

激光与光电子学进展

在线监测纸质文物表面杂色曲霉的光纤传感器

余秋会^{1,2}, 解泉华², 王建旭², 钟年丙^{1,2}, 曾檀^{1*}, 唐欢¹, 汤斌^{1,2}, 赵明富^{1,2}¹重庆中国三峡博物馆馆藏文物有害生物控制研究国家文物局重点科研基地, 重庆 400013;²重庆理工大学光纤传感与光电检测重庆市重点实验室、智能光纤感知技术重庆市高校工程研究中心, 重庆 400054

摘要 为了实现对纸质文物表面杂色曲霉生长过程的在线无损监测, 研制了一种反射式光纤光谱传感器, 该传感器由 1 根锥形入射光纤和 6 根接收光纤构成。首先建立了传感器测量纸质文物表面霉菌微生物的理论模型, 接着表征了纸质样品表面杂色曲霉的形貌特征, 最后利用传感器对纸质样品表面杂色曲霉的生长过程进行了在线监测。研究表明, 该传感器能准确获得杂色曲霉的特征吸收峰(295 nm 和 390 nm), 当杂色曲霉高度在 101.1~596.0 μm 范围时, 传感器输出信号与杂色曲霉生长高度间具有线性关系, 检测下限达到 10 μm。

关键词 光纤光学; 纸质文物; 杂色曲霉; 在线无损监测; 光纤光谱; 反射式传感器; 灵敏度

中图分类号 TN253

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP222572

Optical Fiber Sensor for Online Monitoring of *Aspergillus versicolor* on Surfaces of Paper Cultural Relics

Yu Qihui^{1,2}, Xie Quanhua², Wang Jianxu², Zhong Nianbing^{1,2}, Zeng Tan^{1*}, Tang Huan¹,
Tang Bin^{1,2}, Zhao Mingfu^{1,2}¹Key Scientific Research Base of State Administration of Cultural Heritage for Pest Control of Cultural Relics,
Chongqing China Three Gorges Museum, Chongqing 400013, China;²Chongqing Key Laboratory of Optical Fiber Sensor and Photoelectric Detection, Chongqing Engineering Research
Center of Intelligent Optical Fiber Sensing Technology, Chongqing University of Technology,
Chongqing 400054, China

Abstract A reflective fiber-optic spectral sensor is developed to realize online nondestructive monitoring of the growth process of *Aspergillus versicolor* on the surfaces of paper cultural relics. The sensor consists of one tapered input and six receiving fibers. First, the principle of sensor measurement of mold microorganisms on the surfaces of paper cultural relics is established. Then, the morphological characteristics of *Aspergillus versicolor* on the surfaces of paper samples are derived. Finally, the growth process of *Aspergillus versicolor* on the surfaces of paper samples is monitored online by the sensor. The results indicate that the sensor can accurately obtain the characteristic absorption peaks (295 nm and 390 nm) of *Aspergillus versicolor*. When the height of *Aspergillus versicolor* is in the range of 101.1~596.0 μm, the output signal of the sensor has a linear relationship with the growth height of *Aspergillus versicolor*, and the detection limit reaches 10 μm.

Key words fiber optics; paper cultural relics; *Aspergillus versicolor*; online nondestructive monitoring; optical fiber spectrum; reflective sensor; sensitivity

1 引言

纸质文物传承着中华悠久的历史文化, 是中华民

族灿烂历史文明传承最重要的载体。由于纸质文物富含有机质, 更容易受到霉菌的侵蚀, 且霉菌在代谢过程中产生的色素和分泌物会加速纸质文物的损坏, 从而

收稿日期: 2022-09-19; 修回日期: 2022-11-03; 录用日期: 2022-12-19; 网络首发日期: 2023-01-05

基金项目: 重庆市科委技术创新与应用发展专项(cstc2020jscx-msxmX0097)、重庆市教委科学技术研究重大项目(KJZD-M202201101)、重庆市高校创新研究群体项目(CXQT21035)、国家重点研发计划资助项目(2020YFC1522500)、重庆理工大学研究生创新项目(gzlcx20222021, gzlcx20222023)

通信作者: *zeng_tan@163.com

影响文物的保存^[1]。因此,对纸质文物表面霉菌进行在线无损监测,对于有效地防控霉菌对纸质文物的腐蚀极其重要。

当前用于纸质文物表面霉菌检测的技术包括离线检测技术和在线检测技术。其中离线检测技术主要包括激光共聚焦显微法^[2]、X 射线荧光法^[3]、分光光度计法^[4]、扫描电子显微镜法^[5]、核磁共振波谱法^[6]、顶空固相微萃取结合色谱-质谱法^[7],以及变性梯度凝胶电泳法^[8]等。这些离线分析技术能够有效测量纸质文物霉菌生长代谢信息,但测量过程需要将霉菌与文物分离,易导致文物损坏,且测量耗时,难以对真实文物霉菌病害做出提前预警。

在线检测技术主要有电子鼻技术^[9]、高光谱成像技术^[10]、光纤传感器技术^[11-12],以及光纤反射光谱技术^[13]。其中,光纤微生物传感器具有响应速度快、抗电磁干扰、远距离传输、体积小,而且可以实现分布式测量等优点^[14]。因此,光纤微生物传感器被认为是实现微生物在线动态实时检测最有前途的一种新型检测器件。然而,目前的光纤生物膜传感器是接触式传感器,难以在纸质文物上安装和固定,极易损坏文物^[15],即现有光纤生物膜传感器难以适用于纸质文物表面霉菌生

长过程的实时动态监测^[16]。因此,在现有的研究基础上,进一步研究适用于文物表面霉菌生长过程在线无损测量的反射式光纤光谱传感器十分重要。

本文为实现对纸质文物表面杂色曲霉生长过程的在线无损监测(杂色曲霉是产生纸质文物生物病害的重要霉菌之一),研制了一种反射式光纤光谱传感器,建立了传感器的测量理论模型,表征了纸质样品表面杂色曲霉的形貌特征,并成功利用研制的传感器对纸质样品表面杂色曲霉的生长过程进行了在线监测。

2 材料与装置

2.1 反射式光纤光谱传感器

本文采用的光纤纤芯由纯石英构成,包层由硅橡胶构成,光纤数值孔径为 0.37 ± 0.02 ,工作温度范围为 $-50 \sim 250 \text{ }^\circ\text{C}$ 、可传输光谱范围为 $200 \sim 1100 \text{ nm}$,购于南京春辉科技实业有限公司。为了构建反射式光纤光谱传感器,首先截取长为 0.8 m 的光纤,采用光纤研磨纸(粒径为 $1 \text{ }\mu\text{m}$)将光纤两个端面进行抛光处理,采用研磨法将入射光纤的一端制作成锥角。最后将锥形入射光纤与 6 根接收光纤耦合进塑胶护套内,实物图如图 1 所示。

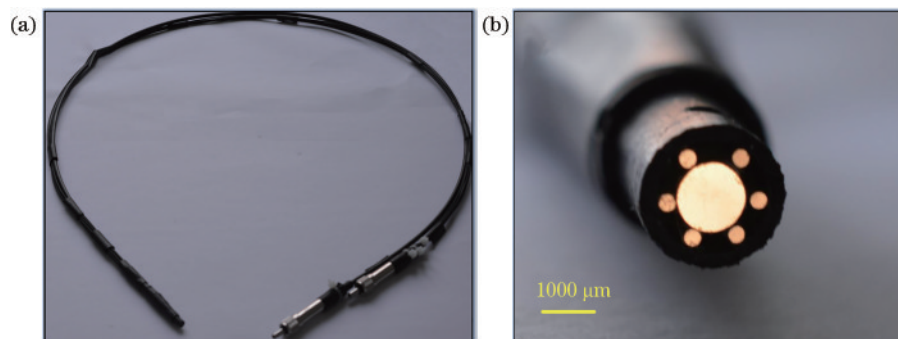


图 1 传感器实物图。(a) 整体图;(b) 探头图

Fig. 1 Physical image of sensor. (a) Overall diagram; (b) probe diagram

2.2 样品培养

本文以杂色曲霉作为研究对象,菌种来自中国重庆三峡博物馆文物保护部菌种库。用于样品培养的纸张购买于中国宣纸股份有限公司,成分为檀皮(60%)、沙田稻草(40%),纸张厚度约为 $167 \text{ }\mu\text{m}$,纸张大小为 $1 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ 。纸质文物表面杂色曲霉样品培养步骤如下:

1) 霉菌菌株复苏。将瓷珠冻存管解冻后夹取一粒附着有霉菌菌种的瓷珠放到干净的沙氏琼脂培养基内对霉菌微生物进行复苏,复苏过程在恒温恒湿无菌箱(ZRG-800E-L,上海丙林电子科技有限公司,中国)内进行,箱内温度为 $28 \text{ }^\circ\text{C}$,湿度为 $80\% \text{ RH}$,无需光照。

2) 制作孢子悬液。将复苏的霉菌继续培养,待培养基内长出富集霉菌后,用超纯水借助移液枪将霉菌

孢子从平板上冲洗下来。

3) 染霉。将高温灭菌后的纸质样品用营养液浸湿,随后放在培养皿上自然晾干,待纸张干燥后滴加孢子液,即实现纸质样品染霉(培养液成分及配比如下: 97.6 ml 蒸馏水、 2 ml 甘油、 0.1 g 磷酸氢二钾、 0.1 g 酵母浸粉、 0.075 g 尿素、 0.05 g 七水硫酸镁和 0.05 ml 吐温-80)。

4) 样品培养。将染霉后的纸质样品放在无菌箱内培养,温度为 $28 \text{ }^\circ\text{C}$,湿度为 $80\% \text{ RH}$,无需光照。培养 7 天后的杂色曲霉(*A. versicolor*)样品的相机(D5200, Nikon, 日本)拍摄照片、光学显微(DK6000, 奥特光学, 中国)照片和场发射扫描电子显微镜(FESEM, SIGMA-HD, 卡尔蔡司公司, 德国)照片,如图 2 所示。

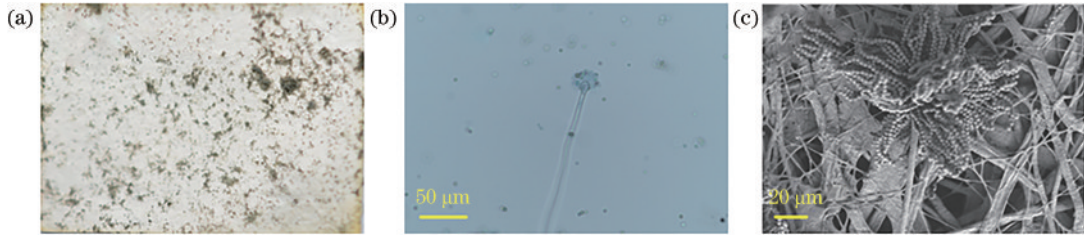


图 2 纸质文物表面杂色曲霉样品形貌。(a) 相机照片；(b) 光学显微照片；(c) FESEM 照片

Fig. 2 Morphology of *A. versicolor* sample on surfaces of paper cultural relics. (a) Camera photo; (b) optical micrograph; (c) FESEM photo

2.3 检测装置

传感器检测系统主要由光源 (DH-2000, Ocean Optics, 中国, 氙灯功率为 25 W, 钨卤灯功率为 20 W)、光纤光谱仪 (QEPRO-FL, 海洋光学, 中国)、计算机、反射式光纤光谱传感器、载物台、纸质文物表面霉菌样品等构成, 如图 3 所示。在检测过程中, 为了减少光对测试结果的影响, 需使用避光罩将传感器探头以及纸质样品罩住。

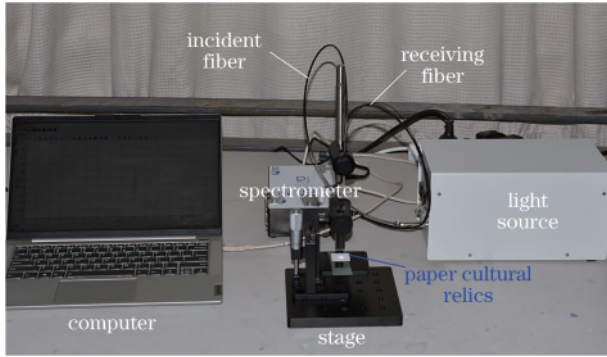


图 3 检测系统实物图

Fig. 3 Physical image of detection system

在测量过程中, 入射光纤连接光源, 接收光纤连接光纤光谱仪。光源发出的紫外-可见光由入射光纤传递至纸质文物表面, 经纸质文物表面霉菌微生物吸收、散射和反射后传输至接收光纤, 接收光纤将接收到的信息传输至光谱仪, 经光谱仪解调后, 光谱信息传输至计算机。

3 传感器工作原理

传感器入射光纤输出端的光强满足高斯分布, 表达式^[17]为

$$I_1(\rho, z) = \frac{KI_{in}}{\pi w^2(z)} \exp\left[-\frac{2\rho^2}{w^2(z)}\right], \quad (1)$$

式中: I_{in} 为入射光纤的输入光强; K 为光在入射光纤中的损耗系数; $w(z)$ 为距离入射光纤光输出端为 z 处的高斯光斑等效半径, 有 $w(z) = R + z \tan \theta_{NA}$, R 为入射光纤半径, θ_{NA} 为入射光纤数值孔径角。

纸质文物表面杂色曲霉生物膜对光有吸收、反射及散射效应, 且它们之间的关系为

$$I_R = I_1 - I_A - I_S, \quad (2)$$

式中, I_R 、 I_A 和 I_S 分别表示反射光强、吸收光强和散射光强。

由于本文检测的杂色曲霉大小为微米量级, 因此, 入射光纤入射到杂色曲霉生物膜表面的光束将产生米氏散射, 根据米氏散射理论^[18]有

$$I_S = I_1 \exp(-\eta_s Q_{ext}), \quad (3)$$

式中: η_s 为有效消逝场功率占有率; Q_{ext} 为纸质文物杂色曲霉生物膜的消光效率。

此外, 样品表面霉菌的光吸收特性满足朗伯-比尔定律^[19]:

$$I_A = I_1 \exp(-\epsilon l), \quad (4)$$

式中: ϵ 为霉菌生物膜对光的衰减系数, 由杂色曲霉本征对光的吸收特性确定; l 为杂色曲霉生物膜高度。

本文设计的传感器结构为 6 根接收光纤排列在锥形入射光纤周围, 接收光纤接收到的光强^[20]可表述为

$$I_{out} = 6 \iint_{S_R} I_R(x, d) dS_{R0}. \quad (5)$$

将式 (1)、式 (3) 和式 (4) 代入式 (2), 再将式 (2) 代入式 (5), 得到接收光纤接收到的总光强为

$$I_{out} = \frac{6KI_{in}}{\pi w^2(z)} \exp\left[-\frac{2\rho^2}{w^2(z)}\right] \iint_{S_R} \left[1 - \exp(-\epsilon l) - \exp(\eta_s Q_{ext})\right] dS_{R0}. \quad (6)$$

当传感器结构参数为最佳参数时, 传感器输出光强受外部光源强度 I_{in} 和纸质样品表面霉菌种类和高度 l 的影响。因此, 根据传感器获得的特征吸收光谱信息和随霉菌生长吸光度的变化信息, 可以实现对纸质文物表面杂色曲霉的定性和定量检测。

4 实验结果与讨论

4.1 纸质样品杂色曲霉表面形貌

为了获得杂色曲霉在纸质样品表面不同生长周期下的形貌变化信息, 分别采用相机、光学显微镜及 FESEM 对不同生长周期下的样品进行了表征, 实验结果如图 4 所示。

图 4 相机照片显示, 随着培养时间的增加, 杂色曲霉在纸张上生长密集, 颜色从淡绿色变为灰绿色; 在光学显微镜下观察到, 分生孢子头距离样品表面的高度

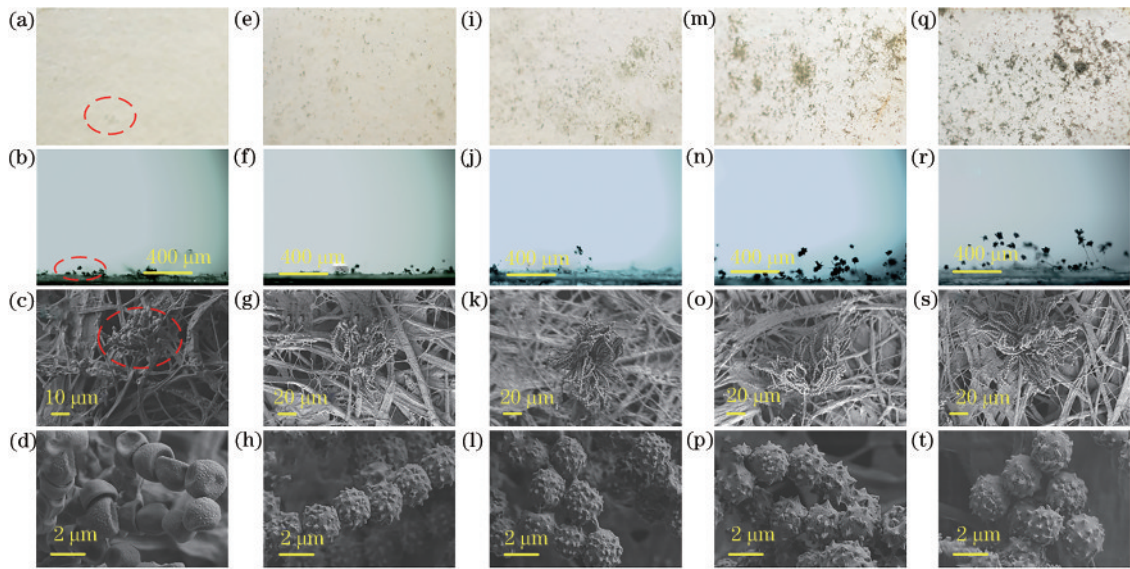


图 4 附着有杂色曲霉的纸质样品照片。(a)~(d) 2 d; (e)~(h) 3 d; (i)~(l) 4 d; (m)~(p) 6 d; (q)~(t) 7 d。第一行为相机拍摄照片,第二行为光学显微照片,第三/四行为 FESEM 照片

Fig. 4 Images of paper samples coated with *A. versicolor*. (a)–(d) 2 d; (e)–(h) 3 d; (i)–(l) 4 d; (m)–(p) 6 d; (q)–(t) 7 d. First row is camera photographs, second row is optical micrographs, and third and fourth rows are FESEM images

随着生长周期的增加而增加,生长 7 d 后霉菌高度增加至 596 μm [图 4(r)]; FESEM 照片显示,分生孢子头呈疏松的放射状,分生孢子的形状从凹陷球状变为球形,分生孢子头直径从 $\sim 74.4 \mu\text{m}$ (2 d) 增长至 $\sim 122.8 \mu\text{m}$ (7 d),分生孢子直径从 $\sim 2.6 \mu\text{m}$ (2 d) 增长至 $\sim 3.1 \mu\text{m}$ (7 d)。

4.2 传感器对纸质样品表面杂色曲霉生长过程的响应特性

用于检测纸质文物表面霉菌生长过程的传感器最佳结构参数已进行实验研究,见参考文献[21],用最佳结构参数的传感器(入射光纤直径为 1500 μm ,入射光纤锥角为 12° ,入射与接收光纤间距为 100 μm ,光程为 30 mm)对纸质样品表面杂色曲霉进行了在线监测。不同培养时间下(霉菌生物膜具有不同高度)杂色曲霉的吸收光谱信息如图 5 所示,杂色曲霉生长高度与吸

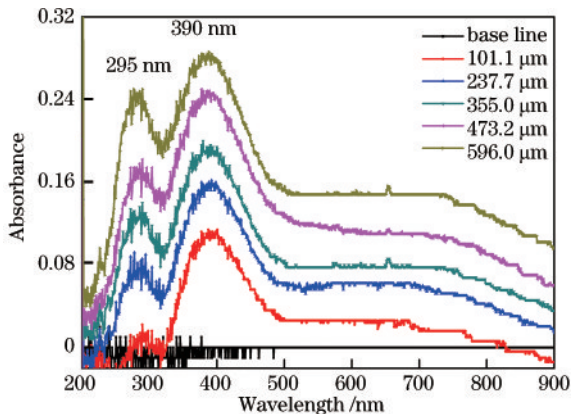


图 5 纸质样品表面杂色曲霉的光谱信息

Fig. 5 Spectral information of *A. versicolor* on surfaces of paper samples

光度间的关系曲线如图 6 所示。

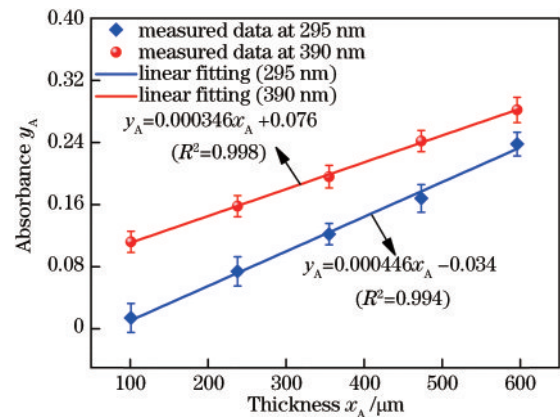


图 6 纸质样品表面杂色曲霉的定量数据信息

Fig. 6 Quantitative data information of *A. versicolor* on surfaces of paper samples

图 5 显示,在 200~900 nm 光谱范围内,杂色曲霉共 2 个峰,其特征吸收峰分别为 295 nm 和 390 nm。不同的物质具有不同的分子空间结构,从而导致不同的吸收波长[22]。因此,杂色曲霉显示出其独特的吸收光谱。这个事实说明,本文研制的传感器可以实现对纸质样品表面杂色曲霉的定性测量。

图 6 显示,随着杂色曲霉培养时间的增加,纸质样品表面霉菌高度增加,菌丝和孢子头数量增多,孢子头尺寸增大(如图 4 所示);菌丝和孢子头数量增多导致霉菌生物膜对光的吸收强度增大,孢子头尺寸增大导致光散射增大且反射率减小;最终导致霉菌生物膜的吸光度随着霉菌高度增大(培养时间的延长)而增大。吸收峰为 295 nm 对应的吸光度与杂色曲霉高度呈线

性关系: $y_A = 0.000446x_A - 0.034$ ($R^2 = 0.994$), 检测灵敏度达到 $0.000446/\mu\text{m}$; 吸收峰为 390 nm 对应的吸光度与杂色曲霉高度也呈线性关系: $y_A = 0.000346x_A + 0.076$ ($R^2 = 0.998$), 检测灵敏度达到 $0.000346/\mu\text{m}$, 其中 x_A 的范围为 $101.1 \sim 596.0 \mu\text{m}$ 。因此, 从图 6 可以看出, 传感器可以实现对纸质样品表面杂色曲霉生物膜生长过程信息(高度)的定量检测。

4.3 传感器对纸质样品表面杂色曲霉的检测下限

为了表征传感器对纸质样品表面杂色曲霉的检测下限, 利用具有最佳结构参数的传感器对纸质样品表面杂色曲霉生长初期的信息(从霉菌接种至霉菌高度 $120 \mu\text{m}$)进行了采集, 实验结果如图 7 所示。

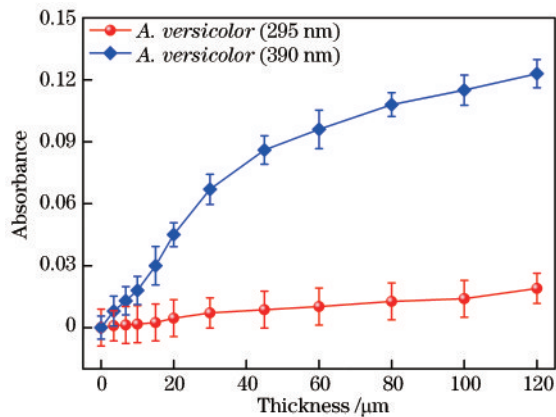


图 7 传感器对杂色曲霉生长初期的响应特性

Fig. 7 Response characteristics of sensor to early growth stages of *A. versicolor*

图 7 显示, 当纸质样品表面接种杂色曲霉孢子悬液后, 霉菌孢子在纸质样品表面附着的厚度达到 $10 \mu\text{m}$ 时, 传感器能对其做出响应, 这表明传感器对杂色曲霉的检测下限达到 $10 \mu\text{m}$; 随着杂色曲霉培养时间的增加, 传感器吸光度随之增大。因此, 本文研制的传感器可实现对纸质样品从霉菌接种到生长成熟全过程的准确检测。

5 结 论

为了实现对纸质文物表面杂色曲霉生物膜生长过程的在线无损监测, 研制了一种反射式光纤光谱传感器。建立了传感器测量的理论模型, 利用传感器对纸质样品表面杂色曲霉进行监测发现, 杂色曲霉有两个特征吸收峰, 分别为 295 nm 和 390 nm; 传感器对培养 7 d 内的杂色曲霉纸质样品能实现线性响应, 对杂色曲霉的探测灵敏度分别可以达到 $0.000446/\mu\text{m}$ (295 nm)、 $0.000346/\mu\text{m}$ (390 nm), 探测下限达到 $10 \mu\text{m}$ 。本文提出的传感器可推广应用于文物表面霉菌微生物定性定量检测, 为有效防控霉菌对纸质文物的损坏提供重要保障。

参 考 文 献

- [1] Sterflinger K, Pinzari F. The revenge of time: fungal deterioration of cultural heritage with particular reference to books, paper and parchment[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(3): 559-566.
- [2] Reichhardt C, Parsek M R. Confocal laser scanning microscopy for analysis of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm architecture and matrix localization[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 677.
- [3] Targowski P, Pronobis-Gajdzis M, Surmak A, et al. The application of macro-X-ray fluorescence and optical coherence tomography for examination of parchment manuscripts[J]. Studies in Conservation, 2015, 60(S1): S167-S177.
- [4] Hadwan M H. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues[J]. BMC Biochemistry, 2018, 19(1): 7.
- [5] Smith D, Starborg T. Serial block face scanning electron microscopy in cell biology: applications and technology [J]. Tissue and Cell, 2019, 57: 111-122.
- [6] Kang X, Kirui A, Muszyński A, et al. Molecular architecture of fungal cell walls revealed by solid-state NMR[J]. Nature Communications, 2018, 9: 2747.
- [7] Chen Y, Li P, Liao L Y, et al. Characteristic fingerprints and volatile flavor compound variations in Liuyang *Douchi* during fermentation via HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS[J]. Food Chemistry, 2021, 361: 130055.
- [8] Kumar S, Joshi D, Debbarma P, et al. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analysis of the fungi involved in biodegradation[M]//Udayanga D, Bhatt P, Manamgoda D, et al. Mycoremediation protocols. Springer protocols handbooks. New York: Springer, 2022: 93-100.
- [9] Wilson A D. Applications of electronic-nose technologies for noninvasive early detection of plant, animal and human diseases[J]. Chemosensors, 2018, 6(4): 45.
- [10] Cucci C, Delaney J K, Picollo M. Reflectance hyperspectral imaging for investigation of works of art: old master paintings and illuminated manuscripts[J]. Accounts of Chemical Research, 2016, 49(10): 2070-2079.
- [11] 刘丹, 赵聪, 纪朋, 等. 基于光纤端面双光子聚合微柱的丙酮气体传感器[J]. 中国激光, 2022, 49(12): 1210002.
Liu D, Zhao C, Ji P, et al. Acetone gas sensor based on two-photon polymerized micropillar on end face of fiber [J]. Chinese Journal of Lasers, 2022, 49(12): 1210002.
- [12] 陈俊璇, 李林洋, 辛鑫, 等. 准确测量液位的反射式螺旋塑料光纤传感器[J]. 光学学报, 2022, 42(1): 0106005.
Chen J L, Li L Y, Xin X, et al. Reflective spiral plastic fiber-optic sensor for accurate detection of liquid level[J]. Acta Optica Sinica, 2022, 42(1): 0106005.
- [13] de Ferri L, Tripodi R, Martignon A, et al. Non-invasive study of natural dyes on historical textiles from the

- collection of Michelangelo Guggenheim[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 204: 548-567.
- [14] 马金英, 刘铁根, 江俊峰, 等. 光纤表面等离子体共振传感灵敏度提高研究进展[J]. *中国激光*, 2021, 48(19): 1906002.
- Ma J Y, Liu T G, Jiang J F, et al. Progress in sensitivity enhancement for optical fibre surface plasmon resonance sensing[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2021, 48(19): 1906002.
- [15] Zhong N B, Zhao M F, Li Y S. U-shaped, double-tapered, fiber-optic sensor for effective biofilm growth monitoring[J]. *Biomedical Optics Express*, 2016, 7(2): 335-351.
- [16] Jiao L Z, Zhong N B, Zhao X D, et al. Recent advances in fiber-optic evanescent wave sensors for monitoring organic and inorganic pollutants in water[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 127: 115892.
- [17] 崔陆军. 反射式光纤束氢气传感器的研究与实现[D]. 武汉: 华中科技大学, 2010.
- Cui L J. Study on the reflective optical fiber bundle hydrogen sensor[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2010.
- [18] 代方, 李凯伟, 周文超, 等. 基于纳米磁珠放大的高灵敏度纳米光纤生化传感器[J]. *光学学报*, 2014, 34(12): 1206003.
- Dai F, Li K W, Zhou W C, et al. Highly sensitive optical nanofiber bio-chemical sensor based on magnetic nanoparticles amplification[J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, 34(12): 1206003.
- [19] Song Q, Luan F, Shi Z, et al. Design of turbidity remote monitoring system based on FX-11A optical fiber sensor [C]//2020 Prognostics and Health Management Conference (PHM-Besançon), May 4-7, 2020, Besançon, France. New York: IEEE Press, 2020: 291-294.
- [20] 朱珊莹, 曹汇敏. 反射式光纤束探头理论建模和仿真实现[J]. *仪表技术与传感器*, 2013(5): 75-78.
- Zhu S Y, Cao H M. Theoretical modeling and simulation implementation of reflective optical fiber bundle probe[J]. *Instrument Technique and Sensor*, 2013(5): 75-78.
- [21] Yu Q H, Xue Z D, Hu R, et al. Reflective fiber-optic sensor for on-line nondestructive monitoring of *Aspergillus* on the surface of cultural paper relics[J]. *Biomedical Optics Express*, 2022, 13(6): 3324-3338.
- [22] Qu L L, Jia Q, Liu C Y, et al. Thin layer chromatography combined with surface-enhanced Raman spectroscopy for rapid sensing aflatoxins[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1579: 115-120.