

DOI:10.19651/j.cnki.emt.2108182

黄曲霉毒素 B1 光纤检测系统设计*

胡良 吴才章 赵志科 徐坤

(河南工业大学电气工程学院 郑州 450001)

摘要:为了解决传统化学发光酶免疫分析方法中大尺寸光电检测装置探测头与反应孔的对准难题,采用多模光纤结合光纤型光子计数探头对目标信号进行探测,设计一种基于光电检测技术的黄曲霉毒素 B1 光纤检测系统。通过 ZEMAX 仿真与测试结果显示,在反应孔范围内,与反应孔中心位置检测相比光纤光子收集比达到 95.83% 以上,检测相对标准偏差 $RSD \leq 0.21\%$,光纤探测口与反应孔对准要求大大降低。试验结果表明,该光纤检测系统的检出限为 $0.63 \mu\text{g/L}$,标准曲线相关系数为 0.997 7, RSD 为 $1.03\% \sim 2.38\%$,样品加标回收率为 $92.62\% \sim 96.03\%$,具有更高线性度、精密度、重现性等。

关键词:黄曲霉毒素 B1;光电检测;多模光纤;ZEMAX 仿真

中图分类号: TN247; S24 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 510.20

Design of optical fiber detection system for aflatoxin B1

Hu Liang Wu Caizhang Zhao Zhike Xu Kun

(College of Electrical Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: In order to solve the alignment problem between the detection head of the large-size photoelectric detection device and the reaction hole, a small, in the traditional chemiluminescence enzyme immunoassay method. A multi-mode optical fiber combined with the optical fiber-type photon counting probe is used to detect the target signal, and an aflatoxin B1 optical fiber detection system based on photoelectric detection technology is designed. The ZEMAX simulation and test results show that the optical fiber photon collection ratio reaches more than 95.83% and $RSD \leq 0.21\%$ in the reaction hole range compared with the reaction hole center position detection, and the alignment requirements of the optical fiber detection port and the reaction hole are greatly reduced. The experimental results showed that the detection limit of the fiber optic detection system was $0.63 \mu\text{g/L}$. The correlation coefficient of the standard curve was 0.997 7. The RSD was $1.03\% \sim 2.38\%$, and the sample spiked recovery was $92.62\% \sim 96.03\%$ with higher linearity, precision, and reproducibility.

Keywords: aflatoxin B1; photoelectric detection; optical fiber; ZEMAX

0 引言

黄曲霉毒素是毒性最强的真菌毒素组,其中黄曲霉毒素 B1(aflatoxin B1, AFB1)毒性最高,也是肝癌的主要致病因素之一^[1]。AFB1 广泛存在于花生、玉米、大豆、小麦等粮食农产品中,在粮食被 AFB1 污染后,可通过食物链进入人和动物体内,严重危害着人和动物的健康^[2]。为此国家出台 GB 2761-2017 规定了食品中 AFB1 的最大限量标准为 $0.5 \sim 20 \mu\text{g/kg}$ ^[3]。加强储粮真菌毒素快速检测方法的研究,实现检测手段的技术创新,成为保障我国粮食安全、维

护国家经济利益和人民健康的迫切需求。化学发光酶免疫分析(chemiluminescence enzyme immunoassay, CLEIA)是目前应用最为广泛的一种真菌毒素检测方法^[4-5]。然而化学发光酶免疫分析存在仪器价格昂贵、对操作人员要求高、程序复杂、不能进行现场检测等缺点,限制了这种方法在粮食行业的推广^[6]。

在文献[6]中提出了一种应用于粮食行业的玉米赤霉烯酮检测系统,采用高精度光电倍增管实现化学发光强度信号的测量,提高了检测精度。但这种探测化学发光信号所用的传统光电检测装置探测窗口都有较大的体积尺寸

收稿日期:2021-10-25

* 基金项目:河南省科技攻关项目(182102110461)、河南工业大学创新基金支持计划专项(2020ZKCJ31)资助

(内置多级高压电极等原因)^[7-8],使用这种大尺寸探测窗口必须保证反应微孔中化学发光元与探测头的位置完全对准,稍有偏差,就会导致发光信号不能完整测量。实际测量过程中需要不断地调节探头或者反应微孔的位置,然而通过机械装置的调整实现探测窗口与反应微孔之间的精确对准是很难达到高精度的,探测窗口与反应孔的相对位置也很难保证一致,就会造成不同的位置偏差情况,这就会引起较大的测量误差,对于测量精度存在限制,系统测量精度难以进一步提高是阻碍化学发光酶免疫分析方法发展的一大瓶颈^[9-10]。

基于传统化学发光酶免疫分析方法检测的诸多不足,本文利用低损耗、体积小的多模光纤结合光纤型光子计数探头对化学发光信号进行探测,设计了一种 AFB1 光纤检测系统。仿真与试验结果表明,该系统满足国家粮食行业对于粮食中 AFB1 含量快速检测要求,具有操作简便,成本低,精度高等优点,为储粮真菌毒素化学发光现场检测仪器提供了参考。

1 光纤检测系统设计

1.1 系统总体结构设计

系统主要由反应池驱动模块、光子计数模块、加样模块、主控制器、暗箱、恒温恒湿箱等组成,如图 1 所示。反应池驱动模块是由 96 孔微孔板、XY 轴滚珠丝杆移动滑台以及两个步进电机等组成;光子计数模块是由光纤型光子计数探头和多模光纤组成,光纤型光子计数探头选用 Hamamatsu Photonics 的 H10682-210 光子计数探头,光谱响应范围为 230~700 nm,内含高速光子计数电路,能够对极微弱目标光子信号探测,具有较高计数灵敏度^[11];加样模块由单通道注射泵和 250 μL 微量注射器组成。反应池驱动模块、加样器引出导管端口、光纤端口置于暗盒内部,并将整个系统放置于密闭的恒温恒湿箱中,控制温度范围为 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$,其误差不超过 $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 35%~95%,其误差不超过 $\pm 2.5\%$ 。暗盒为检测提供避光环境,避免外部光源干扰;恒温恒湿箱用于检测过程中控制检测环境湿度和反应温度。

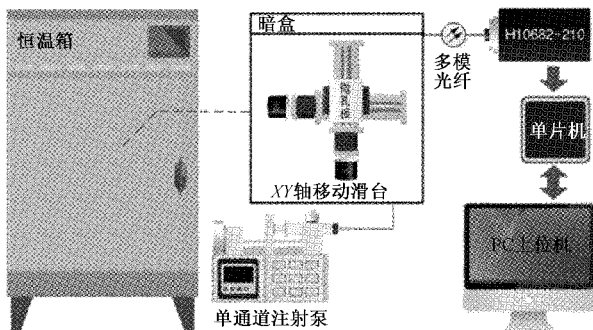


图 1 光纤检测系统结构

1.2 光纤测量技术

光纤作为一种光信号传输线,是一种理想的光子信号检测载体,并且光纤结构简单稳定、体积小,易于封装用于小部件的现场检测^[12-13]。光纤根据其应用波长下传输模式数量的不同,分为单模光纤和多模光纤。由于多模光纤芯径较大、成本低廉、抗干扰、连接容易等优势^[14-15],在现场检测场景下有着极为广泛的应用,为研制化学发光现场检测仪器提供可行性。

光纤的基本结构一般包括纤芯、包层和涂覆层^[16]。大芯径多模石英光纤与普通多模光纤结构一致,如图 2 所示,但具有更高的传输性能,其芯径直径范围可达到 $100\sim 1\,000\ \mu\text{m}$,对光路校准要求相对较低,易于与 LED 光源、光电检测装置等器件耦合,更加适用于本系统开放式光子检测环境^[17]。光纤纤芯越大,外层直径越大,导致光纤过硬,不便于在有限暗盒空间内进行排布检测等操作。本系统采用大芯径多模石英光纤,芯径为 $400\ \mu\text{m}$,光谱范围为 $200\sim 1\,200\ \text{nm}$ 。



图 2 光纤基本结构

在该系统中,目标信号为极微弱化学发光信号,通过光纤传输后,光能量的衰减会对系统检测发光信号产生较大的影响,光纤的衰减问题需要加以重视。为了衡量光纤损耗特性的好坏,引入衰减系数的概念,即传输单位长度光纤所引起的光功率减小的分贝数,如式(1)所示。

$$\alpha = \frac{10}{L} \lg \frac{P_1}{P_2} \quad (1)$$

式中: α 表示衰减系数, dB/km; L 为光纤长度, km; P_1 为光纤输入功率, μW ; P_2 为光纤输出功率, μW 。

本文系统以酶促化学反应发光信号作为抗原抗体免疫反应的指示系统, HRP 标记的真菌毒素催化 Luminol- H_2O_2 产生的化学发光谱线分布在 $400\sim 600\ \text{nm}$ 之间,最大波长为 $425\ \text{nm}$ ^[18],首先应对化学发光信号在光纤中传输衰减问题进行分析测试。考虑到光纤的重复利用,采用插入法作为替代截断法测量。具体方式为选用不同长度(1 m 和 2 m)的多模光纤进行检测,并且保证光纤具有完全一致的参数与弯曲程度。光纤的测试源采用 Ocean Insight 的 DH-2000-BAL 平衡型氙卤灯光源,波长范围 $230\sim 2\,500\ \text{nm}$,光纤另一端接 THOPLABS 的 PM100D 光功率计进行测试,并添加 8 个单波段带通滤光片,中心波长分别为 390、435、475、520、562、600、640、685 nm,最小带宽为 40 nm。记通过 1 m 光纤的光功率值为 P_1 ,通过 2 m 光纤的光功率值为 P_2 ,光纤长度差为 L ,则可根据式(1)来计算多模光纤在不同波段的衰减情况,以滤光片中心波长为横坐标,测试结果如图 3 所示。

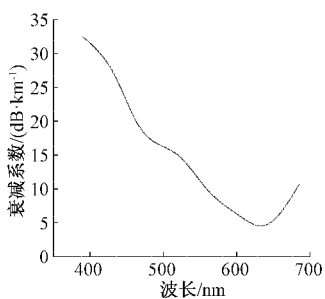


图 3 在不同波段光纤衰减系数

测试结果显示该光纤在 400~600 nm 之间的衰减系数均小于 30 dB/km, 具有较低的衰减系数, 初步为检测化学发光信号提供可行性。

1.3 耦合仿真测试

本文系统采用的反应孔为半径 4 mm 的圆柱形聚苯乙烯反应微孔, 反应孔端口可看作半径为 4 mm 的圆形光线出射口, 并采用多模光纤与反应孔直接对准的方式进行直接耦合, 通过 ZEMAX 光学设计软件对反应孔发光与光纤耦合进行仿真建模。因反应孔内化学发光作为光源不能使用序列 (sequential) 光线追踪模式描述, 要使用非序列 (non-sequential) 模式, 此时光线以任意的顺序打到物件上, 也可以对光线传播进行更细节的分析, 并根据光纤参数构建的多模光纤与光源三维仿真模型如图 4 所示。

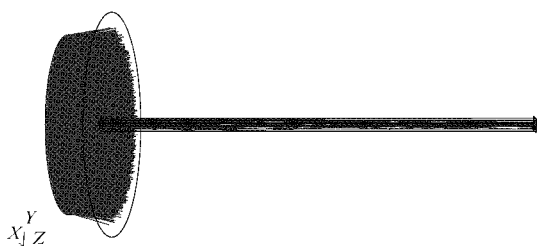


图 4 多模光纤与光源三维仿真模型

在光纤模型尾端添加探测器, 并跟踪分析光线到探测器, 以探测光源出射光束与光纤的耦合情况, 光源光束进入多模光纤在 ZEMAX 中的模拟, 如图 5 所示。

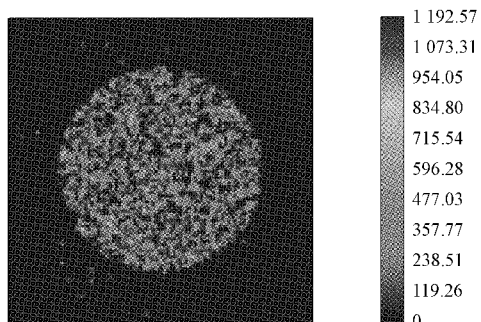


图 5 光源在多模光纤中能量分布模拟

竖直方向移动光束能量曲线如图 6 所示。仿真与试验结果显示光纤在竖直方向上移动, 在初始点检测时辐射能

量最小, 从 1 mm 处能量曲线趋于平稳, 表明光纤距离对光纤检测结果影响很小, 因 2 mm 处具有最高能量值, 可选择光纤的实际检测距离为 2 mm, 并进行光纤光子检测试验验证, 结果如图 7 所示, 与仿真结果基本一致。

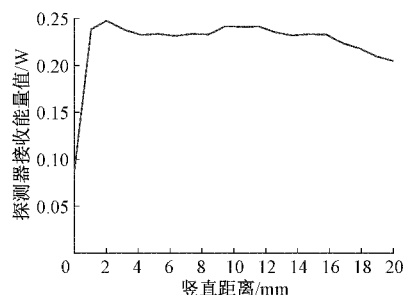


图 6 竖直方向移动光束能量曲线

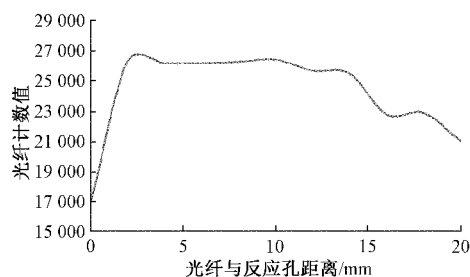
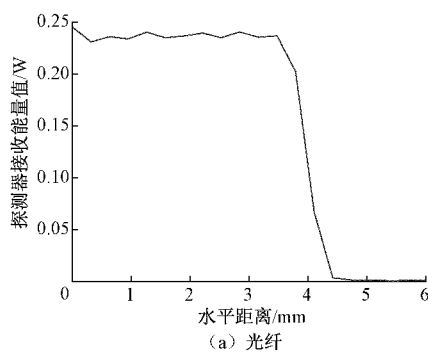
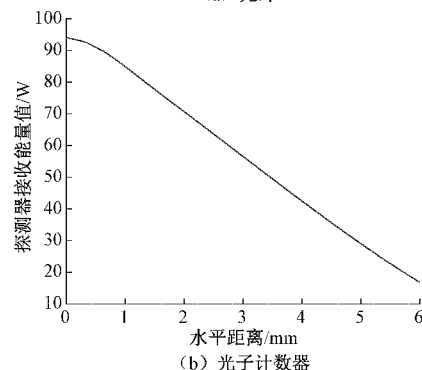


图 7 竖直方向移动光纤光子计数测试曲线

本文系统采用的 H10682-210 光子计数探头的探测窗口半径为 4 mm, 采用同样方式对光子计数器与光源耦合进行仿真建模, 分别采用光纤测量与非光纤测量两种方式进行水平方向移动仿真测试, 仿真结果如图 8 所示。



(a) 光纤



(b) 光子计数器

图 8 2 种检测方式在不同偏移位置仿真结果

初始平面内偏移光束能量曲线显示,在反应孔检测 (<4 mm) 范围内不同的检测位置,光纤检测能量变化很小,而光子计数器检测能量发生明显下降,初步为解决大尺寸光电检测装置探测头与反应孔的对准难题提供理论依据。

1.4 对准试验测试

分别采用光子计数器探头(非光纤测量)与光纤端口(光纤测量)两种方式对准反应微孔,从反应孔中心位置开始沿圆形范围半径依次向外进行试验检测,每个位置进行多次检测,以偏离反应孔中心 1 mm 为例,如图 9 所示。

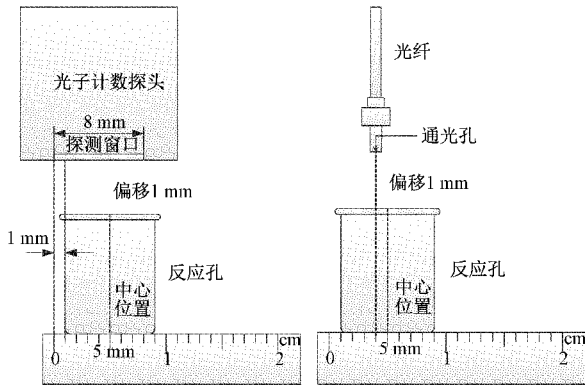


图 9 2 种方式偏移 1 mm 对准测试

将两种方式检测反应孔中心位置的结果分别记为 100%,检测结果显示在反应孔范围内(1~3 mm)偏移时,采用非光纤方式的光子收集比为 70.14%~93.32%,且检测相对标准偏差(RSD)最高为 1.00%;采用光纤方式的光子计数能力可到达 95.83%~99.21%,平行检测相对标准偏差(RSD)仅为 0.14%~0.21%,如图 10 所示。

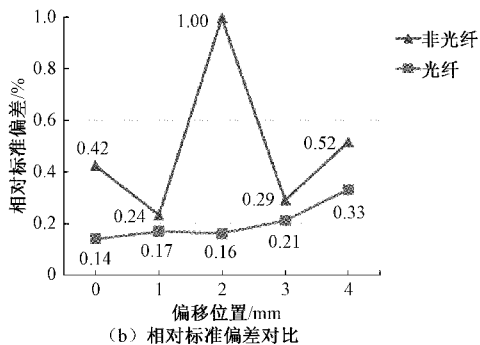
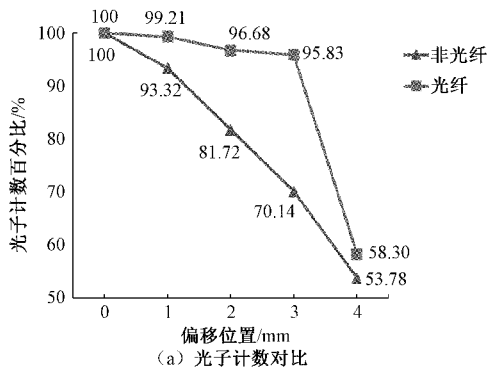


图 10 2 种方式不同偏移位置检测结果(n=10)

试验结果同样表明光子计数探头的探测窗口在直接检测时位置稍有偏差,就会导致探测窗口偏离反应孔的发光区域,引起很大的测量误差,且测量稳定性有较大起伏,精密密度降低。因光纤接口小,在反应孔范围内不需要实现探测窗口与反应孔的精确对准,不同的位置检测都不会使探测窗口偏离,检测误差很小,且能够稳定保持较高精密密度。这就克服了传统化学发光免疫分析方法中大尺寸探测头与反应微孔的对准难题,为系统测量精度的进一步提高提供了一条新路径。

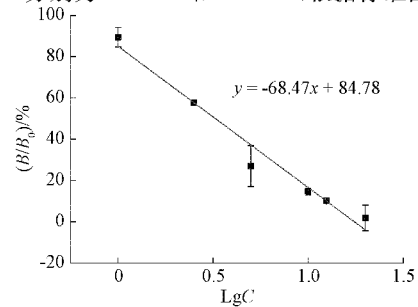
2 AFB1 检测对比试验

为了验证本文检测方法的优越性,利用本文设计的光纤检测系统检测(光纤测量)与光子计数器直接检测(非光纤测量)进行对比试验。

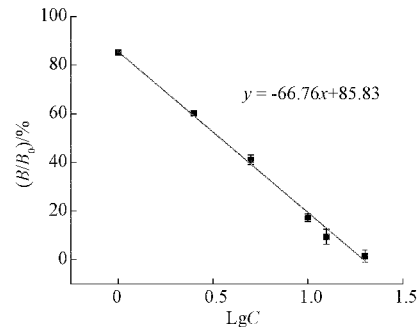
试验均通过 2 种方式分别进行检测,试验方法为:将恒温箱设置为 37℃,对 0、1、2.5、5、10、12.5、20 μg/L 的标准样品溶液检测,建立定标曲线,比较其线性度;配置特定浓度的 AFB1 标准待测样品,测定加标回收率,比较其重现率、精密密度与准确性;对空白纯净样品检测计算检出限进行比较。

2.1 定标曲线

通过非光纤测量与光纤测量 2 种方式分别多次(n=10)检测样品孔中的每秒光子计数值,绘制相对发光强度(B/B₀)与标准样品溶液 AFB1 浓度(μg/L)对数值的关系曲线,如图 11 所示。其中,B 是对应浓度标准样品的化学发光检测值,B₀ 是空白标准样品的化学发光检测值(空白值)。使用线性拟合非光纤测量和光纤测量 2 种检测方式的标准曲线,相关系数 r 分别为 0.985 6 和 0.997 7,根据标准曲线分别计



(a) 非光纤测量标准曲线



(b) 光纤测量标准曲线

图 11 2 种方式检测标准曲线(n=10)

算两种方法的半抑制浓度 IC_{50} 分别为 3.22、3.44 $\mu\text{g/L}$, 线性范围为 0~20 $\mu\text{g/L}$ 。与非光纤测量方式相比, 采用光纤测量方式具有更高的线性度, 以及良好的灵敏度。

2.2 加标回收率测定

在纯净样品溶液中加入 AFB1 标准抗原配制成 AFB1 浓度分别为 2、7.5、15 $\mu\text{g/L}$ 浓度的 AFB1 标准待测样品进行上述 2 种检测方式测试, 通过每一种方式检测时, 对每个浓度样品平行测定 10 次, 结果如表 1 所示。结果显示, 非光纤测量方式样品加标回收率为 90.11%~93.02%, RSD 为 2.91%~6.68%; 光纤测量方式为 92.62%~96.03%, RSD 为 1.03%~2.38%。采用光纤测量具有更高的提取率、重现率, 且与非光纤测量相比, 测量结果稳定性有了很大的提高, 具有更高的精密度与准确度。

表 1 2 种检测方式的加标回收率 ($n=10$)

加标浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	方式	检测结果平均值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/ %	相对标准 偏差/%
2	非光纤	1.86	93.02	2.91
	光纤	1.92	96.03	1.53
7.5	非光纤	6.94	92.53	6.68
	光纤	7.34	97.90	1.03
15	非光纤	13.52	90.11	5.08
	光纤	13.89	92.62	2.38

2.3 检出限测定

如表 2 所示, 分别运用 2 种上述检测方式, 对空白纯净样品平行测定 20 次, 计算光子计数的平均值, 并将此平均值分别代入相应标准曲线得到对应的样品浓度, 计算各对应的样品浓度值的标准, 由样品浓度值加上 3 倍标准差即为该检测方式的检出限。

表 2 2 种检测方式的检出限 ($n=20$)

方式	检测样品浓度值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	标准差	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
非光纤	0.60	0.03	0.69
光纤	0.61	0.01	0.63

3 结 论

本文采用化学发光酶免疫分析方法, 并结合光电检测技术, 设计一种黄曲霉毒素 B1 光纤检测系统。采用低损耗、体积小、多模光纤作为光子信号检测载体, 通过光纤型光子计数探头完成化学发光信号探测。建立光纤耦合仿真建模, 确定最佳检测距离为 2 mm, 并初步为解决大尺寸光电检测装置探测头与反应孔的对准难题提供理论依据。通过试验测试, 在反应孔检测范围内, 与反应孔中心位置检测相比光纤光子计数能力达到 95.83% 以上, 同一位置多次

平行检测结果 $RSD \leq 0.21\%$, 能够实现发光信号检测的一致性, 克服了传统化学发光免疫分析方法中通过机械装置的调整实现大尺寸探测头与反应孔精确对准很难达到高精度的问题。试验结果表明, 该光纤检测系统的检出限为 0.63 $\mu\text{g/L}$, IC_{50} 值为 3.44 $\mu\text{g/L}$, 线性范围为 0~20 $\mu\text{g/L}$, 标准曲线相关系数为 0.9977, RSD 为 1.03%~2.38%, 样品加标回收率为 92.62%~96.03%, 具有更高精密度、线性度、重现性, 以及具有良好的灵敏度。为了更好地满足粮食中真菌毒素含量的现场快速检测要求, 下一步将对多种真菌毒素进行检测研究, 并在进一步提高系统检测精度以及抗干扰性。

参考文献

- [1] HOJNIK N, MODIC M, ŽIGON D, et al. Cold atmospheric pressure plasma-assisted removal of aflatoxin B1 from contaminated corn kernels [J]. Plasma Processes and Polymers, 2020, DOI: 10.1002/ppap.202000163.
- [2] 赵萌, 高婧, 褚华硕, 等. 黄曲霉毒素 B1 的分子毒理及其微生物脱毒研究进展 [J]. 食品科学, 2019, 40(11): 235-245.
- [3] 王文娟, 孙双艳, 叶金, 等. 我国现行真菌毒素检测标准概述 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 837-847.
- [4] ZHANG C M, LIU Z J, LI Y M, et al. High sensitivity chemiluminescence enzyme immunoassay for detecting staphylococcal enterotoxin A in multi-matrices [J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 796: 14-19.
- [5] 邱云青, 王伟, 李凤琴. 化学发光酶免疫分析法检测食品中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的研究 [J]. 现代预防医学, 2012, 39(2): 386-389.
- [6] 吴才章, 刘冬冬, 胡良. 玉米赤霉烯酮化学发光免疫分析检测系统设计 [J]. 农业工程学报, 2020, 36(17): 308-312.
- [7] 李乐, 汪龙祺, 黄煜, 等. 光电探测系统噪声特性研究与降噪设计 [J]. 光学精密工程, 2020, 28(12): 2674-2683.
- [8] 张宁, 沈湘衡, 叶露, 等. 应用光电倍增管模块的杂光系数测试与分析 [J]. 电子测量与仪器学报, 2015, 29(8): 1203-1209.
- [9] 杨宁, 李振, 毛罕平, 等. 基于纸基微流控芯片的农药残留光电检测方法 [J]. 农业工程学报, 2017, 33(3): 294-299.
- [10] 罗安治, 孙辉, 贾宏光, 等. 光电探测系统半参数模型运动学标定 [J]. 光学学报, 2016, 36(1): 9-15.
- [11] 惠德彬, 赵志文. 时间相关光子计数探测器电路的设计与实现 [J]. 电子测量技术, 2016, 39(11): 135-139.
- [12] YE K H, MANZANO M, MUZZI R, et al. Development of a chemiluminescent DNA fibre optic genosensor to Hepatitis A Virus (HAV) [J]. Talanta,

- 2017, 174: 401-408.
- [13] 舒俊, 葛俊锋, 叶林, 等. 一种基于弯曲损耗的光纤油位信号器的设计与实现[J]. 国外电子测量技术, 2016, 35(8): 82-85.
- [14] MATTHEW J M, BRANDON R. Distributed multimode fiber ϕ -OTDR sensor using a high-speed camera[J]. OSA Continuum, 2021, 4(2): 579-588.
- [15] 陈寒, 邹淑珍, 于海娟, 等. 单模激光在多模光纤中的传输实验研究[J]. 激光与光电子学进展, 2015, 52(4): 64-69.
- [16] 陈晓荣, 刘亚茹, 石高辉. 基于机器视觉的光纤几何参数检测算法设计[J]. 电子测量技术, 2019, 42(6): 82-86.
- [17] 马洪虎, 王金忠, 石飞飞, 等. 大芯径多模石英光纤的生产工艺及其应用[J]. 光通信技术, 2015, 39(10): 49-51.
- [18] SCHERRINR A T, DAVID L F, CATHERINE G, et al. Microfabricated biosensor for the simultaneous amperometric and luminescence detection and monitoring of Ochratoxin A [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2016, 79: 835-842.

作者简介

胡良, 硕士研究生, 主要研究方向为真菌毒素光电检测技术研究。

E-mail: hliang9705@163.com

吴才章, 工学博士, 教授, 主要研究方向为光电检测技术在粮油食品方面的应用研究。

E-mail: wucaizhang@haut.edu.cn