

# 一种高性价比小型生化分析仪用分光光度计的研制

任重 刘国栋 黄振

江西科技师范大学光电子与通信重点实验室, 江西 南昌 330038

**摘要** 为了克服传统分光光度计中棱镜和凹面光栅等分光器件的光谱分光效率低、分辨率不高和光通量小等缺点,采用平面光栅作为色散器件,采用线阵电荷耦合器件(CCD)结合外设互换(PCI)总线高速数据采集卡作为光谱检测系统,并且利用虚拟仪器技术成功研制了一款高性价比小型生化分析仪用分光光度计,同时自制了一套交叉非对称式(CT)型单色仪作为该分光光度计的分光装置。通过实验证明,该小型分光光度计可以实现紫外和可见光波段吸光强度为1000(a.u.)的探测,光谱测量范围可达300~800 nm,波长分辨率可达1 nm,波长重复性优于0.5 nm,在波长为360 nm处的杂散光小于0.5%,波长准确度优于 $\pm 0.5$  nm。相比其他同类分光光度计,该分光光度计不仅具有后分光、光谱多通道并行分析等优点,同时能优化光路成像系统,提高光谱测量准确度和降低成本。

**关键词** 光学器件;光电子学;分光光度计;光栅;线阵CCD;虚拟仪器

中图分类号 O433 文献标识码 A doi: 10.3788/LOP51.112202

## Development of a High Performance Micro-Spectrophotometer for Biochemical Analyzer

Ren Zhong Liu Guodong Huang Zhen

*Key Laboratory of Photoics and Communications, Jiangxi Science and Technology Normal University,  
Nanchang, Jiangxi 330038, China*

**Abstract** To overcome the drawbacks of prism and concave gratings commonly used as dispersive devices in the traditional spectrophotometer, including low splitting efficiency, low resolution and little luminous flux, a high performance micro-spectrophotometer for biochemical analyzer (BCA) based on charge coupled devices (CCD) and virtual instrument technique is successfully developed, in which a plane grating is employed as the dispersive device, a linear CCD and a high speed peripheral component interconnect (PCI) bus data acquisition card are combined as the spectral detection system. Meanwhile, a custom-built Czerny-Turner (CT) typed monochromator with a symmetric crossed structure is designed as the light splitting apparatus in this spectrophotometer. The experimental results demonstrate that this spectrophotometer realizes the capacity of detecting absorption intensity larger than 1000 (a.u.) in the ultra-violet and visible wavebands, the wavelength repeatability is less than 0.5 nm, the stray-light is less than 0.5% at the wavelength of 360 nm, its spectral accuracy is less than  $\pm 0.5$  nm and its spectral measurement range and resolution reaches 300~800 nm and 1 nm, respectively. In addition, this system has the characteristics of post light-splitting and multi-channel parallel analysis, etc. This spectrophotometer for BCA has the potential value by virtue of optimized imaging system, high accuracy and low cost, etc.

**Key words** optical devices; optoelectronics; spectrophotometer; gratings; linear CCD; virtual instruments

**OCIS codes** 230.0250; 120.4570; 220.4830; 220.4880

## 1 引言

生化分析仪(BCA)是用于测定人体血液的各种生化指标的分析仪器,它可以准确、快速地为医生和化学检验人员提供检测数据,在临床诊断和化学检验中具有重要作用<sup>[1]</sup>。其中分光光度计是生化分析仪的核心

收稿日期: 2014-05-12; 收到修改稿日期: 2014-06-11; 网络出版日期: 2014-09-12

基金项目: 国家自然科学基金(61068002)、江西省自然科学基金(20114BAB215047)、江西省科技支撑计划(20132BBG70103)

作者简介: 任重(1981—),男,博士,讲师,主要从事光电子学方面的研究。E-mail: renzhong0921@163.com

本文电子版彩色效果请详见中国光学期刊网 [www.opticsjournal.net](http://www.opticsjournal.net)

部件。传统的分光光度计中,常用棱镜作为分光器件,虽然价格较低廉,但是由于棱镜只能形成一组光谱,且分辨率、分光效率和通光率都不高<sup>[2]</sup>,在现场实际测量中的应用受到极大的限制。而采用法布里-珀罗(F-P)干涉的色散系统<sup>[3]</sup>,虽然具有突出的分辨率和光通量性能,但自由光谱范围很窄,结构和装调复杂;傅里叶分光系统<sup>[4]</sup>虽然综合性能较好,但受现阶段干涉系统极限光程差和光程差变化间隔限制。对于光谱探测而言,传统的分光光度计常采用光电倍增管和波长扫描的方式来实现光电转换及光谱探测扫描,不仅仪器体积大、速度慢、而且不利于在线测量和工业使用。而电荷耦合器件(CCD)具有光电转换、电荷存储、转移等功能,而且集成度高、分辨率高、动态范围大、信噪比高,在很多领域都得到广泛应用<sup>[5]</sup>;此外,虚拟仪器技术的出现和发展,在某种程度上变革了仪器的传统意义,使得传统仪器的功能软件化,即软件就是仪器<sup>[6]</sup>。这些器件和技术的发展,使得分光光度计小型化、高效率 and 低成本均成为可能。另外,在使用分光光度计做样品吸收光谱测量时,由于光源的能量强弱不均匀、不同类型的光栅衍射效率和反射镜的反射率有较大差异,以及样品对于不同波长的光谱吸收度存在较大差异等因素,尤其在紫外波段,能量衰减较大,且电子电路、CCD器件中产生的各种噪声和光路系统中杂散光的存在使得紫外和可见波段的光度测量准确率较低。

为了克服上述传统分光光度计在实际使用中存在的不足,本文采用平面光栅作为色散器件,成功研制了一套交叉非对称式 Czerny-Turner(CT)型分光单色仪的小型化生化分析仪用分光光度计。在该系统中,采用线阵 CCD 结合外设互联(PCI)总线高速数据采集卡构成生化光谱接收检测系统;采用虚拟仪器技术,通过软件编程来实现光谱数据的采集和数据后分析处理,并通过优化光路结构和软件算法<sup>[7-8]</sup>等提高分光光度计的整体性能。实验表明,该分光光度计的 CT 单色仪光路,具有衍射光小、彗差小、成像质量好、结构简单紧凑等优点;通过高性能的 CCD 光谱接收检测系统和采用小波消噪<sup>[9]</sup>、自动调节 CCD 曝光时间<sup>[10]</sup>等软件处理算法,大大提高了光谱测量准确度和信噪比,尤其是实现了紫外和可见波段的样品光谱吸光强度大于 1000(a.u.)的探测。

## 2 总体结构设计

该生化分析仪用分光光度计系统采用后分光技术<sup>[11]</sup>,主要包括光源部分、前置光路、被测样品池、分光单色仪、光谱检测系统和光谱数据分析系统等部分。系统总体结构示意图如图 1 所示。

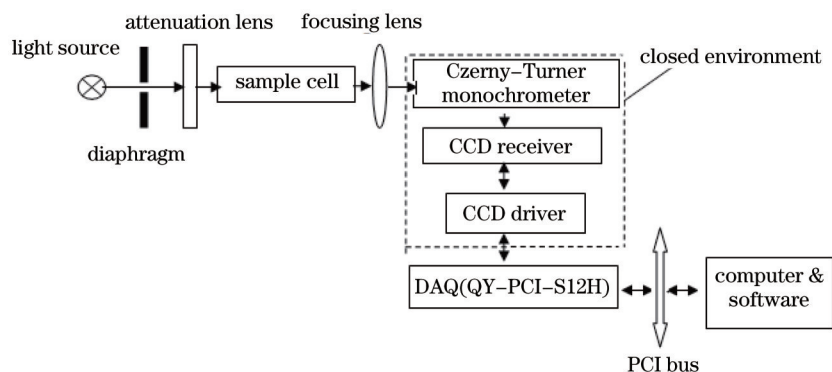


图 1 生化分析仪用分光光度计系统原理结构图

Fig.1 Principle diagram of the spectrophotometer for BCA

在该分光光度计系统中,CT单色仪、线阵 CCD 和 CCD 驱动模块安装在一个铝合金制密闭盒中,其尺寸约为 10 cm×8 cm×8 cm,同时为了有效地消除单色仪中光路杂散光的干扰,在 CT 单色仪的入射狭缝后设计了孔径光阑,同时密闭盒内部进行发黑消光处理。

### 2.1 平面光栅型 CT 单色仪设计

在分光光度计系统中,光路系统是分光光度计的前置部分。光栅型分光系统利用高性能的衍射光栅避免了传统棱镜分光系统带来的光谱透射率问题,并使色散率提高了数十倍,有效缓解了分辨率和光通量的矛盾,可以显著提升分光光度计的性能。现在也有些分光光度计的分光系统中色散器件使用的是凹面光栅,结构虽然简单,但是工艺复杂、成本昂贵、杂散光较严重。因此,选用 600 line/400 nm 闪耀平面光栅作为色散器件,并采用曲率为 150 的紫外增强铝镀膜 (Al+MgF<sub>2</sub>膜) 的准直镜和聚焦镜、CCD 和狭缝为 90 μm 的针

孔来构成CT折叠式光路结构。由Zemax软件设计的交叉非对称式CT单色仪光路如图2(a)所示,自制CT单色仪实物图如图2(b)所示,该CT单色仪优化设计参数值如表1所示。该光路原理如下:首先光源发出复合光由狭缝进入CT单色仪光路系统,经准直镜反射后将入射光进行准直并照射至光栅上,经光栅将入射复合光衍射分光成为单色光谱后,由聚焦镜将单色光谱成像于CCD上进行光电转换并最终得到吸光度电信号。该光路结构的主要优势有:成本低、可调节和布置的结构参数较多;可以避免二次或多次衍射和杂散光;能够实现结构紧凑、平直谱面范围较大且在相当范围内成像质量较高的设计,便于采用光电阵列探测器接收光谱<sup>[12]</sup>。

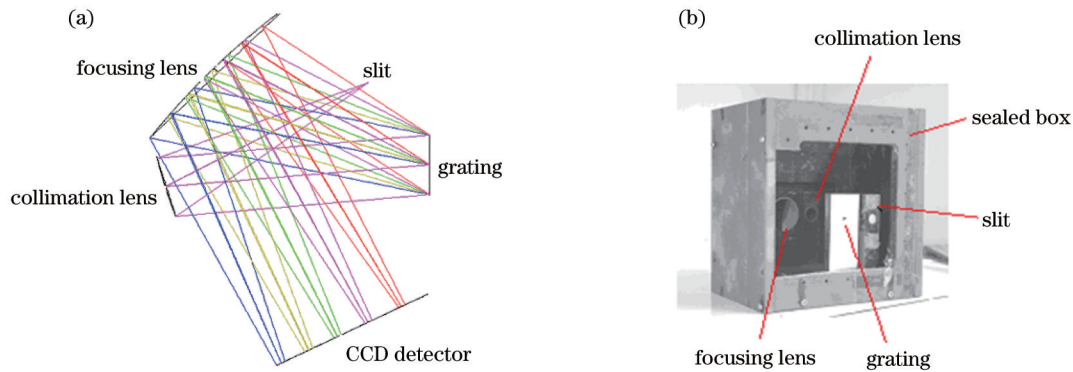


图2 非对称交叉式CT单色仪。(a) CT光路图;(b)自制的CT单色仪

Fig.2 Asymmetric crossed CT monochrometer. (a) Simulated CT light path; (b) photo of our developed CT monochrometer

表1 CT单色仪参数优化设计值

Table 1 Optimized design parameters of the CT monochrometer

Parameter	Value
Distance between the slit and the collimation lens center / mm	73.90
Irradiation angle of the collimation lens / (°)	10
Distance between the collimation lens center and the grating center / mm	60.00
Angle between the grating normal and the line of collimation lens center with grating center / (°)	5
Angle between the focusing lens center and the line of grating normal with focusing lens center / (°)	24.50
Distance between the grating center and the focusing lens center / mm	58.00
Irradiation angle between the grating center and focusing lens center / (°)	13
Distance between the focusing lens center and the detector center / mm	73.00
Inclination angle of the detector relative to the vertical line of the focusing lens center and the detector center / (°)	2.70

## 2.2 基于虚拟仪器技术的分光光度计设计

该系统使用虚拟仪器开发软件LabVIEW(Version 8.5, NI,USA)作为生化分析仪用分光光度计的软件

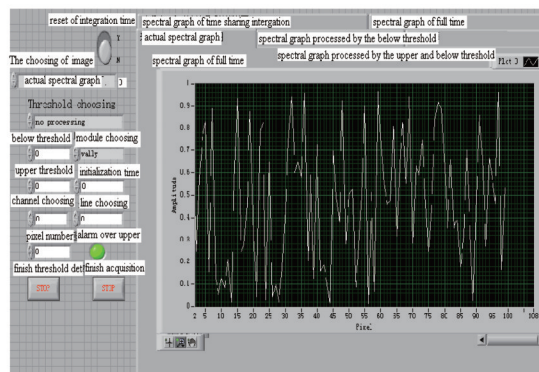


图3 光谱数据采集程序前面板

Fig.3 Front panel of spectral data acquisition program

开发平台,通过软件编程来控制光谱检测系统的数据采集和实现数据后分析处理等。分光光度计光谱数据采集程序前面板如图3所示。整个虚拟分光光度计的光谱数据采集和分析处理程序采用动态链接技术<sup>[13-14]</sup>、多线程技术、队列方式、顺序结构和 while 循环结构相互嵌套来实现。该分光光度计具有光谱采集、数据存储、光谱阈值判断和 CCD 曝光时间自动调整、数据多窗口显示等功能。

### 3 实验和结果

#### 3.1 实验器材

该分光光度计的光源选用卤素灯(Philip6605, 6 V/10 W),该灯具有全波段、价格便宜等特点,并且在生化分析仪所需的 300~800 nm 波段范围内均有较强的光。入射狭缝为 90  $\mu\text{m}$  针孔;选用 600 line/400 nm 的平面闪耀光栅作为分光光度计的色散器件,光路中的准直透镜和成像透镜曲率为 150,并采用紫外增强铝镀膜(Al+MgF<sub>2</sub>膜)。线阵 CCD 探测器采用日本东芝公司生产的线阵 CCD 芯片 TCD1251UD,其有效像素数为 2700 pixel,相邻像素中心距为 11  $\mu\text{m}$ ,光敏区总长为 29.70 mm;数据采集卡为天津琦瑶公司生产的高速数据采集卡 QY-PCI-S12H,其动态范围达到  $4 \times 10^3$  bit,模拟/数字(A/D)转换电路的分辨率为 12 bit,工作频率为 5 MHz;软件开发平台为 NI 公司的 LabVIEW8.5,由线阵 CCD、数据采集卡和 LabVIEW8.5 编程来实现光谱数据采集和分析。在实验中,使用天津拓普仪器有限公司的低压汞灯(GY-4)作为系统标定光源。整个光谱采集实验在无任何背景光的万级超净间进行,环境温度为  $20^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。

#### 3.2 光谱标定

为了测试所设计的分光光度计的实际应用性能,使用低压汞灯(GY-4)作为标准的标定光源对本文研制的分光光度计进行了光谱标定和分辨率测试,其在 300~800 nm 波长范围内具有分布均匀的谱线,光谱相对强度稳定。另外,对分光光度计进行光谱标定时,由于光路和电子系统信号的干扰,会发生光谱漂移的现象,实验经多次标定得到汞灯特征光谱,每个特征波长的重复性都低于 0.5 nm,然后对多次采集得到的特征光谱取平均值,得到最终的低压汞灯特征光谱,如图4所示。从图4中可以看到,577 nm 和 579 nm 这两个波长的特征谱线可以被清晰地分开,充分表明分辨率至少可以达到 2 nm。因此该分光光度计的光路结构设计和线阵 CCD 数据采集系统的分辨率较为理想。

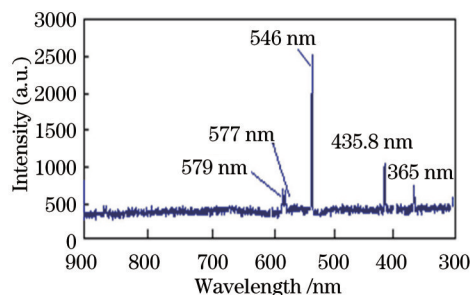


图4 汞灯的特性光谱

Fig.4 Characteristic spectrum of the low pressure mercury lamp

#### 3.3 光谱检测和处理

为了检测该分光光度计对多个光源光谱的分辨能力,使用了双光源进行测试,其中光源1为二极管抽运

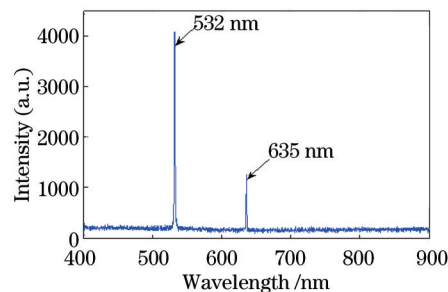


图5 532 nm 和 635 nm 激光器光谱图

Fig.5 Spectra of two lasers with output wavelength of 532 nm and 635 nm, respectively

Nd:YVO<sub>4</sub> 固体激光器 (Verdi™ V-5, Coherent Co., USA), 其输出波长为 532 nm。光源 2 采用输出波长为 635 nm 的低噪声红光二极管激光器, 其输出功率为 40 mW。经过 CCD 探测, 得到的两个激光器光谱如图 5 所示。从图 5 中可以看到两个激光器的波长能被清楚地分辨出来。

使用带水循环制冷的卤素灯 (Philip6605, 6 V/10 W) 作为本系统光源, 用装有标准测试溶液的石英比色皿代替生化分析样品, 利用本文设计的平面光栅型 CT 分光系统构成的生化分析仪用分光光度计来采集光谱。由于卤素灯发出的是复合光, 故使用了滤色片将复色光分离成波长不同的单色光来照射比色皿, 经比色皿溶液吸收后透射的光通过 CT 单色仪系统后, 由光谱检测系统进行采集, 然后经 PCI 总线送入计算机中由 LabVIEW 软件进行数据后分析处理。通过去噪和调整 CCD 曝光时间等方法, 实现了紫外和部分可见波段 (300~800 nm) 不同波长光谱的吸光强度大于 1000(a.u.) 的探测, 其中波长  $\lambda$  为 340, 405, 510, 546, 576 nm 的吸收光谱分别如图 6(a)~(e) 所示。

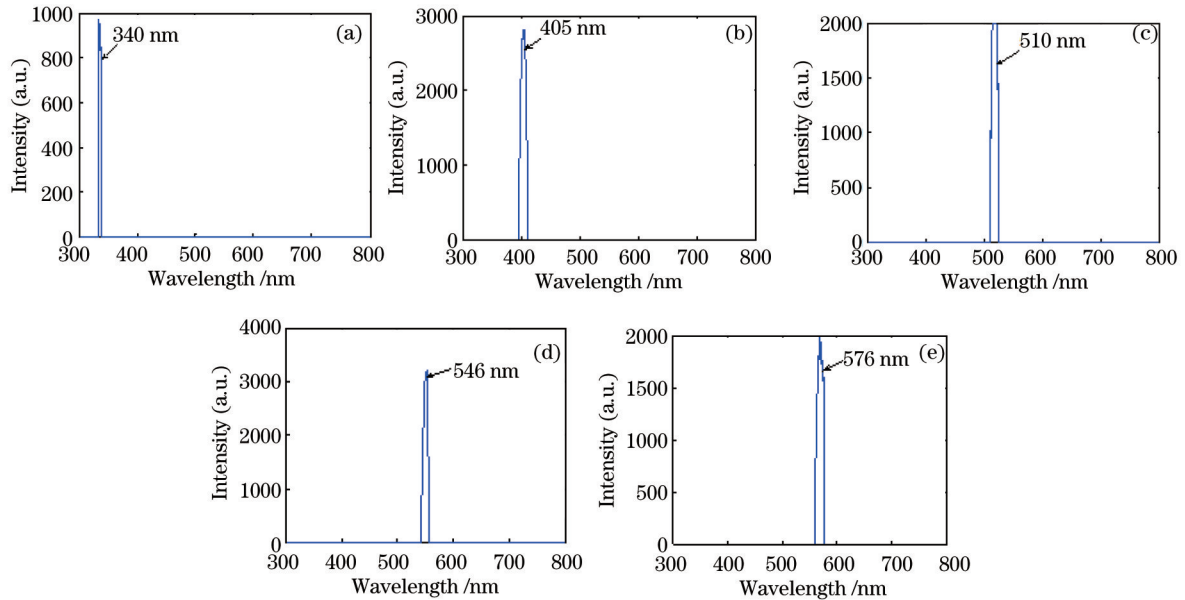


图 6 不同波长的光谱的能量分布图

Fig.6 Spectral energy distribution of halogen lamp at different wavelengths

从实验结果可以看出, 光谱能量最低的是 340 nm 波长, 其光谱吸光强度达到了 1000(a.u.), 光谱能量最高的是 546 nm 波长, 其光谱吸光强度超过了 3000(a.u.)。因此, 在 300~800 nm 的波长范围内可以实现吸光强度为 1000(a.u.) 的探测。对于杂散光测量, 选用 360 nm 截止滤光片, 用 NaNO<sub>2</sub> 标准溶液检测其透射率, 得到杂散光透射率小于 0.5%。

### 3.4 光路设计结果和分辨率估计

光谱分辨率<sup>[5]</sup>是表征成像光路结构性能的重要指标, 对于不同波长范围以及其分辨率的估计, 可以表示为

$$E \approx \frac{\Delta l}{2} \times \frac{1}{\delta l / \delta \lambda}, \quad (1)$$

式中  $E$  为分辨率估计,  $\Delta l$  为谱线的总展宽,  $\Delta l \approx \Delta l_1 + \Delta l_2 + \Delta l_3$ ,  $\Delta l_1$  为衍射展宽,  $\Delta l_2$  为狭缝或针孔像宽度,  $\Delta l_3$  为像素宽度。估算结果如表 2 所示。

表 2 300、550、800 nm 处的分辨率情况

Table 2 Resolution at wavelengths of 300, 550 and 800 nm

Wavelength /nm	$\Delta l_1 / \mu\text{m}$	$\Delta l_2 / \mu\text{m}$	$\Delta l_3 / \mu\text{m}$	$\delta l / \delta \lambda / (\mu\text{m}/\text{nm})$	Actual resolution /nm
300	4.5	90	14.9	46.3	1.18
550	8.25	90	3.4	48.3	1.05
800	12	90	8.9	51.8	1.07

以上分析表明, 该系统在满足实验所用器件的设计要求情况下, 可以实现 1 nm 左右的光谱分辨率, 远小

于一般滤波片比色系统的分辨率(20 nm),具有很好的光谱分辨率。因此该分光光度计的光谱分析光路是可行的。

使用光学设计分析软件 Zemax 来对所设计的 CT 光路进行像质分析,如图 7 所示。图 7 反映了光学设计的像差情况。不同的颜色代表不同的波长(蓝色为 300 nm,红色为 550 nm,粉色为 800 nm,300~800 nm 之间的空间间隔大致为 25.4 mm(小于 CCD 的接收尺寸  $11\ \mu\text{m}\times 2700=29.7\ \text{mm}$ ),获得的像质情况可以用每个像斑的均方根半径或直径来量化衡量,图 7 中参考刻度高为 30 mm,单点色散方向的均方根直径在 300 nm 处为  $14.9\ \mu\text{m}$ ,在 550 nm 处为  $3.4\ \mu\text{m}$ ,在 800 nm 处为  $8.9\ \mu\text{m}$ 。从图中可见,彗差基本上得到消除,像斑在色散方向的尺寸得到了有效控制,这对提高分辨率和集中更多的能量都是很有利的。

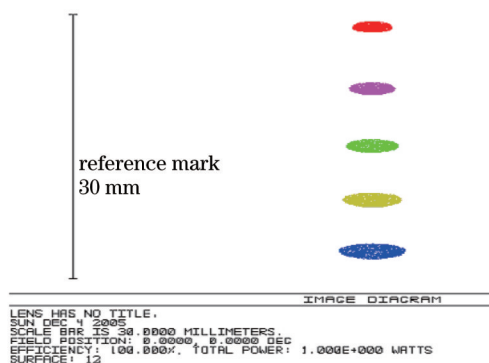


图 7 CT 光路的几何像质分析图

Fig.7 Analysis diagram of geological image quality for CT light path

## 4 结 论

随着计算机和光谱分析技术的发展,微型化、高性能的仪器将成为未来仪器的发展主流。由于目前传统的分光光度计尚存在一些缺陷,本文通过采用线阵 CCD 和虚拟仪器技术,在优化分光光度计光路结构和光谱分析处理算法的基础上自制了 CT 型光路和光谱探测器,并通过实验成功研制了低成本、高性能的生化分析用分光光度计。所研制的分光光度计主要针对部分紫外波段和可见光波段,对于深紫外和红外波段分光光度计的研究,将作为下一步研究的重点。

## 参 考 文 献

- 1 Li Changhou. Ultraviolet and Visible Spectrophotometer and Its Application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010.  
李昌厚. 紫外可见分光光度计及其应用[M].北京:化学工业出版社,2010.
- 2 Chen Yang, Wang Yueming. Optical design of prism spectrometer system with a small incident angle [J]. Acta Optica Sinica, 2013, 33(9): 0922002.  
陈 杨,王跃明. 小入射角棱镜成像光谱仪光学系统设计[J]. 光学学报, 2013, 33(9): 0922002.
- 3 Meng Zhuo, Liang Yu, Yao Xiaotian, *et al.*. In-line measurement and compensation for dispersion in OCT system [J]. Journal of Optoelectronics·Laser. 2011, 22(2): 256-260.  
孟 卓,梁 雨,姚晓天,等. 光学相干层析系统色散的在线测量及补偿[J]. 光电子·激光. 2011, 22(2): 256-260.
- 4 Zhang Xiaolong, Liu Ying, Sun Qiang, *et al.*. Design of hybrid refractive and reflective optical system of long-wave infrared region imaging spectrometer [J]. Acta Optica Sinica, 2012, 32(11): 1122005.  
张晓龙,刘 英,孙 强,等. 折/反混合式长波红外成像光谱仪光学系统设计[J]. 光学学报, 2012, 32(11): 1122005.
- 5 He Yuanxing, Li Xinyang. Influence of threshold method on calculation results of far field spot quality [J]. Chinese J Lasers, 2012, 39(12): 1208001.  
贺元兴,李新阳. 阈值法对激光远场焦斑质量测量和计算的影响[J]. 中国激光, 2012, 39(12): 1208001.
- 6 Yu Rong, Jiang Yuesong. Photoacoustic spectroscopy system with amplitude spectrum and phase spectrum measurement functions [J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(2): 0230001.  
余 荣,江月松. 一种可同时实现振幅谱与相位谱测量的光声光谱系统[J].光学学报,2014,34(2): 0230001.

- 7 Zhong Ren, Guodong Liu, Lvming Zeng, *et al.*. Research of the biochemical spectrum denoising based on a novel wavelet threshold function and an improved translation-invariance method [C]. SPIE, 2009, 7280: 72801Q.
- 8 Ren Zhong, Liu Guodong, Huang Zhen. Spectrophotometer for bio-chemical analyzer based on automatic adjustment of CCD integration time [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2013, 42(5): 586-591.  
任 重, 刘国栋, 黄 振. 基于 CCD 积分时间自动调节的生化分析仪用分光光度计的研究[J]. *光子学报*. 2013, 42(5) : 586-591.
- 9 Liu Lei, Yu Miao, Yang Ruijuan, *et al.*. Wavelet denoising applied in optical fiber Raman temperature sensor system [J]. *Chinese J Lasers*, 2013, 40(6): 0605005.  
刘 磊, 于 淼, 杨瑞娟, 等. 小波去噪用于光纤拉曼温度传感系统[J]. *中国激光*, 2013, 40(6): 0605005.
- 10 Zhao Xiaolin, Ma Xiurong, Peng Xuefeng, *et al.*. A precise method to adaptively adjust the exposure time of CCD [J]. *Chinese J Sensors and Actuators*, 2011, 24(6): 870-873.  
赵晓琳, 马秀荣, 彭雪峰, 等. 一种自适应精确调节 CCD 曝光时间的方法[J]. *传感技术学报*, 2011, 24(6): 870-873.
- 11 Huo Jianwei, Ma Haitao, Wang Liquu, *et al.*. Spectrophotometer for full- auto- biochemical analyzer [J]. *Optics and Precision Engineering*, 2003, 11(5): 457-460.  
霍建伟, 马海涛, 王丽秋, 等. 全自动生化分析仪用分光光度计[J]. *光学 精密工程*, 2003, 11(5): 457-460.
- 12 Feng Zhiqing, Li Futian. Design of a small sized fiber grating spectrograph measuring ultraviolet spectrum[J]. *Journal of Test and Measurement Technology*, 2004, 18(4): 292-295.  
冯志庆, 李福田. 一种紫外光谱测量的微型光纤光栅光谱仪设计[J]. *测试技术学报*, 2004, 18(4): 292-295.
- 13 Yu Shaona, Li Ye, Cai Xuesen, *et al.*. The application of dynamic link library in development of virtual instrument [J]. *Computer Engineering and Application*, 2004,(20): 114-192.  
于绍娜, 李 冶, 蔡学森, 等. 动态链接库技术在虚拟仪器开发中的应用[J]. *计算机工程与应用*, 2004,(20): 114-192.
- 14 Ren Zhong, Liu Guodong, Huang Zhen, *et al.*. Realization of linear CCD intensity detector based on LabVIEW [C]. *Proceeding of Optical Annual Meeting of Five Provinces and One City, Thirteen Provinces and Cities*, 2008. 112-116.  
任 重, 刘国栋, 黄 振, 等. 基于 LabVIEW 的线阵 CCD 光强探测仪的实现[C]. *五省一市光学联合会、十三省市光学联合会论文集*, 2008. 112-116.
- 15 Song Yu, Zhou Wenyuan, Ye Qing, *et al.*. A high sensitivity optical multichannel analyzer [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2006, 26(4): 775-778.  
宋 宇, 周文远, 叶 青, 等. 高灵敏度光学多通道分析仪的研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(4): 775-778.