

学校编码：10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_

学 号：200025009

UDC\_\_\_\_\_

## 学 位 论 文

# 高效液相色谱-原子荧光光谱联用中的信号 采集与处理及应用用于镉形态分析

洪煜琛

指导教师姓名： 黄 本 立 教 授

王秋泉、郭旭明 副教授

申请学位级别： 硕 士

专 业 名 称： 分 析 化 学

论文提交日期： 2 0 0 3 年 7 月

论文答辩日期： 2 0 0 3 年 8 月

学位授予单位： 厦 门 大 学

学位授予日期： 2 0 0 3 年 月

答辩委员会主席：\_\_\_\_\_

评 阅 人：\_\_\_\_\_

2003 年 7 月

**Signal Acquisition and Processing for Atomic  
Fluorescence Spectrometer Coupled with HPLC  
and Its Application to Cadmium Speciation**

A Dissertation Presented

By

Yuchen Hong

Supervisors: Prof. Benli Huang

Dr. Qiuquan Wang and Dr. Xuming Guo

**Submitted to the Graduate School of Xiamen  
University for the Degree of**

**MASTER OF SCIENCE**

July, 2003

Department of Chemistry, Xiamen University

# 目录

摘要.....	1
Abstract.....	3
第一章 前言.....	5
1.1 引言.....	5
1.2 氢化物发生原子荧光光谱.....	5
1.3 原子荧光光谱仪作为联用技术在线检测器的数据采集和处理....	10
1.4 高效液相色谱-原子荧光光谱联用应用于元素形态分析.....	13
1.5 本论文主要内容.....	15
1.6 参考文献.....	18
第二章 原子荧光光谱仪的连续数字信号采集和应用软件开发.....	22
2.1 引言.....	22
2.2 实验部分.....	22
2.2.1 原子荧光光谱仪连续数字信号采集.....	22
2.2.2 Visual C++应用于 Windows 应用软件开发.....	23
2.3 结果与讨论.....	24
2.3.1 原子荧光光谱仪与计算机之间的串口通信.....	24
2.3.2 通讯指令.....	25
2.3.3 数据处理的编程.....	25
2.4 结论.....	25
2.5 参考文献.....	28
第三章 原子荧光光谱数据的处理.....	41

3.1	引言.....	41
3.2	原理.....	41
3.3	实验部分.....	45
3.4	结果与讨论.....	45
3.4.1	模拟信号的噪音滤除.....	45
3.4.2	原子荧光实验信号的噪音滤除.....	53
3.5	结论.....	55
3.6	参考文献.....	57
第四章	高效液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱联用 ( HPLC-HG-AFS )应用于镉形态分析的初步研究.....	60
4.1	引言.....	60
4.2	实验.....	61
4.3.1	仪器.....	61
4.3.2	试剂.....	61
4.3.3	软件操作.....	64
4.3	结果与讨论.....	64
4.3.1	HPLC-HG-AFS 对 Cd 和 EDTA 的混合溶液的分析.....	64
4.3.2	HPLC-HG-AFS 应用于土样标准品 BCR - 700 的分析.....	66
4.3.3	水样的分析.....	67
4.4	结论.....	67
4.5	参考文献.....	69
	在学期间发表论文.....	71
	致谢.....	72

## 摘要

原子荧光光谱分析是一种高灵敏度和高选择性的检测手段，以氢化物发生作为进样方法对一些在环境中至关重要的元素进行测定时具有其它原子光谱分析方法无可比拟的优点。涉及元素形态分析方法的建立时要求把分离手段和原子荧光光谱检测进行联用，如气相色谱（GC）、高效液相色谱（HPLC）和毛细管电泳（CE）等，从而实现元素的形态分析。本论文的工作就是建立高效液相色谱（HPLC）与原子荧光光谱（AFS）联用系统应用于元素的形态分析。

第一章：前言。主要介绍了氢化物发生法及原子荧光光谱，对原子荧光光谱仪作为联用技术在线检测器的数据采集和处理作了评述，详细调研了高效液相色谱-原子荧光光谱联用应用于元素形态分析，并提出了本论文的主要研究工作。

第二章：原子荧光光谱仪的连续数字信号采集和应用软件开发。主要工作是利用 Visual C++ 开发了原子荧光光谱仪的信号采集与处理软件，从而实现了它与高效液相色谱的联用。该软件的功能包括：对 AFS 仪器的参数进行控制（PMT 负高压、HCL 电流和辅助电流、原子化器温度）；采集荧光信号（100Hz）；实时的绘制信号曲线；对数据进行平滑和处理（Savitzky-Golay、Fourier filtering、Wavelet denoising）；实现信号峰的识别和积分。

第三章：原子荧光光谱数据的处理。应用 Savitzky-Golay 平滑、傅立叶变换滤波和小波滤噪技术对数据进行处理。小波处理得到了较好的噪音滤除和平滑效果，因为它在去除大部分噪音的同时对信号峰形没有损坏。对于 Savitzky-Golay 平滑和傅立叶变换来说，通过增加窗口尺寸和降低滤除频率，可以得到更好的平滑信号，但是这将以损坏信号的峰形状和面积为代价。一方面，Savitzky-Golay 实际是加权的平均处理，当信号数值的

变化很大时，该方法会带来较大的误差；另一方面，在傅立叶变换滤波处理中，尖锐信号峰和噪音的频率是相似的，会一并被除去而影响滤波结果。由于小波变换的特有属性，它可以区分高频的信号成分和噪音成分，是一种用于光谱数据处理的理想滤波技术。氢化物发生原子荧光光谱中的氢氩焰有很大的噪音干扰，因此对原始信号进行平滑是十分必要的。小波滤噪技术在滤除噪音提高信噪比性能上优于另外的两种技术，但它只能对采集数据进行后处理，而 Savitzky-Golay 平滑具有实时处理的优势，所以可以把这两种技术综合起来处理数据。在本工作中我们利用 Savitzky-Golay 卷积进行在线的平滑，再用小波变换进行噪音滤除，得到了令人满意的信号处理结果。

第四章：高效液相色谱-氢化物发生原子荧光光谱联用（HPLC-HG-AFS）应用于镉形态分析的初步研究。HPLC-HG-AFS 是用于镉形态分析的有效检测手段。与普遍用于镉形态分析的 HPLC-ICP-MS 相比，原子荧光不仅在灵敏度和检测限上和它相当，并且具有仪器简单、运行费用低廉、操作简便和速度快等优点。本文应用 HPLC-HG-AFS 对不同摩尔比 Cd 和 EDTA 的形态进行了初步研究。研究了不同的流动相的 pH 下，Cd 和 EDTA 的配合能力及在色谱中的分离情况。同时应用该系统分析了土壤标准品 BCR-700，实验证明该法可以有效分离出  $Cd^{2+}$ ，去除基体干扰。

关键词：高效液相色谱，原子荧光光谱，形态分析，信号采集与处理

## Abstract

Atomic fluorescence spectrometry (AFS) is a very sensitive and selective method for the determination of a number of environmentally biomedically important elements. When it comes to speciation of these elements, combination of AFS and separate techniques is required, such as gas chromatography (GC), high performance liquid chromatography (HPLC) and capillary electrophoresis (CE). In this work, the hyphenation of HPLC and AFS is set up for elemental speciation.

In Chapter One, principles of HG and AFS are briefly introduced. Signal acquisition and processing of AFS as the detector of hyphenated techniques are reviewed. Application of HPLC-HG-AFS to elemental speciation is discussed in detail. Also, the problems to be solved and main jobs in this study are listed.

In Chapter Two, signal acquiring and processing software for AFS is developed. A Windows application program is written using VC++ for the combination with HPLC. The software includes many functions: Control of AFS instrument(PMT high voltage, HCL main and auxiliary currents, temperature of atomizer); Acquisition of fluorescent signal ( in 100MHz); Draw the signal curve in real time; process data using smoothing and filtering methods (Savitzky-Golay, Fourier filtering, Wavelet denoising); Recognition and quantification of signal peaks.

In Chapter Three, Savitzky-Golay smooth, Fourier filtering and Wavelet denoising were used to process fluorescent signals. The results of processes are compared, and a clearly better denoising of the signals by the wavelet transform is obtained because almost total removal of the noise was achieved without any damaging of the peaks. By increasing the window size of S-G smoothing or the cutoff frequency of Fourier filter, better removal of the baseline can be achieved, but at the price of dramatic damage to the peak shapes and areas. As a result of its specific properties, the wavelet transform can distinguish between the high-frequency components of the peaks and the high-frequency components of the noise. In this work, Savitzky-Golay smoothing is used in real time to process fluorescent signals and wavelet denoising is used in post-run. The result obtained is satisfactory.

In Chapter Four, high performance liquid chromatography (HPLC)

coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) detection is exploited here for preliminary study of cadmium speciation. HPLC-HG-AFS is a effective detection method for cadmium speciation, AFS is simple and fast in operation with low running cost as compared to AAS and ICP-MS. Separation of Cd and EDTA mixtures has been studied under different pH condition.

**Keywords:** *HPLC, AFS, speciation, signal acquisition and processing*



## 第一章 前言

### 1.1 引言

原子荧光光谱 ( atomic fluorescence spectrometry, AFS ) [1]具有灵敏度高、选择性强和线性范围宽等优点，尤其是以氢化物发生作为进样方法对一些在环境中至关重要的元素进行测定时更具有优点。这些元素的痕量检测和形态分析无论对生命科学或环境科学都具有非常重要的意义[2]。涉及元素形态分析方法的建立时要求把分离手段和原子荧光光谱检测进行联用，如气相色谱 ( GC )、高效液相色谱(HPLC)和毛细管电泳(CE)等，从而实现对元素的形态分析。本章主要介绍了氢化物发生(HG)原子荧光光谱分析(AFS)技术，HG-AFS作为联用技术检测器时的数据采集和处理，以及 HPLC-HG-AFS 应用于氢化物发生元素的形态分析。

### 1.2 氢化物发生原子荧光光谱

#### 1.2.1 原子荧光光谱法

原子荧光光谱法( AFS ) [3-6]是介于原子发射( AES )和原子吸收( AAS )之间的光谱分析技术，它的基本原理是：基态原子（一般为蒸气状态）吸收合适的特定频率的辐射而被激发至高能态，而后，激发态原子在去激发过程中以光辐射的形式发射出特征波长的荧光。原子荧光的跃迁可分为：共振荧光 ( resonance )，直跃线荧光 ( direct-line ) 和阶跃线荧光 ( stepwise line )。三种荧光类型如图 1 所示。

从提出原子荧光分析技术以来，AFS 已经发展成为一种独具特色的分析手段[7-8]，就原子荧光技术本身来讲，它具有原子发射和原子吸收两种技术的优点，同时又克服了两种方法的不足，AFS 技术具有：

- (1) 光谱简单：仅需分光本领一般的单色仪，甚至可以用滤光片等进行简单分光或用日盲光电倍增管直接测定。
- (2) 选择性强，灵敏度高，线性范围广。
- (3) 适合于多元素同时分析。

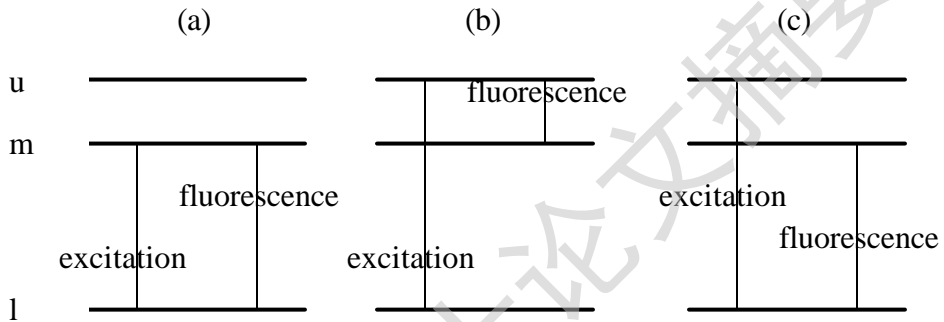


Figure 1. Types of atomic fluorescence transitions (a) Resonance (b) Direct line (c) Stepwise line. Key: u = upper excited, m = intermediate excited state, l = lower (usually ground) state

原子荧光辐射的基础表达式为：

$$I_F = I_0 \cdot A_T \cdot \Omega / 4\pi \cdot f$$

其中

$I_0$  ----- 辐射光能量

$\Omega$  ----- 测量的立体角

$f$  ----- 荧光效率

$A_T$  ----- 总吸收效率，即吸收的光能与入射光能之比

$$A_T = \int_0^\infty \frac{I_V^o - I_V}{I_V^o}$$

按照不同的光源和不同的浓度状况,可以得到  $A_T$  和分析浓度的关系如下表。

表 1 不同情况下  $A_T$  与代测物浓度之间的关系

光源类型	分析物浓度	$A_T$ 形式
连续光源	低浓度	$A_T \propto N$
连续光源	高浓度	$A_T$ 为常数
线性光源	低浓度	$A_T \propto N$
线性光源	高浓度	$A_T$ 为常数

以上为理想状态,在实际情况下,工作曲线变得复杂起来,必须加一些校正因数,同时也要看到无论是线性还是连续光源,荧光强度与浓度之间的线性关系只有在原子为低浓度条件才能成立。线性及连续光源在分析物浓度高时的荧光强度会发生变化,这种现象的主要原因是自吸。无论是连续光源或者线性光源,光源强度越高,其测量线性工作范围越宽,因为这样可以使线性的下端延至愈来愈低的浓度值,这就是说,在痕量分析是不会遇到曲线弯曲的情况。光源强度越高,所产生的荧光强度越强,分析灵敏度越高,检测限越低。

### 1.2.2 氢化物发生法

碳、氮、氧族元素的氢化物是共价化合物。其中 As、Sb、Bi、Ge、Sn、Pb、Se 八种元素的氢化物具有挥发性,通常情况下为气态。借助载气流可以方便地将其导入原子光谱分析系统的原子化器,进行定量光谱测量,是测定这些元素的最佳样品引入方式[9]。

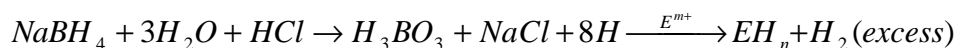
氢化物发生进样方法[10-11]是利用某些能产生初生态氢的还原剂或者化学反应,将样品溶液中的分析元素还原为挥发性共价氢化物,然后借助载气流将其导入原子光谱分析系统进行测量的方式。氢化物发生可以把分析元素转变为挥发性氢化物,从而实现分析元素与基体的分离,提供了传统方法无法达到的一些重要元素的痕量分析[12]。Holak[13]首次使用氢化物发生方

法，即经典的 Marsh 反应，生成砷化氢并在乙炔-空气火焰中原子化进行原子吸收测量。从此以后人们对该方法产生了浓厚的兴趣，并发表了大量的关于氢化物发生的研究论文。氢化物发生进样方法的主要优点在于：

- (i) 分析元素能够与可能引起干扰的样品基体分离，消除光谱干扰。
- (ii) 与溶液直接喷雾进样相比，氢化物法能将代测元素充分预富集，进样效率近乎 100%。
- (iii) 连续氢化物发生装置易于实现自动化。
- (iv) 不同价态的元素氢化物发生实现的条件不同，可进行价态分析。

从 20 世纪的 70 年代初以来，氢化物发生法在分析化学领域迅速的被采用，它已经成为一种广泛使用的处理溶液样品进行痕量元素分析的手段 [14]。IV-VI 族元素的氢化物对于用原子光谱测定 As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn, Te, 以及扩展的 In 和 Tl 这些元素相当重要，它们的检测限都因为 HG 提高了几个数量级。氢化物发生由以下几个步骤组成：生成挥发性分析物，对其进行收集和传输至原子化器，最后是将其分解为气态金属原子（用于激发或离子化）。当前氢化物发生法依然是一个研究热点，研究的重点主要集中在改善发生方法，扩展元素和形态分析范围，以及对干扰的控制。

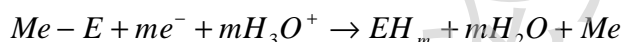
氢化物发生当前最常用的方法是化学氢化物发生，也就是使用还原剂产生氢化物。许多反应被用于把分析元素转化为氢化物以进行检测。较早以前多采用金属-酸还原体系，如  $\text{SnCl}_2\text{-HCl-KI-Zn}$  和  $\text{TiCl}_3\text{-HCl-Mg}$  [15-16]。然而目前最普遍使用的是  $\text{NaBH}_4$ -酸体系 [14]。反应如下：



其中 E 是分析物， $m$  等于或不等于  $n$ 。As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn, Te, In 和 Tl

可以使用  $\text{NaBH}_4$  还原生成挥发性氢化物。除了这些传统的元素外，近来的研究表明有更多的元素可以进行蒸气发生反应，包括 Cd[17]和许多过渡金属及铂。

应用于分析目的的电化学氢化物发生法是一种新的实验室技术，该法还远未得到成熟建立，发表的研究文章也相对较少[18-19]。氢化物在电解池的阴极表面生成，同时阳极室的水被氧化。此一过程至少包含了三个顺序的步骤，分析物在阴极表面（Me）的还原和沉积；沉积的金属和共生氢在电极上逐步发生反应；以及分析物氢化物的析出。反应的步骤可以用下面等式表示：



电化学氢化物发生不需要  $\text{NaBH}_4$  作为反应物，并使用电子进行“干净”的还原，既能降低湿法氢化物发生的费用又可以减小分析空白。许多的材料曾被用于做电解池的阴极，包括热解石墨和玻璃石墨，铅，铂，银和银汞齐，钼，以及镉。铂是电化学氢化物发生中最常用的阳极材料。到目前为止，As, Ge, Se, Sb 和 Sn 都成功地进行过电化学的氢化物发生。

### 1.2.3 HG-AFS 分析技术

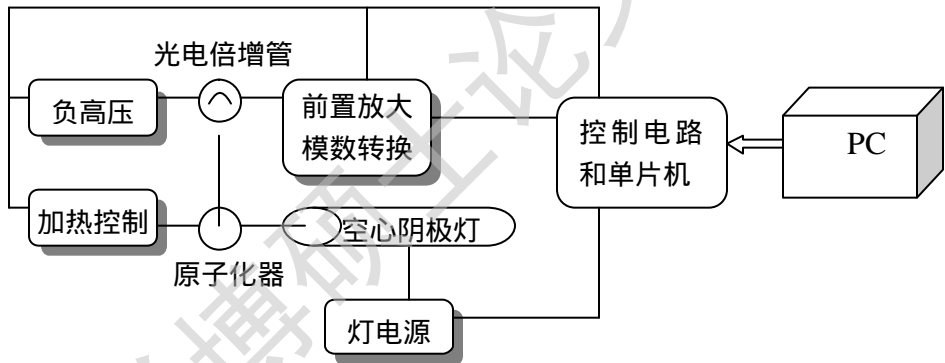
氢化物发生与各种原子光谱技术联用是一种用于 IV-VI 族重元素痕量测定[20-21]的有力分析手段。氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)[22-24]是将氢化物发生技术与无色散原子荧光光谱检测系统完美结合而发展起来的一种新的痕量分析技术[25]。它具有仪器结构简单、分析灵敏度高、重现性好、干扰少、线性范围宽和分析速度快等特点，是测量各类样品中砷(As)、锑(Sb)、铋(Bi)、汞(Hg)、硒(Se)、碲(Te)、铅(Pb)、锡(Sn)、锗(Ge)等元素的最佳的痕量和超痕量分析方法，现已广泛应用于环境监测、卫生防疫、饮用水(水质分析)、食品检验、商检、冶金、地址、农业、医学等领域。经过国内分析测试研究工作者的不断努力，目前该方法已被确定

为检测食品、饮用水、矿泉水中重金属元素的国家标准方法，也是环境监测的标准推荐方法[26]。氢化物发生-原子荧光光谱仪是这一方法的专用仪器，并已成为广泛使用的分析测试仪器。

### 1.3 原子荧光光谱仪作为联用技术在线检测器的数据采集和处理

#### 1.3.1 原子荧光光谱仪器及其数据采集

原子荧光光谱仪的组成和结构如下图所示：



原子荧光光谱仪主要包括以下几个部分：波长选择部分（在非色散原子荧光光谱中没有），原子化器，辐射源，检测器。本论文中使用的氢化物发生非色散原子荧光光谱仪使用氢氫火焰作为原子化手段，空心阴极灯作为辐射源，日盲光电倍增管作为检测器。

气态氢化物、氢气和载气（Ar）混合进入石英炉原子化器，被点燃形成氢氫火焰，使待测元素原子化。利用光源发出被测元素的特征光谱辐射，激发氢氫火焰中的待测物原子，得到的荧光信号被日盲光电倍增管所接收，然后放大，模数转换，再由单片机经过串口传送到计算机进行处理和计算。

#### 1.3.2 信息提取

信号就是来自一个分析过程的原始数据。（分析信号是由信号峰部分，

背景和噪音组成)。它可以是光谱、色谱或是其它分析过程获得的数据等。这些都是由时间、波长或长度坐标上的一系列的数据组成。通常，对于分析者来说不是每一个数据点或者每一个变化都具有等同的重要性，其中一些信息仅仅是噪音或者基线。在色谱图上可以很容易的看出一些数据是和分析物质相关的信号，而其他部分则是平的和弯曲的基线。在信号峰与基线上都或多或少的分布着噪音。信噪比（SNR）可用来描述这种初始数据的质量。信号处理（signal processing）的主要目的就是区分出信号的有用部分和噪音部分，借此提取出“干净”的信号并提升分析信息的质量。

为了改善信号的质量就必须认识信号成分与噪音的本质区别，这当中最重要的便是它们两者的频率的差别。电子噪音的频率总是比信号高得多。在更低的频率段观察到的是基线的漂移。

频率	成份
中间频率	信号，有用部分
低频	漂移
高频	噪音

所有的改善信号质量的技术都利用了原始数据中 useful 部分和噪音部分的相位和频率差别。选择分析系统和硬件部分时，应以尽量降低干扰噪音为目的，因为从具有较高信噪比的原始数据中提取有用的信号显然要简单得多。

用于信息提取的手段主要有变换、平滑、卷积、微分和积分等。所有这些都要求把连续变化的模拟信号数字化，以便计算机能进行储存和处理，从而信息的提取得以通过数字处理过程实现。

### 1.3.3 信号离散化

任何信号都可以通过在恒定的时间间隔读取原始数据来实现离散化。两次读数之间的间隔可长可短，依赖于最终的目的。两次读数间隔长为迅速

变化的信号提供了相对少的信息，同时也损失了信号的高频率信息。

如果选择短间隔读数，也会存在记录相同数据点的情况下，它无法反映出信号的长周期及趋势。因此进行信息提取涉及到如何选择信号的记录时间的间隔和长度的问题。

快速变化的信号（也就是一阶倒数大的信号）只有在每一周期至少记录两个点的情况下才能表示出来。这就是 Nyquist 定律：

$$f_{\max} = \frac{1}{2\Delta x}$$

当数据记录的间隔是  $\Delta x$  时信号能表示的最高频率是  $f_{\max}$ 。

### 1.3.4 Wavelet 变换

小波变换[27]是傅立叶变换的扩展，傅立叶变换以正弦和余弦函数为基底(basis)，而小波变换则以小波函数为基底，它具有时-频局部化的性质。小波函数定义为满足一定条件的函数  $\psi(t)$  通过平移和伸缩产生的一个函数族。连续小波变换可由下式表示：

$$Wf(a,b) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t)\psi_{a,b}(t)dt$$

其中  $a$  为尺度参数， $b$  为平移参数。它的物理意义表示为函数  $f(t)$  在不同尺度  $a$  和不同位置  $b$  的小波函数  $\psi_{a,b}(t)$  上投影得到一系列的小波系数  $Wf(a,b)$ ，实现了  $f(t)$  从时间域到小波域的变换。离散数字信号的小波变换，必须用到离散小波变换[28]。Mallat[29]提出了一种快速金字塔算法进行离散小波分解。在快速小波分解算法中，数据分别通过高通滤波器和低通滤波器，输出的数据长度变为原来的一半。高通滤波的输出包含了信号的细节（detail）成分，而低通输出包含了信号的逼近（approximation）成分。把信号的逼近成分作为两个滤波器的输入，进行信号的下一级分解，以此类推便实现信号的多尺度分析。小波滤噪便是把高频的细节成分选择性滤除，留下逼近部分，该技术已经成功的应用于多种分析化学方法的数据处理[30-31]。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库