

doi:10.3788/gzxb20134205.0586

# 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

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, 南昌 330038)

**摘 要:**在利用生化分析仪用分光光度计对血液等样品进行分析时,由于样品中不同组分对不同波段的光吸收有所差异,尤其在能量衰减较大和非特征吸收波段表现得更加突出,并且电路中各种噪音和光路杂散光的存在,使得光度测量的准确率降低.本文使用线阵 CCD 积分时间的自动调节和分段分时采光等优化算法,将强吸收与弱吸收分开曝光,在保证强吸收正常的前提下,自动调整积分时间来增大弱吸收的信号.采用自行研制的基于 Czerny-Turner 型分光光路和线阵 CCD 探测的高分辨率生化分析仪作为分光光度计,经实验测试,该方法有效地提高了光度测量的准确度,同时提高了系统的性能和信噪比.此外,该分光光度计系统的光谱测量范围可达 300~800 nm,波长分辨率优于 2 nm.

**关键词:**光谱学;分光光度计;积分时间;光谱吸收度;线阵 CCD

中图分类号:O433.4

文献标识码:A

文章编号:1004-4213(2013)05-0586-6

## Spectrophotometer for Bio-chemical Analyzer Based on Automatic Adjustment of CCD Integration Time

REN Zhong, LIU Guo-dong, HUANG Zhen

(Key Laboratory of Optic-electronic and Communication, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330038, China)

**Abstract:** Although the spectrophotometer for bio-chemical analyzer (BCA) has been applied to the properties analysis of biological samples including blood, some factors result in reducing the spectral measurement accuracy in practice. For example, the spectral absorbances are different for the various components in sample at different absorption wavebands, especially at the larger energy attenuation waveband and non-characteristic absorption waveband, which leads to the signals of strong absorbances are very large, but for weak absorbances, the signals are very small even covered by noises. Additionally, various noises generated by electronic devices and stray-light also bring serious interference for system. To solve these drawbacks above mentioned, an optimize algorithm of automatic adjustment of linear charge coupled devices (CCD) integration time combined with time- and data division was used to realize the separate exposure for strong absorption and weak absorption spectrum, which improved the weak signals under the condition of strong signals were normal. Experiments were done by using a custom-bulit high resolution spectrophotometer for BCA based on Czerny-Turner splitting-light monochrometer and linear CCD. Experimental results demonstrated that the improved method effectively enhanced the spectral measurement accuracy, system performance and signal-to-noise ratio. In addition, the

基金项目:国家自然科学基金(No. 61068002)、江西省自然科学基金(No. 20114BAB215047)、江西省教育厅项目(No. GJJ12594)和江西省卫生厅项目(No. 2011B002)资助

第一作者:任重(1981-),男,讲师,硕士,主要研究方向为光电子学及其在生物医学上的应用. Email:renzong0921@163.com

导师:刘国栋(1977-),男,教授,博士,主要研究方向为光学、精密工程及其在生物医学上的应用. Email:liuguodong95@163.com

收稿日期:2012-11-12;录用日期:2012-12-07

spectral range of this spectrophotometer for BCA can reach 300~800 nm, wavelength resolution less than 2 nm.

**Key words:** Spectroscopy; Spectrophotometer; Integration time; Spectral absorbance; Linear CCD

## 0 引言

生化分析仪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.其中分光光度计是生化分析仪的核心部件,它是基于朗伯-比尔定律基础上建立起来的一种常用的分析仪器<sup>[1]</sup>.

在用分光光度计来测量和分析光谱时,由于光源在紫外、可见光、红外波段的不同波长能量分布不均匀等因素<sup>[2]</sup>,使得血液中不同组分对入射光的光谱吸收度有所差异,出现样品中有的物质对一些波长的光吸收较强,甚至会接近饱和,而对某些波长的光吸收太弱,尤其对于紫外波段,能量衰减较大;另外散粒噪音、杂散光、CCD 和电子电路中存在的各种噪音<sup>[3]</sup>,使得弱信号甚至会被噪音或杂散光所淹没,从而降低光度测量准确率.通常抑制这些噪音的方法是:滤波法<sup>[4-5]</sup>、相关采样法<sup>[6]</sup>、多次采样平均法<sup>[7]</sup>和 CCD 致冷法<sup>[8]</sup>等.但是这些方法通常都要采用较复杂的硬件电路或设备,不仅不易实现,而且对于这些硬件电路来讲,本身又存在电子干扰,使得抑制噪音的效果不是很理想;而对于 CCD 致冷法来讲,低温会导致水汽凝结,对电子系统及光谱成像造成影响.

本文首先设计了基于虚拟仪器技术和线阵 CCD 积分时间自动调节的生化分析仪用分光光度计.然后从分光系统和软件编程优化算法等方面来补偿分光光度计系统性能并提高光度的测量准确度.利用虚拟仪器技术,对线阵 CCD 的光谱采集进行软件控制,并通过分段分时采光和积分时间自动调节等算法优化的方法,一方面,实现强光与弱光分开曝光,使得强光谱信号没有过饱和的同时,又可以增强对弱光谱信号的探测能力;另一方面,提高光谱信号的同时,有效地抑制了噪音信号,从而提高了系统的测量准确度和信噪比,最后通过实验充分验证了这一方法的有效性.

## 1 线阵 CCD 积分时间自动调节研究

### 1.1 基本思想

当线阵 CCD 用作生化分析仪用分光光度计的光电探测器件时,由于照明光源本身存在辐射光谱强度分布的不均匀性,以及被测样品的光吸收度各

不相同,使得吸收光谱在 CCD 各像元上的差别很大.此时,对应高光照吸收度下的像元光强大,而低光照吸收度下的像元的输出信号较小.如果采用单一改变 CCD 积分时间的方法,如单一增加积分时间,虽然会使得低光照度的信号提高,但同时会使得高照度的信号发生过饱和,而且由 CCD 暗电流、杂散光等因素所产生的噪音也同样被提高了;反之,单一减少积分时间,会导致原本微弱的光强信号过小,甚至会被淹没在噪音背景中而无法采集到,最终影响了系统测试效果,致使 CCD 光谱测量范围变窄,信噪比亦无法得到提高.为了克服上述单一法的不足,本文采用积分时间自适应调节方法来加以弥补,即通过自动调节 CCD 积分时间,在强吸收信号不饱和的同时使得弱吸收信号也同样得到增强.

### 1.2 积分时间自适应调节算法

当 CCD 高速工作时,入射光强的改变相对 CCD 的工作频率可视为较缓慢的连续变化,因而可以近似地认为在高速 CCD 一两帧的时间范围内入射光强不改变,可以作为光积分时间自动调整算法的理论基础,其光积分时间自适应调节的程序设计流程如图 1.

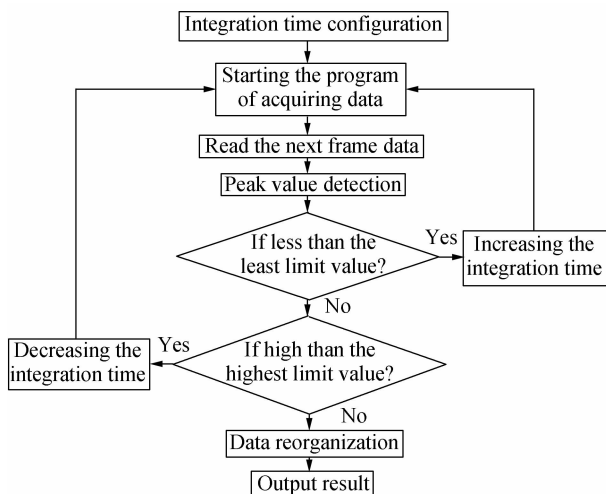


图 1 光积分时间自适应调节调整的程序设计流程  
Fig. 1 Flow-chart of auto-adjusting integration time of CCD

但是当积分时间已降至最小值,输出信号的幅值却仍然大于上限阈值;或者积分时间已升至最大值,输出信号幅值却仍小于下限阈值,这时就只能通过调节光源的输出强度来得到所需的输出幅值.

### 1.3 分段分时采光法

虽然利用积分时间自动调节方法可以提高光谱测量范围,但是其积分时间无法超出强吸收饱和时

的积分时间,使得弱吸收的光强无法得到继续提高,为了克服这点不足,本文进一步采用分段分时采光法,其设计流程如图2.

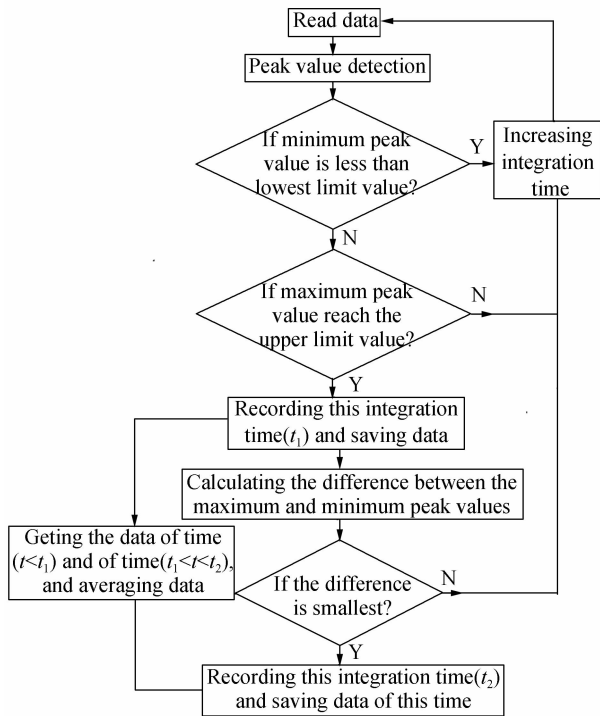


图2 分时分段采光法程序流程

Fig. 2 Flow chart of time and data division algorithm

先不考虑像元饱和的因素,采集同一输入信号光经过不同积分时间后的输出信号,得到数组不同的数据.然后,根据光照吸收度的不同,选取不同积分时间下采集的数据.对高光照吸收度下的像元,选取短积分时间采集的数据;对低光照吸收度下的像元,则选取长积分时间采集的数据,对这些不同积分时间下的数据组累加取平均,从而重新组合得到一组新的输出信号数据,这种方法不但可以有效地降低噪音,提高信噪比<sup>[9-10]</sup>,而且进一步扩大了 CCD 光谱测量范围.

## 2 生化分析仪用分光光度计系统设计

为了验证上述光积分时间自适应调节算法的有效性,本文首先研制了一种生化分析仪用分光光度计,该分光光度计核心部件主要包括 Czerny-Turner(CT)型单色仪分光光路和光谱采集分析系统.基本工作原理是:首先,由光源(卤素灯、汞灯或激光器等)发出光,经过衰减片将光源的能量衰减到适当的范围,将衰减后光照射到被测样品上,再由聚焦透镜将光聚焦,聚焦后的光进入 CT 型光路<sup>[11]</sup>组成的单色仪(主要由入射狭缝、准直物镜、平面光栅

和成像物镜组成),然后,成像物镜聚光后形成的光谱面投射到 CCD 的表面进行光谱接收,同时进行光电转换成相应的电信号,再由数据采集卡提供给线阵 CCD 驱动模块时序脉冲,驱动光电转换后存储的电荷在 CCD 内做定向传输并实现自扫描输出,再经数据采集卡采集并将其转化为数字信号,最后交计算机和数据分析软件进行结果显示、分析处理等.

### 2.1 单色仪光路系统设计

在分光光度计系统中,光路系统是光栅型分光光度计的前置部分.本文选用了平面光栅作为色散器件、CT 式光路结构.其中 CT 光路结构的特点是:可调节参量多,结构紧凑,能够实现较高的分辨率.本文用光学软件 ZEMAX 来设计和分析该结构,所设计的 CT 光路图如图 3.

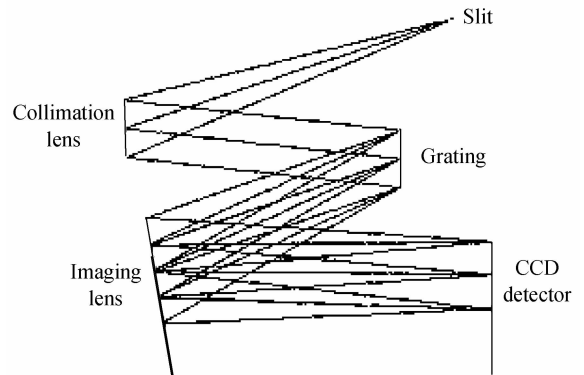


图3 CT 光路结构设计图

Fig. 3 Light path diagram of Czerny-Turner

### 2.2 光谱采集分析系统

本系统采用虚拟仪器技术来设计,其硬件部分主要使用了日本东芝公司生产的线阵 CCD 芯片 TCD1251UD 和天津琦瑶公司生产的高速数据采集卡(QY-PCI-S12H)构成光谱数据采集硬件系统.其中线阵 CCD 芯片 TCD1251UD 为 22 引脚 DIP 封装,有效像元数为 2 700,相邻像元中心距为:11  $\mu\text{m}$ ;数据采集卡(QY-PCI-S12H)的数据采用 PCI 总线进行传输,其 A/D 转换电路的分辨率为 12 bit,动态范围达到 4M,均可以满足系统需要.

然后,使用软件编程来控制 and 实现 CCD 光谱采集系统的数据读取和数据后分析处理等功能.要实现此功能,就必须使得软件和 CCD 数据采集卡实现通信互连.使用虚拟仪器开发软件 LabVIEW (version 8.5, NI)作为该生化分析仪用分光光度计光谱采集的控制和后续分析的软件设计平台.

根据系统的要求设计了线阵 CCD 光谱数据采集程序,其前面板如图 4.

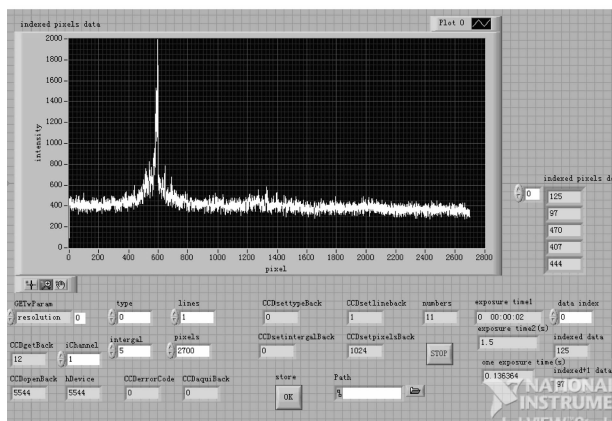


图 4 光谱数据采集程序前面板

Fig. 4 Front panel of spectrum acquisition program

### 3 实验和结果

#### 3.1 实验器材

本分光光度计的光源选用卤钨灯 (Philip6605, 12V/20W), 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 波段范围内均有较强的光. 入射狭缝为宽度可调型; 选用 400 nm 闪耀 600 线的平面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; 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, 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. 用两个输出能量和波长都不同的光源来分别模拟实际中采集到的强信号和弱信号, 其中, 光源 1 采用输出波长 532 nm 的二极管泵浦 Nd:YVO<sub>4</sub> 固体激光器 (VerdiTM V-5, Coherent Co., CA, USA). 光源 2 采用输出波长为 635 nm 的低噪音红光二极管激光器, 其输出功率 40 mW. 在分光光度计系统中, CT 单色仪、线阵 CCD 和 CCD 驱动模块被密封在一个自制的宽度 10 cm 的正方形铝合金盒内, 为了最大程度地消除光路杂散光干扰, 铝合金盒的内壁涂上质地均匀的黑漆. 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℃±0.5℃.

#### 3.2 光谱定标和分辨率测试

首先, 对该生化分析仪用分光光度计系统进行光谱标定, 使用的标定光源为低压汞灯, 所测光谱如图 5. 从图 5 中可以清楚地看到 577 nm 和 579 nm 两个波长的特征谱线被清晰的分开. 因此, 可以表明该分光光度计的光路结构设计和线阵

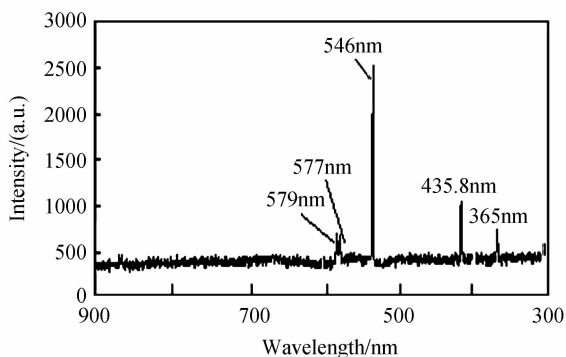


图 5 低压汞灯光谱特性曲线

Fig. 5 Characteristic spectrum of low pressure mercury lamp CCD 数据采集系统的分辨率十分理想.

然后, 对该分光光度计的分光系统进行分辨率测定, 分别选取了 200 nm、500 nm 和 800 nm, 并得到其对应波长下的衍射展宽、像差和线色散率, 在对应不同宽度狭缝的情况下, 通过式(1)计算得到其对应的分辨率.

$$\text{实际分辨率估计值} = \frac{\text{谱线展宽 } \Delta l}{2} \times \frac{1}{\text{线色散 } \delta l / \delta \lambda} \quad (1)$$

其中: 谱线的总展宽  $\Delta l \approx \Delta l_1$  (衍射展宽) +  $\Delta l_2$  (狭缝或针孔像宽度) +  $\Delta l_3$  (象差宽度). 其估算结果如表 1.

表 1 200、500、800 nm 处的分辨率情况

Wavelength/ nm	$\Delta l_1 /$ $\mu\text{m}$	$\Delta l_2 /$ $\mu\text{m}$	$\Delta l_3 /$ $\mu\text{m}$	$\delta l / \delta \lambda /$ $\mu\text{m} \cdot \text{nm}^{-1}$	Actual resolution/nm
200	1.2	70	28.6	39	1.28
500	3	80	25.7	43.5	1.25
800	4.8	90	70.2	51.3	1.61

由图 5 和表 1 可以得到, 该生化分析仪用分光光度计的分辨率可以达到 2 nm.

#### 3.3 CCD 积分时间自动调节实验和分析

为了验证 CCD 积分时间自动调节的有效性, 本实验在光学平台上搭建了自制的生化分析仪用分光光度计系统, 系统搭建情况如图 6.

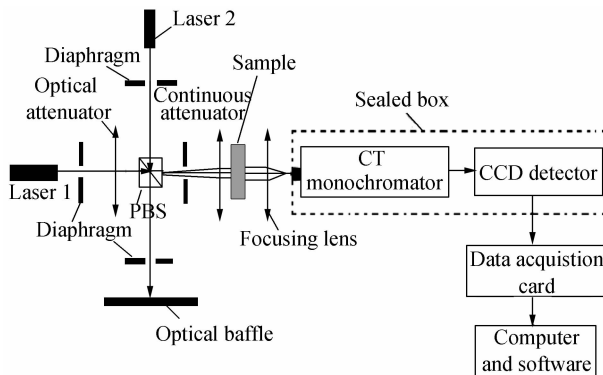


图 6 系统实验

Fig. 6 The experimental diagram of system

在此系统上,本文对血液样品做了相应的实验,实验图如图 6. 采集到的样品光谱图如图 7,此时积分时间为 1.0 ms,从图中可以看到强光照吸收度的光谱数据达到了 2 000(a.u.),而弱光照吸收度的光谱数据几乎被噪音所淹没,无法测量它的特性.同时,计算了积分时间为 1 ms 时的信噪比,约为 21.049 2 dB.

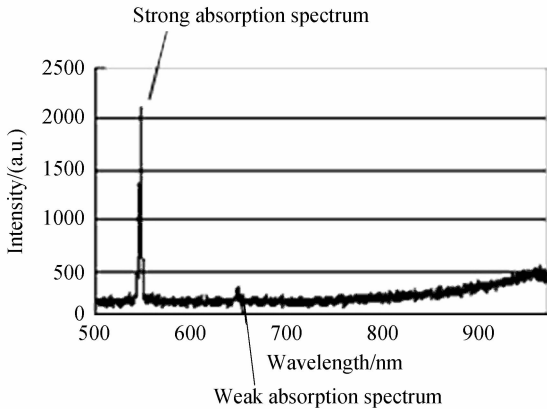


图 7 样品的吸收光谱图(积分时间为 1.0 ms)  
Fig. 7 Absorption spectrum of sample at CCD integration time of 1.0 ms

如果通过单一的增加曝光时间的方法,来增强光谱吸收度的强度,如图 8(a)所示,此时线阵 CCD 积分时间为 6 ms,图中强光照度光谱数据达到了 4 000(a.u.),弱光照度的光谱数据大约为 1 600(a.u.),

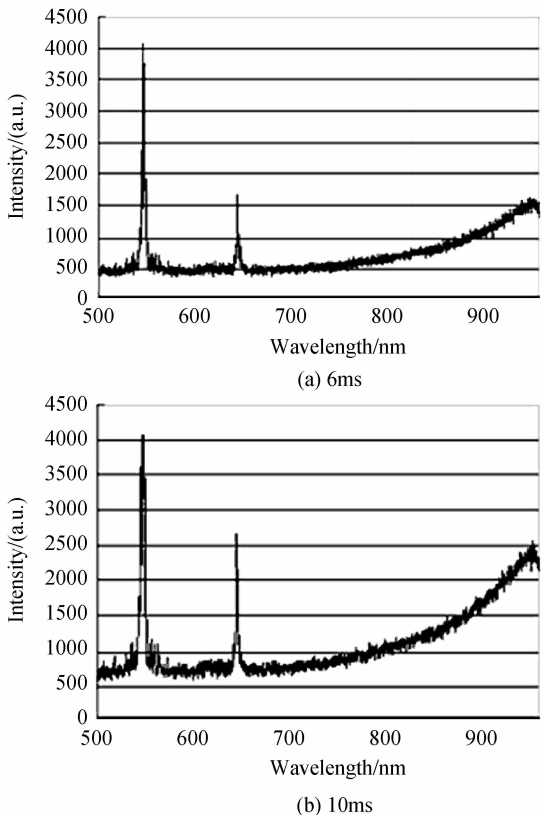


图 8 单一增加积分时间的光谱

Fig. 8 Spectrum gotten by using the simple increasing of CCD's integration time

此时信噪比约为 25.980 5 dB;但是当增加积分时间到 10 ms 时,如图 8(b)所示,此时弱光照度光谱数据虽然增加了,但是强光照度的光谱数据依然为 4 000(a.u.),且信噪比降至 23.996 2 dB.这说明当积分时间为 6 ms 时,线阵 CCD 部分像元已经达到了过饱和.这说明,当强吸收已经达到饱和时,无法通过继续增加曝光时间,来测量高光照吸收度下的像元的光谱特性,从而影响了测量的准确度和信噪比.

接下来通过使用积分时间自动调整结合分时分段采光的方法,针对强弱光光强对积分时间的响应不同,采用不同的积分时间段分开曝光.根据图 2 的程序设计流程,通过调节积分时间,当两个峰值强度分别达到饱和时,即:两个峰值强度之差最小时,来作为确定两个峰值达到饱和时的积分时间,即: $t_1$  和  $t_2$ ,确定好这两个饱和积分时间点,我们选取  $t < t_1$  积分时间来获取强吸收的光谱,再选取  $t_1 < t < t_2$  的积分时间来获取弱吸收的光谱,然后将两个积分时间段的光谱数据进行平均融合,获得最终平滑连续的光谱曲线.为了测试该方法的有效性,选取了积分时间分别为 4 ms 和 10 ms 时的光谱,利用上述方法进行平均融合,如图 9 所示为最终获得的光谱.从图中可以清楚地看到,在强光照吸收度的光谱数据达到 3 400(a.u.),没有达到饱和的同时,弱光照吸收度的光谱同样也得到了增强,且此时信噪比为 28.631 7 dB,大于积分时间为 10 ms 时的信噪比.因此,具有较好的测量效果.

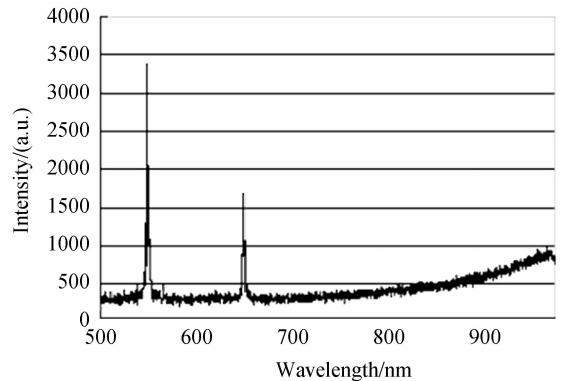


图 9 积分时间自适应调节结合分光分时采光后的光谱  
Fig. 9 The spectrum gotten by using the auto-adjusting integration time of CCD combined with time- and data division algorithm

### 4 结论

近几年来,随着科学技术特别是医学科学的发展,各种生化分析仪器均得到很大发展,国内外研究人员都在利用各种技术来改善生化分析仪器的性能和测定的准确性、精密度、速度、软件功能、灵活性和

自动化程度增加等. 本文在针对使用生化分析仪时, 样品中各物质对光强的吸收度不同时, 通过使用积分时间自动调节结合分时分段积分的优化算法, 并用虚拟仪器技术软件编程实现了强光和弱光分开曝光, 通过实验充分验证了这一方法的有效性, 并提高了光谱检测的准确度、信噪比, 具有一定的研究和应用价值.

#### 参考文献

- [1] 赵桦萍, 赵立杰. 分光光度分析[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2007.
- [2] 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.
- [3] XU Xiu-zhen, LI Zi-tian. Analysis and processing of CCD noise[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2004, **33**(4): 343-357.  
许秀贞, 李自田. CCD 噪音分析及处理技术[J]. 红外与激光工程, 2004, **33**(4): 343-357.
- [4] ZHANG Lin, LI Yong-xi. Application of variable band-pass filter to the noise processing of CCD output[J]. *Journal of Test and Measurement Technology*, 2007, **21**(1): 39-43.  
张林, 李永新. 可变带通滤波器在 CCD 噪音处理中的应用[J]. 测试技术学报, 2007 年, **21**(1): 39-43.
- [5] WANG Na, ZENG Ping, KONG Yue-ping. Modeling for CCD scan noise and adaptive filtering algorithm [J]. *Computer Engineering*, 2008, **34**(20): 244-246.  
王娜, 曾平, 孔月萍. CCD 扫描噪音建模及自适应滤波算法[J]. 计算机工程, 2008, **34**(20): 244-246.
- [6] JIANG Yu-min, HUANG Wei-gong, YANG Yi. Research on the accuracy improvement of linear array CCD measuring system[J]. *Electronic Measurement Technology*, 2010, **6**(33): 98-101.  
江育民, 黄惟公, 杨益. 基于提高线阵 CCD 测量系统测量准确度的研究[J]. 电子测量技术, 2010, **6**(33): 98-101.
- [7] SUI Xiu-bao, CHEN Qian, BAI Lian-fa, et al. Multiple sampling and filter technology of infrared focal plane array[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2010, **39**(6): 993-998.  
隋修宝, 陈钱, 柏连发, 等. 红外焦平面阵列多次采样滤波技术[J]. 红外与激光工程, 2010, **39**(6): 993-998.
- [8] CHEN Fang, SUN Li-qun, ZHANG En-yao. Application of CCD refrigeration in the miniaturized spectrometer [J]. *Journal of Applied Optics*, 2008, **29**(6): 854-858.  
陈芳, 孙利群, 章恩耀. CCD 致冷技术在小型光谱仪降噪中的应用[J]. 应用光学, 2008, **29**(6): 854-858.
- [9] ZHAO Yan-jiao, TANG Min-xue, WU Jian-hong. A method for enhancing SNR of linear CCD in spectroscopy [J]. *Optoelectronic Technology & Information*, 2004, **17**(4): 43-46.  
赵艳皎, 唐敏学, 吴建宏. 一种提高光谱仪中线阵 CCD 信噪比的方法[J]. 光电子技术与信息, 2004, **17**(4): 43-46.
- [10] GU Lin, HU Xiao-dong, LUO Chang-zhou, et al. Automatic adjustment of the exposure time of linear CCD based on CPLD [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2002, **31**(12): 1533-1537.  
谷林, 胡晓东, 罗长洲, 等. 基于 CPLD 的线阵 CCD 光积分时间的自适应调节[J]. 光子学报, 2002, **31**(12): 1533-1537.
- [11] LIU Jian-peng, TANG Yi. Design method of optical system of improved Czerny-Turner imaging spectrometer [J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, **32**(3): 1-7.  
刘健鹏, 唐义. 改进型 Czerny-Turner 成像光谱仪光学系统设计方法[J]. 光学学报, 2012, **32**(3): 1-7.