

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 19820121152789

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

移频激发拉曼光谱系统搭建与算法实现
Construction of Raman spectroscopy system
and implementation of algorithm based on
shifted excitation method

吴景林

指导教师姓名: 卢仙聪 副教授

范贤光 副教授

专 业 名 称: 微电子学与固体电子学

论文提交日期: 2015 年 05 月

论文答辩时间: 2015 年 月

学位授予日期: 2015 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2015 年 05 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘 要

拉曼光谱技术作为一种强有力的分子结构研究工具,广泛应用于材料物理、生物医学、食品安全等领域。然而很多物质比如药品、食品的拉曼光谱检测过程都伴有强荧光干扰,荧光的存在严重影响拉曼光谱特征峰的识别,此外探测器本身的噪声和暗电流严重影响着弱拉曼特征峰的探测,因此非常有必要采取措施抑制荧光干扰和提高拉曼光谱系统的信噪比。

移频激发法是一种简单通用的荧光抑制方法,它常采用两个波长相近的激发光源分别激发样品得到两幅拉曼光谱,对这两幅光谱作差分,从而有效地消除荧光的影响。本文研究了移频激发法的荧光抑制原理,并分析了从差分光谱中提取真正拉曼光谱的复原算法需要克服的干扰因素。此外,对多种复原算法进行了详细的推导介绍,并进行 Matlab 仿真分析。

我们使用一种简单有效的方法实施移频激发拉曼光谱测量,利用两个波长相近、基于体布拉格光栅技术的波长固定的半导体激光器作为激发光源,结合光纤光开关、拉曼探头、光栅分光光路和光谱数据采集模块搭建了一套拉曼光谱系统,进行移频激发实验。为提高光谱采集质量,采用高灵敏度、低暗电流的背薄型面阵 CCD 作为探测器,设计了高性能的光谱数据采集模块,将拉曼光谱数据通过 USB 传输到 PC 上位机软件,并通过调用 Matlab 编写的复原算法实现光谱复原。

系统经波长标定后进行暗电流和重复性测试,测试结果表明该系统有效降低了 CCD 的暗电流,在长积分时间下能够探测到弱拉曼光谱信号,提高了光谱信噪比。我们利用本系统对强荧光背景的香油样品进行了移频激发实验,分别采用简单积分算法、数值插值的简单积分算法和多重约束迭代解卷积算法三种不同的复原算法进行光谱复原,并进行复原效果对比。实验结果表明,所搭建的拉曼光谱系统能够简单高效地实现移频激发拉曼光谱测量,并且移频激发法能够有效地抑制荧光背景。

关键词: 移频激发; 拉曼光谱; 复原算法; 荧光抑制

Abstract

Raman spectroscopy technique as a powerful tool to investigate the molecular structure is widely used in material physics, biomedical, food safety and other fields. However, Raman spectroscopy detection process of many substances such as pharmaceuticals and food is always accompanied by strong fluorescence interference. The existence of fluorescence seriously affects the recognition of the characteristic peak of Raman spectrum. Moreover, the noise and dark current of the detector itself badly affect the detection of weak Raman characteristic peak. Therefore it is important to take measures to suppress fluorescence interference and to improve the signal-to-noise ratio of Raman spectroscopy system.

Shifted excitation method is a simple and versatile method for fluorescent suppression, which often adopts two excitation light source at closely spaced wavelengths to excite the sample respectively to obtain two Raman spectra, and then takes a difference of these two spectra to effectively eliminate the influence of fluorescence. The principle of the shifted excitation method to suppress fluorescence and the disturbance of reconstruction algorithm to overcome are analyzed, which is used to extract Raman spectrum from the difference spectrum. Besides, a variety of reconstruction algorithms are introduced in detail and Matlab simulation analysis are performed.

We use a simple and efficient method to implement the shifted excitation Raman spectrum measurement, which uses two closely space fixed-wavelength semiconductor laser diodes stabilized with the Volume Bragg Gratings technology as excitation light source. By combining with fiber optical switch, Raman probe, grating spectral optical path and spectral data acquisition module, we construct a Raman spectroscopy system for shifted excitation experiment. To improve the quality of spectral data acquisition, we choose a high sensitivity, low dark current back-thinned area array CCD as the detector and design the high-performance

spectral data acquisition module which transmits Raman spectral data to PC software through USB agreement. Besides, we achieves reconstructing the spectrum by calling reconstruction algorithms of Matlab on this software.

After the wavelength calibration, the tests of dark current and repeatability of the system are carried out. The results of tests show that the system effectively reduces the dark current of CCD, would be able to detect the weak Raman spectral signals with long time integration, and improves the signal-to-noise ratio of spectrum. Besides, we performed the shifted excitation experiment of sesame oil in the presence of strong fluorescent background using this system, and then compared the spectra reconstructed from the difference spectrum with three different reconstruction algorithms: the simple integration algorithm, the simple integration with data interpolation algorithm, and the multiple energy constraint iterative deconvolution algorithm. Experimental results prove that the constructed Raman spectroscopy system is able to implement the shifted excitation Raman spectroscopy measurement simply and efficiently, and the shifted excitation method can effectively suppress fluorescence background.

Keywords: shifted excitation; Raman spectroscopy; reconstruction algorithm; fluorescence suppression

目 录

摘 要	I
Abstract	II
目 录	IV
Contents	VI
第一章 绪论	1
1.1 论文研究背景及意义	1
1.2 拉曼光谱仪的研究现状	1
1.3 荧光抑制方法的研究现状	3
1.4 论文的主要研究内容	8
第二章 移频激发法	10
2.1 拉曼散射光和荧光产生机制	10
2.2 移频激发法的荧光抑制原理	12
2.3 差分光谱复原算法	13
2.3.1 曲线拟合法	14
2.3.2 简单积分算法	15
2.3.3 数值插值的简单积分算法	18
2.3.4 解卷积算法	19
2.3.5 约束最小二乘法	22
2.3.6 负能量约束迭代算法	23
2.3.7 多重约束迭代解卷积算法	24
2.4 本章小结	25
第三章 移频激发拉曼光谱系统的搭建	26
3.1 系统的整体方案	26
3.2 激光光源	27
3.3 拉曼探头	28
3.4 光栅分光光路	29
3.5 探测器	30
3.6 本章小结	31

第四章 光谱数据采集模块	32
4.1 光谱数据采集模块的硬件结构	32
4.2 驱动模块的设计	33
4.2.1 驱动时序的产生	33
4.2.2 多路电源电路	33
4.2.3 CCD 驱动电路	35
4.2.4 制冷电路	36
4.3 信号处理与采集模块设计	38
4.3.1 信号处理	39
4.3.2 数据采集	40
4.4 数据传输模块设计	41
4.4.1 FIFO 数据缓存电路	42
4.4.2 USB 总线接口电路	43
4.4.3 单片机固件程序	44
4.4.4 设备驱动程序	45
4.4.5 光谱数据采集处理软件	46
4.5 FPGA 控制逻辑设计	47
4.5.1 CCD 驱动时序	48
4.5.2 AD 内部寄存器配置时序	51
4.5.3 数据采集控制时序	52
4.5.4 其它功能模块	53
4.6 本章小结	53
第五章 系统实验结果分析	55
5.1 波长标定	55
5.2 暗电流和稳定性测试	56
5.3 移频激发实验	58
5.4 本章小结	60
总 结	62
参考文献	63
附 录	68
致 谢	69
硕士期间的科研成果	70

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract	II
Contents in Chinese	IV
Contents	VI
Chapter1 Introduction	1
1.1 Backgroud and significance of the paper	1
1.2 Present research status of the Raman spectrometer	1
1.3 Present research status of the fluorescent suppression methods	3
1.4 Major research contents of the paper.....	8
Chapter2 Shifted excitation method	10
2.1 Generation mechanism of Raman scattering light and Flourescence	10
2.2 Principle of shifted excitation method to suppres fluorescence	12
2.3 Reconstruction algorithm	13
2.3.1 Curve fitting algorithm	14
2.3.2 Simple integral algorithm	15
2.3.3 Simple integral algorithm with numerical interpolation	18
2.3.4 Deconvolution algorithm	19
2.3.5 Constrained least squares algorithm	22
2.3.6 Negative energy constraint iterative algorithm.....	23
2.3.7 Multiple constraint iterative deconvolution algorithm	24
2.4 Chapter summary.....	25
Chapter3 Construction of Raman spectroscopy system based on shifted excitation method	26
3.1 Implementation and composition of the system	26
3.2 Laser light source	27
3.3 Raman probe.....	28
3.4 Grating spectral optical path.....	29
3.5 Detector	30
3.6 Chapter summary.....	31
Chapter4 Spectral data acquisition module	32
4.1 Hardware structure of the spectral data acquisition module.....	32
4.2 Design of the drive module	33

4.2.1 Generation of the driving sequence	33
4.2.2 Multi-channel power supply circuit	33
4.2.3 CCD drive circuit	35
4.2.4 Cooling circuit	36
4.3 Design of the signal processing and acquisition module	38
4.3.1 Signal processing	39
4.3.2 Data acquisition	40
4.4 Design of the data transmission module	41
4.4.1 FIFO data buffer circuit	42
4.4.2 USB bus interface circuit	43
4.4.3 MCU firmware program	44
4.4.4 The device driver	45
4.4.5 Spectral data acquisition processing software	46
4.5 Design of FPGA control logic	47
4.5.1 CCD drive timing	48
4.5.2 AD internal registers configuration timing	51
4.5.3 AD data acquisition sequence control timing	52
4.5.4 Other function modules	53
4.6 Chapter summary	53
Chapter5 Results analysis of the system experiment	55
5.1 Wavelength calibration	55
5.2 Dark current and stability test	56
5.3 Experiment of SERDS	58
5.4 Chapter summary	60
Conclusion	62
References	63
Appendix	68
Acknowledgement	69
Paper published and honour received	70

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 绪论

1.1 论文研究背景及意义

拉曼散射 (Raman scattering) 即光波在被散射后频率发生变化的现象是由印度物理学家 C.V.拉曼在 1928 年首次发现的^[1]。其后三十年间, 基于拉曼散射原理的拉曼光谱仪一直以汞弧灯作为激发光源, 由于存在谱线强度低、分辨率低等缺点, 极大限制拉曼光谱技术的应用与发展。直到上个世纪六十年代激光器 (Laser Diode, LD) 的诞生为其提供了极为优质的激发光源, 拉曼光谱得到了极大的发展。

拉曼光谱技术是通过与入射光频率不同的拉曼散射光谱进行分析, 从而得到分子振动、转动方面的信息, 可作为物质鉴定的“指纹”^[2]。拉曼光谱作为红外光谱的补充, 是一种强有力的分子结构研究工具, 具有快速、非接触、无损检测等优点, 广泛应用于材料物理、生物医学、食品安全、环境保护等领域^[3-4]。

虽然拉曼光谱应用如此广泛, 但是拉曼检测存在很多的干扰因素, 瑞利散射光、荧光和探测器噪声是其中的主要影响因素。样品在激光照射下, 产生拉曼散射光的同时, 伴随着比拉曼散射光强 10^3 - 10^6 倍的瑞利散射光, 还可能出现强 10^6 - 10^8 倍的荧光^[5]。瑞利散射光可以利用其波长与激发光波长相同, 采用陷波滤波片进行滤除。然而大多数食品、药品的拉曼光谱检测过程中都伴有的强荧光干扰常常发生在与拉曼光谱相同的光谱范围, 无法利用滤波片进行滤除, 荧光的存在严重影响拉曼光谱特征峰的识别^[6]。此外基于光散射原理的拉曼光谱信号的强度十分微弱, 探测器本身的噪声和暗电流严重影响着弱拉曼光谱特征峰的探测, 探测器的噪声水平决定了系统的弱拉曼信号的探测极限。因此非常有必要采取有效的措施抑制荧光干扰和提高拉曼光谱系统的信噪比。

1.2 拉曼光谱仪的研究现状

巨大的应用需求促进了拉曼光谱技术的不断发展, 拉曼光谱仪正朝向便携式、智能化的趋势发展, 具有很大的市场前景。目前, 虽然国内有许多高校和

公司在进行光谱仪和拉曼光谱系统的开发，但是国内绝大部分便携式拉曼光谱仪市场依然被国外高性能的色散型和傅里叶变换型（FT-Raman）两类拉曼光谱仪所垄断。

FT-Raman 光谱仪常用的探测器为 Ge 或 InGaAs 探测器，而色散型常采用 CMOS、CCD 作为探测器。FT-Raman 有出色的波长精度和光谱范围，并且由于工作在 1064nm 能够有效降低荧光干扰^[7]。然而，FT-Raman 的灵敏度相比于使用 CCD 的色散型拉曼光谱仪低 2-3 个数量级。色散型的拉曼光谱仪相比于 FT-Raman 光谱采集时间短，速度更快，并且能够使用较低的激光功率从而降低样品损坏的风险。此外常用于色散型拉曼光谱仪的低功率激光器的成本和维护较低，而 FT-Raman 需要昂贵高功率的固态激光器。色散型光谱系统通常在稀释环境、弱散射、不耐热的样品或稀释成分的混合物比 FT-Raman 更出色，因此拉曼光谱仪的选择类型主要取决于样品。

美国海洋光学公司（Ocean Optics）在 2015 年推出 flame 系列拉曼光谱仪，具体的技术参数如表 1-1 所示。采用与目前最受欢迎的 USB 系列尺寸一致、小巧、坚固的外形，提升了热稳定性，使得重复性更好。用户可以根据包括光谱范围、分辨率、灵敏度等参数的具体应用需求，配置最合适的光谱仪。此外，用户可根据所要的分辨率和灵敏度自行更换入射狭缝，有利于拉曼光谱测量中实验条件的改变。同时光谱仪有 MicroUSB、RS232、I²C 和 SPI 等接口，便于研究人员的二次开发，从而集成到自己的测量系统中进行拉曼光谱数据的进一步分析处理。

表 1-1 flame 系列拉曼光谱仪技术参数表

波长范围	200-1100nm 可选	积分时间	1ms-65s
分辨率	0.1nm 起（半峰宽）	扫描速率	400Hz（最高）
杂散光	<0.05% @600nm	电源	5V USB
信噪比（SNR）	250:1	尺寸	89.1mm*63.3mm*34.4mm
动态范围	1300:1（单次采集）	重量	265g

美国必达泰克公司（B&WTEK）推出性能堪比大型台式拉曼光谱系统的 i-Raman Plus 拉曼光谱仪，具有灵巧便携、重量轻、性价比高、稳定性高等优点，采用薄型背照式 CCD 和先进的制冷控温技术，有优越的信噪比和高动态范

围。i-Raman Plus-785H 拉曼光谱仪技术参数如表 1-2 所示。

表 1-2 i-Raman Plus-785H 拉曼光谱仪技术参数表

光谱范围	175~2700 cm^{-1}	积分时间	6ms-30min
分辨率	~3.5 cm^{-1} @912nm	动态范围	50000:1
电脑接口	USB 3.0/2.0/1.1	电源	5V DC/100-240V AC
尺寸	17cm*34cm*23.4cm	重量	3Kg

目前,我国在拉曼光谱仪的自主研发能力与国外相比尚有一定的差距,拉曼光谱分析技术有待进一步发展。国内的公司虽然也推出了性能不错的拉曼光谱仪,但都尚未达到市场化规模。

国内的一些高校和科研院所也自行研发了拉曼光谱系统,主要用于教学和科研目的。比如浙江大学智能系统与决策研究所开发了一台拉曼光谱仪,对现有用于光谱预处理的小波变换算法提出两种改进算法,并开发了相应的软件用来对光谱数据进行预处理^[8];安岩等人设计了光谱分辨率优于 0.6nm、拉曼光谱范围为 781-1014nm 的便携式拉曼光谱仪^[9];北京市新技术应用研究所也研制了采用面阵 CCD、波数分辨率为 6 cm^{-1} 的便携式拉曼光谱仪^[10]。

综合国内外的拉曼光谱系统的产业发展情况来看,国内目前缺乏有自主知识产权的先进拉曼光谱仪生产厂家,国外公司所产的拉曼光谱仪价格比较昂贵。因此研究拉曼光谱系统的关键技术和光谱数据处理算法是非常有必要且极有实际意义的。

1.3 荧光抑制方法的研究现状

微弱的拉曼光谱信号常常被淹没在强多个数量级的荧光背景下,因此需要采取一定的措施抑制荧光背景。目前,抑制荧光干扰的方法主要可分为以下几个类别:

(1) **近红外/紫外激发法** 极少样品分子在近红外区域有电子跃迁吸收带,因此使用近红外或红外激光作为激发光源可以避免荧光的产生,是进行荧光抑制常用的选择方法^[11]。FT-Raman 常用 1064nm 的固态激光光源,在此波长激光激发下几乎可以避免荧光背景的干扰。但是拉曼散射光的强度与激发光波长的四次方成反比例关系,可知 1064nm 的拉曼散射强度是 785nm 的十分之三,并

且 CCD 探测器在波长大于 800nm 时量子效率较低，因此需要更长的积分时间和更强的激发光功率。

在波长小于 250nm 的紫外激光激发下，拉曼散射接近于共振状态，因此拉曼散射强度非常高^[12]，从而可以实现荧光抑制。但是紫外激光光源成本较高，并且紫外光能量高，容易造成被测物质分解变质。

(2) 波长域法 波长域法是基于拉曼信号和荧光对激发波长改变的不同响应特性，包括以下三种：

移频激发拉曼差分光谱法（Shifted Excitation Raman Difference Spectroscopy, SERDS）是由 Shreve 等人首次提出的^[13]，利用拉曼峰随着激发波长改变而移动，而宽频域的荧光背景对激发波长改变不敏感这种性质^[14]。一般采用两个波长相近的激发光源分别激发被测物质，得到两组原始拉曼光谱，然后通过对这两组原始拉曼光谱作差的方法消除荧光信号而保留拉曼信号，从而有效地抑制荧光背景的干扰。移频激发法至少需要两个波长轻微偏移的激发光源，两个激发光源产生的光谱移动最好近似等于待测样品拉曼峰的半高宽。McCain 等人首次提出多激发拉曼光谱技术，使用多个波长激光进行激发样品，能够提高荧光抑制效果，但需要在激发波长数量和系统复杂度二者之间做权衡处理^[15]。SERDS 结合克尔门能够进一步抑制拉曼光谱荧光背景^[16]。SERDS 方法能够提高信噪比、缩短采集时间、荧光抑制效果好，并且简单可靠、适用性广，因此广泛应用在各种样品的拉曼光谱分析中^[17]。

波长调制法（Wavelength modulated Raman spectroscopy, WMRS）与 SERDS 方法的原理类似^[18]，基于连续调制的拉曼激发波长和多通道锁相检测原理的使用，可以抑制荧光背景和提高光谱质量。虽然这种方法在概念上类似于 SERDS 或单通道波长调制技术，但它提供了重要的优势和改进。首先由于拉曼激发波长的连续调制和多通道锁相检测使得荧光和瑞利散射光被完全抑制。相比于 SERDS 使用两个或者多个激发波长，该方法使用连续调制的激发波长能够更好地复原拉曼光谱。随着调制频率的增加，减少了 1/f 噪声，因而提高了信噪比。此外，一旦执行过同步和校准步骤，该方法能够最小化对差分光谱的用户干预，使得该方法更可行并减少测量时间^[19]。但是该方法需要波长调制，系统相对比较复杂。

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.