



DOI: 10.12086/oe.2021.200398

绝对共轭共聚焦拉曼光谱技术研究

尚林东^{1,2}, 梁鹏^{1,2}, 吴青宜^{1,2}, 肖东洋³,
徐立伟³, 刘坤香^{1,2}, 李备^{1,2,3*}

¹中国科学院长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130031;

²中国科学院大学, 北京 100049;

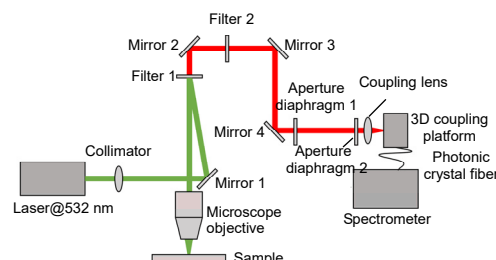
³长光辰英生物科学仪器有限公司, 吉林 长春 130031

摘要: 为解决传统拉曼光谱信号强度弱、信噪比低的问题, 本文提出一种新型的共聚焦拉曼系统, 通过外接光子晶体光纤实现共聚焦点的绝对共轭, 总结了光子晶体光纤耦合过程中出现的技术问题, 并对实际样品进行测试。与 Thorlabs、OZ 两种常规共聚焦拉曼系统所用光纤、Witec 532 nm-alpha300R 拉曼系统进行比较, 在相同激光强度和积分时间下, 本文信噪比为 73.8382, 显著高于 Thorlabs、OZ 两种光纤的 37.1557 和 40.0342, 而相较于 Witec 532 nm-alpha300R 的 65.5312, 也提升了 12.68%, 高质量的拉曼信号使得该绝对共轭共聚焦拉曼系统具有广阔的市场前景和超高的市场竞争力。

关键词: 拉曼光谱; 绝对共轭; 光子晶体光纤; 信噪比

中图分类号: TN253; O734

文献标志码: A



尚林东, 梁鹏, 吴青宜, 等. 绝对共轭共聚焦拉曼光谱技术研究[J]. 光电工程, 2021, 48(6): 200398

Shang L D, Liang P, Wu Q Y, *et al.* Research on absolute conjugation confocal Raman spectroscopy technology[J]. *Opto-Electron Eng*, 2021, 48(6): 200398

Research on absolute conjugation confocal Raman spectroscopy technology

Shang Lindong^{1,2}, Liang Peng^{1,2}, Wu Qingyi^{1,2}, Xiao Dongyang³, Xu Liwei³, Liu Kunxiang^{1,2},
Li Bei^{1,2,3*}

¹Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin 130031, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³HOOKE Instruments Ltd, Changchun, Jilin 130031, China

Abstract: To solve the problems of weak signal strength and low signal-to-noise ratio in traditional Raman spectroscopy, a new confocal Raman system is proposed in this paper. The absolute conjugation of the confocal point is realized by external photonic crystal fiber. The technical problems in the coupling process of photonic crystal fiber are summarized, and the actual samples are tested. Compared with conventional confocal Raman fibers such as

收稿日期: 2020-10-26; 收到修改稿日期: 2021-04-01

基金项目: 国家重点研发计划“政府间国际科技创新合作/港澳台科技创新合作”重点专项(SQ2018YFE010810)

作者简介: 尚林东(1998-), 男, 博士研究生, 主要从事时间门控拉曼光谱的研究。E-mail: shanglindong20@mailsucas.ac.cn

通信作者: 李备(1983-), 男, 博士, 研究员, 主要从事单细胞分选、拉曼光谱的研究。E-mail: beili@ciomp.ac.cn

版权所有©2021 中国科学院光电技术研究所

Thorlabs and OZ and Witec 532 nm-alpha300R Raman system, the signal-to-noise ratio in this paper is 73.8382 at the same laser intensity and integration time, which is significantly higher than that of Thorlabs and OZ (37.1557 and 40.0342, respectively). Compared with the signal-to-noise ratio of 65.5312 for Witec 532 nm-alpha300R, it also increased by 12.68%. High-quality Raman signal makes the absolute conjugated confocal Raman system have broad market prospects and ultra-high market competitiveness.

Keywords: Raman spectrometer; absolute conjugation; photonic crystal fiber; SNR

1 引言

拉曼散射最初在 1928 年由印度科学家拉曼提出, 之后逐渐被应用于材料检测^[1]、珠宝鉴定^[2]等, 但是对于生物样品如细菌代谢检测、微生物分辨等, 拉曼光谱强度相对较弱且信噪比较低。为了解决强度相对较弱信噪比较低的问题, 人们不断探索能增强拉曼信号强度的方式, 经历半个多世纪的发展研究衍生出了很多的分支, 如共聚焦拉曼^[3], 对样品表面进行特殊处理的表面增强拉曼(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)^[4], 更改光源激发波长的共振拉曼(resonance Raman spectroscopy, RRS)^[5], 采用纳米探针激发样品的针尖增强拉曼(tip-enhanced Raman spectroscopy, TERS)^[6]等。其中最具有通用性的是共聚焦拉曼, 共聚焦拉曼主要由两部分构成, 分别是拉曼光谱系统、显微共聚焦系统, 激光通过显微物镜聚焦成一个极小的光斑, 样品经光斑激发后产生的拉曼散射光被物镜收集进入拉曼光学系统, 最后由耦合透镜透过小孔、狭缝或光纤进入光谱仪, 物镜和耦合透镜的两个焦点的共轭程度越高, 其拉曼信号强度越高。

光子晶体光纤(Photonic crystal fiber, PCF)的概念最早出现在 20 世纪九十年代, BATH 大学的 Russell^[7]第一次提出光子晶体光纤概念, 1996 年 Knight^[8]成功制成了第一根石英六边形结构的折光率导光型 PCF。1999 年 Cregan^[9]成功研制出了第一根空芯带隙型 PCF, 实现了真正意义上的光子带隙 PCF。2009 年陈月娥^[10]制备出了 Yb³⁺掺杂的双包层光子晶体光纤。2018 年上海理工大学张学典^[11]制成了正方形空气孔的光子晶体光纤。根据导光机制可以分为折光率导光型(IG-PCF)和带隙引导型(PCF)^[12]两大类, 折光率导光型采用类似于全内反射的机制导光; 带隙引导型依靠光子带隙效应, 其光纤对包层空气孔结构有着严格的周期性要求, 只有特定频率的光线才能经其传输, 两者与普通光纤相比有着更高的传输效率、保真率、单模性, 因此受到越来越多科技工作者的青睐。本文在常规共聚焦拉曼系统的基础上, 通过外接带隙引导型光子晶体光纤

进行传输拉曼信号, 由于光子晶体光纤其独特的物理结构区别于一般的单模光纤, 其对成像精度要求极高, 入射角度的微小偏差就会导致巨大的模场散失^[13], 使拉曼信号强度被“腰斩”, 所以本文由光子晶体光纤构成的共聚焦拉曼系统可以区别于常规共聚焦拉曼, 而且一般来说物镜焦点和耦合透镜焦点两者共轭程度越高, 其得到的拉曼光谱质量越好。因此从共轭程度出发, 本文的共聚焦系统可以称为绝对共轭的共聚焦系统。光子晶体光纤对耦合精度的要求极高, 大部分的科研工作者耦合光子晶体光纤时都按照一般光纤耦合方式进行耦合, 耦合过程费时费力, 至今没有一个完善的耦合方法。本文根据作者在大量光子晶体光纤耦合过程中得出的实验结果, 对光子晶体光纤耦合过程中出现的问题和解决方式进行总结, 提出一种较为简单且实用的光子晶体光纤耦合方式, 并对耦合结果效果进行建模评估, 进而与拉曼光谱测量中常用的光纤和市面上高端光谱仪器公司 Witec 所售商品级共聚焦拉曼光谱仪 532 nm-alpha300R^[14]进行对比。

2 绝对共轭共聚焦拉曼光谱系统的耦合

2.1 基于光子晶体光纤耦合的绝对共轭共聚焦拉曼光谱系统

本文基于光子晶体光纤耦合搭建一套绝对共轭共聚焦拉曼光谱系统, 如图 1 所示。选择 532 nm 激光(Cobolt DPL 532 nm)作为激发光, 光束经透镜准直后, 被长波通滤光片反射、经显微物镜(Olympus LMPLANFLN 100 \times)聚焦到样品表面; 样品被激发后产生的拉曼信号则透过长波通滤光片, 经带通滤光片滤光后, 透过透镜(Edmund ACH12.5 \times 50VIS0INKED)耦合进光子晶体光纤(NKT LMA-PM-15), 光子晶体光纤最终将拉曼信息传输到光谱仪(光谱相机为 PIXIS100)采集拉曼光谱。实验中通过反射镜(Thorlabs PF05-03-P01-10)的微调, 实现光子晶体光纤的共轭耦合(如图 2)。

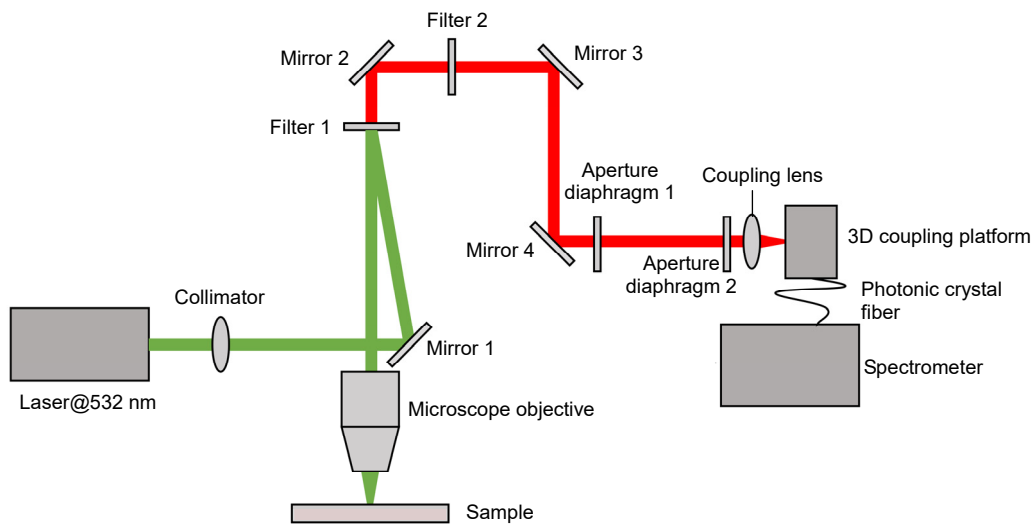


图 1 绝对共轭共聚焦拉曼光路图
Fig. 1 Absolute conjugated confocal Raman spectrogram

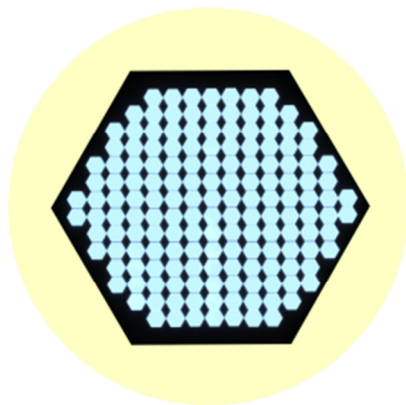


图 2 光子晶体光纤结构图
Fig. 2 Structure diagram of the photonic crystal fiber

2.2 光子晶体光纤的共轭耦合

不同于普通的单模或多模光纤,光子晶体光纤的耦合对于光路的同轴性及光束质量要求更高。为了提高光子晶体光纤的耦合效率,得到更高质量的拉曼光谱,保证光路具有良好的同轴性,入射激光为准直激光,利用剪切干涉仪产生干涉条纹来确保激光准直度。本文介绍一种光子晶体光纤耦合方法,具体步骤如下:

1) 在物镜处放置一片红色荧光片(Thorlabs, VRC2D05)。因为本系统中装载了 532 nm 长通滤光片,所以采用 532 nm 激光对准耦合的方式并不适用。然后安装两个孔径光阑(因为本文中物镜的通光孔径为 3.5 mm,所以孔径光阑也设置为 3.5 mm),在此基础上初步调节反射镜 3、反射镜 4、耦合透镜、三维调节平台

进行初步同轴调整。边调整边观察拉曼峰值,峰值无法提升时为理想位置。

2) 将红色荧光片替换为纯 Si 片,在视野相机观察下将聚焦光斑调节为最小(此处对 Z 轴稳定度要求较高,对于手动调节显微镜的 Z 轴多为机械结构,十分不稳定,本文使用压电平台,如 PI 公司的 10 cm Z 轴平台(L-310&C-663.12))。之后调节三维调节平台进行精密调整,当 Si 片的拉曼峰值无法提升时,开始调整前方反射镜的同轴度,按照从后到前的顺序进行耦合调整,随着调整过程的进行,系统共聚焦共轭程度越来越高,最后 Si 片峰强度达到一个峰值。此时稍微触碰一下三维调节平台都会让 Si 片强度发生强烈的抖动。

因为光子晶体光纤本身特殊的结构形式,使其耦合过程变得复杂,两个过程中最为重要和难度较大的为 Z 轴的稳定程度和双反射镜的同轴程度,对最终结果起到决定性作用。

2.3 调整样品平行度

除光路的同轴性、光束质量等因素,光子晶体光纤的耦合效率、拉曼光谱的质量对显微物镜测试样品时的成像精度影响极大,在显微物镜确定的情况下,测试样品的平行度也会直接影响成像精度。普通多模光纤和单模光纤对样品与载物台的平行度要求不高,但光子晶体光纤对成像精度十分敏感,测试样品微小的平行度误差都会影响到其耦合效率和光谱信号质量。因此在制作测试样本时要尽可能保证测试样本的平行度,以标准的硅片测试为例,在进行硅片测试时

通常需将硅片粘在载玻片上, 需要考虑到硅片粘合时片底残存的粘合剂导致的硅片与载物台不平行误差, 以及粘合剂干燥过程中的收缩所带来的样品不平行误差等。图 3(a)为平行度误差较大的测试硅片, 图 3(b)为经过定点激光测距检测的标准硅片(极差小于 50 nm)。

2.4 其他注意事项

除上述所述, 仍有一些其他因素对拉曼信号强度有较大影响, 如系统中反射镜的反射率、光学元件表面的灰尘等。本文采用表面镀银反射镜, 其反射率达到 97%, 如果反射镜反射率较低会引起光斑色散, 最

终影响实验结果。此外, 系统搭建及实验过程中需要做好防尘工作, 镜片上的灰尘会影响镜片的反射率透过率等光学性能, 光纤接口附着灰尘则会直接影响光线的准直拉曼光谱强度。

3 实验结果与分析

3.1 实验数据处理

本文所用实验样品包括纯硅片、光谱矫正标准参考材料 (SRM2242)、聚苯乙烯 (PS)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*), 经本文系统采集的各样品图谱数据如图 4 所示。

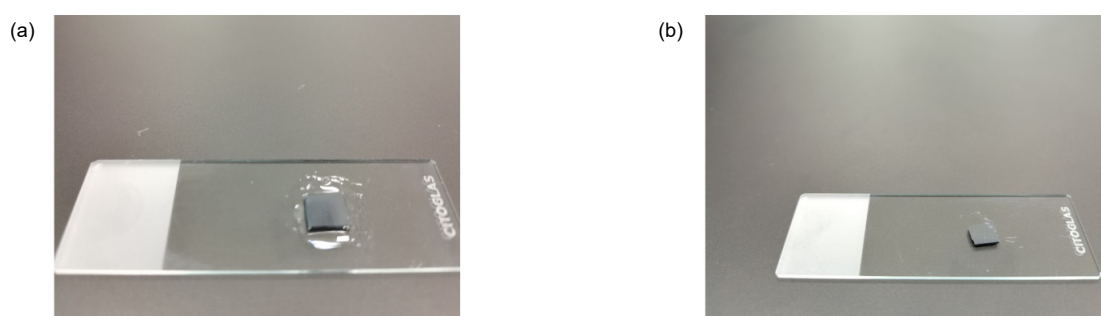


图 3 实验硅片处理前(a)和后(b)对比图

Fig. 3 Comparison of the experimental silicon before (a) and after (b) treatment

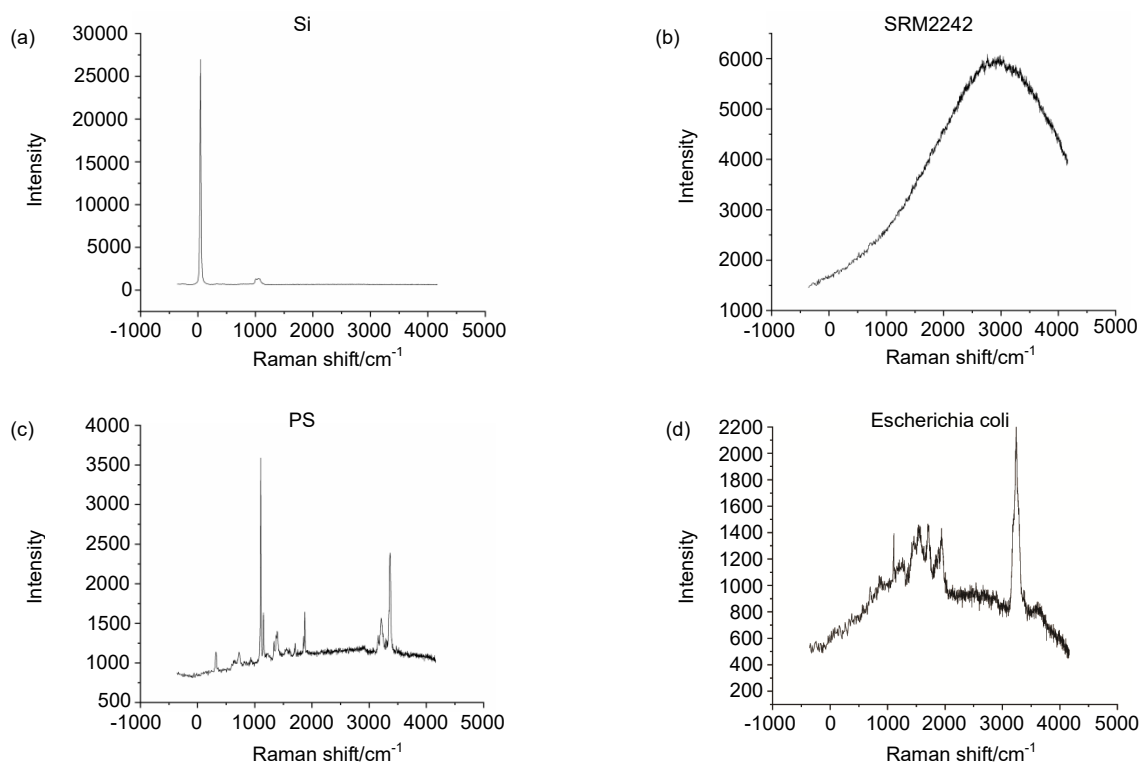


图 4 本文采集样品图谱

Fig. 4 Raman spectrum of the collected samples

测试样品所产生的信号图谱中除包含拉曼信号外, 还有一些荧光信号和背景噪声等, 以大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的拉曼图谱为例, 其中图谱呈现的一个“鼓包”的基线是荧光干扰信号, 而谱线的上下高频抖动则属于背景环境噪声, 对于这些信号需要通过算法进行数据处理, 具体流程如图 5。

本文采用连续小波变换的方式去除信号基线^[15], 对信号进行小波分解, 尺度选择 6, 在该尺度上进行小波重构, 近似得到信号低频信息, 再与原始信号进行对比, 保留低于处理信号的部分, 对高于处理信号的部分, 高出的部分的百分之十与处理信号相加, 多次迭代计算后得到原始信号的基线。本文采用 S-G 滤波方法^[16], 该算法是由 Savitzky 和 Golag 提出, 是一种基于最小二乘原理的多项式平滑算法, 也称卷积平滑。本文设置滤波窗口宽度为 6, 通过对窗口内的数据进行最小二乘法拟合, 然后连续移动窗口, 直到将整个光谱数据拟合完毕, 滤波结果如图 5。

3.2 成像精度对拉曼光谱质量的影响

如前所述, 绝对共轭共聚焦拉曼光谱对成像要求

极为严格, 位于显微物镜的焦点处的测试样本微小的误差, 都会对拉曼光谱产生影响。为探究样品偏离物镜焦点对拉曼信号的影响, 本文使用 25 μm 量程定位精度 50 nm 的压电 Z 轴 (PI 公司) 控制样本距离, 对使用芯径为 25 μm 的单模光纤 (Thorlabs) 和光子晶体光纤 (NKT, LMA-PM-15) 的拉曼光谱系统进行对比实验, 在其他测试条件相同情况下, 测得拉曼光谱如图 6。

从图中可以看出, 对于 Thorlabs-25 μm 光纤当偏离距离为 2.0 μm 时, 拉曼峰值从 1158 衰减到 687, 强度减少 40.67%。而对光子晶体光纤而言, 当偏离距离改变 0.15 μm 时, 峰值强度从 1210 衰减到 685, 强度减少了 43.39%。

3.3 实验结果信噪比分析

为了更能体现绝对共轭共聚焦拉曼系统与常规共聚焦拉曼系统的区别, 由于大肠杆菌背景荧光和样品噪音较强, 本文主要选用大肠杆菌作为对比实验。本文选取拉曼仪器中常用的光纤, 再选择 Witec 所售 532 nm 共聚焦拉曼光谱仪 alpha 300R, 分别与本文进行对照实验。

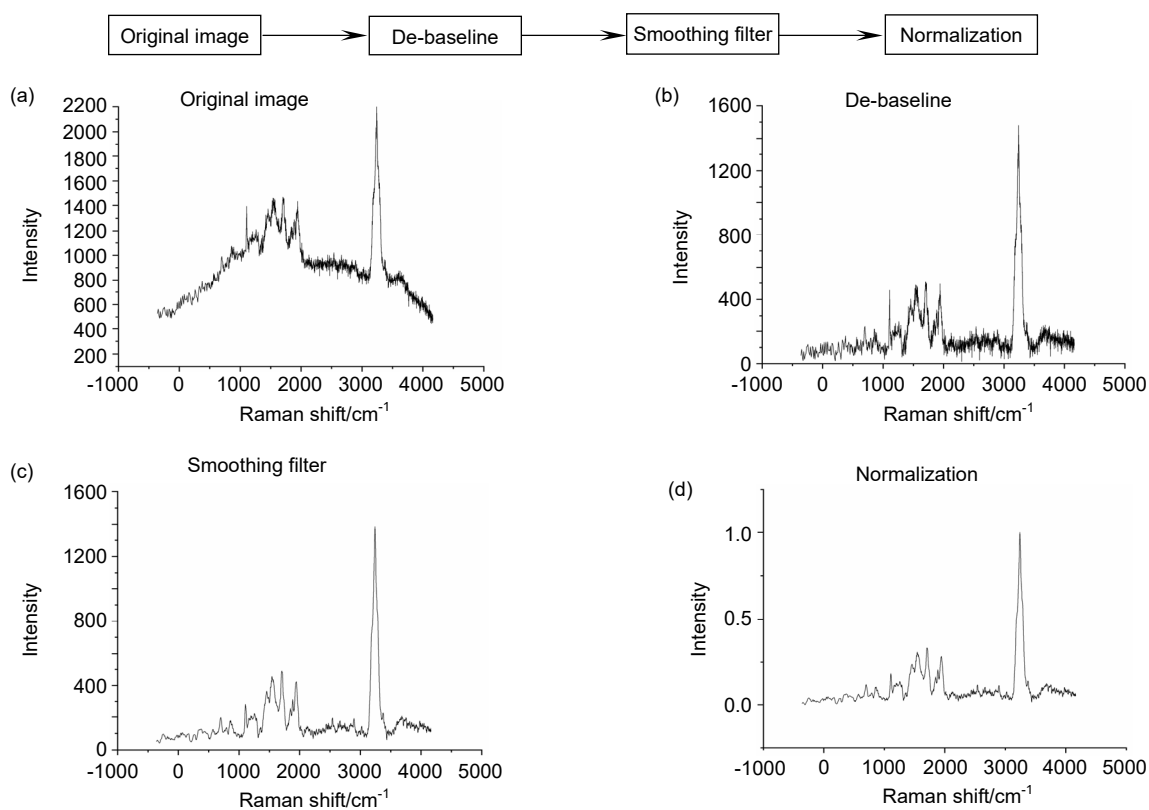


图 5 数据处理流程图

Fig. 5 Flow chart of data processing

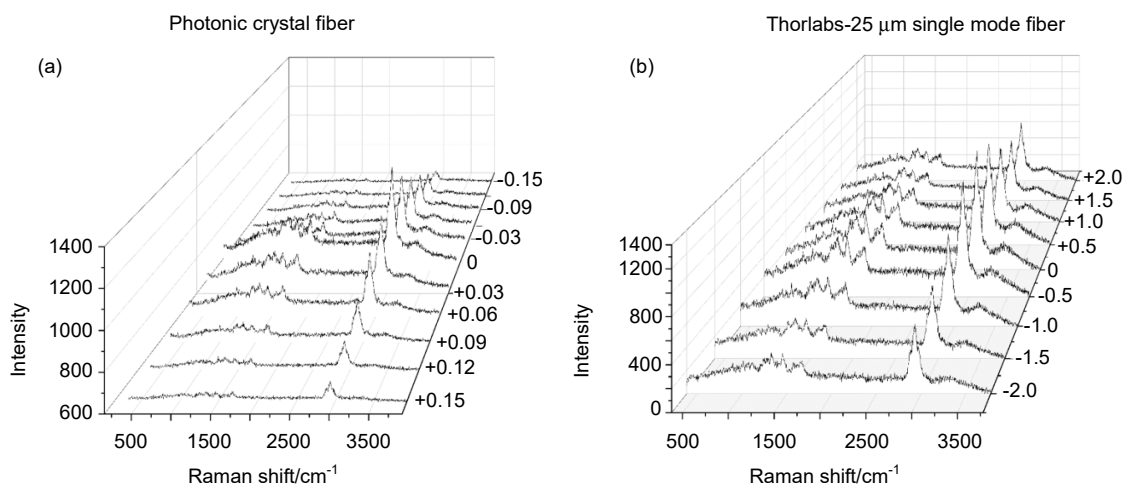


图 6 光子晶体光纤与普通单模光纤成像精度对比图

Fig. 6 Comparison of imaging accuracy between the photonic crystal fiber and the ordinary single-mode fiber

信噪比是评价拉曼光谱信号好坏的重要指标, 从系统整体上来说决定信噪比的因素有很多, 如激光光斑质量、物镜质量、滤光片质量、光纤的材料和种类、拉曼光谱仪的光栅刻线质量、CCD 暗噪音等。但从光纤来说, 决定信号信噪比的主要是光纤材料和芯径大小, 对于光子晶体光纤来说, 主要影响信噪比的是光纤蜂窝状微结构的直径、光纤材料的掺杂物质和掺杂浓度^[17]。

本文为验证绝对共轭共聚焦拉曼光谱系统相比于普通共聚焦拉曼光谱系统的优势, 选取共聚焦拉曼系统中常用的两种芯径为 10 μm 的单模光纤(Thorlabs M64L01、OZ QMMF-UVVIS-10/125-0.25-L)、同样搭载光子晶体光纤产品级共聚焦拉曼光谱仪(Witec, alpha300R)进行对比实验, 同样选用荧光和噪音信号较强的大肠杆菌作为样本, 在激光能量 3 mW, 积分时间 5 s 的相同测试条件下, 得到拉曼光谱如图 7。

图 7(a1)为 Thorlabs M64L01 获得的原始图像; 图 7(a2)为 Thorlabs M64L01 获得图像经去基线, 平滑滤波, 归一化处理后的图像; 图 7(b1)为 OZ QMMF-UVVIS-10/125-0.25-L 获得的原始图像; 图 7(b2)为 OZ QMMF-UVVIS-10/125-0.25-L 获得原始图像经去基线, 平滑滤波, 归一化处理后的图像; 图 7(c1)为 Witec 光谱仪获得的原始图像; 图 7(c2)为 Witec 获得图像经去基线, 平滑滤波, 归一化处理后的图像; 图 7(d1)为本文获得的原始图像; 图 7(d2)为本文获得原始图像经去基线, 平滑滤波, 归一化处理后的图像。

从原始图像可以, 看出本方法获得的原始图像信号质量明显比两种常用光纤得到的结果好。而且主观上与 Witec 相差无几, 本文获得的拉曼强度还高于 Witec, 但具体评价一个拉曼光谱的好坏有很多种方式, 本文通过检验信噪比的方法^[18-19]来进行评判。

一般来说, 针对特定测量的拉曼噪声评价函数为所测强度相对于标准偏差的倒数, 如下式:

$$R_{SNR} = \frac{\bar{S}}{\sigma_y}, \quad (1)$$

式中: \bar{S} 为基线以上拉曼峰的平均强度, σ_y 为该强度的标准偏差。

σ_y 是拉曼测量时的噪声总值, 它是由多种噪声源组合而来, 基本表达式为

$$\sigma_y = (\sigma_s^2 + \sigma_B^2 + \sigma_d^2 + \sigma_F^2 + \sigma_r^2)^{1/2}, \quad (2)$$

式中: σ_s 为所测拉曼峰的标准偏差, σ_B 为背景的标准偏差, σ_d 为探测器暗信号的标准偏差, σ_F 为 1/f 噪声, σ_r 为读出噪声。

建立图像评估模型后分别对两种光纤、Witec 和本文获得的图像质量进行评估, 结果如表 1 所示。

从表中可以看出, 相同实验条件下, Thorlabs 和 OZ 的光纤信噪比分别为 37.1557 和 40.0342, 光子晶体光纤显著高于两者近一倍, 可见光子晶体光纤性能的优越之处。反观 Witec 共聚焦拉曼光谱仪的信噪比为 65.5312, 而本文获得的拉曼光谱信噪比为 73.8382, 高于 Witec 12.68%, 本文获得的图谱质量信噪比也明显优于 Witec 商品级共聚焦拉曼光谱仪。

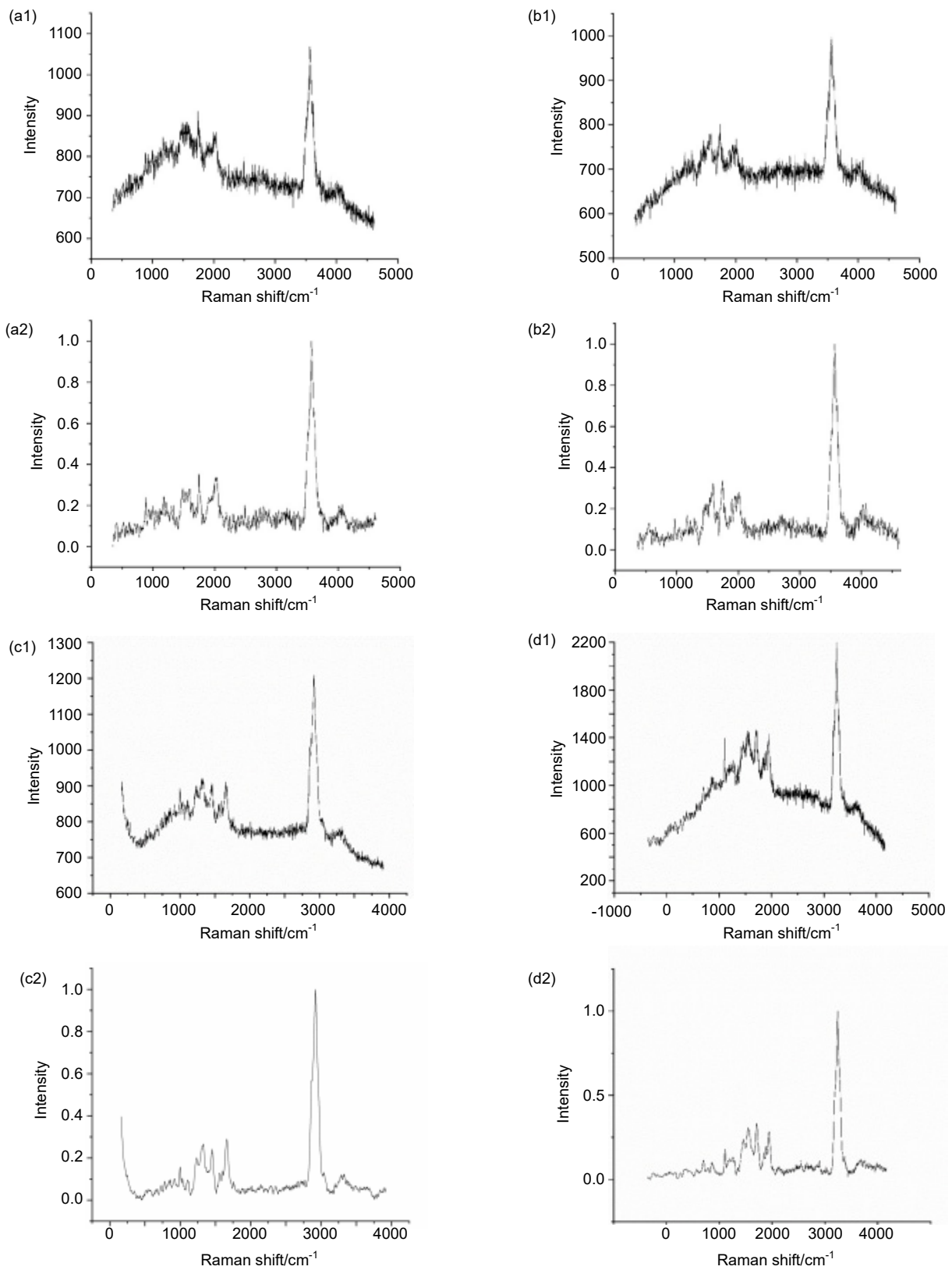


图 7 两种光纤和 Witec 与本文采集大肠杆菌拉曼信号对比图

Fig. 7 Comparison of Raman signals of *Escherichia coli* collected by two kinds of optical fibers and Witec and this article

表 1 两种光纤和 Witec 与本文信噪比对比表
Table 1 SNR comparison table between Witec and this paper

	Thorlabs	OZ	Witec	Our
SNR	37.2384	40.0318	64.6236	70.5219
	36.8945	40.2175	66.1375	71.3961
	37.3341	39.8532	65.8325	73.5965
Average	37.1557	40.0342	65.5312	73.8382

4 总结

为提高拉曼光谱信号强度与质量, 本文设计一种新型的通过外接光子晶体光纤实现绝对共轭的共聚焦拉曼系统, 并对光子晶体光纤耦合过程中出现的工程技术问题做出总结。通过对荧光信号、背景噪声干扰较大的大肠杆菌样品进行测试, 与 Thorlabs、OZ 两种芯径为 10 μm 的单模光纤、Witec 532 nm- α 300R 产品级共聚焦拉曼光谱仪进行对比, 验证了绝对共轭共聚焦拉曼光谱系统在光谱信号强度和质量上的优势。从其更高的光谱强度、更好的信号质量以及应用于生物样本测试的特性, 可以推测这种绝对共轭共聚焦拉曼光谱系统将具有更高的市场竞争力和广阔的市场前景。

参考文献

- [1] Beysac O, Goffé B, Chopin C, et al. Raman spectra of carbonaceous material in metasediments: a new geothermometer[J]. *J Metamorph Geol*, 2002, **20**(9): 859–871.
- [2] Bersani D, Lottici P P. Applications of Raman spectroscopy to gemology[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, **397**(7): 2631–2646.
- [3] Dieing T, Hollricher O, Toporski J. *Confocal Raman Microscopy*[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011.
- [4] Stiles P L, Dieringer J A, Shah N C, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Annu Rev Anal Chem*, 2008, **1**: 601–626.
- [5] Carey P. *Biochemical Applications of Raman and Resonance Raman Spectroscopies*[M]. Amsterdam: Elsevier, 2012.
- [6] Stöckle R M, Suh Y D, Deckert V, et al. Nanoscale chemical analysis by tip-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Chem Phys Lett*, 2000, **318**(1–3): 131–136.
- [7] Russell P S J. Photonic band gaps[J]. *Phys World*, 1992, **5**(8): 37–42.
- [8] Knight J C, Birks T A, Russell P S J, et al. All-silica single-mode optical fiber with photonic crystal cladding[J]. *Opt Lett*, 1996, **21**(19): 1547–1549.
- [9] Cregan R F, Mangan B J, Knight J C, et al. Single-mode photonic band gap guidance of light in air[J]. *Science*, 1999, **285**(5433): 1537–1539.
- [10] Chen Y E, Hou L T. Preparation of Yb³⁺ doped double-clad photonic crystal fiber[J]. *Opto-Electron Eng*, 2009, **36**(2): 62–66. 陈月娥, 侯蓝田. Yb³⁺掺杂双包层光子晶体光纤制备研究[J]. 光电工程, 2009, **36**(2): 62–66.
- [11] Zhang X D, Yuan M M, Chang M, et al. Characteristics in square air hole structure photonic crystal fiber[J]. *Opto-Electron Eng*, 2018, **45**(5): 20–28. 张学典, 袁曼曼, 常敏, 等. 正方形空气孔光子晶体光纤特性分析[J]. 光电工程, 2018, **45**(5): 20–28.
- [12] Wang Q Y, Hu M L, Chai L. Progress in nonlinear optics with photonic crystal fibers[J]. *Chin J Lasers*, 2006, **33**(1): 57–66. 王清月, 胡明列, 柴路. 光子晶体光纤非线性光学研究新进展[J]. 中国激光, 2006, **33**(1): 57–66.
- [13] Folkenberg J R, Nielsen M D, Mortensen N A, et al. Polarization maintaining large mode area photonic crystal fiber[J]. *Opt Express*, 2004, **12**(5): 956–960.
- [14] Polis B, Imiela A, Polis L, et al. Raman spectroscopy for medulloblastoma[J]. *Child's Nervous System*, 2018, **34**(12): 2425–2430.
- [15] Lv M L. Baseline correction and noise suppression of Raman spectroscopy[D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2017. 吕明磊. 拉曼光谱基线校正与噪声抑制技术研究[D]. 成都: 电子科技大学, 2017.
- [16] He Y J, Xie D H, Zhong R F. Research on SG filtering algorithm based on hyperspectral image[J]. *J Cap Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2018, **39**(2): 70–75. 何英杰, 谢东海, 钟若飞. 基于高光谱影像的 SG 滤波算法的研究[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2018, **39**(2): 70–75.
- [17] Shang T, Li F, Liu Z J. Numerical analysis of Raman amplifier based on triangular photonic crystal fiber[J]. *J Commun*, 2008, **29**(8): 63–68. 尚韬, 李锋, 刘增基. 基于光子晶体光纤的拉曼放大器特性研究[J]. 通信学报, 2008, **29**(8): 63–68.
- [18] Chen J M. Extraction of weak raman spectral imaging information and SNR estimation[J]. *Digit Technol Appl*, 2019, **37**(4): 100–103. 陈金敏. 微弱拉曼光谱成像信息提取及 SNR 估计[J]. 数字技术与应用, 2019, **37**(4): 100–103.
- [19] Zhang Z M, Chen S, Liang Y Z, et al. An intelligent background - correction algorithm for highly fluorescent samples in Raman spectroscopy[J]. *J Raman Spectrosc*, 2010, **41**(6): 659–669.

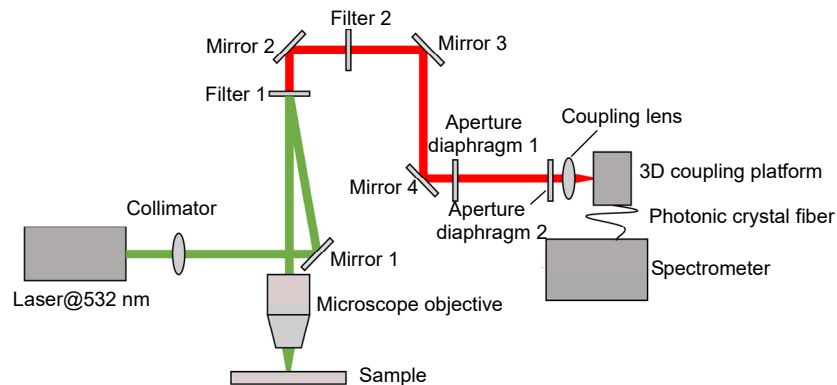
Research on absolute conjugation confocal Raman spectroscopy technology

Shang Lindong^{1,2}, Liang Peng^{1,2}, Wu Qingyi^{1,2}, Xiao Dongyang³,
Xu Liwei³, Liu Kunxiang^{1,2}, Li Bei^{1,2,3*}

¹Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics,
Chinese Academy of Sciences, Changchun, Jilin 130031, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³HOOKE Instruments Ltd, Changchun, Jilin 130031, China



Absolute conjugated confocal Raman spectrogram

Overview: After the discovery of the Raman scattering effect, due to its high sensitivity and non-invasiveness to test samples, it has been more and more used in materials testing, jewelry identification and other fields. However, in the direction of biological samples, such as bacterial metabolism detection, microbial discrimination, etc., the intensity of Raman spectroscopy is relatively weak, and the signal-to-noise ratio is low. As a conventional Raman signal acquisition method, the confocal Raman system occupies an important position in many Raman systems. However, most confocal Raman systems mostly use small holes or slits, and rarely use photonic crystal fibers. Aiming at the problems of weak signal strength and low signal-to-noise ratio of traditional Raman spectroscopy, a new confocal Raman system is proposed. The system realizes the absolute conjugation of the confocal point through the external photonic crystal fiber. Secondly, the difference in imaging accuracy between photonic crystal fiber and other single-mode fibers is verified, and it is found that the imaging accuracy of photonic crystal fiber is much higher than that of ordinary single-mode fiber. Then, the actual samples were tested and verified, and *Escherichia coli* with high background noise was screened out. The test results were compared with the optical fibers used in Thorlabs and OZ conventional confocal Raman systems and Witec 532 nm-alpha300R confocal Raman systems. Under the conditions of the same laser intensity of 3 mW and integration time of 5 s, the signal-to-noise ratio obtained is 73.8382, which is higher than that of Thorlabs and OZ systems. Compared with the 65.5312 of the Witec 532 nm-alpha300R confocal Raman system, the Raman signal quality of the two single-mode fibers are 37.1557 and 40.0342 respectively, an increase of 12.68%. It can be seen that the quality of the Raman signal obtained in this paper is relatively high. Absolutely conjugated confocal Raman system will promote the application of photonic crystal fiber in biological cell Raman, and has a very broad application prospect.

Shang L D, Liang P, Wu Q Y, *et al.* Research on absolute conjugation confocal Raman spectroscopy technology[J]. *Opto-Electron Eng*, 2021, 48(6): 200398; DOI: 10.12086/oe.2021.200398

Foundation item: National Key R & D Program "International Cooperation in Science and Technology Innovation Between Governments/Cooperation in Science and Technology Innovation Between Hong Kong, Macao and Taiwan" (SQ2018YFE010810)

* E-mail: beili@ciomp.ac.cn