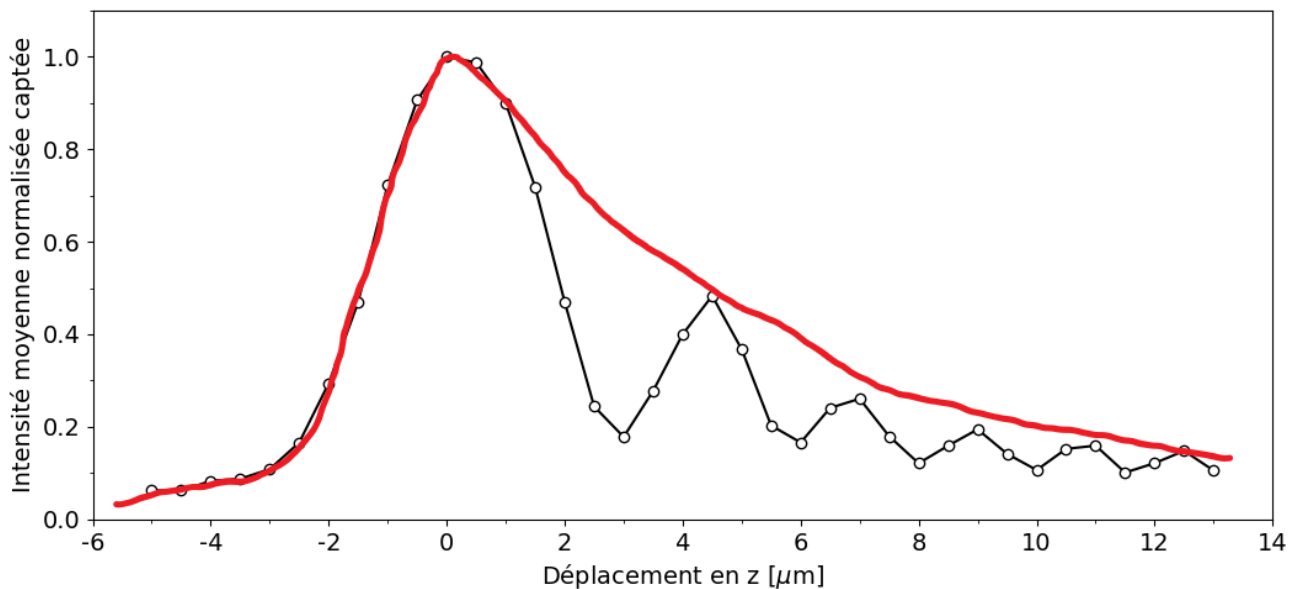
Résolution z

données : après avoir trouvé le focus, nous avons descendu de quelques microns et avons remonté par step de 500nm. Le noms des fichiers sont donc 00.tif, 05.tif, 10.tif, etc.

Les images initiales commencent très foncée et deviennent de plus en plus brillante plus on s'approche du focus. Toutefois, après avoir passé le focus, les images ne redeviennent pas tout à fait noires et on observe des "vagues de signal" sur la plaque. Ceci est probablement dû à la plaque de résolution USAF qui n'est pas tout à fait droite et cela peut créer une perte de symétrie et de l'interférence.

Champ de vue : 128x128 μm, zoom = x2, vrange = 0.5

Graphique intensité en fonction déplacement en z, 0 = focus, positif = rapproche de l'objectif



Les vagues sont probablement dues à de l'interférence entre deux réflexions, cependant, l'étude poussée afin de s'assurer de cela dépasse le cadre de ce laboratoire. L'asymétrie de la distribution d'intensité est peut-être due à des aberrations qui déplacent les points focaux. Entre autre l'aberration sphérique qui est connue pour déplacer le centre du point focal devant ou derrière le point focal normal. Également l'astigmatisme éloigne le point focal sagittal du point focal tangential, peut-être l'écartement de ces deux plans engendre un écartement de la distribution de la puissance sur l'axe???

Fluorescence

On remplace l'échantillon USAF par une feuille d'arbre. Étant donné qu'on est maintenant en fluorescence et que le signal de réflectance est plus important que le signal de fluorescence (malgré le miroir dichroïque), il est important d'utiliser un filtre passe haut 650 nm pour couper le signal de réflectance.

Il est important d'ajuster la bague sur l'objectif qui prend compte du cover sur l'échantillon. La boîte dit que ceux-ci sont entre 0.13 et 0.17 mm d'épais, alors la bague est ajustée à 0.15 ce qui semble donner le meilleur résultat. Après avoir trouvé le focus, il faut mettre le gain et le laser au max pour voir quelques cellules.

ovocyte : 0.4484 intervalle de 5 micron, zoom 1.5 pour voir la cellule au complet. On refait le focus et on prend des images à différentes hauteurs pour faire une reconstruction 3D de l'ovocyte. 0.5 micron par pixel et on bouge de 5 micron = voxel depth de 10

Les images d'ovocytes ne sont pas belles. La résolution du système n'est sûrement pas optimale, puisque d'autres images ont été prises avec un autre microscope et elles étaient beaucoup plus belles!

Hi-Lo Microscopy

Preparation

A review in detail of the phase contrast microscopy has been done. The anatomy of the microscope has also been made.

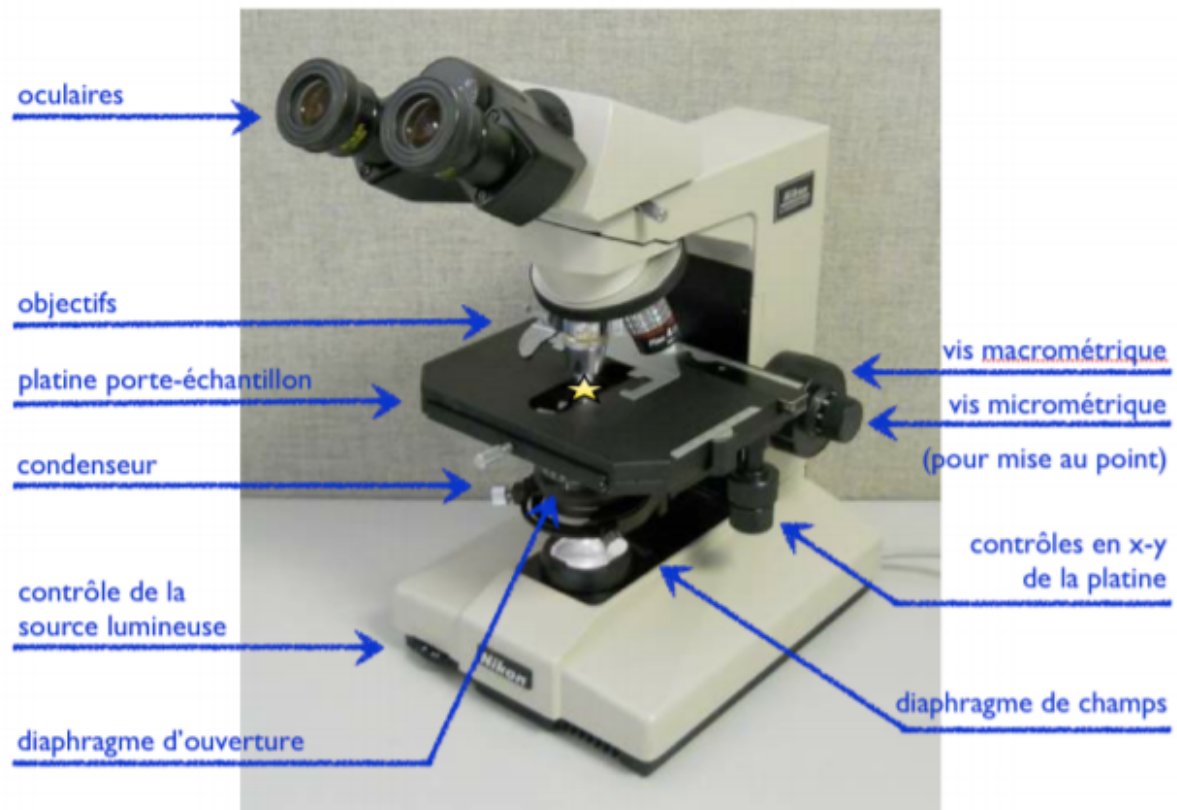


Figure 1 : Microscope Labophot utilisé dans cette l'expérience.

Hi-Lo

[Lien du résumé de la dernière équipe](#)

fonctionnement de base de hilo :

permet de rejeter la lumière hors en combinant une image avec éclairage uniforme et une image a éclairage structuré (pattern, speckle)

Ce qui a été fait : principaux éléments du système d'illumination du microscope hilo ont été assemblé, mais certaines composantes doivent etre ajoutée/modifiée

Pièces importantes :

- camera DMK 21AF04

Plan semaine 1 :

- trouver un diffuseur qui fait des speckles de taille optimale (trouver cette taille) car plaque de verre et papier nettoyant ne sont pas ideals
- système d'éclairage uniforme (seulement léclairage structuré a été développé)
- relais 4f qui fait passer dia faisceau de 3cm a 6.35mm
- remplacer plaque de verre 4% reflexion par plaque ou cube 50%

Microscopie

Résumé et théorie :

Illumination de Kohler:

- pas mettre miroir au plans conjugués, mettre au plan de Fourier
- plan image de l'illumination doit avoir un condenseur pour brouiller l'image de la source lumineuse pour illumination uniforme
- vis du condenseur permet de positionner condenseur pour bien le mettre au plan image

Microscopie de phase:

- Permet de produire des images à haut contraste de spécimens transparents
- passage d'une onde dans un spécimen crée un déphasage et donc de l'interférence
- transforme décalage de phase causé par passage dans spécimen par changement d'amplitude de la lumière à l'aide d'une plaque de phase. Interférence entre rayon principal et rayons diffractés

Questions de préparation :

$$\Delta r \approx 1.22 \frac{\lambda}{D} L \approx \frac{0.6\lambda}{NA}$$

pour lumière verte qui est environ 540nm et NA = 1, on a 336nm.

In Lab

SEMAINE 1 MICROSCOPIE

Ajustement du microscope

1. la lumière qui sort du pied
2. on se place à x10
3. le diaphragme est ouvert et le microscope est mis en position O Le diaphragme est situé DERRIÈRE la base.
4. Avec la grosse vis et puis la petite vis on atteint une image nette
5. Ensuite on ajuste le condenseur

Ajustement du condensateur :

Diaphragme de champ fermé au max, vis diaphragme de champ = roulette verticale noire derrière source lumineuse (dur à voir)

Vis pour déplacement vertical du condensateur : petite vis noire en dessous de la plaque. Vis xy, deux vis grises en dessous de celles du diaphragme

on centre polygone diaphragme de champ avec xy et on met au focus avec vis hauteur. on reouvre le diaphragme à la grosseur du champ de vue, pas plus.

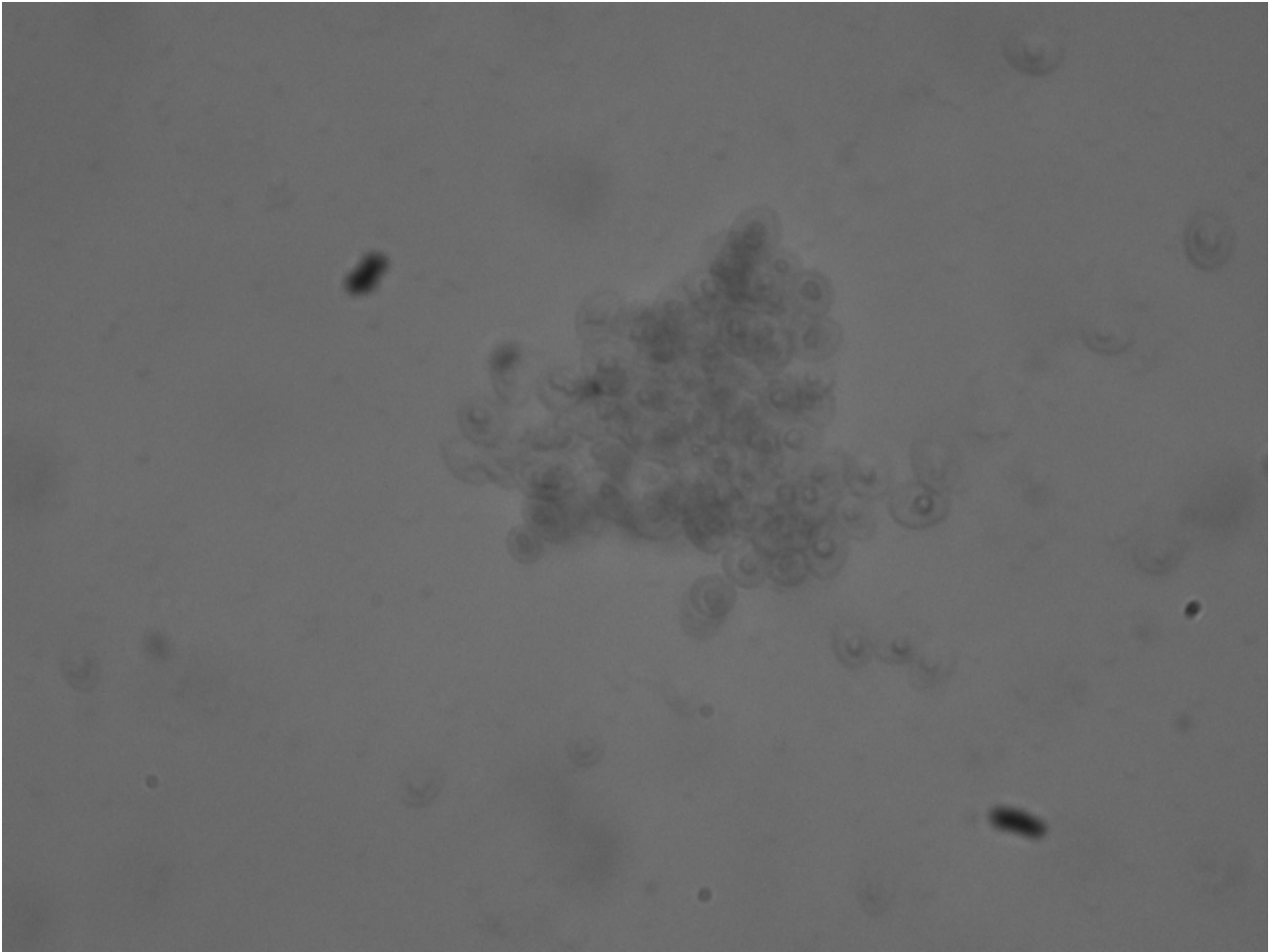
On ajuste le diaphragme d'ouverture pour avoir un équilibre entre résolution et contraste

Échantillons vivants :

Mettre 15 µL sur une lame puis déposer une lamelle de levure et de bactéries (2 lames différentes) Lame L = levures, lame B = bactéries

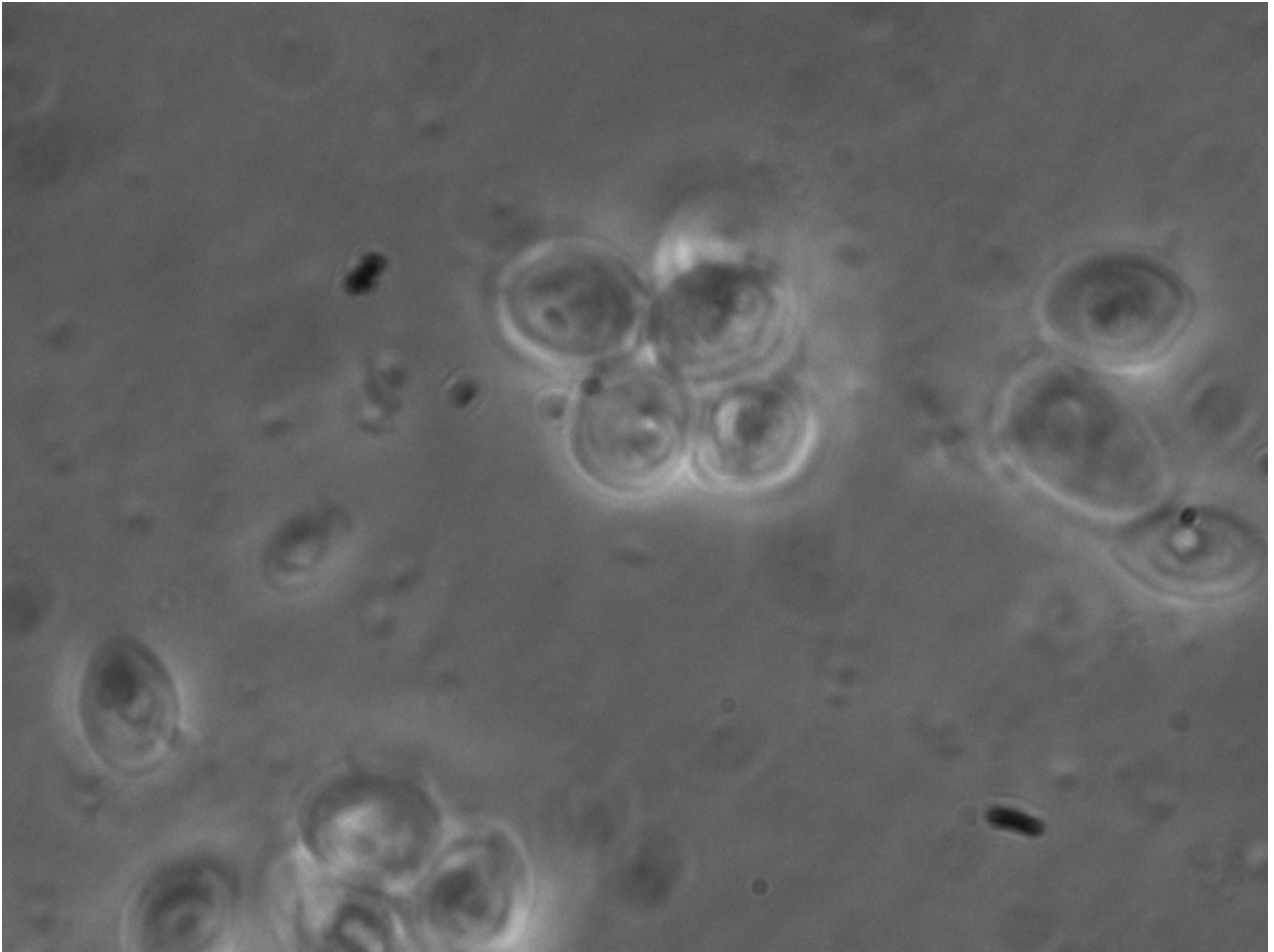
Levures : Amas de cellules

Levures x40:



Gros amas de cellule, noyau bien visible

Levures x100 avec huile:



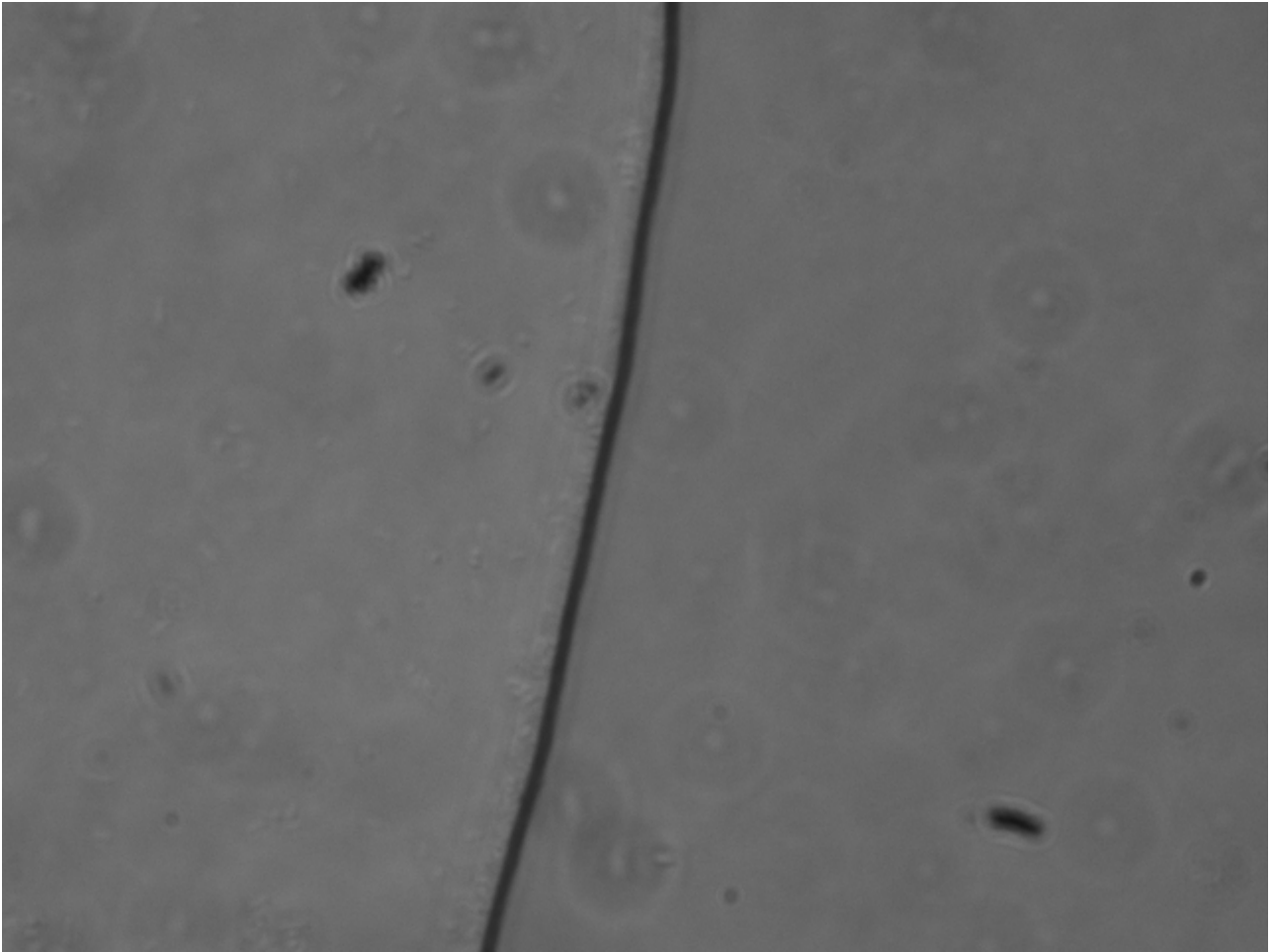
Structure du noyau encore plus visible

On observe des amas de cellules avec des cellules qui flottent autour, et quelques plus petites particules qui flottent. On observe un déplacement léger de ces cellules ainsi qu'une modification de la géométrie de leur cytoplasme (parfois)

Bactéries:

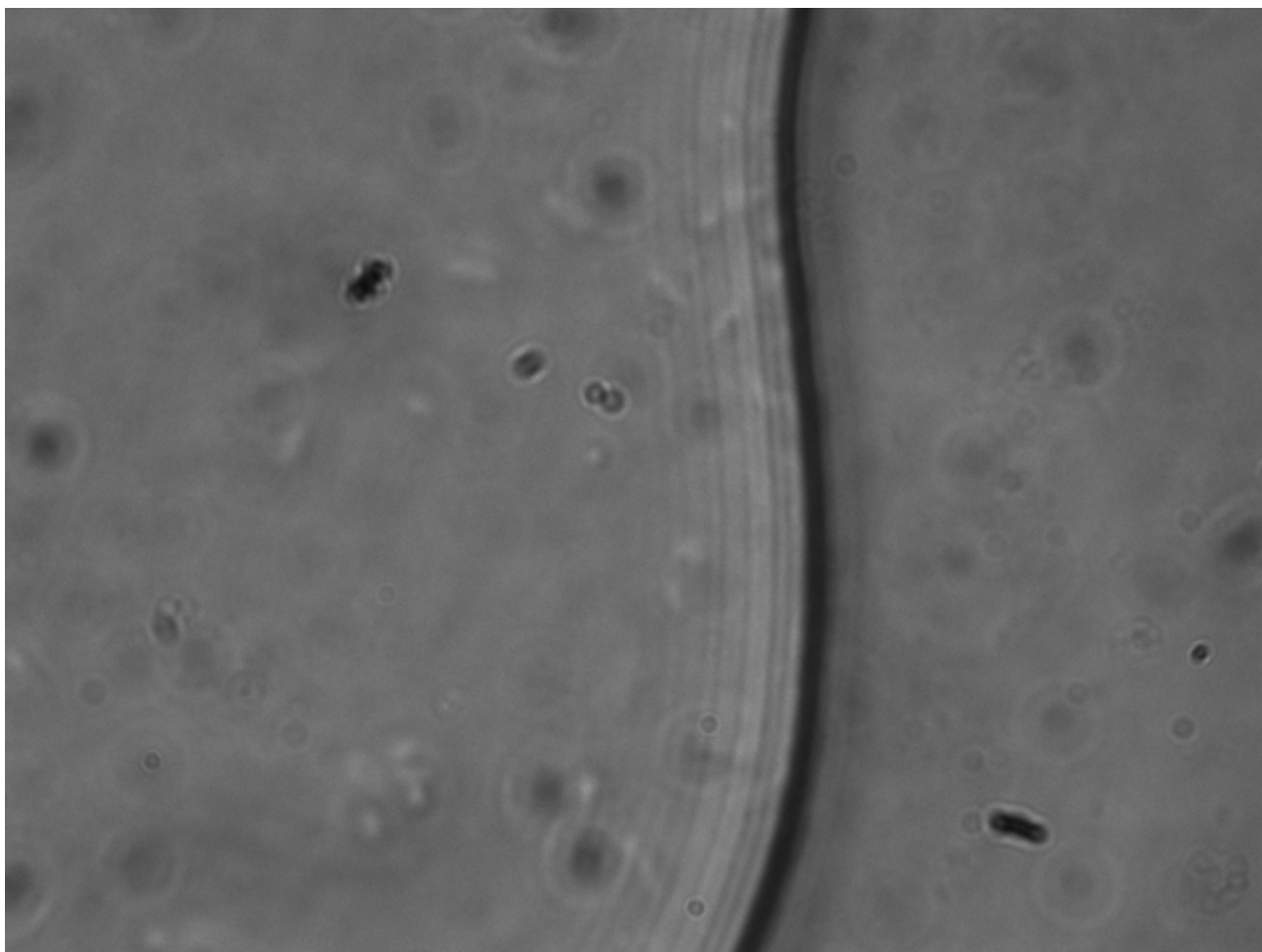
On met l'objectif 40x et l'objectif et ph4. avec la lentille de bertrand on aligne les anneaux du condensateur avec l'anneau de phase de l'objectif. à 40x presque rien est visible, mais à 100 on voit des petits organismes qui grouillent le long des bordures des bulles d'air. Objectif x100 nécessite de l'huile

Bactéries x40:



On remarque de petits points pâles, surtout près de la bordure noire. On pense que ceux-ci sont les bactéries puisque celles-ci sont très agitées. Environ déplacement de 1/10 de l'image en 20 secondes

Bactéries x100 avec huile:



La lentille sur la caméra possède quelques saletés et poussières, qui sont visible au premier plan sur toutes les images. Nettoyage de la lentille serait nécessaire

Optical tweezers

Preparation

In Lab

Oximetry

Preparation

In Lab