

拉曼光谱检测中荧光抑制方法及其应用分析

朱磊磊, 冯爱明*, 金尚忠**, 徐冰冰, 刘开元, 王杰

中国计量大学光学与电子科技学院, 浙江 杭州 310018

摘要 在拉曼光谱分析中,由于样品及污染物等常会产生强的荧光信号,严重影响样品拉曼光谱信号的检测,从而限制了该项技术的应用。文中综述了各种解决荧光干扰问题方法的原理、实现方式、性能特点,对几种常见的荧光抑制方法(荧光淬灭法、光漂白法、紫外/红外光激发法、移频激发法、小波变换法)在不同领域的应用进行具体分析,包括激发波长、荧光来源、荧光信号的变化、荧光抑制效果、对拉曼信号的影响等。不仅展现出每种方法的优势,也说明了其局限性。

关键词 拉曼光谱; 荧光干扰; 抑制方法

中图分类号 TN247 文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP55.090005

Fluorescence Suppression Methods in Raman Spectroscopy Detection and Their Application Analysis

Zhu Leilei, Feng Aiming*, Jin Shangzhong**, Xu Bingbing, Liu Kaiyuan, Wang Jie

Institute of Optical and Electronic Science, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China

Abstract In the analysis of Raman spectroscopy, the sample and contaminants often produce strong fluorescence signal which seriously affects the detection of Raman spectrum signal produced by the sample, and limits the application of the technology. In recent years, a number of methods have been developed to solve the problem of fluorescence interference. In this paper, the fundamental principle, implementation and performance characteristics of various methods were reviewed and summarized, and the application of several common fluorescence suppression methods (fluorescence quenching method, light bleaching method, ultraviolet light excitation method, infrared light excitation method, shifted-excitation Raman difference spectroscopy and wavelet transform) were also concretely analyzed in different fields including excitation wavelength, fluorescence source, variation of fluorescence signal, the effect of fluorescence suppression, the influence of the Raman signal and so on. It not only shows the advantages of each method, but also illustrates its disadvantages.

Key words Raman spectroscopy; fluorescence interference; suppression methods

OCIS codes 300.6450; 140.355; 180.5655

1 引言

拉曼光谱分析技术因具有操作简便、测量时间短、无损分析等特点而广泛应用于食品安全、化工生物、医学、珠宝鉴定、环境保护等领域^[1]。但是,当激光照射在样品上,除了会产生具有样品信息的拉曼散射光外,同时也可能会产生比拉曼光强度大很多的荧光,严重影响拉曼光谱信号的检

测^[2]。想要得到高质量的拉曼光谱,必须对荧光进行分析及抑制,这对拉曼光谱分析技术的发展具有重大意义。

经过不断的研究发展,多种解决拉曼光谱中荧光干扰问题的方法被提出,包括荧光淬灭法、光漂白法、紫外/红外光激发法、移频激发(SERDS)法,以及小波变换法等^[3]。本文对各种方法的原理及具体应用进行综述、分析,并对每种方法的优缺点进行总结。

收稿日期: 2018-01-22; 修回日期: 2018-03-22; 录用日期: 2018-04-16

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFF0103302)、国家自然科学基金(61505194)

* E-mail: fam@cjlu.edu.cn; ** E-mail: jinsz@cjlu.edu.cn

2 荧光抑制方法及其应用分析

2.1 荧光淬灭法

荧光淬灭法通过向样品中加入荧光淬灭剂,使样品与淬灭剂分子发生化学反应以降低样品的荧光强度,达到抑制荧光的目的。荧光淬灭剂一般为卤素离子、重金属离子、硝基分子,以及硝基化合物、重氮化合物、羧基和羰基化合物等。

Sánchez-Pastor 等^[4]用 532 nm 的激光器对不同晶体阶段的钙铀云母群(通式为 $X^{2+}(UO_2)_2(X^{5+}O_4)_2 \cdot nH_2O$)进行拉曼检测。处于 X^{5+} 为 P, X^{2+} 为 Ba^{2+} 阶段,对应的样品成分为 metauranocircite,拉曼光谱中存在较强的荧光背景,627 cm^{-1} 附近出现荧光包。处于 X^{5+} 为 P, X^{2+} 分别为 Cu^{2+} 、 Cu^{2+}/Ba^{2+} 阶段,对应的样品成分为 metatorbernite、barian metatorbernite,荧光背景较弱,拉曼峰变清晰。627 cm^{-1} 附近的荧光包基本上被消除,位于该处的拉曼峰(由 $(PO_4)^{3-}$ 反对称弯曲振动引起)变化不大。这是因为 metatorbernite 和 barian metatorbernite 中含有铜元素,它作为一种常见的淬灭剂具有良好的荧光淬灭作用,且光谱干扰小^[5]。

Zheng 等^[6]用 633 nm 的激光器对浓度为 2.00×10^{-5} mol/L 的牛血清蛋白溶液(BSA)进行拉曼检测,发现拉曼光谱中具有较强的荧光背景,如图 1 所示。向 BSA 中加入浓度为 2.50×10^{-6} mol/L 的金纳米粒子(Au NCs)后,大部分的荧光背景被消除,拉曼峰基本不变。在 Au NCs 的浓度对 BSA 荧光寿命影响的研究中, 2.00×10^{-5} mol/L 的 BSA 与浓度分别为 1.00×10^{-4} mol/L 和 2.00×10^{-4} mol/L 的 Au NCs 相互作用后,其荧光寿命分别从不加淬灭剂时的 7.43 ns 下降到 6.93 ns 和 6.42 ns,可见 Au NCs 对 BSA 的荧光淬灭效果会随着淬灭剂浓度的变化而改变。而位于 $1655 cm^{-1}$ 附近酰胺 I 带的拉曼峰强度却减弱,这是因为 Au NCs 与 BSA 之间发生化学发应,导致后者荧光寿命减短的同时蛋白质中 α -螺旋结构减少,拉曼峰强减弱。另外,Au NCs 与 BSA 之间会产生疏水力,将破坏 BSA 的分子结构,导致其可能具有毒性^[7]。Amjadi 等^[8]研究不同尺寸(8, 20, 75 nm)的 Au NCs 对氟喹诺酮类药物(达氟沙星、环丙沙星、诺氟沙星和氧氟沙星)的荧光淬灭作用,发现 Au NCs 的淬灭效率随着尺寸的增大而提高。

Tatarkovic 等^[9]用 1064 nm 的激光器对人体血浆样品进行拉曼检测,拉曼光谱受荧光干扰严重。

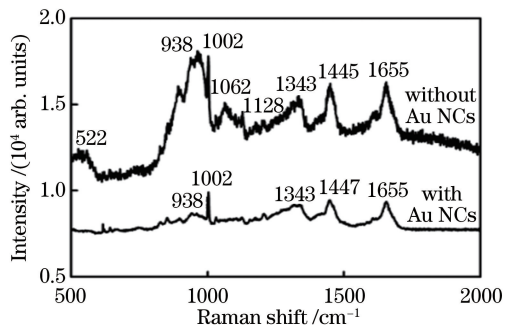


图 1 BSA 加入 Au NCs 前后的拉曼光谱比较
Fig. 1 Comparison of Raman spectra of BSA before and after adding Au NCs

因碘化钠(NaI)具有效率高、无毒、光谱干扰小等优点,所以选其作为样品的荧光淬灭剂^[10]。将 10 mg/100 μ L 的 NaI 加入到样品后,约 31% 的荧光背景被消除,拉曼峰基本不变,且样品在整个检测过程中保持稳定状态。

Ly 等^[11]对 A549 癌细胞中 1-萘乙酸(PyC)、1-萘乙酸(PyA)和 1-萘丁酸(PyB)进行光谱分析,发现银纳米粒子(AgNPs)能有效减弱 3 种萘酸吸附物的荧光信号,且对 PyB 的荧光抑制效果最好。

徐涵等^[12]研究比较硝基苯化合物对配位聚合物 1 和配位聚合物 2 的荧光淬灭作用,发现三硝基苯酚(PA)的荧光淬灭效率最高。配位聚合物 1 和配位聚合物 2 加入 50 μ mol/L 的 PA 后荧光信号分别减弱 64.3%, 61.2%。

荧光淬灭法具有成本低、操作简单,且不需要对拉曼光谱仪进行调整的优点。但是,向样品中加入淬灭剂,不仅可能会影响样品的拉曼光谱,而且要考虑淬灭剂的选取和浓度问题。目前,关于如何选取淬灭剂并没有统一的指导方案,因此该方法目前适用面不太广泛。

2.2 光漂白法

光漂白法是指在进行拉曼光谱检测前,用激光对样品照射一段时间,使样品中的荧光基团与光子发生作用,导致样品中荧光分子的荧光辐射能力被破坏,可较大幅度减弱荧光信号,而样品的拉曼谱保持不变。照射时间范围一般从几秒到几小时。

Schmid 等^[13]用波长为 632.8 nm,功率为 10 mW 的激光器对显微镜载物片进行拉曼检测,光谱中荧光干扰严重,在波数范围为 $250 \sim 1000 cm^{-1}$ 之间干扰尤为突出。他们通过光漂白法对该问题进行解决,检测前先用激光对样品的同一位置进行一段时间的照射预处理。照射时间与荧光背景的消除成正比,一般照射 10 min 后,荧光背景几乎被完全

消除。这是因为在强光照射下,荧光化合物吸收辐射后,经过几个激发-发射周期会失去荧光性质。实验还观察到,若将漂白后的样品放在黑暗处,荧光分子会扩散到先前照射的区域中,经过几个小时后荧光一般会恢复。因此,光漂白作用受限于被测区域范围。

Pathem 等^[14]用 365 nm 的激光器对金纳米阵列基底上的 dihydroazulene(DHA)分子进行拉曼检测(紫外光源的功率密度恒定为 $570 \mu\text{W}/\text{cm}^2$),发现拉曼光谱中存在较强的荧光背景,如图 2 所示。对 DHA 分别进行 5, 15, 25, 35, 45 min 的强光照射预处理。照射时间越长,荧光信号越弱,而拉曼峰位置基本不变,同时伴随着 DHA 向 vinylheptafulvene(VHF)转变产生,且该转变过程具有可逆性^[15]。因此,光漂白法能有效去除样品的荧光背景,但在照射时间上难以控制,可能会改变样品的分子结构。

汽车油漆由各种复杂混合物组成,包括颜料、黏合剂、填充剂、添加剂等,这些物质能产生很强的荧光效应。Janina 等^[16]将光漂白法运用于汽车油漆的拉曼检测中,当用 514.5 nm 的激光器检测时,受荧光干扰严重。3 号固体颜料样品的荧光包严重覆盖拉曼信号。当激光功率为 15 mW,照射时间由 5 min 变为 210 min 时,荧光背景比(光漂白后荧光信号与初始荧光信号的强度比)从 0.453 下降到 0.054(平均值)。在照射时间相同的条件下,激光功率越大,荧光背景比越小。照射时间为 120 min,功率分别为 7.5, 15, 75 mW 时,荧光背景比分别为 0.13, 0.08, 0.01。随着荧光背景信号的减弱,样品中深紫(PV 23)和酞菁蓝(PB15)颜料的拉曼峰被识别^[17]。14 号蓝色金属颜料样品的拉曼信号被荧光背景完全淹没(75 mW),对其进行 60 min 的强光照射预处理后,依然存在较强的荧光背景。因此,光漂白法可以通过分解荧光分子而减少荧光背景来提高测量灵敏度,使样品成分能够识别。与金属颜料相比,光漂白法对固态颜料的荧光抑制效果更好。然而,长时间的强光照射或激光功率太高都可能会烧坏样品,改变其表面分子结构,而使拉曼谱发生改变^[18]。

Golcuk 等^[19]用波长为 532 nm,功率为 150 mW 的激光器对牛骨样品进行拉曼检测,光谱中荧光干扰严重。通过光漂白法,对样品分别进行 30, 60, 90, 120 min 的强光照射预处理,随着照射时间的增长,拉曼光谱中荧光背景逐渐减少,拉曼峰变清晰。照射 120 min 时,超过 80% 的荧光背景被消

除, 960 cm^{-1} 处荧光信号减弱近 90%, 此处附近磷酸 ν_1 带对应的拉曼峰变清晰。拉曼谱带位置和强度经 20 min 的光漂白处理后没有显著变化 ($<3\%$), 但如果照射时间过长 ($>30 \text{ min}$), 会改变拉曼谱带的形状, 所以需要合理控制照射时间。样品被浸泡过后, 荧光团得到补充, 光子迁移量降低, 增加了光漂白时间, 光漂白速度变慢^[20]。因此, 光漂白法抑制干牛骨的荧光效果更好。

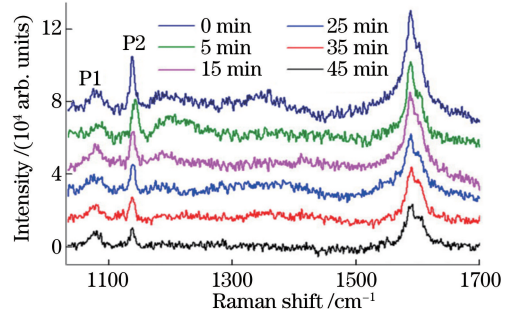


图 2 DHA 在 365 nm 紫外激光光源不同照射时间下的拉曼光谱

Fig. 2 Raman spectra of DHA under 365 nm ultraviolet laser source at different illumination time

Kauffman 等^[21]用波长为 532 nm, 功率为 120 mW 的激光器对单片 FS1-N-2 药物进行检测, 拉曼光谱受荧光干扰严重。荧光主要来源于药片中片芯和包层的荧光杂质。对样品分别进行 3 min 和 9 min 的照射预处理, 3330 cm^{-1} 处荧光信号对应减弱近 70% 和 90%, 而此处片芯的拉曼峰不变。

Darvin 等^[22]将光漂白法运用于人体皮肤中类胡萝卜素含量的拉曼检测中, 用波长为 488 nm, 功率密度为 $50 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 的激光器检测人体皮肤样品。预照射 1 min 后, 拉曼光谱中存在很强的荧光背景(主要来源于真皮层和角质层); 预照射 15 min 后, 荧光背景强度平均减少 30%, 类胡萝卜素在 1525 cm^{-1} 处的信噪比提高约 1.2 倍, 此处附近类胡萝卜素中 C=C 键振动对应的拉曼峰基本不变^[23-24]。

光漂白法适合在实验室中操作, 且操作简单、不需要改变激光波长、效率高, 在一定条件下具有无损性。但该方法的荧光抑制效果受控于激光器功率, 光漂白作用受限于被测区域范围。若对样品的照射时间过长, 可能会破坏样品的分子结构, 导致样品的变性、热分解等。为了减小样品被破坏的可能性, 一般从较短时间开始照射预处理。

2.3 紫外光激发法

大部分物质在紫外光照射下, 所产生的荧光主

要位于可见光波段,而产生的拉曼散射光主要位于紫外波段,荧光光谱和拉曼光谱基本不会发生重叠。且紫外光激发下所产生的拉曼散射强度高,有利于信号检测与分析。因此,通过紫外光激发法可以避免荧光干扰,得到信噪比较高的拉曼光谱。

Bulanek 等^[25]用 514.5 nm 的激光器对脱水 S-6 催化剂样品进行拉曼检测,光谱受荧光干扰严重,如图 3 所示。当 325 nm 的激光激发时,大部分的荧光背景被消除,因此紫外光激发法能有效减弱样品的荧光背景。该方法的缺点为两种波长的激光被样品吸收,产生不同的共振增强效应使拉曼谱带有所差别,一些原有的拉曼峰在 325 nm 的激光激发时减弱甚至消失。

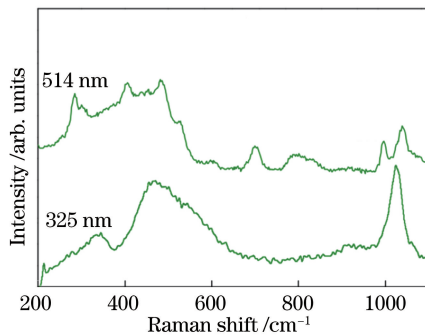


图 3 脱水 S-6 催化剂在 514.5 nm 和 325 nm 激光光源照射下的拉曼光谱

Fig. 3 Raman spectra of dehydrated S-6 sample at 514.5 nm and 325 nm excitation

Ciofini 等^[26]将紫外光激发法运用于油画表面清漆的拉曼检测中。与 785 nm 的激光相比,人工老化的胶粘剂在 213 nm 的激光激发下的荧光背景相对减少。波长为 213 nm 时,大部分的荧光背景被有效减弱和避开,且拉曼信号变化不大。该方法的缺点是人工老化的达玛胶漆在深紫外光(266 nm)照射下部分被氧化,形成新的发色团,使荧光信号增强。因此,紫外光激发法能有效减弱和避开部分清漆的荧光背景,但要选择合适的激发波长。

Windisch 等^[27]利用深紫外拉曼光谱对钠硼硅酸盐玻璃的结构和溶解率进行分析。当 514.5 nm 的激光器检测 RD67 玻璃粉末时,由于样品中含有细碎的二氧化硅而产生较强的荧光背景。而当深紫外波长(244 nm)的激光激发时,避开了荧光干扰,光谱质量显著提高。1060 cm^{-1} 处荧光信号减弱近 80%,此处附近非桥氧(Q^3)对应的拉曼峰增强^[28]。

Hopkins 等^[29]将紫外光激发法运用于食品(玉米淀粉)和试剂级麻醉样品(盐酸海洛因)的拉曼检

测中。当 785 nm 的激光激发时,玉米淀粉在 1600~2000 cm^{-1} 范围内的拉曼信号被荧光背景完全淹没,盐酸海洛因的拉曼信号也被完全淹没^[30]。而当 262 nm 的激光激发时,拉曼光谱中几乎无荧光背景,拉曼峰全都凸显出来。

Gaft 等^[31]将紫外光激发法成功运用于爆炸物的拉曼检测中。当用波长分别为 532, 355, 266 nm 的激光器检测 TNT 样品时,拉曼光谱中荧光背景随着波长的减小而越来越弱,而拉曼峰变化不大。该方法检测爆炸物还具有其他优势。很多爆炸物在紫外波段具有基本吸收带,会产生共振拉曼效应,使拉曼信号增强 2~4 个数量级。与 355 nm 的激光相比,一般 266 nm 的激光激发爆炸物的荧光信号更弱,拉曼信号增强约 3 倍。因此,用 266 nm 的激光器检测爆炸物能得到高质量的拉曼光谱^[32]。

紫外光激发法适用面广,不仅能去除样品的荧光背景,而且能增强其拉曼信号,提高信噪比。尤其在深紫外光照射下,拉曼光谱中几乎无荧光背景。但紫外光照射时,可能会对样品造成损坏,导致其高分解变质。另外,应用紫外光激发对操作人员要求较高,成本也高,推广有难度。

2.4 红外光激发法

样品在红外光照射下很少能吸收红外波段的光子,基态电子很难被激发,样品产生荧光的效率较低。但拉曼散射光强度与波长的 4 次方成反比,所以拉曼散射强度较弱。

Geiman 等^[33]通过拉曼光谱和表面增强拉曼(SERS)技术分析圆珠笔油墨中常见的合成染料成分,用波长分别为 633, 785, 1064 nm 的激光器对样品进行拉曼检测。10 号酸性橙染料的拉曼光谱中,波长为 633 nm 时,荧光干扰最强。而波长为 1064 nm 时,几乎无荧光背景,且拉曼峰基本不变。因此,红外光激发法能有效减弱染料的荧光背景,提高其信噪比^[34]。

Vitek 等^[35]用波长分别为 785 nm, 1064 nm 的激光器对有机矿物质、化石、毒品、爆炸物等进行拉曼检测。1064 nm 的激光器检测有机矿物质时,拉曼光谱中荧光背景较弱,其中,二萜类矿物质和二水草酸钙的荧光背景几乎完全消除。而在对波罗的海琥珀的检测中,波长为 785 nm 时,一些弱小的拉曼峰被荧光背景淹没;波长为 1064 nm 时,拉曼光谱中无荧光背景,拉曼峰变清晰。用 785 nm 和 1064 nm 的激光检测街头盐酸可卡因样品都能获得高质量的拉曼光谱,而 1064 nm 的激光光源所获得

的荧光背景更弱,拉曼信号信息相对完整。同样,在对塞姆汀塑胶炸药样品进行检测时,当波长为785 nm时,荧光背景很强,部分拉曼峰被淹没;而波长为1064 nm时,荧光背景大幅度减弱,拉曼峰变清晰。

Gardner等^[36]将红外光激发法运用于口红^[37]的拉曼检测中。如图4所示,当用532 nm的激光器检测兰蔻口红(Lancome Rouge Sensations; Luxe)样品时,大部分拉曼峰被淹没在荧光背景中,荧光信号在 $100\sim 2900\text{ cm}^{-1}$ 范围内随拉曼位移的增大而迅速增强,在 $2900\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ 范围内变化不大。而用波长为780 nm的激光激发时,荧光背景信号很弱,拉曼峰变得清晰。 $2800\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 范围内C—H振动对应的拉曼峰凸显出来。

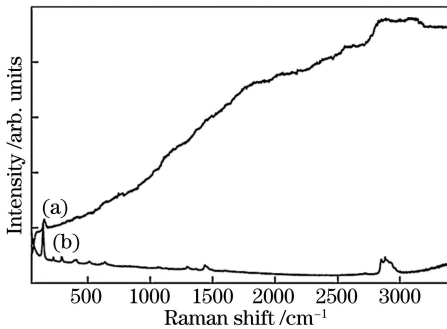


图4 红外激光法对兰蔻口红的拉曼光谱检测。

(a) 532 nm; (b) 780 nm

Fig. 4 Raman spectra detection of Lancome lipstick by infrared light excitation method. (a) 532 nm; (b) 780 nm

Pence等^[38]用波长分别为785 nm和1064 nm的激光器对乳房和肾组织^[39]进行拉曼检测。785 nm的激光激发时,组织样品的拉曼光谱中存在较强的荧光背景,尤其是肾组织样品的拉曼信号被完全淹没;而1064 nm的激光激发时所获得的荧光背景较弱,拉曼信号虽有所减弱,但相对完整,信噪比增高。

毛晓婷^[40]用不同激光光源对猪肉^[41]样品进行拉曼检测。通过比较532 nm和785 nm的两种激光光源情况下所获得的拉曼光谱,发现当用532 nm的激光激发时,拉曼信号被荧光包严重覆盖,影响分析结果。而用785 nm的激光激发时,虽然拉曼信号较弱,但拉曼信息相对完整,酰胺I带($1645\sim 1685\text{ cm}^{-1}$)的拉曼峰凸显出来。

何欣龙等^[42]采用显微激光拉曼光谱分析技术对26种塑钢窗进行检测,发现光源波长为532 nm时,拉曼光谱中噪声较大,荧光背景干扰强,大部分

样品没有拉曼峰;光源波长为780 nm时,拉曼光谱图像清晰,峰形好,噪声小,荧光背景干扰弱。

红外光激发法能有效减弱样品的荧光信号且破坏性小。与短波和紫色激光相比,近红外激光能达到更深的组织穿透深度和更小的光子毒性,更适用于生物组织分析。但采用此方法所得到的拉曼信号较弱,不同样品需要经过多次实验才能找到合适激发波长的激光器检测。

2.5 SERDS法

SERDS法是基于拉曼散射光与荧光在波长性质上不同而提出的,利用2个波长相差很小的激光分别照射样品得到2幅原始拉曼光谱图,荧光背景不随激发波长的细微改变而发生移动,而拉曼峰的位置却会发生明显变化。将2幅光谱图相减得到差分光谱,在差分光谱中荧光背景相互抵消,不存在荧光干扰,得到只包含拉曼信息的数据。最后通过算法处理可以从差分光谱中恢复出样品的拉曼光谱。

邹文龙等^[43]提出的多重约束迭代算法能很好地重构拉曼光谱,解决荧光干扰问题。首先,使用波长为532 nm和526.5 nm的双波长二极管抽运固态激光器对阿维菌素油和甲醇的混合溶液(体积比1:20)进行拉曼检测,如图5所示,甲醇在 1037 cm^{-1} 和 1453 cm^{-1} 附近的拉曼峰被荧光背景淹没。然后,对2幅原拉曼光谱图进行差分处理,采用多重约束迭代算法对差分光谱进行重构,荧光背景几乎完全被消除。如图6所示,位于 1037 cm^{-1} 和 1453 cm^{-1} 附近的拉曼峰变清晰。但2种激发波长相差较大时,容易造成拉曼光谱的分辨率随着双波长光源的波长移动而降低,拉曼峰会呈现侧翼调制问题。而且,当2个相邻拉曼峰的拉曼位移差低于 200 cm^{-1} 时,差分光谱将陷入混乱,影响重构

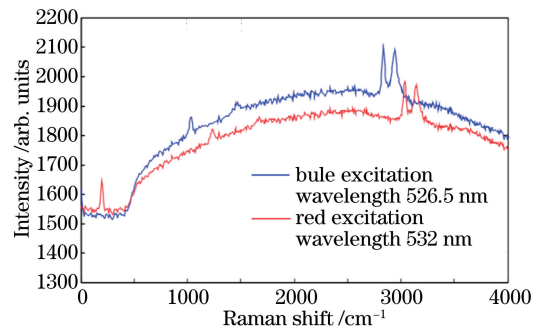


图5 阿维菌素油和甲醇的混合溶液的拉曼光谱(体积比为1:20)

Fig. 5 Raman spectra of mixture solvent of avermectin oil and methanol (volume ratio is 1:20)

结果。

da Silva Martins 等^[44]用可调激光器对人的牙齿($\lambda=830\text{ nm}$ 和 $\lambda=830.5\text{ nm}$)和皮肤($\lambda=785\text{ nm}$ 和 $\lambda=785.5\text{ nm}$)样品进行拉曼检测,荧光干扰严重。通过 SERDS 法,荧光背景几乎完全被去除,牙齿样品在 961 cm^{-1} 和 1071 cm^{-1} 附近的拉曼峰凸显出来,皮肤样品在 $1200\sim 1580\text{ cm}^{-1}$ 范围内的拉曼峰也变清晰。

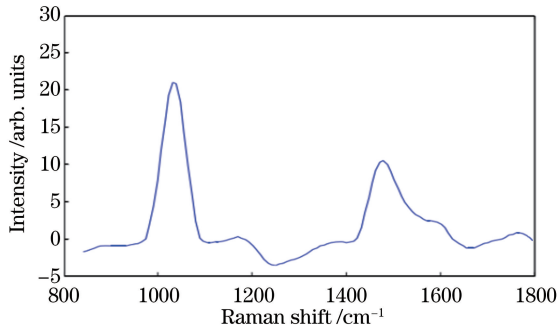


图 6 经多重约束迭代算法重构后的拉曼光谱

Fig. 6 Reconstructed Raman spectra by multiple constraint iterative algorithm

Maiwald 等^[45]用波长为 783.84 nm 的激光检测聚苯乙烯^[46]。样品在环境光的照射下,吸收空气中的水蒸气产生强的荧光信号,仅 999 cm^{-1} 附近的拉曼峰可见,且信噪比为 11。保持其他参数不变,将波长设为 784.45 nm ,得到一组新的拉曼光谱。然后,通过 SERDS 法将荧光背景完全去除,在 $600\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ 之间的拉曼峰凸显出来。 999 cm^{-1} 处的信噪比变为 140,提高了近 13 倍。

周红武^[47]用波长分别为 780.6 nm 和 782.6 nm 的激光对罗丹明 B(非法食品添加剂)进行拉曼检测,光谱中存在强烈的荧光背景,严重影响弱小拉曼峰的识别。对 2 次测得的光谱进行差分处理,再用多重约束迭代反卷积算法进行重构,恢复出无荧光背景的拉曼信号,且拉曼峰不变。同样,用 SERDS 法对苏丹红 I 号^[48]、三聚氰胺、乌洛托品等食品添加剂的光谱进行处理,也能得到无荧光背景的拉曼光谱。

Bottger 等^[49]通过 SERDS 法分析来自于小行星“系川”的外星颗粒。用波长分别为 487.6 nm 和 487.9 nm 的激光器检测外星颗粒(Hayabusa particle #68)时,拉曼光谱中具有很强的荧光背景(主要源于样品中碳、镁、橄榄石等物质以及环境光^[50]),荧光信号在 $500\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 范围内随拉曼位移的增大而增强,拉曼峰几乎完全被淹没。通过

SERDS 法将其荧光背景完全去除,拉曼峰变清晰。样品中橄榄石成分在 916 cm^{-1} 和 956 cm^{-1} 附近的拉曼峰都凸显出来^[51]。

王昕等^[52]设计了一套基于 SERDS 法的拉曼光谱测试系统,采用波长分别为 784.7 nm 和 785.8 nm 的激光器作为激发光源。利用该系统可以有效抑制某品牌香油的强荧光背景,且对弱小的拉曼峰具有很好的重构效果。

娄秀涛等^[53]用波长分别为 783.2 nm 和 785.7 nm 的外腔半导体激光器对三环唑样品进行拉曼检测,拉曼信号被完全淹没在荧光背景中。通过 SERDS 法有效抑制了三环唑的荧光背景,使其在 $596, 1319, 1373\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼峰凸显出来。

SDRDS 法消除荧光效果好,但需要复杂的激发光源,光源波长相差较大降低分辨率,拉曼峰会出现侧翼调制的问题。另外,需要设计合适的差分光谱复原算法,数据处理较复杂。

2.6 小波变换法

小波变换法是一种常见的基于计算机算法处理的数据处理方法,是空间和频率的局部变换,可通过伸缩和平移运算对信号进行多尺度细化,达到高频处用时间细分,低频处用频率细分,能更有效地从光谱中提取信息。

在原拉曼光谱中,有效的拉曼信号为跨距小、频率高的部分,而荧光背景信号的特点为慢变性、低频率。通过小波变换对原拉曼光谱进行分解,当小波分解达到一定尺度水平时,剩下一些频率较低的信号成分。这些低频信号为荧光背景部分,将其低频系数阈值化后去除,再通过算法重构信号得到去除荧光背景后的拉曼光谱^[54]。

古代颜料的拉曼光谱中,荧光信号通常比拉曼信号强几个数量级,荧光干扰严重^[55]。Ramos 等^[56]用小波变换法成功去除古代颜料的荧光背景。首先,用 632.8 nm 的激光器对蓝铜矿颜料进行拉曼检测,荧光干扰严重;然后,用 Daubechies10(Db10)小波对拉曼光谱信号进行 7 尺度小波分解,再对该层低频系数块阈值化处理后置零,通过逆小波变换重构信号。结果显示,重构的拉曼光谱中无噪声和荧光背景,且拉曼峰的形状和位置不变,拉曼信息保存完好。

Hu 等^[57]用小波变换法成功去除恶性胃黏膜组织样品的荧光背景,主要包括 4 个步骤:去噪、多级分解、信号重构和峰值校正。如图 7 所示,当用 514.5 nm 的激光器检测样品时,荧光信号在 $600\sim$

1800 cm^{-1} 范围内随拉曼位移的增大而逐渐增强。采用混合算法对拉曼光谱信号依次进行去噪(原信号采用 db4 小波进行 3 尺度小波分解)、多级分解(用 db6 小波对原信号进行 7 尺度小波分解)、信号重构(低频系数置零)和峰值校正。最后,得到噪声和荧光背景都被去除后的拉曼光谱。

Li 等^[58]通过小波变换法从染色牙釉质的偏振拉曼光谱中成功去除强荧光背景(主要由釉质的染色造成)。当用 830 nm 的激光器检测样品时,拉曼峰几乎完全被淹没。采用 Mallat 的金字塔算法消除强荧光背景,步骤依次为使用软阈值和尺度化噪声法进行去噪、多级分解和信号重构。此过程选择 db4 小波基函数对原信号进行 6 尺度小波分解^[59]。拉曼光谱经小波变换处理后,几乎无荧光背景,拉曼峰的位置和形状基本不变。959 cm^{-1} 附近 P—O 伸缩振动引起的拉曼峰变清晰。

陈珊^[60]用 785 nm 的激光器对醋酸泼尼松片(PAT)药品^[61]进行拉曼检测,荧光信号在 10500~12500 cm^{-1} 范围内随拉曼位移的增大而逐渐增强。采用 baseline Wavelet 算法^[62]对 PAT 的荧光背景进行消除,该算法是在小波变换的基础上提出的,包括 3 个部分:峰位置的确定(基于墨西哥帽母函数)、峰宽的确定(基于 Haar 母函数)和背景拟合。最后,用原拉曼光谱减去拟合出的背景,得到背景扣除后的拉曼光谱,且光谱数据中拉曼信息不会丢失。

曹玲燕等^[63]介绍了在线拉曼光谱仪在芳烃 PX 装置的使用情况,并针对使用中产生的荧光干扰问题,提出了基于小波变换的在线拉曼光谱信号预处理方法。为确定合适的小波基,经过大量试验和综合考虑比较,最后选用双正交小波 bior2.6 作为小波基函数。检测邻二甲苯时,拉曼光谱中存在荧光干扰。用 bior2.6 双正交小波对原拉曼光谱信号进行 8 层小波分解且低频系数置零,然后重构信号得到无荧光背景的拉曼光谱。

张延超等^[64]用 405 nm 的激光器检测质量分数为 60% 的乙醇时,拉曼光谱中存在较强的荧光背景。通过小波变换法有效抑制了样品的荧光背景,拉曼光谱中无荧光干扰现象。

赵艳茹等^[65]用 514.5 nm 的激光器检测染病油菜叶片时,拉曼光谱受荧光干扰严重。通过小波变换法,用 bior2.4 双正交小波对拉曼光谱信号进行 7 层小波分解后,将低频系数置零,重构信号得到去除荧光背景后的拉曼光谱。一些弱小的拉曼峰也凸显出来,尤其是 1185 cm^{-1} 处 C—N 伸缩振动对应的

拉曼峰。

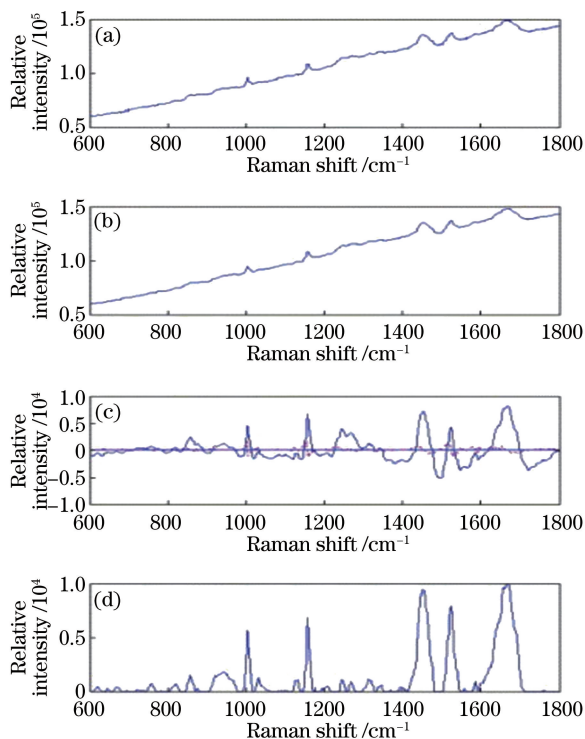


图 7 小波变换法去除恶性胃黏膜组织的荧光背景。

- (a) 原拉曼光谱; (b) 小波去噪后的拉曼光谱;
(c) 重构拉曼光谱及其一阶导数曲线;
(d) 背景消除后的拉曼光谱

Fig. 7 Fluorescence background elimination of malignant gastric mucosa tissues by wavelet transform. (a) Original Raman spectrum; (b) wavelet denoised Raman spectrum; (c) reconstructed Raman spectrum and its first derivative curve; (d) Raman spectrum after background elimination

小波变换法不需要改变拉曼光谱仪的硬件结构,能高效去除荧光背景和噪声,提高了光谱数据的信噪比。但要选择合适的小波基函数、分解尺度、阈值等参数,才能得到理想的拉曼光谱。此方法已广泛应用于实际科研项目中,并取得较好的预处理效果,提高了仪器定性、定量分析的精度。

2.7 其他荧光背景消除方法

偏振调制法是基于拉曼光和荧光的偏振特性不同而提出的。大多数荧光属于非偏振光,而拉曼光是部分偏振光,采用偏振斩波器,将光分成两路,一路进入单色仪作为输入信号,另一路作为参考信号,利用锁相放大器进行检测,可以充分区分开荧光与拉曼光。但并不是所有的荧光都是非偏振光,因此应用范围受到一定限制。

非线性调制法是指当激发光的功率很大时会在样品中产生一些非线性效应,如反转拉曼效应、反斯

托克斯散射增强效应、受激拉曼散射效应、拉曼感生克尔效应等。利用这些非线性效应可提高拉曼光谱信噪比,使拉曼信号更容易被探测。此方法更适合快速拉曼成像,但需要更贵更复杂的皮秒或飞秒脉冲激光器^[66]。激发光功率很大时,可能会破坏样品结构。

门控法是基于拉曼光与荧光的寿命不同而提出的。拉曼光寿命一般在皮秒量级,而荧光寿命一般在纳秒量级。当用超快激光激发时,拉曼散射光的发射在时间上紧随激发光而产生,而荧光的发射在时间上滞后于拉曼散射光,因此接收器是先接收到拉曼信号之后才接收到荧光信号。此方法应用广泛,但随着超快激光、探测器的进一步发展,信噪比具有很大的提高空间,而且需要先进的设备支持,成本很高。

SERS法效应是指在激发光区域内,一些粗糙的金属导体表面或溶液中,由于样品表面或近表面电磁场的增强,使吸附分子的拉曼散射信号比普通拉曼散射信号增强的现象。另外,研究表明,在SERS活性基底表面附近,荧光常常被淬灭。陈李清^[67]通过改变双金属核-壳结构纳米颗粒的核-壳半径比,实现表面等离子共振(SPR)吸收强度的改变,从而使得荧光淬灭效率具有一定的可调控性。SERS法因具有灵敏度高、原位检测、操作简便等优点,广泛应用于样品的定量与定性检测中。但也存在一些缺点,如失去了拉曼光谱非侵入和不接触分析的等优点。

还有很多其他方法,如基于拉曼光与荧光在波长性质上的不同而提出的波长调制拉曼光谱法(WMRS)、差频拉曼光谱法(SSRS),基于计算机算法处理的求导数法、傅里叶变换法、多项式拟合法^[68],基于样品的拉曼光和样品装载容器的荧光不共焦的特点而提出的双轴共焦拉曼检测法^[69]等,也能实现荧光抑制。

3 结 论

近些年来,拉曼光谱分析技术因具有速度快、精度高、操作简便等优点而应用广泛,但荧光干扰问题是限制拉曼光谱分析技术发展的一个主要障碍。本文具体分析了荧光淬灭法、光漂白法、紫外/红外光激发法、移频激发法以及小波变换法在不同领域的应用,并对各种方法的优缺点进行总结,有利于科研人员更加清楚地了解各种荧光抑制方法的应用。针对不同领域的样品,采用更合适的抑制方法以达到

更佳的荧光抑制效果,得到高信噪比的拉曼光谱数据,进行较准确的定性、定量分析。也可以试着结合以上2种或多种方法来处理荧光干扰问题,可能会达到更好的抑制效果。但是,由于技术和实验条件等各方面的限制,有些样品的荧光抑制效果不理想,下一步需要寻找新的抑制方法来解决此问题。

参 考 文 献

- [1] Yang Y M. A review of Raman spectroscopy's application[J]. Public Communication of Science & Technology, 2010, 2(20): 134-143.
杨永梅. 拉曼光谱技术应用的综述[J]. 科技传播, 2010, 2(20): 134-143.
- [2] Yu X C, Guan L, Ye F, *et al.* The cause and treatment method for Raman spectroscopy fluorescence interference of fuel [J]. Journal of Logistical Engineering University, 2017, 33(1): 28-37.
喻星辰, 管亮, 叶飞, 等. 燃油拉曼光谱荧光干扰成因及处理方法[J]. 后勤工程学院学报, 2017, 33(1): 28-37.
- [3] Li F. Research on key technologies of inhibiting fluorescence by shifted excitation Raman difference spectroscopy [D]. Xiamen: Xiamen University, 2014.
李帆. 移频拉曼激发法抑制荧光干扰关键技术研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2014.
- [4] Sánchez-Pastor N, Pinto A J, Astilleros J M, *et al.* Raman spectroscopic characterization of a synthetic, non-stoichiometric Cu-Ba uranyl phosphate [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013, 113: 196-202.
- [5] Lin L, Wang D, Ye J L, *et al.* Oxadiazole-based selective chemosensor for copper (II) based on fluorescence quenching [J]. Synthetic Metals, 2016, 221: 220-226.
- [6] Zheng C, Wang H, Xu W, *et al.* Study on the interaction between histidine-capped Au nanoclusters and bovine serum albumin with spectroscopic techniques [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014, 118: 897-902.
- [7] Yang Q Q, Liang J G, Han H Y. Probing the interaction of magnetic iron oxide nanoparticles with bovine serum albumin by spectroscopic techniques [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2009, 113(30): 10454-10458.

- [8] Amjadi M, Farzampour L. Fluorescence quenching of fluoroquinolones by gold nanoparticles with different sizes and its analytical application [J]. *Journal of Luminescence*, 2014, 145: 263-268.
- [9] Tatarković M, Synytsya A, Št'ovičková L, *et al.* The minimizing of fluorescence background in Raman optical activity and Raman spectra of human blood plasma [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 407(5): 1335-1342.
- [10] Chmyrov A, Sandén T, Widengren J. Iodide as a fluorescence quencher and promoter: mechanisms and possible implications [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2010, 114(34): 11282-11291.
- [11] Ly N H, Nguyen T D, Bui T L, *et al.* Spectroscopic measurements of interactions between hydrophobic 1-pyrenebutyric acid and silver colloidal nanoparticles [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2017, 518: 295-303.
- [12] Xu H, Pan Z R. Syntheses, crystal structures and exceptionally selective detection of picric acid of two luminescent d^{10} metal-organic frameworks [J]. *Chinese Journal of Inorganic Chemistry*, 2018, 34(1): 55-62.
徐涵, 潘兆瑞. 两个 d^{10} 金属配位聚合物的合成、结构及对 2, 4, 6-三硝基苯酚的选择性检测 [J]. *无机化学学报*, 2018, 34(1): 55-62.
- [13] Schmid T, Jungnickel R, Neuhaus B, *et al.* Raman spectroscopy as a tool for the collection management of microscope slides [J]. *Zoologischer Anzeiger*, 2016, 265: 178-190.
- [14] Pathem B K, Zheng Y B, Morton S, *et al.* Photoreaction of matrix-isolated dihydroazulene-functionalized molecules on Au {111} [J]. *Nano Letters*, 2013, 13(2): 337-343.
- [15] Lara-Avila S, Danilov A V, Kubatkin S E, *et al.* Light-triggered conductance switching in single-molecule Dihydroazulene/Vinylheptafulvene junctions [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2011, 115(37): 18372-18377.
- [16] Zięba-Palus J, Michalska A. Photobleaching as a useful technique in reducing of fluorescence in Raman spectra of blue automobile paint samples [J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2014, 74(5): 6-12.
- [17] Wang Y, Zhang X T, Wu N. Raman analysis of the painted sculptures pigments of Wuhou Temple in Chengdu [J]. *The Journal of Light Scattering*, 2015, 27(4): 355-358.
王玉, 张晓彤, 吴娜. 成都武侯祠彩绘泥塑颜料的拉曼光谱分析 [J]. *光散射学报*, 2015, 27(4): 355-358.
- [18] Stowe A C, Smyrl N. Raman spectroscopy of lithium hydride corrosion: selection of appropriate excitation wavelength to minimize fluorescence [J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2012, 60(5): 133-136.
- [19] Golcuk K, Mandair G S, Callender A F, *et al.* Is photobleaching necessary for Raman imaging of bone tissue using a green laser? [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2006, 1758(7): 868-873.
- [20] Wang M, Qian R, Bao M, *et al.* Raman, FT-IR and XRD study of bovine bone mineral and carbonatedapatites with different carbonate levels [J]. *Materials Letters*, 2018, 210: 203-206.
- [21] Kauffman J F, Dellibovi M, Cunningham C R. Raman spectroscopy of coated pharmaceutical tablets and physical models for multivariate calibration to tablet coating thickness [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43(1): 39-48.
- [22] Darvin M E, Brandt N N, Lademann J. Photobleaching as a method of increasing the accuracy in measuring carotenoid concentration in human skin by Raman spectroscopy [J]. *Optics and Spectroscopy*, 2010, 109(2): 205-210.
- [23] Wang H Q, Zhao J H, Lee A M D, *et al.* Improving skin Raman spectral quality by fluorescence photobleaching [J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2012, 9(4): 299-302.
- [24] Bonnier F, Ali S M, Knief P, *et al.* Analysis of human skin tissue by Raman microspectroscopy: dealing with the background [J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2012, 61(7): 124-132.
- [25] Bulánek R, Čičmanec P, Setnička M. Possibility of VO_x/SiO_2 complexes speciation: comparative multi-wavelength Raman and DR UV-vis study [J]. *Physics Procedia*, 2013, 44: 195-205.
- [26] Ciofini D, Oujja M, Cañamares M V, *et al.* Spectroscopic assessment of the UV laser removal of varnishes from painted surfaces [J]. *Microchemical Journal*, 2016, 124: 792-803.
- [27] Windisch C F Jr, Pierce E M, Burton S D, *et al.* Deep-UV Raman spectroscopic analysis of structure and dissolution rates of silica-rich sodium borosilicate glasses [J]. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2011, 357(10): 2170-2177.
- [28] Parkinson B G, Holland D, Smith M E, *et al.*

- Quantitative measurement of Q3 species in silicate and borosilicate glasses using Raman spectroscopy[J]. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2008, 354(17): 1936-1942.
- [29] Hopkins A J, Cooper J L, Profeta L T M, *et al.* Portable deep-ultraviolet (DUV) Raman for standoff detection[J]. *Applied Spectroscopy*, 2016, 70(5): 861-873.
- [30] Wang J F, Yu J, Sun X L, *et al.* Rapid analysis of common illicit drugs and the added ingredients by Raman spectroscopy [J]. *The Journal of Light Scattering*, 2012, 24(3): 312-315.
王继芬, 余静, 孙兴龙, 等. 毒品及其常见添加成分的拉曼光谱快速分析[J]. *光散射学报*, 2012, 24(3): 312-315.
- [31] Gaft M, Nagli L. UV gated Raman spectroscopy for standoff detection of explosives [J]. *Optical Materials*, 2008, 30(11): 1739-1746.
- [32] Emmons E D, Tripathi A, Guicheteau J A, *et al.* Ultraviolet resonance Raman spectroscopy of explosives in solution and the solid state[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2013, 117(20): 4158-4166.
- [33] Geiman I, Leona M, Lombardi J R. Application of Raman spectroscopy and surface-enhanced Raman scattering to the analysis of synthetic dyes found in ballpoint pen inks[J]. *Journal of Forensic Sciences*, 2009, 54(4): 947-952.
- [34] Braz A, López-López M, García-Ruiz C. Raman spectroscopy for forensic analysis of inks in questioned documents [J]. *Forensic Science International*, 2013, 232(1/2/3): 206-212.
- [35] Vitek P, Ali E M A, Edwards H G M, *et al.* Evaluation of portable Raman spectrometer with 1064 nm excitation for geological and forensic applications [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2012, 86(3): 320-327.
- [36] Gardner P, Bertino M F, Weimer R, *et al.* Analysis of lipsticks using Raman spectroscopy[J]. *Forensic Science International*, 2013, 232(1/2/3): 67-72.
- [37] Salahoglu F, Went M J. Differentiation of lipsticks by Raman spectroscopy [J]. *Forensic Science International*, 2012, 223(1/2/3): 148-152.
- [38] Pence I, Mahadevan-Jansen A. Clinical instrumentation and applications of Raman spectroscopy[J]. *Chemical Society Reviews*, 2016, 45(7): 1958-1979.
- [39] Rizkalla M, Ghane P, Agarwal M, *et al.* Raman spectroscopy for human cancer tissue diagnosis: a pattern recognition approach [J]. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 2012, 5(12): 892-900.
- [40] Mao X T. Application of spectral analysis technology in the food and medicine testing [D]. Hangzhou: China Jiliang University, 2016.
毛晓婷. 光谱分析技术在食品及医药检测上的应用 [D]. 杭州: 中国计量学院, 2016.
- [41] Zheng J W, Yang T W. Classification method of biological tissues based on Raman spectrum features [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2017, 54(5): 053001.
郑家文, 杨唐文. 基于拉曼光谱特征的生物组织识别方法 [J]. *激光与光电子学进展*, 2017, 54(5): 053001.
- [42] He X L, Wang J F, Liu W H, *et al.* Discrimination and classification the plastic steel window based on Raman spectroscopy and cluster analysis [J]. *Chemical Research and Application*, 2017, 29(9): 1387-1392.
何欣龙, 王继芬, 刘文浩, 等. 拉曼光谱结合聚类分析法区分检验塑钢窗 [J]. *化学研究与应用*, 2017, 29(9): 1387-1392.
- [43] Zou W L, Cai Z, Wu J. Fluorescence rejection by shifted excitation Raman difference spectroscopy[J]. *Proceedings of the SPIE*, 2010, 7855: 78551M.
- [44] da Silva Martins M A, Ribeiro D G, dos Santos P E A, *et al.* Shifted-excitation Raman difference spectroscopy for in vitro and in vivo biological samples analysis [J]. *Biomedical Optics Express*, 2010, 1(2): 617-626.
- [45] Maiwald M, Eppich B, Fricke J, *et al.* Dual-wavelength Y-branch distributed bragg reflector diode laser at 785 nanometers for shifted excitation Raman difference spectroscopy [J]. *Applied Spectroscopy*, 2014, 68(8): 838-843.
- [46] Maiwald M, Müller A, Sumpf B, *et al.* Capability of shifted excitation Raman difference spectroscopy under ambient daylight[J]. *Applied Optics*, 2015, 54(17): 5520-5524.
- [47] Zhou H W. Study of fluorescence rejection method in portable Raman spectroscopy[D]. Suzhou: Soochow University, 2013.
周红武. 便携式拉曼光谱仪中荧光抑制方法的研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [48] Kunov-Kruse A J, Kristensen S B, Liu C, *et al.*

- Experimental and ab initio DFT calculated Raman spectrum of Sudan I, a red dye[J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2011, 42(6): 1470-1478.
- [49] Böttger U, Maiwald M, Hanke F, *et al.* Shifted excitation Raman difference spectroscopy applied to extraterrestrial particles returned from the asteroid Itokawa [J]. *Planetary and Space Science*, 2017, 144: 106-111.
- [50] Bokobza L, Bruneel J L, Couzi M. Raman spectra of carbon-based materials (from graphite to carbon black) and of some silicone composites[J]. *Journal of Carbon Research*, 2015, 1(1): 77-94.
- [51] Ossig R, Kwon Y H, Hubenthal F, *et al.* Naturally grown Ag nanoparticles on quartz substrates as SERS substrate excited by a 488 nm diode laser system for SERDS[J]. *Applied Physics B*, 2012, 106(4): 835-839.
- [52] Wang X, Wu J L, Fan X G, *et al.* Design of Raman spectroscopy measurement system based on shifted excitation method using two laser diodes with different wavelengths [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2016, 45(1): 52-57.
王昕, 吴景林, 范贤光, 等. 双波长激光移频激发拉曼光谱测试系统设计[J]. *红外与激光工程*, 2016, 45(1): 52-57.
- [53] Lou X T, Xu L J. Measuring characteristic Raman peaks of highly fluorescent materials using an external cavity diode laser [J]. *Physics Experimentation*, 2017, 37(2): 10-12.
娄秀涛, 徐连杰. 用外腔半导体激光获取强荧光物质的拉曼特征峰位[J]. *物理实验*, 2017, 37(2): 10-12.
- [54] Wang J G, Cheng M X, Lin J G, *et al.* Application of wavelet transform modulus maximum for Raman spectra de-noising [J]. *Control and Instruments in Chemical Industry*, 2010, 37(8): 37-41.
王京港, 程明霄, 林锦国, 等. 小波模极大值在拉曼光谱信号去噪中的应用[J]. *化工自动化及仪表*, 2010, 37(8): 37-41.
- [55] Tan H W, Brown S D. Wavelet analysis applied to removing non-constant, varying spectroscopic background in multivariate calibration[J]. *Journal of Chemometrics*, 2002, 16(5): 228-240.
- [56] Ramos P M, Ruisánchez I. Noise and background removal in Raman spectra of ancient pigments using wavelet transform [J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2005, 36(9): 848-856.
- [57] Hu Y G, Jiang T, Shen A, *et al.* A background elimination method based on wavelet transform for Raman spectra [J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2007, 85(1): 94-101.
- [58] Li J, Choo-Smith L P, Tang Z L, *et al.* Background removal from polarized Raman spectra of tooth enamel using the wavelet transform [J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2010, 42(4): 580-585.
- [59] Kandjani A E, Griffin M J, Ramanathan R, *et al.* A new paradigm for signal processing of Raman spectra using a smoothing free algorithm: coupling continuous wavelet transform with signal removal method[J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2013, 44(4): 608-621.
- [60] Chen S. Raman spectroscopy fluorescence background correction and its application [D]. Changsha: Central South University, 2011.
陈珊. 拉曼光谱背景扣除算法及其应用研究[D]. 长沙: 中南大学, 2011.
- [61] Chen S, Li X N, Liang Y Z, *et al.* Raman spectroscopy fluorescence background correction and its application in clustering analysis of medicines[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2010, 30(8): 2157-2160.
陈珊, 李晓宁, 梁逸曾, 等. 拉曼光谱的荧光背景扣除及其应用于药物类聚分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(8): 2157-2160.
- [62] Zhang Z M, Chen S, Liang Y Z, *et al.* An intelligent background-correction algorithm for highly fluorescent samples in Raman spectroscopy [J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2009, 41(6): 659-669.
- [63] Cao L Y, Cheng M X, Yu Z W, *et al.* On-line Raman spectrometer in aromatics complex unit and fluorescence background processing [J]. *Control and Instruments in Chemical Industry*, 2011, 38(10): 1191-1194.
曹玲燕, 程明霄, 於拯威, 等. 在线拉曼光谱仪在芳烃装置中的应用及荧光背景处理[J]. *化工自动化及仪表*, 2011, 38(10): 1191-1194.
- [64] Zhang Y C, Sun L J, Ren X Y, *et al.* Baseline correction algorithms of ethanol Raman spectra [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*. 2016, 36(s1): 331-332.
张延超, 孙兰君, 任秀云, 等. 拉曼光谱乙醇含量测量基线校正算法研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(s1): 331-332.
- [65] Zhao Y R, Li X L, Yu K Q, *et al.* Discriminate the rape sclerotinia at early stage based on confocal

- Raman spectroscopy [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2017, 37(2): 467-471.
- 赵艳茹, 李晓丽, 余克强, 等. 基于共聚焦拉曼光谱技术的油菜菌核病早期判别分析 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2017, 37(2): 467-471.
- [66] Jiang J F, Wu H, Liu K, *et al.* Wavelength tuning of Stokes optical pulse with high speed and wide range for coherent anti-Stokes Raman scattering excitation source [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2017, 44(1): 0101002.
- 江俊峰, 吴航, 刘琨, 等. 用于相干反斯托克斯拉曼散射激发源的快速宽范围斯托克斯光波长调谐 [J]. *中国激光*, 2017, 44(1): 0101002.
- [67] Chen L Q. The surface enhanced Raman scattering and fluorescence decay rate from bimetallic core-shell nanoparticles [D]. Suzhou: Soochow University, 2012.
- 陈李清. 双金属核-壳结构纳米颗粒体系的 SERS 效应及荧光衰减特性 [D]. 苏州: 苏州大学, 2012.
- [68] Zhao F, Peng Y K. Measurement of iodine value of pork's subcutaneous adipose tissue by interval partial least square and Raman spectroscopy [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2017, 44(11): 1111001.
- 赵芳, 彭彦昆. 区间偏小二乘法结合拉曼光谱测定猪肉皮下脂肪的碘值 [J]. *中国激光*, 2017, 44(11): 1111001.
- [69] Dai Y, Dong Z R, Liu M H, *et al.* A dual-axis confocal Raman detection method for suppressing fluorescence from containers [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2018, 45(7): 0711001.
- 戴艳, 董作人, 刘铭晖, 等. 抑制容器荧光干扰的双轴共焦拉曼检测方法 [J]. *中国激光*, 2018, 45(7): 0711001.