

激光拉曼光谱及其应用进展

刘 玲

(西南师范大学化学化工学院, 重庆 400715)

摘 要: 综述了近年来激光拉曼光谱的几种分析技术及其应用, 涉及到的激光拉曼光谱有傅立叶变换拉曼光谱、表面增强拉曼光谱、激光共振拉曼光谱、高温激光拉曼光谱、激光拉曼显微及激光拉曼遥测技术等。

关键词: 激光拉曼光谱; 应用

中图分类号: O 652 **文献标识码:** A

从 1928 年起, 拉曼光谱的发现距今已有 70 余年。激光技术的兴起使拉曼光谱成为激光分析中最活跃的研究领域之一。激光拉曼和红外光谱相辅相成, 成为进行分子振动和分子结构鉴定的有利工具, 被应用于纳米材料^[1, 2]、水中代谢物^[3]、药物及药物成形剂^[4]、植物有效成分^[5]的结构分析。但传统拉曼光谱仪信号弱, 灵敏度低, 应用范围受到限制。为了提高激光拉曼光谱的信号强度, 人们进行了大量卓有成效的研究工作, 提出了一些新的激光拉曼分析技术及方法, 本文就近五年来各种拉曼光谱技术在分析化学中的应用作一评述。

1 傅立叶变换拉曼光谱技术

1987 年, Perkin Elmer 公司推出第一台近红外激发傅立叶变换拉曼光谱(NIR FT-R)商品仪, 它采用傅立叶变换技术对信号进行收集, 多次累加来提高信噪比, 并用 1064nm 的近红外激光照射样品, 大大减弱了荧光背景。从此, NIR FT-R 在化学、生物学和生物医学样品的非破坏性结构分析方面显示出了巨大的生命力。1996 年, 周光明等^[6]就傅立叶变换拉曼光谱在无机、有机化合物、生物材料、高聚物等方面应用作过详尽综述。近几年来, 化学工作者们对 FT-Raman 光谱仍在不断探索。王斌等^[7]采用 FT-Raman 光谱仪对蛋白质样品进行多次扫描, 曲线拟合原始光谱图, 以子峰面积表征对应二级结构含量, 从而对蛋白质二级结构进行定量分析。可以根据人体正常组织和病变组织的 FT-Raman 光谱差异从分子水平鉴别和研究病变的起因^[8, 9]。孙素琴首次利用 FT-Raman 光谱直接、准确、快速、无损地测定了 23 种常用植物生药材, 并根据每种药材的光谱特征进行分类^[10]。FT-Raman 光谱技术还应用在测定家兔体液中的葡萄糖含量^[11]、亚麻油的组分^[12]、棉织物上的有机染料^[13]、碳酸钙的固相分析^[14]以及共聚物^[15]、金属有机化合物^[16]的结构研究等等。

2 表面增强拉曼光谱技术

自 1974 年 Fleischmann 等人发现吸附在粗糙化的 Ag 电极表现的吡啶分子具有巨大的拉曼散射现象, 后被 Duyne 等人证实其表现增强因子可达 10⁶, 加之活性载体表面选择吸附分子对荧光发射的抑制, 使激光拉曼光谱分析的信噪比大大提高, 这种表面增强效应被称为表面增强拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, 简称 SERS)。迄今为止的研究主要集中在探讨表面增强的理论模型, 寻找新的体系和实验方法以及进行表面增强拉曼光谱的应用研究。关于表面增强效应产生的机理现已提出十余种理论模型, 但普遍适用的完善模型尚在不断探索之中。随着表面增强拉曼光谱分析的深入, 新的表面活性载体和具有表面增强效应的物质不断涌现, 除了早期的金属电极外, 目前最普遍的活性载体为金属溶胶、金属沉积岛状膜等。为了提高 SERS 的灵敏度、稳定性和重现性, 氧化银溶液、氯化银溶胶等新的活性基质, 激光烧蚀、酸蚀、渗银、涂银等活性载体制备技术也在开发应用中。SERS 技术是一种新的表面测试技术, 可以在分子水平上研究材料分子的结构信息, 如银纳米粒

子^[17], 银胶体粒子上的联喹啉^[18]等。它与电化学方法相结合不仅可以用来研究缓冲剂对金属的缓蚀性能, 而且还能了解缓蚀剂分子在金属表面上的吸附模式, 与金属的结合状态以及对金属的缓蚀机理。如电镀液防腐添加剂硫脲(TU)分子在酸性溶液中的表面增强拉曼散射, 揭示了TU分子是通过硫原子倾斜着吸附在银表面。顾仁敖等^[19]利用SERS技术电化学法, 研究了硫脲和苯基硫脲两种探针分子在铁表面吸附, 从分子水平上考察它们与铁的互相作用, 进一步探讨缓蚀剂性能与分子结构关系。夏静芬等^[20]同样方法研究了环腺苷酸在银电极和金电极上的增强拉曼光谱。除此之外, SERS技术在表面络合物研究、医药和生物等方面也有广泛应用。胡继明^[21]探索了钌(II)联吡啶配合物与DNA相互作用的SERS, 提出了将SERS与荧光光谱一道用作抗癌药物活性的体外筛选法。周性饶^[22]研究了金属离子(Zn^{2+} , Cd^{2+})与胆红素、胆绿素的SERS, 通过Raman谱图, 得出 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 络合物构型, 为生物功能反应提供有用信息。

近年来, 近红外激发傅立叶变换拉曼光谱与表面增强拉曼散射技术联用, 同时具备激发光源能量较低和样品量少特点, 从而进一步减少样品分子的荧光背景, 在谱图上可以给出比可见拉曼光谱更为丰富精细的谱带结构。它以测定浓度、强荧光背景的生物分子提供了有效手段。利用SERS-FT-Raman技术, 人们获得DNA中鸟嘌呤、鸟苷等碱基水溶液在较低浓度下不受荧光干扰的拉曼谱图^[23]。由于SERS光谱具有选择性好及灵敏度高等优点, 它还可以作为色谱及流动注射分析的检测手段, 在进行成分分离时还可以进行各组组分的指纹鉴定, 对于天然有机物、违禁药物等分析有重要意义。如利用薄层原位TLC-SERS光谱, 研究氨基酸的结构信息^[24]。作为一门分析测试技术, 今后一段时间内, SERS的研究仍将集中在提高SERS稳定性、重视性和拓展分析应用范围, 如开展非水体系中SERS的研究^[25]。

3 激光共振拉曼光谱

激光共振拉曼光谱(RRS)产生激光频率与待测分子的某个电子吸收峰接近或重合时, 这一分子的某个或几个特征拉曼谱带强度可达到正常拉曼谱带的104~106倍, 并观察到正常拉曼效应中难以出现的、其强度可与基频相比拟的泛音及组合振动光谱。与正常拉曼光谱相比, 共振拉曼光谱灵敏度高, 可用于低浓度和微量样品检测, 特别适用于生特大分子样品检测, 可不加处理的得到人体体液的拉曼谱图。用共振拉曼偏振测量技术, 还可得到有关分子对称性的信息。RRS在低浓度样品的检测和络合物结构表征中, 发挥着重要作用。结合表面增强技术, 灵敏度已达到单分子检测^[26]。近年, 人们发现许多生物分子的电子吸收位于紫外区, 加强了对生物样品的紫外共振拉曼研究。Wen等在这方面做了大量工作, 他们利用紫外共振拉曼技术先后研究了蛋白质、核酸^[27]、DNA^[28]、丝状病毒粒子^[29]、牛细胞色素氧化酶^[30]等。

4 激光拉曼显微技术和激光拉曼遥测技术

激光拉曼显微光谱是将入射激光通过显微镜聚焦到样品上, 从而可以不受周围物质干扰情况下, 精确获得所照样品微区的有关化学成分、晶体结构、分子相互作用以及分子取向等各种拉曼光谱信息。目前已广泛用于矿物夹杂物、环境污染、催化剂的成分鉴别、文物的鉴定和修复、材料非均匀性、产品结构的在位和无损检测、公安法学等方面。我们可以利用显微拉曼光谱对各种碳素笔的微量笔迹进行拉曼光谱研究^[31]。随着共焦显微技术在拉曼仪器中的应用, 有效排除了来自焦平面之外其它层信号的干扰, 消除溶液本体信号对分析层信号影响, 从而具有更高的纵向分辨率。任斌等将此技术用于界面科学研究^[32]。由于共焦显微拉曼系统具逐层析及三维成像能力, 被用来反映单个细菌细胞的多维信息^[33]。Fujishima等人^[34]将共焦显微拉曼系统与SERS技术结合发展了表现增强拉曼成像技术(SERI)。SERI可以将表面增强拉曼光谱研究从SERS效应较强的Ag、Au、Cu表面拓宽到一些弱效应的过渡金属如Pt^[35]、Ni^[36]、Fe^[37]的表面, 获得了一些有机小分子和无机离子的表面增强拉曼光谱。若在光路中采用光导纤维, 可以对远距离、特殊环境样品的正常拉曼散射、FT-Raman等进行原位遥感探测。FT-Raman光纤探针测定已成为单个流体包裹体的最有效的分支技术, 李维华等^[38]用它测出九种与地球化学有关的气体拉曼定量因子。若在液态光纤内产生共振拉曼效应, 可以提高光谱强度 10^9 倍^[39], 从而得到 10^{-10} mol/L ~ 10^{-15} mol/L 浓度下碘主 β -胡萝卜素在CS₂中的光纤共振拉曼光谱^[40]。Greek利用共振拉曼光纤探头测定低浓度芳香氨基酸蛋白质及激素含量, 检测出限量级达 10^{-13} mol/L。这一技术为分子光谱研究提供了一种新的实验方法, 在痕量分析、液体中少量分子相互作用研究等方面有很大应用潜力。

5 高温激光拉曼光谱技术

高温激光拉曼技术被用于冶金、玻璃、地质化学、晶体生长等领域, 用它来研究固体的高温相变过程, 熔体的键合结构等。然而这些测试需在高温下进行, 必须对常规拉曼仪进行技术改造。日本的Iguchi教授^[41], 法国的Gillet教授等先后开发了较先进的高温拉曼光谱测试技术。在国内, 上海钢铁冶金技术开发应用重点实验室在原有拉曼光谱仪基础上配置了脉冲激光光源, 时间分辨探测系统和高温炉, 实现了达2023K的高温控制^[42], 并进行了二硅酸钠晶体、玻璃及其熔体结构的拉曼光谱研究^[43]。

经过几十年的发展, 激光拉曼光谱技术已成为一门比较成熟的分析测试方法, 用于各个领域。我们相信随着激光技术及

光谱处理技术的进一步开发, 激光拉曼技术将必然会被更广泛应用。

参考文献:

- [1] 李颖, 段玉灰, 李维华. 纳米锐钛矿的拉曼光谱特征[J]. 光谱光与光谱分析, 2000, **20**(5): 699
- [2] 汪盛. 纳米无机巨簇分子的红外拉曼光谱研究. 光谱学与光谱分析, 2000, **20**(6): 838
- [3] WANG S Y, HASTYU C E, WASTON P A, *et al*. Analysis of metabolites in aqueous solutions by using Laser Raman spectroscopy[J]. *Applied Optics*, 1993, **32**: 925
- [4] STEVEN E J BELL, THORBURN BURNS D, *et al*. Rapid analysis of ecstasy and related phenethylamines in seized tablets by Raman spectroscopy[J]. *Analyst*, 2000, **125**: 541
- [5] 吴维中, 柯惟中. 激光拉曼光谱法验证中草药有效成分的结构特征[J]. 光谱学及光谱分析, 1995, **15**(4) (6): 51
- [6] 周光明, 盛蓉生, 曾云鹗. 傅立叶变换拉曼光谱的分析应用进展[J]. 分析化学, 1996, **24**(6): 729
- [7] 王斌, 王清, 余江, 刘会洲. 蛋白质的傅立叶拉曼谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 1999, **19**(5): 674
- [8] 郭萍, 易光辉, 熊平. 癌症患者血清的激光拉曼谱[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, **20**(6): 844
- [9] 凌晓峰, 李维红, 宋苑苍. 胃癌组织的拉曼光谱初探[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, **20**(5): 692
- [10] 孙素琴, 周群, 张宣, 等. 傅立叶变换拉曼光谱无损鉴别植物生药材[J]. 分析化学, 2000, **28**(2): 211
- [11] JAMES LAMBERT, M CHALE STORR IE, MARK BORCHERT. Measurement of physiological glucose levels Raman spectroscopy, in a rabbit aqueous humor model[J]. *LEOS*, 1998, **12**(2): 311
- [12] 东野广智, 周群, 孙素琴, 等. 亚麻油组分的红外和拉曼光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, **20**(6): 836
- [13] KOKOT, S TUAN N A, R NTOUL L. Discrimination of Reaction Dyes on Cotton Fabric by Raman Spectroscopy and Chemometrics[J]. *Appl Spectrosc*, 1997, **51**(3): 387
- [14] CHRISTOS G KONTOTYANNIS, NIKOS VAGENAS V. Calcium carbonate phase analysis using XRD and Raman spectroscopy[J]. *Analyst*, 2000, **125**: 251
- [15] 王靖, 郭晨, 刘会州. 嵌段共聚物傅立叶变换拉曼光谱[J]. 分析化学, 2001, **29**(1): 35
- [16] 许振华 A Mayr. 异多核金属三键有机化合物的红外及拉曼光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, **20**(5): 702
- [17] 郑军伟, 李晓伟, 顾仁敖, 等. 银纳米粒子阵列的自组装及其表面增强拉曼光谱应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, **20**(6): 814
- [18] JOYDEEP CHOWDHURY, MANASH GHOSH, M ISRA T N. Surface-enhanced Raman scattering of 2, 2'-biquinoline adsorbed on colloidal silver particles[J]. *Spectrochimica Acta Part A*, 2000, **51**: 2107
- [19] 顾仁敖, 邓正发, 孙如. SERS 光谱及电化学法研究硫脲和苯基硫脲对铁的缓蚀作用[J]. 光谱学与光谱分析, 1997, **17**(6): 15
- [20] 夏静芬, 沈鹤柏, 杨海峰, 等. 环腺苷酸在银电极和金电极上的增强拉曼光谱[J]. 上海师范大学学报(自然版), 2000, **29**(2): 167
- [21] 喻凌涛, 胡继明. 用 SERS 研究一种新的钉联吡啶配合物及其与 DNA 作用机理[J]. 光谱学与光谱分析, 1999, **19**(5): 670
- [22] 周性饶, 何季平, 鲁贤丹, 等. 金属离子 Zn^{2+} , Cd^{2+} 对胆红素, 胆绿素表面增强拉曼光谱影响[J]. 光谱学与光谱分析, 1995, **15**(2): 27
- [23] 龙耀庭, 周立启. 鸟嘌呤, 鸟苷及其甲基化衍生物的近红外傅立叶变换表面增强拉曼光谱[J]. 分析化学, 1996, **24**(3): 258
- [24] 汪媛, 于秉正, 王婷, 等. 氨基酸在薄层原位的傅立叶变换表面增强拉曼光谱特性[J]. 分析化学, 1998, **26**(9): 1047
- [25] 顾仁敖, 曹佩根, 姚建材. 表面增强拉曼光谱在非水体系中的研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 1999, **19**(4): 531
- [26] NIE S, EMORY S R. Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering[J]. *Science*, 1997, **275**: 1102
- [27] THOMAS G J. Raman spectroscopy of protein and nucleic acid assemblies[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1999, **28**: 1
- [28] WEN A Q, THOMAS G J. UV Resonance Raman spectroscopy of differences in DNA organization of viruses[J]. *Biochemistry*, 1998, **45**: 247
- [29] WEN A Q, THOMAS G J. UV Resonance Raman spectroscopy of the filamentous virus[J]. *Biochemistry*, 1999, **38**: 3148

- [30] AKIM OGURA T, SHINZAWA - ITOH K, *et al.* A new measurement system for UV Resonance Raman spectroscopy of large proteins and its application to cytochrome oxidase[J] *J Phys Chem B*, 2000, **104**: 10765
- [31] 谭红琳, 张鹏翔, 刘勇. 显微拉曼光谱在碳素笔笔迹方面研究[J] *光谱学及光谱分析*, 1999, **19**(5): 691
- [32] 任斌, 李筱琴, 谢冰, 等. 共焦显微拉曼光谱在界面研究中的应用[J] *光谱学及光谱分析*, 2000, **20**(60): 648
- [33] CHRISTIAN K SEHUSTER, NGO REESE, ELAURAUB, *et al.* Multidimensional information on the chemical composition of single bacterial cells by confocal raman microscopy[J] *Anal Chem*, 2000, **72**(22): 5529
- [34] YANG XM, TRYKDA, HASHIMOTO K, FUJISHIMA A, Surface- Enhanced Raman Imaging (SERI) as a Technique for Imaging Molecular Monolayers with Chemical Selection Under Ambient Conditions[J] *J Raman Spectroscopy*, 1998, **29**(8): 725
- [35] TIAN ZQ, REN BMAO BW. Extending Surface Raman Spectroscopy to Transition Metal Surface for Practical Application. 1. Vibration Properties of Thiocyanate and Carbon Monoxide Adsorbed on Electrochemically Activated Platinum Surfaces[J] *J Phys Chem B*, 1997, **101**: 1338
- [36] HUANG QJ, YAO JL, MAO BW, *et al.* Surface Raman Spectroscopic Studies of Pyrazine Alkane Chain on Si(III) 7 × 7 Studies by STM [J] *Chem Phys Letter*, 1997, **271**(1): 101
- [37] CAO PG, YAO JL, REN B, *et al.* Surface- enhanced Raman scattering from bare Fe electrode[J] *Chem Phys Letter*, 2000, **316**: 1
- [38] 李维华, 段玉然. 傅立叶变换拉曼探针测定九种气体的定量因子[J] *岩矿测试*, 1999, **18**(6): 11
- [39] 里佐威, 高素琴, 张玮, 等. 光纤共振拉曼光谱法痕量分析研究[J] *分析化学*, 1999, **27**(5): 570
- [40] 里佐威, 高素琴, 张玮, 等. 低浓度样品拉曼光谱的实验研究[J] *分析化学*, 2000, **28**(12): 1512
- [41] KASHI D S, IGUCHI Y, GOTO T, *et al.* Raman spectroscopic study on the structure of silicate slag transaction[J] *Science*, 1980, **20**(20): 251
- [42] 蒋国昌, 尤静林, 余丙鲲, 等. 高温拉曼光谱测试技术进展[J] *光谱学及光谱分析*, 2000, **20**(2): 206
- [43] 尤静林, 蒋国昌, 徐匡迪. 二硅酸钠晶体、玻璃及其熔体结构的拉曼光谱研究[J] *光谱学及光谱分析*, 2000, **20**(6): 797

Laser Raman Spectroscopy and the Advance of Its Application

LIU Ling

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwestern Normal University, Chongqing 400715, China)

Abstract An overview is given on some kinds of the Laser Raman Spectroscopy and the advance of its application, which include Fourier transform - Raman spectroscopy, surface- enhanced Raman spectroscopy, resonance Raman spectroscopy, high temperature Raman spectroscopy, Raman microscopy and Raman telescope techniques. In the paper, 43 Papers were cited.

Key words Laser Raman Spectroscopy; application