

文章编号 1004-924X(2009)05-0980-05

由统一积分时间数据提高生化分析仪精度

李正刚^{1,2}, 吴一辉¹, 宣明¹, 王一凡¹

(1. 中国科学院 长春光学精密机械与物理研究所 应用光学国家重点实验室,
吉林 长春 130033; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

摘要:为了简化生化分析过程,提高测量精度,提出了统一积分时间数据测量法。根据光电二极管阵列(PDA)驱动程序和光电转换原理,推导出光强与积分时间档的关系式;然后,在实验的基础上按照 PDA 性能参数确定线性工作区间,再将各个积分时间暗电流数据记录下来,在数据采集过程中将相应的积分时间档下的暗电流数据扣除,以保证暗电流给分析仪器造成的误差最小。实验结果表明,采用该方法使工作效率提高了 1~3 倍,检测精度提高了 25%。在以光纤光谱仪为主体的微型生化分析仪样品检测中的应用表明,采用该方法简化了实验步骤,在测试样品浓度发生很大变化时,也可以使仪器有较高的测试精度。

关键词:光电二极管阵列(PDA); CCD; 生化分析仪; 积分时间

中图分类号: TP216; TH744.12 **文献标识码:** A

Improving accuracy of biochemical analyzer by uniforming integral time data

LI Zheng-gang^{1,2}, WU Yi-hui¹, XUAN Ming¹, WANG Yi-fan¹

(1. *State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China;*
2. *Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China*)

Abstract: With the aim to improve the performance of a biochemical analyzer, a uniform integral time method for CCD data acquisition was presented in the paper. Different integral time data were calculated based on a Photo Diode Array(PDA) driving program and the photoelectrical transformation principle, and the linearity region of the biochemical analyzer was confirmed according to both performance parameters and experiments. Then, different integral time dark currents were recorded in the experiments and they were removed from an original spectrum to ensure the analyzer error in minimum. The experimental results show that the precision of the analyzer has been improved by 25%, and the work efficiency is 1~3 times higher than those of the original methods. It is proved that the using the proposed method can simplify the experimental procedures and can provide the higher precision for the analyzer even in sample concentration to be changed greatly.

Key words: Photo Diode Array(PDA); CCD; biochemical analyzer; integral time

收稿日期:2008-07-23; 修订日期:2008-09-10.

基金项目:国家 863 高技术研究发展计划资助项目(2006AA04Z367); 国家 863 重点资助项目(2007AA042102)

1 引言

近10年来,随着电荷耦合器件(Charge Coupled Devices, CCD)和微制作工艺技术的深入研究,光谱分析仪器的微型化得以迅速发展。但微型光谱仪的灵敏度和动态范围又极大地受制于CCD的性能,即高灵敏度CCD的动态范围均较小,一般只有300 dB左右。为此,本文选用了灵敏度稍低、动态范围较大的光电二极管阵列(Photo Diode Array, PDA),其动态范围可达63 dB。在测试过程中通过设置积分时间档来调节积分时间,以适应不同的样品浓度。测量低浓度时,采用高积分时间档,测量高浓度时,采用低积分时间档,由此提高分析仪器的总体测量动态范围。在实际工作中往往需要应用朗伯-比尔定律来测量物质在放入试剂反应前后吸光度的变化,用以测量这种物质的浓度^[1]。物质浓度大时,测量的吸光度就大,测量时需要找到一个合适的积分时间档使反应前后的光谱数据都在测量范围内。为了减小相对误差,还需要对被测物反应前后的状态反复测几次,以找到最佳的测量积分时间(在没有统一积分时间数据时,被测物的反应前后状态必须在同一个积分时间且相对误差最小时测定)。以往这项研究常采用人为切换光积分时间的方式进行调整,在各积分时间下暗电流、饱和值等不同,造成不同积分时间获得的数据可比性差,检测过程繁琐,精确度低。

针对上述不足,本文提出了统一积分时间数据测量法,在测试过程中通过自动设置积分时间档以调节积分时间^[2-3],使用转化公式统一各积分时间档光谱谱线数据,以适应不同的样品浓度测试,以简化检测过程、提高分析仪器的总体测量动态范围和测量结果精度。

2 统一积分时间数据处理的基本原理及方法

不改变原始入射光,调节积分时间以增加光电转换器件采集光谱信号的灵敏度。根据光电转换原理,输出信号的大小正比于落在器件相应空间位置的光强,同时正比于光积分时间^[4]。因此,

可以列出如下方程式:

$$\begin{cases} X_i = T_i \times a \\ X_k = T_k \times a \end{cases}, \quad (1)$$

式中, X_i 为测得光强; T_i 为积分时间; a 为常数。在本研究中,采用了美国Panavision SVI公司型号为SLIS-2048A-LG-ES的PDA。转换增益为5、动态范围为63 dB^[5]。选用ALTERA公司的CPLD芯片EPM7064STC100作为PDA芯片的驱动电路,将积分时间档与积分时间的关系设定为:

$$T = 1000 + 500 \times n, \quad (2)$$

式中, T 为积分时间; n 为积分时间档。

根据公式1、2推算出测得光强与积分时间档的关系式:

$$X_n = \frac{n+2}{m+2} X_m, \quad (3)$$

式中, X_i 为第*i*积分档光强。

由上式可以看出各个积分档光谱数据成正比关系,比例系数为当前积分档值加2除欲转换积分档值加2。

2.1 确立线性工作区间

通过原理推导已经明确各个积分档光谱数据成正比关系,但是由于PDA器件本身^[5]和后续电路的信号线性问题,需要实际测试其线性工作区间。为确认信号在各个积分时间下的线性关系,本文做了如下实验。在光源不变的情况下对一种标准物质进行数据采集,使用16个积分时间档采集的数据,积分时间与相对光强关系如图1。

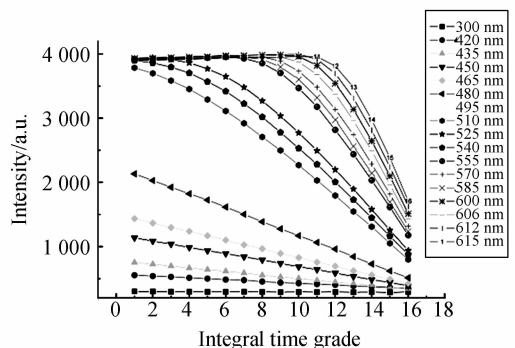


图1 积分时间与相对光强的关系

Fig. 1 Relation of integral time grade and intensity

图1中每一条曲线表示所示波长1~16档积分时间对应光强。在3500以下光强与积分时间档保持着很好的线性关系,而光强超过3500时,

已经很难保证线性关系。

根据积分时间档与光强的关系,为了得到最高的信噪比,这里将判断的范围定在 65%~70% 之间。光谱谱线判断方法如下:

(1) 判断光谱谱线采集点数值是否在设定的范围内(65%~70%),如果所有的积分时间档都不满足上述条件则选择一个最接近的积分档。

(2) 如果需要同时采集多个点,则可选择多个点中比较大的作为参考点,使其满足第 1 条选择原则。

据此给出光谱曲线采集流程,如图 2 所示:

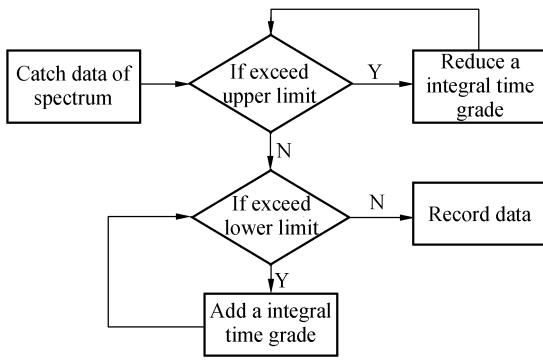


图 2 光谱曲线采集流程图

Fig. 2 Flow chart of collecting spectrum

2.2 验证转换公式

由式(3)对标准液不同积分档数据进行转换,如图 3、4 所示,可以看出在 600 nm 以前由于在此积分下光强没有超出线性区,转换后的曲线和低积分档曲线吻合的很好,600 nm 以后光谱曲线凸起部分由于超出了线性区,转换后的曲线和低积分档曲线出现了偏差,并且随着积分时间的增大

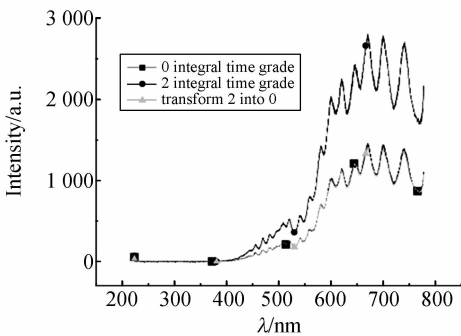


图 3 0 积分档和 2 积分档及其转换谱线对比

Fig. 3 Comparison of transformed spectra, 0 grade and 2 grade spectra

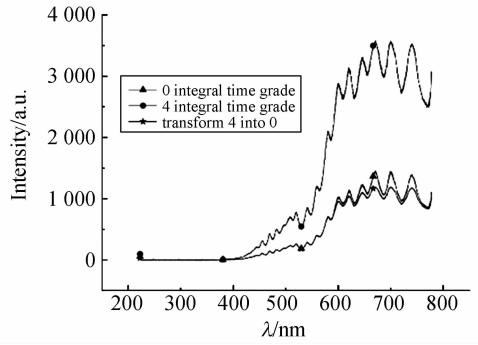


图 4 0 积分档和 3 积分档及其转换谱线对比

Fig. 4 Comparison of transformed spectra, 0 grade and 3 grade spectra

超出线性区的程度也同时增大。

2.3 暗电流的影响

在各个积分时间下分析仪的暗电流是不同的随着积分时间的增大暗电流逐渐增大,如图 5 所示。

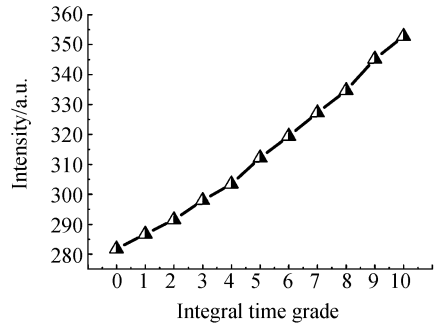


图 5 暗电流与积分时间档的关系

Fig. 5 Relation of dark current and integral time grade

将各个积分时间暗电流数据记录下来,在数据采集过程中将相应的积分时间档下的暗电流数据扣除,以保证暗电流给分析仪器造成的误差最小。

3 实验结果及讨论

为了验证该研究方法的优点,设计实验如下。选用标准溶液以 2 种浓度做相对吸光度实验,且假设标准液低浓度分别在 3、4、5 积分档时光谱数据接近非线性区上限,高浓度时为了获得较好的信噪比使用了 11 积分档。使用式(3)转化统一这两个不同积分档数据算得相对吸光度,通过图 6、7、8 可以看出通过本方法转化后的吸光度

标准不确定度减小,具体数据如表 1 所示。

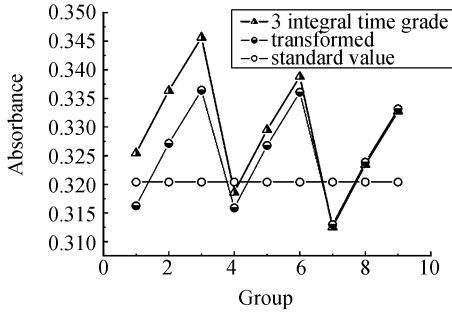


图 6 3 积分时间档转化数据前后的吸光度对比

Fig. 6 Comparison of absorbance between normal and transformed (3 integral time grade)

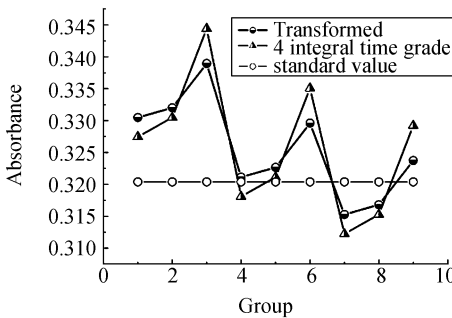


图 7 4 积分时间档转化数据前后吸光度对比

Fig. 7 Comparison of absorbance between normal and transformed (4 integral time grade)

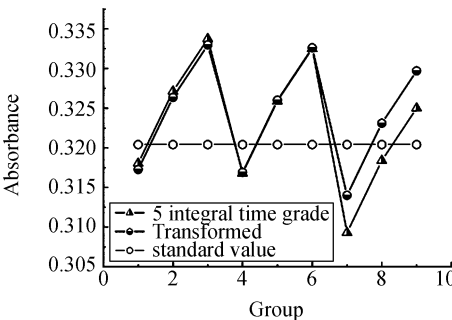


图 8 5 积分时间档转化数据前后吸光度对比

Fig. 8 Comparison of absorbance between normal and transformed (5 integral time grade)

表 1 标准溶液相对吸光度测量标准不确定度对比

Tab.1 Standard uncertainties of absorbances

	3 integral time grade	4 integral time grade	5 integral time grade
original	0.010 39	0.010 28	0.007 96
transformed	0.008 89	0.007 71	0.007

生化分析仪的随机误差主要来源于光源的抖动和 PDA 采集过程中的随机误差,这两种误差在仪器的采集过程中基本没有变化,采集光谱谱线值越大,谱线的相对误差越小。使用该方法可以不用考虑被测物反应前后浓度变化而产生积分时间选择问题,只需要在软件自动选定的最佳积分时间下采集当前数据即可,不同积分时间下的数据根据转化公式转化到统一的积分时间数据上进行吸光度计算。

本实验采用 PDA 作为采集元件,由于 PDA 与 CCD 工作方式极为相似,该方法同样适用 CCD 器件。CCD 在接近饱和时有非线性问题,同时也有饱和像元光生电荷流入邻近像元的现象^[6],确定线性区间同样可以消除这种影响。

4 结 论

本文提出了一种通过自动切换 PDA 积分时间实现被测大浓度范围样品高灵敏度准确测试的方法。该方法在以光纤光谱仪为主体的微型生化分析仪样品检测过程中的应用表明其简化了测试过程,提高原工作效率 1~3 倍、提高了分析仪器的总体测量动态范围,检测精度提高了 25%。

参考文献:

[1] 罗庆,邓延伟,蔡汝秀,等.分光光度分析[M].北京:科学出版社,1998.

LUO Q,DENG Y ZH,CAI R X, et al.. The Spec-

trophotometer Analysis [M]. Beijing: Science Press,1998. (in Chinese)

[2] 胡炳梁,马彩文,孙益善,等. CCD 自动调光设计[J].光子学报,2002,31(4):504-506.

HU B L, MA C W, SUN Y SH, et al.. CCD au-

- to adjust light[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2002, 31(4):504-506. (in Chinese)
- [3] 金龙旭,吕增明,熊经武. CCD 摄像机全自动调光系统[J]. *光学精密工程*, 2002, 10(6):588-591.
- JIN L X, LU Z M, XIONG J W. Automatic light-adjusting system of CCD video camera[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2002, 10(6):588-591. (in Chinese)
- [4] 周祖成,茅於海. 电荷耦合器件在信号处理图像传感中的应用[M]. 北京:清华大学出版社, 1991:9.
- ZHOU Z CH, MAO Y H. *The Application of a Charge-coupled Device in Signal Processing and Image Sensing* [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 1991. (in Chinese)
- [5] PANAVISION S L. *SLIS - 2048 High Speed 2048×1 Line Scan Image Sensor* [M]. Panavision SVI, LLC, 2004.
- [6] 赵艳皎,唐敏学,吴建宏. 一种提高光谱仪中线阵 CCD 信噪比的方法[J]. *光电子技术与信息*, 2004, 17(4):43-46.
- ZHAO Y J, TANG M X, WU J H. A method for enhancing SNR of linear CCD in spectroscopy[J]. *Optoelectronic Technology & Information*, 2004, 17(4):43-46. (in Chinese)

作者简介:



李正刚(1977—),男,吉林安图人,中科院长春光学精密机械与物理研究所博士研究生,主要从事计算机控制、数据采集和软件工程方面的研究。E-mail: leegon@163.com



宣明(1956—),男,江苏常州人,中科院长春光学精密机械与物理研究所研究员,博士生导师,主要从事 MEMS 技术和精密机械等方面的研究。E-mail: xuanm@ciomp.ac.cn

通讯作者:



王一凡(1958—),男,吉林长春人,中科院长春光学精密机械与物理研究所研究员,主要从事光机总体结构设计方面的研究。E-mail: wangyifan1958@163.com

导师简介:



吴一辉(1965—),女,内蒙古呼和浩特市人,中科院长春光学精密机械与物理研究所研究员,主要从事 MOEMS 技术、微流体、光探测技术和卫星姿态控制飞轮等方面的研究。E-mail: yihuiwu@ciomp.ac.cn