

仪器装置与实验技术

## 荧光分光光度计多功能应用软件的设计

林竹光\* 许金钩 黄贤智

(厦门大学化学系, 厦门, 361005)

**摘要** 本文提出日立650-10S荧光分光光度计与Apple II微机联用技术并设计出一套多功能的应用软件。荧光分光光度计的输出信号经适当放大后,由模数转换器转换为数值信号,由微机控制信号的采集时间与频率以取得光谱数据。数据经多功能应用软件处理,可分别得到常规荧光光谱、导数荧光光谱、波长型或能量型三维荧光光谱、波长型或能量型等高图荧光光谱和线性回归曲线等,扩展了仪器的功能。

**关键词** 荧光分光光度计, 微机, 联用技术, 应用软件。

### 1 引 言

由于三维荧光光谱反映出荧光强度(F)同时随激发波长( $\lambda_{ex}$ )和发射波长( $\lambda_{em}$ )的变化情况,因而能提供比常规和同步荧光光谱更丰富的光谱信息,是一种很有价值的光谱指纹技术。在多组份混合物的定性和定量分析方面有着很好的应用前景<sup>[1]</sup>。然而,目前国内拥有的国产或进口的常规荧光分光光度计,绝大多数无法直接获取试样的三维荧光光谱,且数据分析需要繁杂的人工处理。

本文采用荧光分光光度计与微机相联,自行设计了一套多功能的应用软件,具有测绘常规荧光光谱、导数荧光光谱、同步荧光光谱、导数-同步荧光光谱、波长型或能量型三维荧光光谱、波长型或能量型等高图荧光光谱和线性回归曲线等功能。

### 2 仪器装置与应用软件

#### 2.1 仪器装置

仪器装置框图如图1。将荧光分光光度计的输出信号直接引入12位模-数转换器的输入

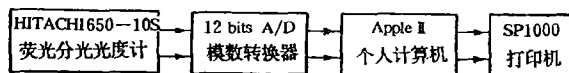


图1 仪器装置框图

通道,模数转换器直接插在Apple II微机的通用I/O槽上。由微机控制转换器实时采集数据,所采集的数据经多功能应用软件处理后,即可以屏幕显示或打印机打印获得多种荧光信息。

#### 2.2 多功能应用软件

所设计的多功能应用软件的流程图如图2所示。在软件的设计中,为了操作方便,运行过程均以菜单形式提示,各类参数显示清楚,只要清楚菜单提示的内容,即可方便地操作使用。

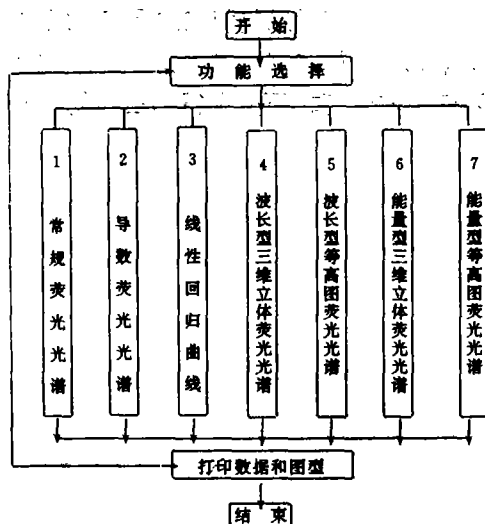


图 2 多功能应用软件流程框图

### 3 结果与讨论

#### 3.1 信号的采集与处理

应用软件中七项功能均要共享信号采集子程序。子程序以汇编语言编制，单点的信号是由32次采集的信号值按数值由小到大排序后，求中间24点的均值。通过微机控制信号的采集点数、时间和延时时间，以达到与荧光分光光度计同步扫描的目的。根据实际需要，可控制信号的采集点数、时间和波长间隔。如采集信号240点，采集1min，荧光分光光度计的扫描速度为60nm/min，则点与点之间的波长间隔为0.25nm。所采集的数值信号经平滑处理后，即可供各功能块使用。

#### 3.2 绘图子程序

本软件编成通用的绘图子程序，根据所选择的实验参数，只要定出屏幕坐标的上、下、左和右四个参数，即可将图形绘制在指定的屏幕区域。三维荧光光谱与等高图荧光光谱是共享实验参数和所采集的数据而又分别独立的作图子程序。同一批采集的数据，根据需要可分别绘出波长型或能量型三维荧光光谱与等高图荧光光谱。所绘制的图形图像清晰，层次分明。

#### 3.3 应用软件功能概释

**3.3.1 常规荧光光谱** 主要功能包括测绘常规的荧光激发光谱、发射光谱和同步扫描光谱，同时可以检出谱带的峰值及其波长。图3为实验所绘制的葱的常规荧光激发光谱和发射光谱。

**3.3.2 导数荧光光谱** 该功能可以测绘常规荧光光谱的1~4阶导数荧光光谱并检出导数峰的峰值及其波长。

**3.3.3 线性回归曲线** 该功能可根据实时采集的一系列数值信号或由键盘输入的数据进行最小二乘法线性回归计算，求出线性回归方程、相关系数、标准偏差和未知样含量等。可进行标准工作曲线和标准加入法工作曲线的计算、绘图。

**3.3.4 波长型三维荧光光谱** 在每次保持一定的激发波长增量的情况下，进行不同激发波长

下的发射波长扫描,同时由微机控制实时采集相应的 $F$ 值。经软件处理后,可显示以空间座标 $X$ 、 $Y$ 和 $Z$ 轴分别表示 $\lambda_{e,x}$ 、 $\lambda_{e,m}$ 和 $F$ 的三维荧光光谱图(图4)。此外,本软件还具备这样的功能,可以显示和打印不同观察角 $\theta$ 和 $\varphi$ 下所获得的三维荧光光谱。

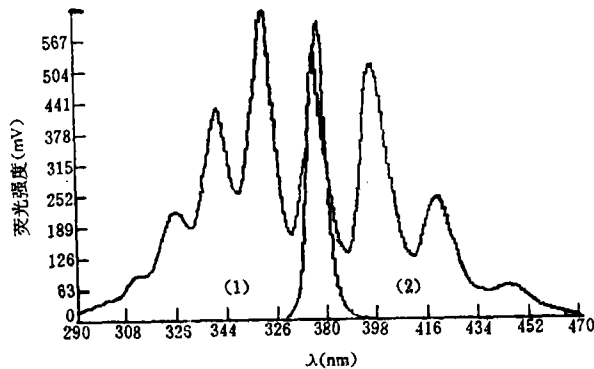


图3 葱的常规荧光激发光谱、发射光谱图  
浓度: 1mg/L葱环己烷溶液; 灵敏度: 3;  
扫描速度: 120nm/min; 狭缝: 4nm;  
(1)  $\lambda_{e,m}$ : 378nm; (2)  $\lambda_{e,x}$ : 378nm.

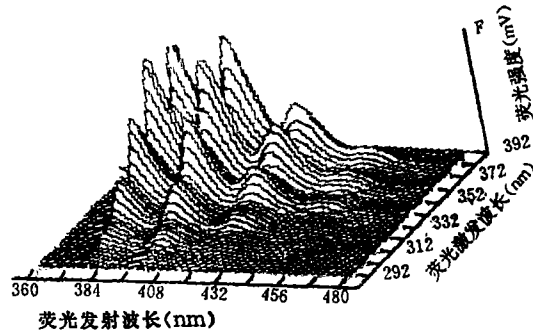


图4 葱的三维立体荧光光谱图(波长型)  
浓度: 1mg/L葱环己烷溶液; 灵敏度: 3;  
扫描速度: 120nm/min; 狭缝: 4nm;  
 $\theta$ : 120°;  $\psi$ : 80°.

**3.3.5 波长型等高图荧光光谱** 以 $\lambda_{e,x}$ 和 $\lambda_{e,m}$ 为平面座标轴,将三维荧光光谱以设定的荧光强度值逐次沿 $F$ 轴作平行于 $\lambda_{e,x}$ 、 $\lambda_{e,m}$ 平面的剖切。剖切面与三维荧光光谱表面相交的闭合曲线即为等荧光强度线。三维荧光光谱上所有的等荧光强度线垂直投射到以 $\lambda_{e,x}$ 、 $\lambda_{e,m}$ 为二维座标的平面便得到所谓的等高线荧光光谱。在绘制过程可任意设定等高值或截取三维荧光光谱中的某个层次进行等高图荧光光谱的绘制,以获得更为详细的光谱信息。图5就是以图4的数据绘制而成的等高图荧光光谱。从荧光强度为20mV开始,以50mV增量绘制。

**3.3.6 能量型三维荧光光谱** 该功能以荧光激发波数、发射波数和荧光强度为三维座标绘制而成。也可以从任意角度来观察此能量型三维荧光光谱所提供的各种荧光信息。

### 3.3.7 能量型等高图荧光光谱(图6)

将波长型等高图荧光光谱的 $\lambda_{e,x}$ 轴和 $\lambda_{e,m}$ 轴相应地转换为激发波数轴和发射波数轴即可绘制能量型等高图荧光光谱。

从能量型三维荧光光谱及其等高图荧光光谱可较全面地观察和分析物质在不同激发、发

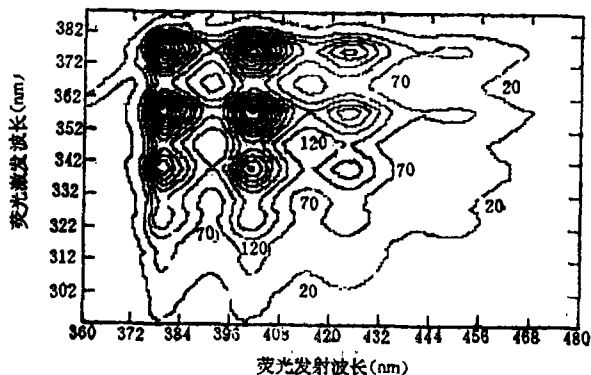


图 5 葱的等高图荧光光谱图(波长型)

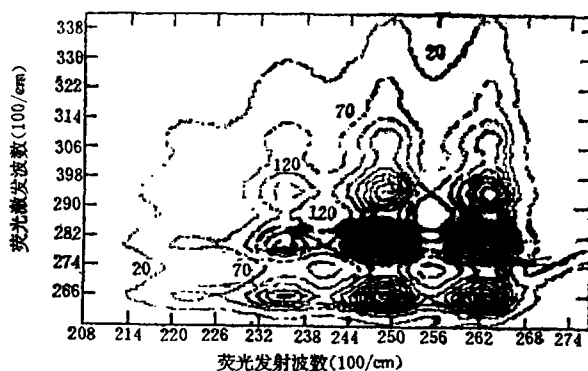


图 6 葱的等高图荧光光谱图(能量型)

射能量时的荧光信息,这对于多环芳烃的鉴别和同步荧光的测定特别有利。

**3.3.8 打印数据和图型** 该功能以整齐的表格形式打印所需的各种数据。打印图形时可选择正、反相打印,也可放大和缩小图形打印。

由于Apple II微机的内存较小且运算速度较慢,特别是在绘制三维荧光光谱与等高图荧光光谱时显得费时较长。因此,我们正在着手将该软件改编,使其能在IBM PC/AT 286微机上运行,以便使运算速度和绘图功能得到进一步的改善。

#### 4 参 考 文 献

- 1 陈国珍等编。“荧光分析法”(第二版)。北京:科学出版社,1990. 213

(收稿日期:1991年9月12日;修回日期:1992年2月9日)

# A Multiple-Functional Application Software for a Computer-Interfaced Fluorescence Spectrophotometer

Lin Zhuguang\*, Xu Jingou, Huang Xianzhi

(Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005)

**Abstract** A joint technique of Hitachi 650-10S fluorescence spectrophotometer with Apple I microprocessor was presented and a corresponding multiple-functional application software was designed. The analog output signal from the fluorescence spectrophotometer was transferred into a digital signal by an analog-to-digital converter after a suitable amplification, and the time and frequency for the data acquisition was controlled by the microprocessor. After the data were processed by the multiple-functional application software, fluorescence spectra such as conventional, synchronous, derivative-synchronous and three-dimensional (wavelength-type or energy-type) spectra could be obtained. The software also included a program of plotting a regression curve. This work extended the functions of a conventional fluorescence spectrophotometer.

**Keywords** Fluorescence spectrophotometer, Microprocessor, Joint technique, Application software.

(Received September 12, 1991, Revised February 9, 1992)