

现代光谱仪与计算机辅助化学分析的应用

姚 凡

摘要：本文分析了现代微机化光谱仪的总体结构，并对仪器功能设计中可采用的计算机辅助化学分析方法作了说明。

一、前 言

由于计算机技术的应用与发展，现代光谱仪已进入微机化，并具有了一定程度的智能化。计算机在仪器的总体结构上占据着很大的比重，并在仪器的运行操作与测试功能上发挥着主导作用。使得现代光谱仪的功能设计与应用方式发生了许多变革。本文着重介绍这种变化的主要方面，同时就可以纳入仪器分析功能设计的几种计算机辅助化学分析方法加以说明。这些发展中的技术可以从新近引进的光谱仪上体现出来。这些技术也是从事研究和制造光谱仪器的人们所关心的。

计算机辅助化学CAC(Computer Aided Chemistry)的较为明确的提法应为计算机辅助化学分析CACA(Computer Aided Chemistry Analysis)。这种分析手段不但功能强大，而且应用领域极为广泛。本文仅讨论在紫外—可见光谱仪中作定量分析应用的基本内容和实现方法。

二、现代光谱仪中计算机的作用

微型计算机的发明推动了光谱仪器制造业的发展。计算机技术在仪器操作控制自动化、智能化以及在数据处理功能上所展现的优异性，引导着光谱仪器的升级换代。

第一代微机化光谱仪是在七十年代后期诞生的。其在总体结构上的主要特点是：微型计算机以部件计算机的形式取代了传统光谱仪中单色计—光度计系统的核心地位，成为整台仪器的指挥中心。单色计、光度计则分别成为受内装(Built-in)计算机操作的外围设备。内装计算机除了完成仪器的全部操作控制和光谱测量功能外，还将从光源开始直至接收器整个光学系统以及相应的电子学装置置于自己的监控之下，使之处于最佳工作状态。然而这类新型光谱仪在测光能力方面仍与传统光谱仪相仿，它只能作透过率，吸收率的解算和采用标准对照法或标准曲线法的浓度解算。但仪器的测光精度和稳定性得到了显著的提高。

计算机辅助化学实际上是和计算机一起诞生的。从第一代计算机出现开始，就有了计算机在分析化学方面的应用研究工作。但是比较普遍和深入的研究工作主要是从六十年代小型计算机进入实用阶段开始的。当时计算机的价格昂贵，工作环境要求严格，加之与传统光谱仪联机上的困难妨碍了CAC的应用研究成果向实用转化。

随着微型机的发展，七十年代末期出现了一种称之为“数据站”的装置，即“为今日的实验室的需要而设计的计算机系统”。其代表性的产品为P—E公司的Model—3600 Data Station。它通过双向RS—232C接口与光谱仪内装计算机相连接。数据站在相应的应用软件包

的支撑下与内装计算机一起完成仪器的全部操作控制、自动测量、数据处理以及定量分析等工作。至此，P—E公司的产品样本上开始出现了CAC的字样。

光谱仪器是化学分析工作的重要手段。随着CAC技术以及智能测试系统的发展，数据站已成为光谱仪进行定量分析的不可分离的部份。它大大强化了仪器的定量分析和光谱数据处理的能力，而且体现着仪器的性能、品质的水平。

紫外—可见光谱仪的数据站实现计算机辅助分析功能的应用软件包主要包括以下几方面内容：

- 定量分析程序
- 多组份分析程序
- 动力学分析程序
- 用于动力学分析的多样品池程序
- 色度学分析程序
- 数据管理程序

上述应用软件包大体上要进行三方面的工作：

1. 控制仪器进行光度测定；
2. 完成数据二次处理、谱图变换和定量分析；
3. 谱图的显示和描绘；测试条件、结果的列表和打印记录等。

如果从总体的角度去研究可以发现，以微机化光谱仪—数据站这种模式构成的光谱测量、分析系统，在测量过程中仪器的操作和数值运算是由内装计算机去完成的。数据站仅起着指挥光谱仪内装计算机协调工作的发令者的作用。一俟一张完整的谱图为数据站所接收，在作二次数据处理、谱图变换、分析和结果记录的过程中，光谱仪内装计算机处于闲置状态。

第一代微机化光谱仪内装计算机的工作效率是很低的。即使在与数据站脱机，由内装计算机单独工作时，工作效率一般仅达25%左右。因之这种以数据站和仪器内装计算机支撑着光谱仪实现各种测试和分析的系统结构原理，还不能算是完善的。于是在八十年代初，更新一代的微机化光谱仪出现了。

第二代微机化光谱仪与第一代相比较，从整机功能上看，包括了前述微机化光谱仪—数据站这种模式构成的光谱测量、分析系统所具备的一切有效的操作、控制、数据处理和计算机辅助分析功能。在总体硬件结构上采用了功能更强、性能更完美的输入、输出设备，改善了仪器的操作性能。从应用软件上来看，第二代微机化光谱仪将系统程序与仪器操作者彻底绝缘了。这一点在仪器提供的用户自编分析程序的能力上可看出。第一代微机化光谱仪无此能力。微机化光谱仪—数据站联机系统具有此能力，但分析者必须使用BASIC等高级程序语言。这对使用者来说是不方便的。用户在第二代微机化光谱仪上自行编制分析程序时已不再使用BASIC等高级语言了。而使用一种符合分析者语言习惯的分析仪器用简易语言或使用一种与之相类似的“命令链”程编方法编写各种分析程序。

第二代微机化光谱仪不仅在结构上革除了数据站，在性能—价格比上具有很大的优越性。而且它使计算机辅助化学分析在光谱仪上得到了实时性的发挥。内装计算机的功能设计使各种分析、处理手段更为成善，实时而又简便。不管现代光谱仪的“计算机味”有多浓，但最终用户面对的仍是一台分析仪器，而不是一台计算机。它使光谱仪器的设计与制造技术又大大地向前跨进了一步。

三、现代光谱仪的总体结构与功能

新型光谱仪以内装计算机为工作核心，支配仪器的运行和谱图的获得，并取得谱分析的结果。仪器的总体构成有别于前代常规光谱仪器。布局上将各部份执行机构均作为外设，内装计算机在用汇编语言编制的高效的系统软件的支撑下，对整机进行分时控制，实行智能化

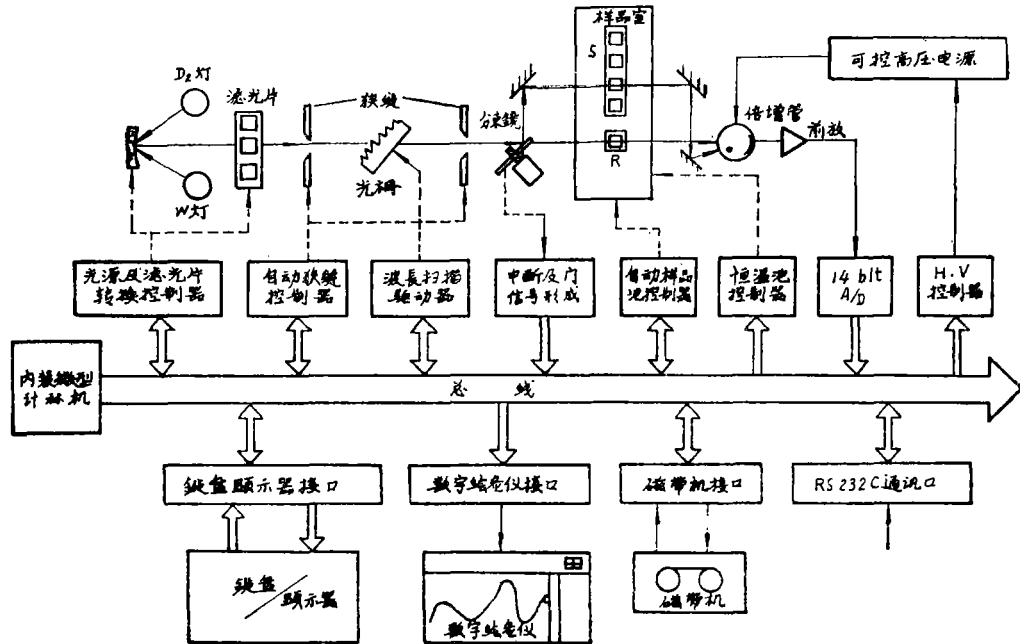


图1

操作。在系统软件中，谱测量与分析软件功能的多样化和效能是仪器性能水平的标志。现以我们研制的双光束紫外—可见光谱仪为例作简单介绍，从中可对现代光谱仪的总体概貌有一基本的了解。

图1为该光谱仪的整机结构框图。从中可看清内装计算机在整机中所处的地位。该仪器在内装计算机的操作下目前已能实现如下功能：

1. 操作与控制功能

这部份包括波长及各机械运动部件的原点校准；波长扫描驱动、变速；光源、滤光片的切换和高压控制、狭缝驱动等。与前代光谱仪相比，控制方式发生了原理性的变革。即从模拟量的机电控制或数字式程序控制变为直接计算机控制。高压反馈和狭缝驱动系统是仪器重要的一环，它的作用是保持参考通道中能量的恒值，并使仪器获得维持一定精度所必要的工作能量。以计算机作为保持器、比较器和调节控制器纳入系统，系统通过计算机闭合。因此，革除了复杂的模拟量处理的闭环伺服系统，并提高了系统的稳定性和灵活性。

2. 仪器自身函数的修正功能

仪器的测光系统采用并列双光束，直接比值记录的测量方式。样品的透过率和吸收率的解算是以参考通道中的能量为基准的。如果参考通道中的能量在各个波长上不是一个足够强度的恒定值就不能保证系统在全波长范围内实现同一精度的测量。

由于光源、单色计、光度计和接收器等元部件的光谱特性的综合影响，使得仪器整机的光谱响应曲线的最强处与最弱处相差达数十至数百倍。为使仪器能实现全波长范围内的等精度测量，必须对仪器参考通道内的能量进行恒值控制。计算机实现仪器参考通道内能量的恒值控制，是将数据采集器取得的参考信号与计算机内预先设定的基准值进行比较。根据其差值计算机通过高压反馈系统自动调节倍增管的高压来实现的。

在双光束测量系统中，由于工艺条件的限制，样品和参考通道的光学特性是不可能绝对对称的。即使在样品池无样品，参考通道能量保持恒定的条件下，测得的透过率亦不恒为100%*T*。出现100%*T*线起伏不平现象，这是仪器光度计部份的自身函数，它直接影响着仪器归一化精度。

100%*T*线的修正是计算机在采样后与光度值的解算同时进行。样品的透过率曲线为 $y = T(\lambda)$ ，由于仪器自身函数 $y' = T'(\lambda)$ 的存在，使得实测的样品透过率曲线成为 $Y = T(\lambda) \cdot T'(\lambda)$ 。由于 $y' = T'(\lambda)$ 就是在仪器初始化阶段计算机自动测量并存储的基线。因此，计算机在进行样品透过率解算的同时执行 $y = Y/y'$ 的操作，即可消除基线对测光精度的影响。

计算机执行这种功能操作后不但可使仪器归一化（100%*T*线）的精度和重复性达0.1%左右，基线修正可随时进行，还相应降低了光度计部份制造上的难度。对于仪器使用者还有一个非常重要的优点，即使在操作过程中使样品池受到污染也不致于使仪器归一化精度遭到破坏。

仪器在不同的扫描速度和采样间隔的条件下，进行扫描测量会出现不同的波长位置滞后现象。这是由于仪器系统、数据处理和记录仪的响应造成的。计算机使仪器在不同的扫描速度和采样间隔的条件下，能呈现不同的响应特性，来对不同的波长位置滞后量进行自动修正，以确保仪器最终输出的测量结果的波长精度。

3. 基本的数据处理功能

(1) 测定样品的透过率

$$T = \frac{S - Z_1}{R - Z_2} \%$$

其中*S*和*R*分别为样品参考通道上的光信号。*Z*₁和*Z*₂为相应通道上各自的背景信号。进行背景扣除可提高测量高浓度样品时的精度，改善系统的非线性误差，扩大仪器的动态范围。

(2) 样品透过率到吸收率的实时变换

$$ABS = \log \frac{1}{T}$$

(3) 数据平滑

计算机在作数据处理、恢复被测信号的过程中，由于数字测量系统的硬件并不具备抑制噪声、改善被测信号信噪比的能力。因此，对离散信号做改善信噪比的工作只能由软件来完成。现采取适用于匀速采样系统的基于高斯概率分布误差原理的移动点多项式平滑方法，可在单次扫描测量的过程中同时实现谱线平滑化，达到数字滤波的目的。这种处理方法的数学模式可归纳为一卷积表示式

$$y_p = \frac{1}{N} \sum_{k=-n}^n C_k \cdot y_{p+k}$$

其中 y_p 为 $2m+1$ 个采样点区间中中央采样点上被测光度值的最佳概率值； y_{p+k} 为实际采样值； N 、 C_x 为平滑因子列参数。计算机在扫描采样测量时，只要每次将上述处理的采样区向前移动一个采样点，就实现了移动点数据平滑。平滑处理将引入波长滞后，这在波长修正处理上加以解决。

4. 定量分析功能

光谱仪与单色仪同属分光仪器，但用途大不一样。光谱仪主要用来测量样品的分子吸收光谱，并作成份的定量分析。在传统光谱仪上定量时，需分析者作一系列繁杂的操作，并进行手工计算，且精度不容易保证。第一代微机化光谱仪一般也不能自动作定量分析或只能进行简单的定量分析。第二代微机化光谱仪由于具备了计算机辅助化学分析的功能，所以就能自动执行多种复杂高级的定量分析操作。这部份内容由本文第三节作详细说明。

5. 仪器自诊断功能

计算机的这种功能可以使仪器能正确无误地自动进行各种测量和分析工作，以及确保所取得结果的可信赖性。

仪器自诊断功能包括二部份内容。第一部份是在仪器初始阶段对光源、滤光片、狭缝、波长扫描系统、接收系统和高压电源的工作情况以及系统程序和存贮器的正确性进行检查。同时还要作波长定位精度和100%T线归一化精度的效验。第二部份是在仪器的测量过程中，对分束器的工作情况，如采样门信号、中断信号的形成、波长扫描驱动器的工作以及仪器使用者的误操作和输入参数的合理性进行随机的监测。

计算机在对仪器作以上监视和检查的过程中，只要发现异常情况，便立即停机，并将发生故障的部位通知操作者。

四、计算机辅助化学分析所常用的定量分析方法

鉴于新型光谱仪与传统的光谱仪在数据处理与定量分析功能上有着突出的差异。这里把计算机辅助化学在仪器功能设计上适用的几种分析方法介绍一下。对于研制或使用新型光谱仪的同志或有帮助。这几种方法在我们研制的紫外—可见光谱仪中已得到了运用。

1. 单组份样品的经典法定量测定

这是最常用的定量方法。它适用于单组份样品的定量或混合物中吸收峰不位于其他共存物的吸收波长处的待测组份的单独定量分析。

根据Lambert—Beer定律，当被测样品为单一组份时样品的吸收率 A 、吸光系数 ϵ 、光程 L 、浓度 c 在单色光条件下符合以下关系式

$$A = \epsilon \cdot L \cdot c$$

因光谱仪中样品池长度是固定的。所以上式可写成

$$A = a \cdot c \quad \text{其中: } a = \epsilon \cdot L$$

当被测组份在某波长位置上的 a 值是已知时，操作者可在键盘上输入 a 值。然后通过在该波长上测量样品的 A 值直接求得浓度 c 值。这叫绝对法。

但同一组份在不同波长位置上的 a 值是不同的。而溶剂或共存组份的存在也必然会引进附加误差，产生一个空白值 b ，使上式变为

$$A_i = a \cdot c_i + b_i; \quad i \text{ 为实验组别, } i = 1 \sim n$$

所以在实际测试前操作者需配制一系列标准溶液，并将它们的浓度值 c_i 通过键盘输入仪器。之后仪器在预先设定的波长上对这一组标准样品和一个空白溶液进行 A_i 值的测定。由于实际测试过程存在着样品制备和仪器测定的误差， A 与 c 之间的函数关系常常以相关关系表现出来。因之采用最小二乘法对这一组实验结果进行线性回归可求得反映实验点分布状况的回归方程 $A = a \cdot c + b$ ，其中 a, b 值由下式计算

$$a = \frac{\sum_i^n (c_i - \bar{c}) \cdot (A_i - \bar{A})}{\sum_i^n (c_i - \bar{c})^2}$$

$$b = \bar{A} - a \cdot \bar{c}$$

其中： n 为标准样品数

c_i 为第 i 组标准样品的浓度值

\bar{c} 为 n 组标准样品的平均浓度值

A_i 为第 i 组标准样品的吸收率

\bar{A} 为 n 组标准样品的平均吸收率

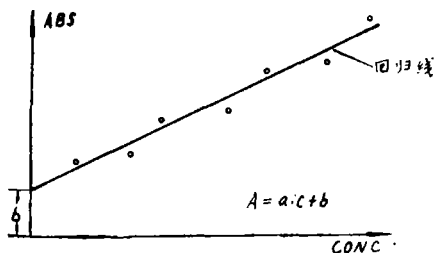


图2

之后操作者再对任一待测样品进行测试，计算机将测得的 A 值代入关系式 $A = a \cdot c + b$ 即可得出该样品的浓度值。

这种回归处理方法可克服只用一种浓度的标准溶液测定 a 值时由于实验条件和测试仪器引入的偶然误差以及配制标准溶液时的人为误差。

就回归计算方法本身而言，一组两个变量的实验结果数据不论其散布程度如何，都可以用最小二乘法配出一个回归方程和一条回归曲线，但是难以说明其

存在的意义。还必须计算出表明两个变量线性相关程度的相关系数 R 值

$$R = \frac{\frac{1}{n} \sum_i^n (c_i - \bar{c}) \cdot (A_i - \bar{A})}{\sqrt{\frac{1}{n} \sum_i^n (c_i - \bar{c})^2} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} \sum_i^n (A_i - \bar{A})^2}}$$

R^2 值接近1时，说明所配制的标准溶液的 c_i 与 A_i 是线性相关的。

由于吸收定律是一个有限定律，所以在上述测试时不管标准溶液还是被测溶液都只能是稀溶液，通常 $< 0.01 M$ 时才能保证 A 与 c 之间的线性关系。

另外，仪器的杂光和光谱带宽对测量结果所引入的非线性误差也是仪器设计者和使用者所必须注意的。

上述各组标准样品的测定与回归运算在计算机的参与下可以简便的完成。

2. 混合物样品的多组份同时测定

计算机用解联立方程法对多组份混合样品进行同时测定。但当组份间吸收光谱重叠很严重时，此法误差较大。

当某一混合样品中有 n 个待测组份时，可适当选取 m 个波长点，一般使 $m = n$ 或 $m > n$ 。并测得混合样品在 m 个波长点上的总吸收率 A_1, A_2, \dots, A_m 。根据吸收率的加和性可得 m 元一次方程组

$$\begin{cases} A_1 = A_{11} + A_{12} + \dots + A_{1n} \\ A_2 = A_{21} + A_{22} + \dots + A_{2n} \\ \vdots \\ A_m = A_{m1} + A_{m2} + \dots + A_{mn} \end{cases}$$

其中 A_{mn} 为第 n 个待测组份在第 m 个波长点上的吸收率。所以上式又可写成

$$\begin{cases} A_1 = a_{11} \cdot c_1 + a_{12} \cdot c_2 + \dots + a_{1n} \cdot c_n \\ A_2 = a_{21} \cdot c_1 + a_{22} \cdot c_2 + \dots + a_{2n} \cdot c_n \\ \vdots \\ A_m = a_{m1} \cdot c_1 + a_{m2} \cdot c_2 + \dots + a_{mn} \cdot c_n \end{cases}$$

其中 a_{mn} 为第 n 个待测组份在第 m 个波长点上的吸光系数。

在使用此法前操作者需将混合物中待测的纯成份各配制一组标准浓度的样品，并分别使用单组份测定的一元线性回归法求得每一被测组份在选定的每一个波长位置上的吸光系数，亦即上述方程组中的 $a_{11} \sim a_{mn}$ 。

此后仪器便能自动完成在 m 个波长位置上对被测混合物进行测试。将得到的 $A_1 \sim A_m$ 及 $a_{11} \sim a_{mn}$ 代入 m 元一次方程组，并对该方程组求解。求得的 c_1, c_2, \dots, c_n 即混合物中 n 个待测组份的浓度值。

由计算机求解线性方程组还可以利用矩阵变换方法提高其运算速度。

3. 二、三波长法

在运用前二种经典的分光光度法时，即便使繁杂的计算和处理工作由计算机完成，对于多组份混合物的分析仍觉误差较大。而对于存在着很强的散射和非特征吸收的混合样品或具有较大背景吸收的样品就显得不适用了。

二波长运算法的实质是传统的双波长、单光束光谱仪的工作原理在单波长、双光束光谱仪中通过计算机的变通运用。

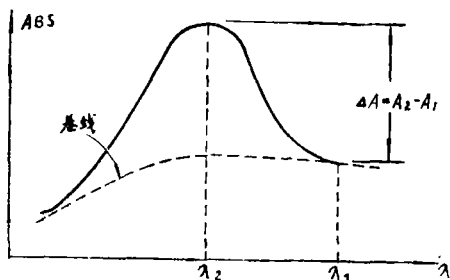


图 3

在选择三个波长时，应使共存组份在三个波长处的吸收率尽量落在一条直线上。

$$\Delta A = A_2 - \frac{A_1(\lambda_2 - \lambda_3) + A_3(\lambda_1 - \lambda_3)}{\lambda_3 - \lambda_1}$$

在用二—三波长运算法求得被测组份的 ΔA 值后，就可以用前述的经典法进行定量了。

双波长分光光度法定量分析的条件是 λ_1, λ_2 必须非常靠近或共存组份在两个波长位置上有相同的吸收。此时样品在两个波长处的吸收率的差值 ΔA 与样品中待测组份的浓度成正比。

三波长运算法是二波长运算法的引伸。被测组份的吸收率可通过混合样品在三个波长上的值直接求出。

在选择三个波长时，应使共存组份在三个

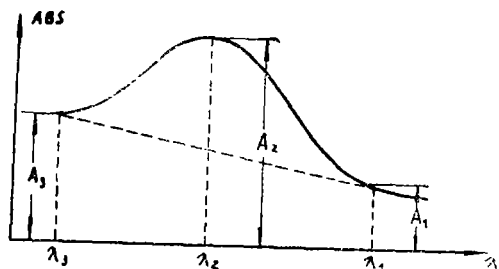


图 4

的谱带的精细结构。较高阶次的微分能消除较低阶次的背景函数，这在化学分析中意味着背景干扰被消除了。所以微分光谱分析技术特别适用于痕量分析、纯度试验、重叠谱带的分离和混浊液的不稳定的背景的扣除。

仪器作微分光谱时，计算机并不是对基本光谱直接作求导运算。而是采用 Savitzky—Golay 的平滑多项式对基本光谱作卷积平滑处理。卷积处理表达式如下

$$y_P = \sum_{k=-m}^m P_k^{(q)} \cdot y_{P+k}$$

其中， $2m + 1$ 为平滑点数

$P_k^{(q)}$ 为 q 阶次的微分平滑因子列

适当选择因子列数组 $P_k^{(q)}$ 就可直接获得基本光谱的各阶微分光谱。

在作定量时，只要在选取的波长上被测组份的一阶微分为零，则该波长上的二阶微分值与被测组份的浓度值成正比。这时运用经典法即可进行定量。不同点只是回归直线的纵座标由吸收率改为峰高而已。

在光谱仪中，计算机能作 1 ~ 4 阶微分光谱就能满足绝大多数常规测试的需要了。

一般偶数阶微分光谱用以鉴别基本光谱的极值，奇数阶微分光谱用以鉴别基本光谱的肩部。

微分平滑的平滑点数由仪器设计者适当选取后固定的，而 $\Delta\lambda$ 可由仪器操作者在一定的范围内选取。

5. 动力学分光光度法

上述讨论的分析方法均属稳态测量，即溶液中发生的化学反应达到平衡之后再对溶液的光度值进行测定。然后根据光吸收定律计算出被测组份的含量。而动力学分光光度法则是利用反应速率与反应物、生成物或催化剂的浓度之间的定量关系。通过测定与反应速度成比例关系的吸收率，从而计算出待测组份的浓度。所以此法属于动态测量。

动力学分光光度法与前述分析方法相比有许多独特的优点。扩大了可利用的化学反应范围；具有极高的灵敏度；选择性好，有时甚至是特效的；可用于混合样品中性质十分相近的组份的测定等等。

动力学分光光度法的原理与具体应用这里不作介绍。通常光谱仪最终给出 $A-t$ ， $\log A-t$ ， $dA/dt-t$ 三条曲线提供分析者使用。

影响动力学分光光度法精度的因素很多。一类是测试过程中对化学反应诸因素的具体处置因人而异。如反应物的浓度的配制；助催剂、催化剂的使用等。另一类是反应的环境条件

用二—三波长法对多组份样品进行分析，虽然不能作多组份的同时测定。但由于能有效的消除混合样品中干扰组份的影响，校正由光散射引起的基线升高；又能通过二波长的吸收率的比值观察混合样品中被测组份的强度。因而扩大了单波长、双光束光谱仪的应用范围。

4. 微分光谱法

由于微分的高通特性使得此法具有很好的选择性，能精确地测定孤立的肩峰以及被淹没

的影响。其中需特别注意的是温度对化学反应的影响。

温度对化学反应的影响表现在它对反应速率常数的影响。一般温度每上升10K反应速率加快1~3倍。为此在进行动力学分光光度法测定时,为确保测量精度,仪器需配置一套可精确控温的样品池。样品池调温范围一般为20℃~80℃,控温精度一般为0.05℃~0.1℃左右。

以上内容基本上包括了现代第二代微机化光谱仪应具备的仪器操作、控制、数据处理以及计算机辅助化学分析的功能。随着计算机技术与计算机辅助化学分析应用研究的深入和发展,必将有更多既有效又简便的仪器操作控制和分析方法出现。光谱仪的设计者也必须作出相应的努力,谋求这些原理、方法在仪器技术上加以实现的可能。从计算机对信息的获得、传输与处理的能力上看,它在光谱仪器的智能化和自动化方面可胜任的工作极为广泛。光谱仪器不论是在结构、功能方面还是在整体面貌上将发生日新月异的变化。

参 考 文 献

- [1] 王汝勤,“信号数字化测量的数据平滑方法”,1981年微弱信号检测学术年会论文。
- [2] 王汝勤、姚凡,“噪声兼容处理的信号移动点平滑系统”,1983年仪器仪表学会微机应用学术会议论文。
- [3] 陈国珍等,《紫外—可见分光光度法》,原子能出版社,1983年5月。
- [4] 胡鑫尧等,《计算机在分析化学中的应用》,清华大学出版社,1983年3月。
- [5] “Derivative Spectra in Quantitative Analysis”,《The Analytical Bulletin》,Perkin-Elmer Corp., America, 1984, 2.
- [6] “Spectrophotometric Analysis”,《Shimadzu Application News—134》,Shimadzu Corp., 1985年。
- [7] 姚凡,微型计算机在扫描光谱测量的实时控制和数据处理中的应用,《微型计算机》,上海交大出版社,1986, 2.

Modern Spectrophotometer and Application of Computer Aided Chemistry Analysis

Yao Fan

Abstract

This paper analyses the total construction of a modern microcomputerized spectrophotometer and describes an applicable method of computer aided chemistry analysis in design of the instrumental function.