

## 空间分辨(深度剖析)光谱法在 拉曼和荧光光谱中的应用\*

徐晓轩 王吉有 朱 箭 张存洲 张光寅

(南开大学物理科学学院光子学中心, 天津, 300071)

**摘要** 利用共焦显微镜纵向扫描采样手段, 发展了一种空间分辨(深度剖析)光谱方法进行荧光光谱和拉曼光谱的甄别以及它们相应跃迁的指认. 利用荧光的自吸收现象, 成功地甄别了 Nd:YAG 晶体中拉曼和荧光光谱, 并详尽指认了荧光光谱线的相应跃迁归属.

**关键词** 深度剖析, 自吸收, 显微拉曼光谱, 荧光光谱, Nd:YAG.

## ANALYSIS OF FLUORESCENT AND RAMAN SPECTRA WITH SPATIAL RESOLUTION (DEPTH ANALYSIS) METHOD\*

XU Xiao-Xuan WANG Ji-You ZHU Jian ZHANG Cun-Zhou ZHANG Guang-Yin

(Photonics Center, Institute of Physics, NanKai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract** A depth analysis spectra method for researching fluorescent and Raman spectra was developed since a self-absorption was often observed in fluorescent spectra of thick solid sample. The intensity change of self-absorption could be observed to explore the secrets of solid state spectra by depth analysis method. The Raman and fluorescent spectra of Nd<sup>3+</sup>:YAG crystal were measured with 633nm of HN laser and 514.5nm of Ar<sup>+</sup> laser. Some fluorescent lines which possess self-absorption were observed, whose intensity changes with depth of confocal plane. It shows that spatial resolution (depth analysis) method is a powerful experimental means for studying solid state spectroscopy.

**Key words** depth analysis, self-absorption, micro-Raman spectroscopy, fluorescence spectroscopy, Nd:YAG.

### 引言

在固体光谱研究中, 掺稀土和过渡族金属离子材料的光学性质占据着重要的地位. 它们的拉曼光谱和荧光光谱经常是伴生的, 而且具有比较复杂的光谱结构, 往往属于不同性质的能态跃迁. 寻求甄别这些光谱结构的性质和归属的行之有效的办法是很有意义的. 我们对光谱 Nd:YAG 晶体材料进行荧光光谱研究时, 经常发现有自吸收现象, 这种自吸收现象往往在激发位于样品内部深处的发光中心时发生, 而且愈深入样品内部, 自吸收现象愈严重, 而拉曼散射则不易产生吸收现象. 在利用共焦显微镜进行微区光谱采样时, 更容易发生上述现象. 通常意义的空间分辨光谱是指在一个三维空间中(三维样品材料中)指定 X,

Y, Z 点处一个微小区域内的物质材料的光谱. 共焦显微镜比普通显微镜具有更高的空间(横向和纵向)分辨率和信号噪音比, 已被广泛应用于空间分辨光谱. 晶体中稀土和过渡金属离子发光中心的荧光和自吸收强度与其相应能级的位置、寿命和布居数有关. 因此, 利用共焦显微镜的纵向扫描采样进行光谱深度剖析, 通过荧光和自吸收随深度的变化, 更有利于分析判断与这些荧光线相应的能级跃迁.

### 1 实验装置及方法

本文实验中使用的是 RENISHAW 公司生产的 MKI-2000 型拉曼光谱仪, 其配备有 LEICA 的共焦显微镜及三维微动平台, 平台精度为 XY 轴(横向)为 0.1 $\mu$ m, Z 轴(纵向)为 1 $\mu$ m, 激发波长分别为氩氦

\* 国家自然科学基金(编号 69678015, 69778007)资助项目  
稿件收到日期 2000-08-12, 修改稿收到日期 2001-02-15

\* The project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 69678015, 69778007)

Received 2000-08-12, revised 2001-02-15

激光 633nm 及氩离子激光 514nm.

扫描共焦显微镜(SCFM)是具有三维空间分辨能力的光学显微镜,其基本原理如图 1 所示.它采用两组(或重复使用同一组)传统显微光学系统,在同一焦平面上组合,光源针孔和探测针孔称为共焦光阑,它们与物平面中的点源真正的光学共轭.光源针孔的作用是将所形成的点光源成像到焦平面样品上,实现了微小的照明区域.由于只有被照明的部分样品散射或反射的光信号才会被接受,所以保证了显微镜的横向空间分辨率.

在光源照明区域内但不在焦平面上的样品也会散射或反射光信号,背景上的杂散光因为处于样品上离焦区域,所以被与光源针孔共焦的探测针孔所形成的空间滤波器强烈地衰减,这样对信号的主要贡献是处于焦平面上的样品被显微镜所观察的那一薄层的信号,保证了显微镜的纵向空间分辨率.这种光学断层能力无疑是共焦显微镜最大的优点,可大大提高信噪比<sup>[1]</sup>,实现透明或半透明样品的分层剖析.探测针孔越小,照明光束的孔径角越大,纵向空间分辨能力越好,信噪比越高.但是无论探测针孔多少,仍会透过一些非焦平面上样品发出光信号,即使如此,比起探测器接受到的焦平面上样品发出的光信号小很多,但针孔过小会造成信号能量过低.

如果样品是透明或部分透光的体样品,利用共焦扫描显微镜可以不用经过切片而直接观察被焦平面切割的断层.通过 XY 扫描,探测器记录断层散射光信息,由计算机图像系统显示样品断层图像,逐步调节样品沿 Z 轴(即光轴)位置,可产生体样品多层断层图像,这种成像方法被称为共焦扫描显微镜层析成像方法<sup>[2]</sup>.

实验所使用的是英国 RENISHAW 公司的共焦拉曼光谱仪系统,其光路简图如图 2<sup>[3]</sup>.显微镜使用无穷远共轭方式,筒长可以调节,中间光路是平行光.激发光使用光源针孔作为空间滤波器,接收没有使用接收针孔.如果将共焦系统中的针孔看成是一

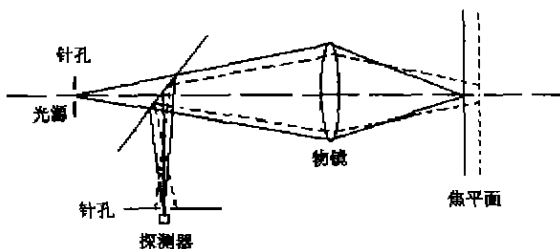


图 1 共焦原理示意图  
Fig. 1 Confocal system diagram

个二维空间滤波器的话,本实验中使用的共焦显微光谱系统利用了光谱仪入口处的狭缝作为一个维度方向上的空间滤波器,然后再利用 CCD 像面上与狭缝垂直方向上像元行数目作为另一个维度方向上的空间滤波器.在垂直于狭缝方向上,超出狭缝外的光被狭缝滤除,沿狭缝方向上的光进入谱仪,在 CCD 上形成一个谱带.谱带的高度为沿狭缝方向上被照明的狭缝部分通过谱仪成像而成.通过限制 CCD 上被采集的谱带高度,形成了垂直于狭缝方向的空间滤波器.狭缝越小,CCD 上被采集的像素行数越少,其共焦效果越好.

对于一个理想的共焦显微镜(其针孔无限小),其在沿 Z 光轴方向上的透过光响应为 $[\sin(\omega)/\omega]^2$ ,这里  $\omega = \pi z (N.A.)^2 / \lambda$ <sup>[4]</sup>.其中: N.A. 为显微镜的数值孔径,λ 为工作波长,z 为样品距离焦点的距离,如果样品正好在焦点上,则 z 为 0.对于 N.A. 为 0.5 的 10 倍物镜,若工作波长为 He-Ne 激光 633nm,经上式计算,其理论 FWHM 响应约为 2.2μm,可见共焦扫描显微镜的确有着深度剖析的能力.

本文实验所使用的共焦条件是:狭缝宽度为 15μm,CCD 像元行数为 7,物镜分别为 50 倍、20 倍和 10 倍,以便适应不同的工作距离.

我们在 633nm 和 514nm 的两个激发波长下,分别测定了 Nd: YAG 晶体材料表面和一定深度下的拉曼光谱和荧光光谱.最后使用 633nm 激发波长进行深度剖析,得到一系列的不同深度的拉曼光谱和荧光光谱.

### 2 实验结果和分析

实验得到谱图分别为图 3~7.使用 514nm 激光激发,在样品表面处聚焦得到的光谱和将激光聚焦在样品表面以下 100μm 处后得到谱图如图 3 和 4 所

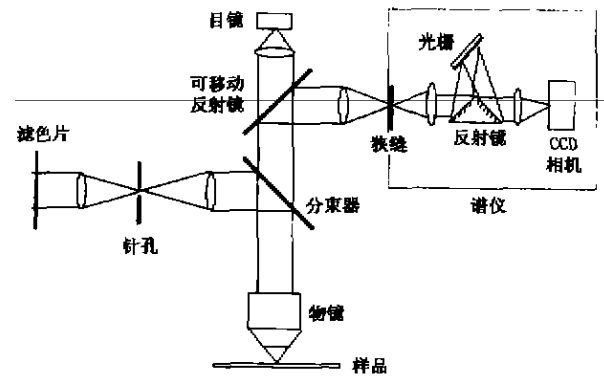


图 2 共焦显微镜  
Fig. 2 Confocal microscopy

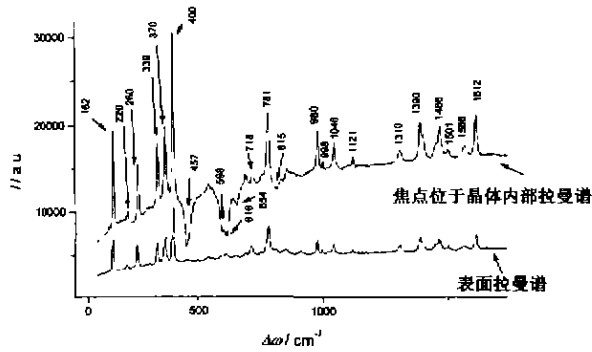


图 3 514nm 激光激发 Nd:YAG 晶体体材料表面聚焦拉曼光谱和表面下 100 $\mu\text{m}$  聚焦拉曼光谱  
 Fig. 3 Raman spectra of Nd:YAG bulk material surface excited with 514nm laser and Raman spectra of Nd:YAG bulk material 100 $\mu\text{m}$  under surface excited with 514nm laser

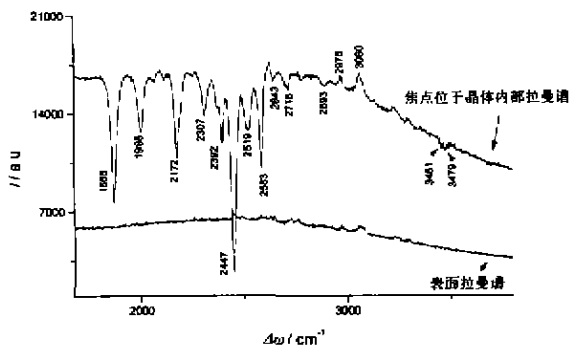


图 4 514nm 激光激发 Nd:YAG 晶体体材料表面聚焦拉曼光谱和表面下 100 $\mu\text{m}$  聚焦拉曼光谱  
 Fig. 4 Raman spectra of Nd:YAG bulk material surface excited with 514nm laser and Raman spectra of Nd:YAG bulk material 100 $\mu\text{m}$  under surface excited with 514nm laser

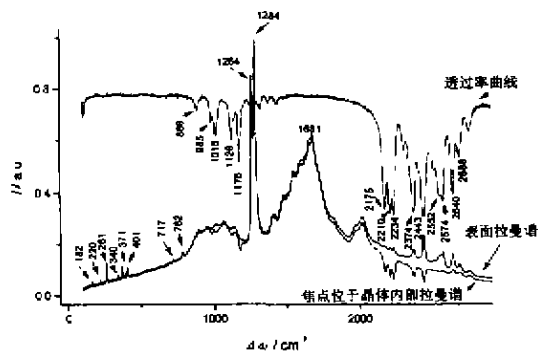


图 5 633nm 激光激发 Nd:YAG 晶体体材料表面聚焦拉曼光谱, 表面下 400 $\mu\text{m}$  聚焦拉曼光谱和透射率曲线  
 Fig. 5 Raman spectra of Nd:YAG bulk material surface excited with 633nm laser, Raman spectrum of Nd:YAG bulk material 400 $\mu\text{m}$  under surface excited with 633nm laser and transmissivity curve

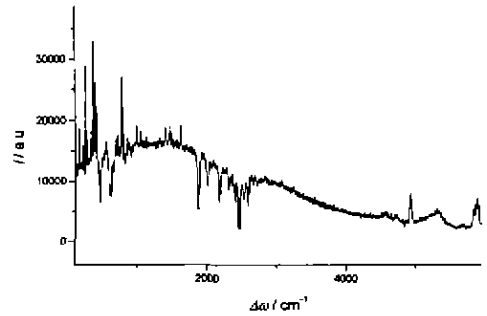


图 6 传统谱仪测量 514nm 激光激发 Nd:YAG 晶体体材料荧光光谱  
 Fig. 6 Fluorescence spectra of Nd:YAG bulk material measured by conventional spectrometer

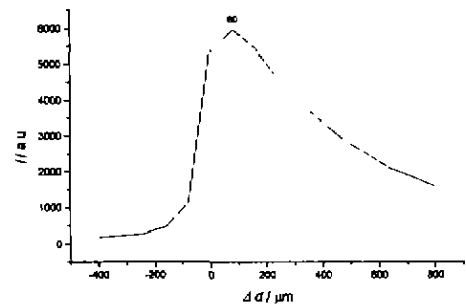


图 7 633nm 激光激发 Nd:YAG 晶体体材料 2442 $\text{cm}^{-1}$  处荧光信号随焦点深度变化  
 Fig. 7 Fluorescent signal change with depth of focus at 2442 $\text{cm}^{-1}$  in Nd:YAG material excited with 633nm laser

示, 从中可以看到在 457、598、616、654、815、1865、1998、2172、2307、2392、2447、2519 和 2583 $\text{cm}^{-1}$ 处在表面拉曼谱中有的出现尖峰(尽管有的峰强度很小), 有的没有体现, 但当激光焦点位于晶体中后, 激发的拉曼谱在以上相应波数附近出现了强烈吸收, 同时也出现了其它的吸收峰. 使用 633nm 激光激发, 在样品表面处聚焦得到的光谱和激光聚焦在晶体内部的拉曼谱如图 5 所示. 其中可以看到在 2175、2210、2234、2374、2443、2552 和 2574 $\text{cm}^{-1}$ 处出现明显吸收现象, 表面处激发的拉曼谱中的明显的峰变成了明显的谷. 同时, 在 985、1015、1126、1176、2640 $\text{cm}^{-1}$ 处的峰明显变小, 或出现吸收峰.

在本实验所用的仪器上, 使用显微镜的透射光源(卤钨灯)可以方便地测量吸收, 图 5 同时给出  $\text{Nd}^{3+}$ : YAG 的透射率曲线(约 1cm 样品厚度), 为便于比较, 透射率曲线横轴按照波数位移给出, 可以看出以上描述的自吸收峰位同透射率曲线中吸收峰位相同.

利用传统拉曼谱仪(SPEX140S)和514nm激发,扫描得到荧光谱如图6所示,同用633nm激发得到的光谱图,在 $3634\text{cm}^{-1}$ 位移后出现搭界,谱线形状相同,也可看出吸收谷的存在。

通过比较514nm和633nm激光激发的光谱,相同波数处都出现的峰一般可被指认为拉曼位移峰。由以上两种激发波长得到的谱图中,可以判断162、220、261、340、370、400、716和 $782\text{cm}^{-1}$ 是拉曼峰<sup>[6]</sup>,其余谱中标注的强峰均为荧光峰。

在对材料内部深处金属离子进行荧光光谱观察时,由发光中心所发的荧光首先要在材料内部沿纵

深走过相当的路程才能到达材料表面。如果与该荧光跃迁对应的下能级粒子布居数很高,则极易产生自吸收现象,出现强烈的吸收峰。这样的下能级,大多属于基态类型,且荧光、吸收峰的位置是不随激发波长而变化的,它们决定于发光中心的能级系统,而其强度与离子浓度、激发波长、吸收光程有关。

依据 $\text{Nd}^{3+}$ 离子在YAG晶体场中的Stark能级分裂后的能级图<sup>[5]</sup>,可以指认这些吸收线的归属,列于表1和表2中。表1和2中实验测得的波数与用能级跃迁计算出波数存在一定合理偏差,其中含有仪器误差和实验条件不同引起的偏差,尽管如此,测

表1 514nm激光激发实验测定 $\text{Nd}^{3+}$ 离子吸收线的跃迁归属指认  
Table 1 Assignment of level transition of  $\text{Nd}^{3+}$  absorption excited with 514nm laser

实验测量 514nm 拉曼位移	能级跃迁计算 514nm 位移	绝对波数	能级跃迁归属
457 $\text{cm}^{-1}$	450 $\text{cm}^{-1}$	18986	$^4\text{G}_{7/2}[18986] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
598 $\text{cm}^{-1}$	593 $\text{cm}^{-1}$	18843	$^4\text{G}_{7/2}[18843] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
616 $\text{cm}^{-1}$	614 $\text{cm}^{-1}$	18822	$^4\text{G}_{7/2}[18822] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
654 $\text{cm}^{-1}$	649 $\text{cm}^{-1}$	18787	$^4\text{G}_{7/2}[18986] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[199]$
815 $\text{cm}^{-1}$	813 $\text{cm}^{-1}$	18623	$^4\text{G}_{7/2}[18822] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[199]$
1865 $\text{cm}^{-1}$	1861 $\text{cm}^{-1}$	17575	$^2\text{G}_{7/2}[17575] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[0]$
1998 $\text{cm}^{-1}$	1991 $\text{cm}^{-1}$	17445	$^2\text{G}_{7/2}[17575] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[130]$
2172 $\text{cm}^{-1}$	2168 $\text{cm}^{-1}$	17268	$^3\text{G}_{7/2}[17268] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[0]$
2307 $\text{cm}^{-1}$	2298 $\text{cm}^{-1}$	17138	$^2\text{G}_{7/2}[17268] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[130]$
2392 $\text{cm}^{-1}$	2389 $\text{cm}^{-1}$	17047	$^4\text{G}_{5/2}[17047] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2447 $\text{cm}^{-1}$	2444 $\text{cm}^{-1}$	16992	$^4\text{G}_{5/2}[16992] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2519 $\text{cm}^{-1}$	2519 $\text{cm}^{-1}$	16917	$^4\text{G}_{5/2}[17047] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[130]$
2583 $\text{cm}^{-1}$	2587 $\text{cm}^{-1}$	16849	$^4\text{G}_{5/2}[16849] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2643 $\text{cm}^{-1}$	2643 $\text{cm}^{-1}$	16793	$^4\text{G}_{3/2}[16992] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[199]$
2718 $\text{cm}^{-1}$	2717 $\text{cm}^{-1}$	16719	$^4\text{G}_{3/2}[16849] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[130]$
3461 $\text{cm}^{-1}$	3463 $\text{cm}^{-1}$	15973	$^2\text{H}_{11/2}[16103] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[130]$
3479 $\text{cm}^{-1}$	3479 $\text{cm}^{-1}$	15957	$^2\text{H}_{11/2}[15957] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[0]$

表2 633nm激光激发实验测定 $\text{Nd}^{3+}$ 离子吸收线的跃迁归属指认  
Table 2 Assignment of level transition of  $\text{Nd}^{3+}$  absorption excited with 633nm laser

实验测量 514nm 拉曼位移	能级跃迁计算 514nm 位移	绝对波数	能级跃迁归属
886 $\text{cm}^{-1}$	887 $\text{cm}^{-1}$	14916	$^4\text{F}_{9/2}[14916] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[0]$
985 $\text{cm}^{-1}$	984 $\text{cm}^{-1}$	14819	$^4\text{F}_{9/2}[14819] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
1015 $\text{cm}^{-1}$	1017 $\text{cm}^{-1}$	14786	$^4\text{F}_{9/2}[14916] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[130]$
1126 $\text{cm}^{-1}$	1125 $\text{cm}^{-1}$	14678	$^4\text{F}_{3/2}[14678] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
1176 $\text{cm}^{-1}$	1177 $\text{cm}^{-1}$	14626	$^4\text{F}_{3/2}[14626] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2175 $\text{cm}^{-1}$	2170 $\text{cm}^{-1}$	13633	$^4\text{F}_{7/2}[13633] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2210 $\text{cm}^{-1}$	2207 $\text{cm}^{-1}$	13596	$^4\text{F}_{7/2}[13596] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2234 $\text{cm}^{-1}$	2231 $\text{cm}^{-1}$	13572	$^4\text{F}_{7/2}[13572] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2374 $\text{cm}^{-1}$	2370 $\text{cm}^{-1}$	13433	$^4\text{F}_{7/2}[13433] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2443 $\text{cm}^{-1}$	2440 $\text{cm}^{-1}$	13363	$^4\text{F}_{7/2}[13363] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[0]$
2574 $\text{cm}^{-1}$	2570 $\text{cm}^{-1}$	13233	$^4\text{F}_{7/2}[13363] \rightarrow ^4\text{I}_{3/2}[130]$
2640 $\text{cm}^{-1}$	2639 $\text{cm}^{-1}$	13164	$^4\text{F}_{3/2}[1] \rightarrow ^4\text{I}_{9/2}[199]$

量数据与计算数据仍具有相当好的相关性。

即使在室温下,基态电子的布局数远高于激发态电子的布局数,所以,电子很容易吸收光子能量从基态跃迁至不同的激发态。由于实验采用了共焦显微镜,并且配置为背散射,在焦平面处于晶体中时,激光聚焦点处的样品发出荧光的同时,激光所通过的光路部分样品也发出荧光,但由于空间滤波的作用,使得离焦区域所发出的光不能被谱仪所接收,CCD 接收器收集到的仅是从晶体内部焦点处所发的光通过晶体到达表面后进入显微镜的,于是,收集到的光经过了晶体内部长程的吸收。

由实验结果谱图可以看出,吸收线的所在位置必须有较大的荧光背底,没有荧光背底则显示不出自吸收线现象。同时,谱中还有一些宽带和强的荧光峰,如 633nm 激发拉曼谱中的 1681、1264 和  $1284\text{cm}^{-1}$  等,这些宽带荧光背底和强荧光峰来源于 YAG 材料本身内部的缺陷和杂质形成的发光中心,这些荧光不是从激发态发出的,而所有这些光中波长如果正好位于  $\text{Nd}^{3+}$  的从基态至激发态的跃迁吸收线上,则在通过晶体内部一段光程后也被基态  $\text{Nd}^{3+}$  吸收,从谱图上看就形成吸收峰,且强度随焦点深度的变化而变化,而其它波长的光由于没有被吸收,所以它们的强度不随焦点深度变化。吸收线的强度取决于焦点处于晶体中的深度、共焦性能的好坏、稀土离子的浓度、温度和跃迁各能级的布局数等因素。但是,当焦平面处于晶体内表面附近时,晶体材料本身发出的荧光和  $\text{Nd}^{3+}$  发出的荧光未经过晶体吸收作用而直接被显微镜所收集,所以,在谱图上呈现出荧光背底上叠加的荧光峰。

对 Nd:YAG 晶体材料进行深度剖析拉曼和荧光光谱测量,剖析范围从样品表面以上  $400\mu\text{m}$  至样品内部  $800\mu\text{m}$ ,步长为  $80\mu\text{m}$ ,激发波长为 633nm,得到一系列的拉曼光谱图,对固定波数  $2442\text{cm}^{-1}$  进行处理,得到在此固定波数下的荧光信号随焦点在晶体中不同深度的变化曲线,如图 7 所示。其荧光信号随着焦点逐渐由晶体上方靠近晶体表面而增大,接近表面时并未最大,而是进入晶体表面以下几十微米处达到最大。这是因为:一方面,需要足够的激活体积;另一方面,使用的显微镜物镜是焦距较长的 10 倍镜头,其焦深比较大,数值孔径相对小,在晶体表层以下的一个厚度大约等于焦深的薄层的荧光也

被收集,所以实验中看到焦点在进入晶体一定范围后荧光信号达到最大,随着焦点进一步进入晶体,共焦的特性开始起作用,荧光逐渐减小,直至吸收开始发生,最后形成强烈的吸收峰。

### 3 结论

深度剖析光谱方法有着一定的科学意义和使用价值,主要体现在以下几个方面。

(1) 有的共焦拉曼谱仪上仅有单一激发波长,更换激光器将耗费许多时间和精力,使用深度剖析的测量方法,利用荧光自吸收的现象区别出荧光峰,这对拉曼光谱谱线的识别有一定的帮助,但是对不透明的样品无能为力。

(2) 晶体内部的自吸收线十分锐利,可准确地确定晶体场中分裂的 Stark 能级。由于这种自吸收通常在各激发态与基态之间发生,如果已知基态各能级,可以推断出各激发态的 Stark 分裂能级,为精确地测定晶体中的稀土离子能级提供了一种方法。

(3) 使用共焦拉曼光谱仪测量表面处拉曼光谱时,当采用小倍数物镜,测量透明或半透明样品,由于小倍数物镜的焦深较长,如果聚焦不好,容易发生自吸收现象,或者大倍数物镜聚焦不好,也容易发生自吸收现象,得到的谱图同表面的拉曼和荧光谱图不同,容易形成假的峰或谷,解释这些谱图时应当注意自吸收问题。

### REFERENCES

- [1] Gerge Turrell, Jacques Corset. *Raman Microscopy Developments and Applications*. London: Academic Press, Harcourt Brace & Company, 1996, 41
- [2] WU Shi-Fa. *Neoteric Imaging and Image Processing Technology*. Beijing: National Defence Industry Publishing Company (吴世法. 近代成像技术与图像处理, 北京: 国防工业出版社), 1997, 340
- [3] Renishaw. *User Guide of Raman Microspectrophotometers*. Old Town Wotton-Under-Edge Gloucestershire; Renishaw Transducer System Division, 1998, 15
- [4] Arthur F Gmitro, David Aziz. Confocal microscopy through a fiber-optic imaging bundle. *Optics Letters*, 1993, 18: 8
- [5] Kaminskii A A. *Laser Crystals*. New York: Springer-Verlag, 1981, 129
- [6] Mace G, Schaack G, Ng Toanng, et al. Optical phonons of terbium, Dysprosium, and ytterbium-garnet. *Zeits. Physics*, 1970, 230: 391