

文章编号: 1005-5630(2014)05-0443-06

微光探测装置自成暗室设计开发

万宇平, 罗晓琴, 蒋金峰, 何方洋, 刘平, 张颖

(北京勤邦生物技术有限公司, 北京 102206)

摘要: 针对现有微光检测系统体积大、避光效果差等不足, 对微光探测装置进行全新设计。采用反应杯与光探测头自成暗室, 减少暗室进出机构, 提高避光效果; 采用斩波法扣除本底计数, 从而消除背景光引起的测量误差。性能测试结果显示: 该微光探测装置的光子本底计数小于等于200光子/s, 测光上限平均值达到 1.1×10^7 光子/s, 变异系数(CV)小于等于3%, 达到目前现有的微光检测系统的技术指标要求, 可用于化学发光免疫分析仪等需要进行微光信号检测的精密仪器开发, 对基于微光探测技术的仪器行业的发展具有重要意义。

关键词: 微光探测装置; 暗室; 光子; 化学发光免疫分析仪

中图分类号: TH 741 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1005-5630.2014.05.015

The design and exploitation of darkroom in light detection device

WAN Yuping, LUO Xiaoqin, JIANG Jinfeng, HE Fangyang, LIU Ping, ZHANG Ying

(Beijing Kwinbon Biotechnology Company, Beijing 102206, China)

Abstract: The study aimed at redesigning the light detection device to compensate for deficiency of existing light detection system, such as the volume, light-protection effect and so on. It adopted the reaction cup with light detection head to form a darkroom, reduced the input and output of the darkroom, and improved the effect of light-protection. It used chopping method to deduct photon background count so as to decrease the measuring error. The performance testing results showed that the photon background count of light detection device was 200 or less photon/s. The average of photometry upper limit was 1.1×10^7 photon/s. Coefficient of variation (CV) was 3% or less, satisfying the technical requirements of the existing light detection system. It will be available for the development of precision instruments which require light signal detection, such as chemical luminescence immunity analyzer, and will be a great significance for the development of instrument industry upon light detection technique.

Key words: light detection device; darkroom; photon; chemiluminescence immunity analyzer

引言

微光信号检测技术在荧光测量、遥感遥测和生物医学成像等方面都有涉及, 广泛应用于军事安全、科学研究以及工程技术等领域^[1-2], 对微光探测装置和相关仪器的研究与推广越来越受到生物以及物理技

收稿日期: 2014-02-24

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项(2013YQ140371); 2013年首都设计提升计划(Z131110000213025)

作者简介: 万宇平(1982-), 男, 工程师, 硕士, 主要从事食品安全快速检测技术研究。E-mail: beijingqinbang@163.com

通讯作者: 何方洋(1969-), 男, 研究员, 博士, 主要从事免疫快速检测技术研究。E-mail: beijingqinbang@163.com

术领域研究工作者的重视。在微光信号检测研究中,通常把发光的生物或化学样品置于黑暗的环境中,用光探测器接收来自样品的微弱光,将其转换成电信号,再经过信号的分析处理,获得样品系统的发光信息^[3]。

为了防止测量过程中外部杂散光对测量结果的干扰,微光检测装置和相关仪器通常采用专门的测量暗室用于对发光物质进行测量,传统的暗室不可拆分,不可移动,占用空间大,四周外壁结构固定,只能安装在固定的场所,使用不灵活^[4]。很多研究工作者对暗室结构进行了改进。王弼陡等^[5]发明一种测量暗室,包括支座、挡光罩、左门档、右门档,可作为测量仪器的组成部分安装在测量仪器上;刘萍等^[6]发明一种测量暗室,暗室上盖和暗室外壁构成封闭且避光的暗室主体,提高暗室避光性能;谭永红等^[7]发明一种微弱光检测仪的暗室,暗室盖和暗室底盘扣合形成暗室。罗刚银等^[8]在半自动化学发光免疫分析仪研制中设计了专门测量暗室和聚光光路,暗室门打开时,扇形片挡住光孔,插入试管后关上门,光孔打开,试管中反应物发出的荧光经光孔进入,照在凸透镜上,最终到达光电倍增管进行光子测量;李森等^[9]在化学发光免疫分析仪中设计了密闭机箱,暗环境下测试,最大计数灵敏度为 2.7×10^5 光子/s。这些研究基本上都是在已有独立暗室的基础上进行改进,测量过程中进出机构较多,且体积较大,以目前市场常见含暗室机构仪器(西门子)为例,其暗室的体积为 $210 \text{ mm} \times 170 \text{ mm} \times 75 \text{ mm}$ 。

由于独立暗室体积较大,进出机构多,导致避光效果欠佳,噪声较大,低浓度物质微弱信号易被淹没,影响仪器灵敏度和可靠性。暗室体积较大,也导致其无法在线应用于其他同类仪器,从而影响基于本装置检测仪器行业的发展。

因此,本研究针对上述问题,采用反应杯与光探测头自成暗室,取消了独立暗室,将暗室体积缩小至 $80 \text{ mm} \times 35 \text{ mm} \times 70 \text{ mm}$,同时减少暗室进出机构,提高避光效果,有效降低噪声的干扰;采用斩波法扣除本底计数,从而消除背景光引起的测量误差,准确地进行光子计数。

1 微光探测系统设计

本试验旨在对微光探测装置进行全新设计,设计采用运动式的压紧机构自成暗室,缩小暗室体积,减少进出暗室机构,同时合理压缩系统视场;在光子计数过程中,采用斩波法扣除光子计数本底,从而消除背景光引起的测量误差,有效提高微光探测装置的检测灵敏度。由此,设计出微光探测系统如图 1 所示。

微光探测系统主要由测量暗室、光纤和光电倍增管等部分组成,工作原理如图 2 所示。当待测反应杯传送至测量位时,驱动机构带动压紧机构和橡胶头往下运动,和反应杯接触后形成一个密闭的暗室;抽废液探针在抽废液泵的作用下,抽出测光后反应杯中的废液,避免环境污染;光纤负责把光信号传导到光电倍增管模组,然后光信号转换成脉冲信号由光电倍增管模组输出至检测控制电路;检测电路完成对计数脉冲的测量后将结果发送给主控系统,最后压紧机构再往上走回到初始位置。这就完成了一次完整的测量过程。

2 具体试验设计方案

2.1 暗室设计

本装置采用压紧机构与反应杯配合自成暗室,测量暗室体积 $80 \text{ mm} \times 35 \text{ mm} \times 70 \text{ mm}$,将现有微光检测暗室体积缩小 $2/3$;自主试制塑料材质的反应杯,外壁为黑色、内部为白色,黑色外壳能保证隔离外界光的干扰,内部的白色又能避免发出的光信号被吸收。压紧块的末端采用黑色丁腈橡胶,橡胶的不透光特性和变形能力有效地保证了暗室的密闭效果。

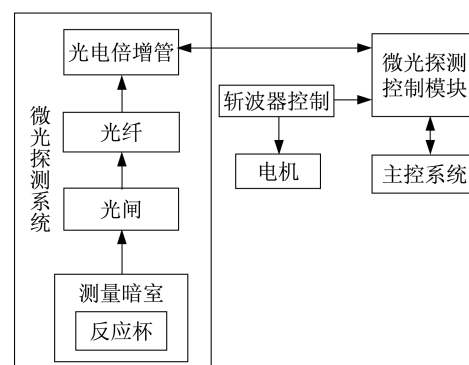


图 1 微光检测系统框架图

Fig. 1 The frame diagram of light detection system

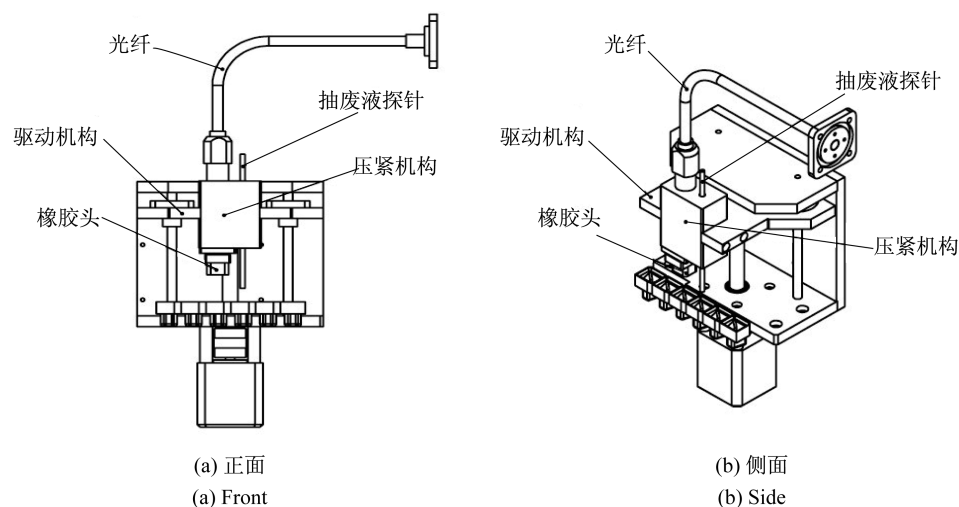


图2 微光检测系统外观示意图

Fig. 2 The light detection system

2.2 运动机构设计

在压紧机构的设计上,有一滑块可上下做升降运动形成开放或闭合暗室,采用滚珠丝杠传动方式,选用步进电机驱动联轴器。联轴器带动滚珠丝杠,滚珠丝杠通过上下两个轴承限定位置,保证与电机轴同心,使其精确移动光纤压紧密封单元,可以保证传动机构的准确性和可靠性。通过实验测试结果,定位精度 $10\ \mu\text{m}$, 光纤直线移动范围 $0\sim 200\ \text{mm}$, 角度移动范围 $90^\circ\sim 120^\circ$ 。

2.3 光路选取设计

反应杯在暗室发出的光信号,经光纤传导到光子计数模组。暗室形成过程中,运动机构会带动光纤运动,光纤不可能做直线拉伸,故设计时光纤是弯成一定角度的。出于抗弯特性考虑,本研究选择春晖液芯光纤。该光纤最小弯曲半径 $60\ \text{mm}$, 本装置设计的光纤弯曲半径 $90\sim 110\ \text{mm}$, 大于最小弯曲半径,宏弯损耗的影响很小,光纤传导效率大于 80% 。

2.4 光子计数模组的选取

光子计数模组主要由光电倍增管、高压电源、分压器、脉冲放大器、甄别器等组成。选择光子计数模组的两个重要参考指标是:线性计数范围和本底计数率。考虑底物发光值的范围,本装置线性计数范围 $3\times 10^4\sim 4\times 10^6$ 光子/s, 本底计数率小于等于 1% , 即本底小于 300 光子/s。所以最终选择使用 CH283 模组($+12\ \text{V}$ 电源供电, 最大线性计数值为 8×10^6 光子/s, 本底小于 300 光子/s)。

当光信号非常微弱而光子计数模组又处于低计数率工作时,要特别考虑本底噪声的扣除,它是测量误差的主要来源。为了消除这种误差,本研究采用斩波法扣除本底计数。通过周期的切断与接通光路,交替地产生“背景”与“信号+背景”的计数率。斩波器的定时参考方波作为计数闸门同步计数器 A 和 B, 使计数器 A 累加“信号+背景”计数, 计数器 B 累加“背景”。

计数电路收集来自光子计数模组 CH283 输出脉冲并进行计数, 计数时间一般为 $1\ \text{s}$ 。模组输出的脉冲宽度 $10\ \text{ns}$, 属于高频信号, 在电路设计时需考虑阻抗匹配, 以防止信号的反射。阻抗匹配解决了信号源质量的问题, 接下来对计数器 A 的脉冲信号进行计数。因计数器 A 是对“信号+背景光”计数, 测光上限大于等于 1×10^7 光子/s, 普通的计数器一般为 16 位, 支持最大 65 535 的计数, 所以要对原始脉冲进行分频处理。

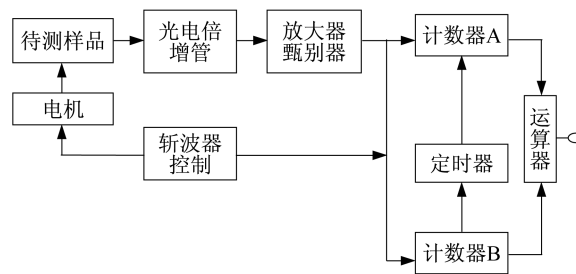


图3 采用斩波法扣除光子计数的本底

Fig. 3 Photon counting background deducted by chopping wave method

3 性能测试与结果分析

3.1 暗室密封性测试

仪器开机预热 5 min 后,把一空的反应杯传送到测光位,使用 PC 机的用户软件控制仪器对 1~12 号孔依次进行测量。光电倍增管测试时间为 1 s,得到本底计数值数据见表 1。

表 1 暗室本底测量数据

Tab. 1 The background measurement of darkroom

次数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
本底计数/(光子·s ⁻¹)	168	152	156	105	134	86	124	128	136	122	195	135

由测量结果可以得出,光子本底计数平均值为 136 光子/s,该装置的光子本底计数小于等于 200 光子/s。

3.2 测光上限测试

制备高浓度酶标抗原。取 100 μL 发光底物及高浓度样品,依次加入到一空反应杯的 12 个孔内,用 PC 机调试软件操作机器,将反应杯传到测光位进行测光,观察并记录数据见表 2。

表 2 测光上限测量数据

Tab. 2 The measurement data of photometric limit

孔位	1	2	3	4	5	6
发光值/(光子·s ⁻¹)	11 506 858	12 031 049	12 960 317	12 590 059	12 265 370	11 034 702
孔位	7	8	9	10	11	12
发光值/(光子·s ⁻¹)	10 961 172	11 301 409	10 764 913	12 010 912	11 351 726	10 850 934

从以上数据可以看出,12 个数据均超过光子计数模组 8×10⁶ 的线性范围,测光上限平均值达到 1.1×10⁷ 光子/s。

3.3 重复性测试

将标准光源装入测试反应杯中,传送反应杯,使光源到达测光位的正下方,使用 PC 机的调试软件,启动测量模块测定光源的发光光子数。在 10 d 内不定期测试,共测试 12 组,每组测量 10 次。数据。测试间隔期间系统处于工作或停机状态。记录结果,并按以下公式计算变异系数(CV)

$$CV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (x_i - \bar{x})^2}{6-1}} \times \frac{1}{\bar{x}} \times 100\%$$

式中, x_i 为第 i 次测试结果, \bar{x} 为 10 次测试结果的算术平均值。

测量标准光源的数据如表 3 所示。

表 3 重复性数据处理结果

Tab. 3 The processing results of repeatability

次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)
1	7 170	1	7 381	1	7 395	1	7 299
2	7 105	2	7 299	2	7 575	2	7 307
3	7 332	3	7 301	3	7 318	3	7 009
4	7 139	4	6 961	4	7 281	4	7 125
5	7 459	5	7 098	5	7 049	5	7 064
6	7 514	6	6 892	6	7 115	6	7 432
7	7 386	7	6 982	7	7 002	7	7 305
8	7 210	8	6 980	8	7 337	8	7 107
9	7 182	9	7 042	9	7 446	9	7 309
10	7 029	10	7 062	10	7 366	10	7 216
相对均方差	2.22%	相对均方差	2.37%	相对均方差	2.49%	相对均方差	1.87%
总相对均方差:2.08%							

续表 3

次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)
1	7 349	1	7 353	1	7 126	1	6 970
2	6 994	2	7 276	2	7 354	2	7 102
3	7 112	3	7 167	3	7 505	3	7 179
4	7 424	4	7 373	4	7 423	4	7 194
5	7 139	5	7 323	5	7 181	5	6 992
6	7 058	6	7 083	6	7 280	6	7 278
7	6 866	7	7 327	7	7 456	7	7 357
8	7 216	8	7 274	8	6 979	8	7 461
9	7 189	9	7 254	9	7 370	9	7 299
10	7 197	10	7 280	10	7 137	10	7 127
相对均方差	2.27%	相对均方差	1.21%	相对均方差	2.34%	相对均方差	2.17%
总相对均方差:2.08%							
次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)	次数	测量值/(光子·s ⁻¹)
1	7 384	1	7 311	1	7 061	1	7 408
2	7 026	2	7 187	2	7 476	2	7 409
3	7 088	3	7 313	3	7 154	3	7 327
4	7 380	4	7 259	4	7 172	4	7 242
5	7 382	5	7 116	5	7 277	5	7 221
6	7 159	6	7 244	6	7 114	6	7 194
7	7 445	7	7 150	7	7 387	7	7 097
8	7 320	8	7 348	8	7 293	8	7 114
9	7 185	9	7 267	9	7 124	9	7 157
10	7 262	10	7 403	10	7 349	10	7 374
相对均方差	1.96%	相对均方差	1.23%	相对均方差	1.88%	相对均方差	1.63%
总相对均方差:2.08%							

从以上数据可以看出,变异系数小于3%,符合微光检测系统的技术指标要求。综合结果分析见表4。

4 实验结论

针对以往微光探测系统独立暗室体积大、进出机构多、结构复杂及避光效果欠佳等问题,本研究对微光探测装置进行

全新设计。采用反应杯与光探测头自成暗室减少暗室进出机构,提高避光效果,有效降低噪声的干扰;采用斩波法扣除本底计数,从而降低背景光引起的测量误差,准确地进行光子计数。该微光探测装置经测试,光子本底计数小于等于200光子/s,测光上限平均值达到 1.1×10^7 光子/s,变异系数(CV)小于等于3%,光纤传导效率80%,达到目前现有的微光检测系统的技术指标要求,对基于微光探测技术的仪器行业发展具有重要意义。

参考文献:

- [1] 汤宏颖. 提高微光信号检测灵敏度的新方法[D]. 天津:天津大学,2012.
- [2] DHULLA V, GUDKOV G, STEPOUKHOVITCH A, *et al.* Single photon detection module for multi-channel detection of weak fluorescence signals[C] // Proceedings of SPIE: Smart Medical and Biomedical Sensor Technology (III). Bellingham WA, US:

表4 微光探测装置各项目检测结果

Tab. 4 Test results of light detection device

检测项目	检测结果	现有探测系统技术指标
光测本底/(光子·s ⁻¹)	136个	≤300个
测光上限/(光子·s ⁻¹)	1.1×10^7	≥ 8×10^6
线性范围/(光子·s ⁻¹)	600万	≥500万
光纤传导效率/%	80	80
重复性/%	2.08	≤3

- International Society for Optical Engineering, 2005; 600-719.
- [3] 刘天鹏. 生物超微弱发光测量的暗室环境控制系统设计[D]. 重庆: 重庆大学, 2007.
- [4] 丁铁夫, 王瑞光, 郑喜凤, 等. 一种组合式暗室: 中国, 200720094507. 3[P]. 2007-10-25.
- [5] 王弼陡, 吴再辉, 白志红. 测量暗室: 中国, 200910066538. 1[P]. 2009-07-15.
- [6] 刘 萍, 栾大伟, 程晓宇, 等. 一种检测暗室: 中国, 201320288740. 0[P]. 2013-10-23.
- [7] 谭永红, 申 玲. 一种微弱光检测仪的暗室: 中国, 201320023428. 9[P]. 2013-07-31.
- [8] 罗刚银, 王弼陡, 唐玉国, 等. 基于单光子计数的半自动化学发光免疫分析仪的研究[J]. 光电子技术, 2012, 2(3): 190-194.
- [9] 李 森, 刘伟强. 高灵敏度化学发光免疫分析仪的设计与功能实现[J]. 北京医学生物工程, 2009(6): 622-626.

=====

(上接第 442 页)

- [2] HU Y H, WANG H, HU B. Thinnest two-dimensional nanomaterial-graphene for solar energy[J]. *Chem Sus Chem*, 2010, 3: 782-796.
- [3] LI X S, CAI W W, AN J H, *et al.* Large-area synthesis of high-quality and uniform graphene films on copper foils[J]. *Science*, 2009, 324(5932): 1312-1314.
- [4] REINA A, JIA X, HO J, *et al.* Large area few-layer graphene films on arbitrary substrates by chemical vapor deposition[J]. *Nano Letters*, 2009, 9(1): 30-35.
- [5] KIM K K, REINA A, SHI Y M, *et al.* Enhancing the conductivity of transparent graphene films via doping[J]. *Nanotechnology*, 2010, 21(1): 285205.
- [6] 吴娟霞, 徐 华, 张 锦. 拉曼光谱在石墨烯表征中的应用[J]. 化学学报, 2014, 72(3): 301-318.
- [7] 陈抗生. 电磁场理论与微波工程基础[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2009: 118-151.
- [8] MICHALSKI K A, MOSIG J R. Multilayered media Green's functions in integral equation formulations[J]. *IEEE Transactions on Antennas and Propagation*, 1997, 45(3): 508-519.
- [9] GOMEZ-DIAZ J S, PERRUISSEAU-CARRIER J. Microwave to THz properties of grapheme and potential antenna applications[J]. *Antennas and Propagation*, 2012, 3(3): 239-242.
- [10] HANSON G W. Dyadic Green's functions for an anisotropic, non-local model of biased graphene[J]. *IEEE Transactions on Antenna and Propagation*, 2008, 56(3): 747-757.
- [11] LOVAT G. Equivalent circuit for electromagnetic interaction and transmission through graphene sheets[J]. *IEEE Transactions on Electromagnetic Compatibility*, 2012, 54(1): 101-109.
- [12] 刘 川, 蒋全兴. 利用屏蔽室壁面的标准测试窗口测量孔缝泄漏及材料的屏蔽效能[J]. 安全与电磁兼容, 2002(2): 27-29.
- [13] FALKOVSKY L A. Unusual field and temperature dependence of the Hall effect in grapene[J]. *Physical Review B*, 2007, 75(2): 033409.
- [14] HONG S K, KIM K Y, KIM T Y, *et al.* Electromagnetic interference shielding effectiveness of monolayer graphene [J]. *Nanotechnology*, 2012, 23(1): 455704.