

文章编号 1004-924X(2017)02-0297-07

激光透射法磁珠浓度测量系统

钟 虹, 陶 卫*, 赵 辉, 高文俊

(上海交通大学 仪器科学与工程系, 上海 200240)

摘要:磁珠广泛应用于免疫检测、细胞分离等生物实验中,磁珠浓度的检测对于评价实验效果具有重要意义。本文提出了基于激光透射法的双光路磁珠浓度测量系统,通过测量入射激光强度与透射激光强度的比值来确定磁珠浓度。利用该系统对多个浓度的磁珠悬浊液进行了实验测量,每个浓度下测量多组实验数据,共采集了 8 000 组数据。通过拟合测量数据,建立了磁珠浓度与测量值的关系函数,二者呈现指数函数关系,拟合残差平方和为 0.000 088 89,确定系数可达 0.997 1,说明函数具有良好的拟合性能。实验结果表明,相对测量误差在 2.5% 以内,输出值相对波动范围在 2.5% 以内,测量系统具有较高的测量精度和良好的重复性。

关键词:光学测量;激光透射法;磁珠浓度;双光路系统;指数模型

中图分类号:TP212.2;TH741 **文献标识码:**A **doi:**10.3788/OPE.20172402.0297

Measurement of magnetic bead concentration based on laser transmission method

ZHONG Hong, TAO Wei*, ZHAO Hui, GAO Wen-jun

(Department of Instrument Science and Engineering, Shanghai Jiao
Tong University, Shanghai 200240, China)

* Corresponding author, E-mail: taowei@sjtu.edu.cn

Abstract: Magnetic beads are widely used in biological experiments, such as immunoassay and cell separation. The detection of magnetic concentration is profound to the evaluation of experimental results. Therefore a magnetic beads concentration measuring system with dual optical path based on laser transmission method was presented. The concentration of magnetic beads was determined by measuring the ratio of the intensity of incident laser to the intensity of the transmitted laser. A series of magnetic bead suspensions with various concentrations were tested. For each concentration, the measurement was performed for many times and a total of 8,000 sets of data were collected. By fitting the measured data, the relational function between beads concentration and output data can be obtained. The relation between the concentration of magnetic beads and output data was well fitted exponentially. The fitting residual sum of squares is 0.000 088 89 and the determination coefficient is 0.997 1, which illustrate good fitting ability of the model. The experimental results show that the relative measurement error is less than 2.5% and the output data fluctuates within 2.5%, which indicate that

收稿日期:2016-08-22;修订日期:2016-10-11.

基金项目:国家 863 重大项目(No. 2014AA020701)

the beads concentration measurement system based on laser transmission has high measurement accuracy and good repeatability.

Key words: optical measurement; laser transmission method; magnetic bead concentration; double optical path; exponential model

1 引言

磁珠在生物技术中具有重要的应用,以免疫磁珠为例,它常应用在生物分离纯化实验中。免疫磁珠是由磁性微球上包被抗原或抗体等免疫活性分子组成的,根据抗原-抗体特异性结合的规律,当免疫磁珠与对应的配体结合后^[1],形成的复合物可以在磁场的控制作用下与其他物质快速分离,从而达到特异性分离纯化的目的。免疫磁珠具有分离速度快、特异性结合、对细胞和生物材料无害性等特点,目前广泛应用于免疫检测、细胞分离纯化等领域^[2]。

在体细胞治疗制品临床级细胞分离研究中,将免疫磁珠与靶细胞的特异性结合,在外加磁场的作用下可以实现靶细胞的分离与提取。为了测量细胞分离效率,需要测量磁珠浓度。利用分光光度计可以测量磁珠浓度,但是专业测量设备的价格较高。张祥林提出了基于低场 NMR 的磁珠浓度检测方法^[3],但该方法测量装置复杂,并且灵敏检测区域较窄,当待测磁珠浓度较低或者较高时,检测不灵敏,所以其应用受限。ZHENG 等人报道了基于电磁装置的磁珠浓度检测方法,但硬件构成复杂,测试结果受硬件性能的影响较大^[4]。

本文提出一种磁珠浓度光电测量系统。该系统通过测量激光通过磁珠悬浊液后光功率产生的衰减值来确定待测磁珠悬浊液的浓度,具有实验装置简单、测量范围较大、测量重复性好、线性特性好、测量精度较高等特点。

2 测量系统

2.1 测量原理

当光线通过磁珠悬浊液后,一部分光被磁珠散射,还有一部分光被悬浊液吸收,导致透过悬浊液的光强小于进入悬浊液的光强。因此,测量磁珠悬浊液浓度主要有两种方法:一种是通过测量

透射光的强度确定磁珠悬浊液浓度,称为透射法;另一种则是通过测量散射光的强度确定磁珠悬浊液浓度,称为散射法^[5]。其中,散射法对测量装置的密封性和传感器的灵敏度都有很高的要求^[6-7];测量时,需要在垂直入射光的方向接收散射光,散射光强度远小于入射光强度,当待测磁珠悬浊液浓度较低时,散射光更加微弱。因此,为了测量散射光强度,测量装置要具有良好的密封性,有效隔绝外界自然光,容器内壁应设计为黑色,无光亮面,以免出射光反射回来干扰测量;传感器要具有良好的灵敏度,以准确检测散射光强的变化。然而当待测悬浊液浓度超过一定值后,测量值与浓度之间会出现非单值的对应关系,所以散射法只能用于测量较低浓度的磁珠悬浊液。而透射法可以获得更大的测量范围,测量校准也更为简单。

综合考虑两种方法的特点以及测量需求,本文采用透射法测量磁珠悬浊液浓度。对于含有微小颗粒的悬浊液,透射光功率 I 和入射光功率 I_0 之间的关系为:

$$I = mI_0 e^{-d} = mI_0 e^{-kNl}, \quad (1)$$

$$\frac{I}{I_0} = me^{-kNl}, \quad (2)$$

式中: m 为比例系数; l 为入射光通过液体的厚度; τ 为液体浊度,它与单位体积液体中所含颗粒的数量 N (即颗粒浓度)成正比; k 为比例系数,与粒子尺寸和入射光的波长等有关^[8]。

根据式(2)可知,在测量中可以通过计算透射光与入射光功率的比值 $\frac{I}{I_0}$ 来确定待测磁珠悬浊液的浓度。

2.2 测量系统设计

测量系统原理如图 1 所示。这是一套双光束测量系统,它主要由激光发射单元、分光镜、检测单元和处理单元组成^[9]。激光发射单元产生入射激光。分光镜将入射激光分为两束,一束作为测量光路,另一束作为参考光路。检测单元主要由数字光强传感器组成,可测量两路光束的光强。

处理单元接收检测单元测量得到的光强值并进行分析处理。

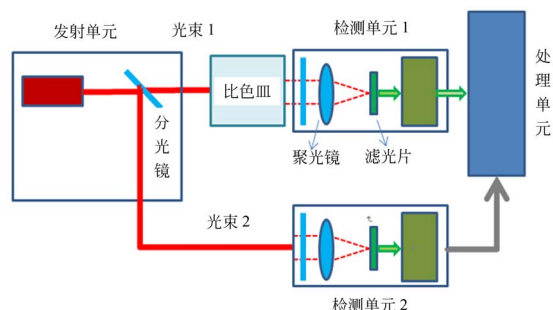


图 1 磁珠悬浊液浓度测量系统原理图

Fig. 1 Principle diagram of measurement system for magnetic bead concentration

激光经过分光镜后分为光束 1 和光束 2。光束 1 通过盛有磁珠悬浊液的比色皿后由检测单元 1 接收,光束 2 直接由检测单元 2 接收。检测单元 1 和检测单元 2 将接收到的光强信息传送到处理单元,经过分析计算可以确定待测磁珠悬浊液的浓度。

理想情况下,激光功率是稳定的,但实际中激光功率常常呈现一定的波动。测量系统采用双光束测量系统^[10],同时测量入射光和透射光功率,通过比值法来确定待测磁珠悬浊液的浓度。这在一定程度上可以克服激光功率波动的影响。

实验中,为了保证测量精度,首先需要克服环境光的干扰。为此,光源采用单色激光器,同时在光强传感器处增加窄带滤光片,保证传感器仅仅接收来自光源的单色光信号。此外,测量装置采用整体遮光的方式,以最大限度地消除环境光的影响。选用的滤光片的尺寸与比色皿尺寸对应,滤光片的中心波长与激光器波长对应,带宽适中。

激光在传播过程中呈现发散状态,导致光强传感器只能接收到部分光信号,降低了测量灵敏度^[11]。因此,在光强传感器前方增加了聚光镜。聚光镜尺寸与比色皿相当,以最大限度地接收透过比色皿的光信号,避免信号损失。

2.3 测量装置

如图 2 所示,实际测量装置由激光器、分光镜、比色皿、数字光强传感器和微处理器等组成。

激光器产生入射激光,分光镜将入射激光分

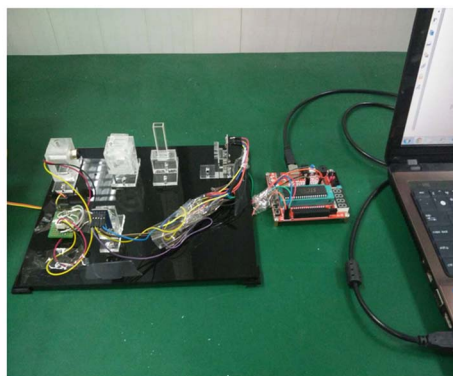


图 2 磁珠浓度测量装置实物图

Fig. 2 Measurement devices for magnetic bead concentration

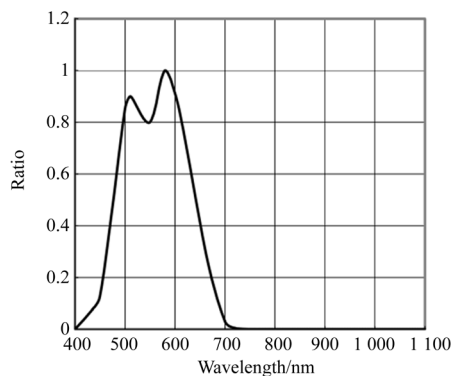


图 3 数字光强传感器的光谱响应

Fig. 3 Spectral response of digital light-intensity sensor

为两束。比色皿盛有待测的磁珠悬浊液。数字光强传感器用于检测光强,输出数字信号。数字信号由微处理器进行采集和处理。光强传感器的光谱特性如图 3 所示。激光波长为 650 nm,与传感器光谱图匹配。

3 测量模型与数据处理

3.1 实验步骤

实验中配制多种浓度的磁珠悬浊液,其浓度为 0.029 41~0.333 3 mg/mL,在每个浓度值下都要进行多次测量。

实验步骤如图 4 所示。实验进行了多组测量,每组测量中两个传感器均采集 100 个数据,分别计算两个传感器的均值(sensor1_mean、sensor2_mean),然后输出对应的比值数据(mean_rate)作为测量值。对获得的一系列比值数据进

行数据拟合,可以确定函数关系。测量值为:

$$\text{mean_rate} = \frac{\text{sensor1_mean}}{\text{sensor2_mean}} \quad (3)$$

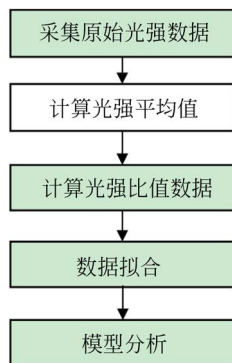


图 4 磁珠浓度测量实验步骤

Fig. 4 Experimental procedures of magnetic bead concentration measurement

3.2 指数模型

根据理论分析,磁珠浓度与测量值符合指数

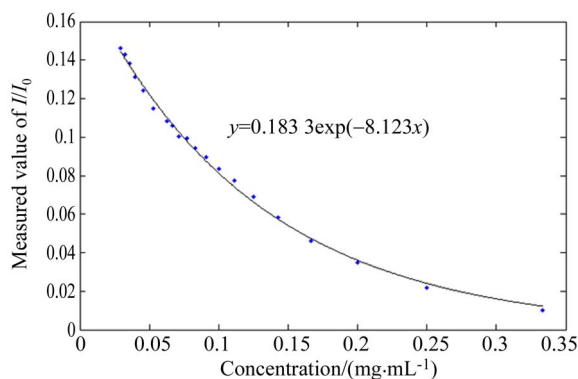


图 5 磁珠浓度与测量值的指数拟合曲线

Fig. 5 Exponential fitting curve of magnetic bead concentration with measured value of I/I_0

函数关系,如式(2)所示。其中测量值是光功率的比值数据,无单位。对实验数据进行拟合,获得的拟合曲线公式为:

$$y = 0.1833 e^{-8.123x} \quad (4)$$

拟合特性参数如表 1 所示。SSE 和 RMSE 分别代表残差平方和与均方根,取值越小越好。确定系数 R-square 表明了数据拟合的好坏,取值在 $[0,1]$ 之间,越接近 1,表明数据拟合效果越好。分析拟合特性参数,发现拟合的残差平方和与均方根都很小,尤其是确定系数 R-square 值高达 0.997 1,很接近 1,这说明指数模型的拟合效果很好,实验结果与理论分析是高度吻合的。

表 1 指数模型的拟合特性参数

Tab. 1 Fitting parameters of exponential model

拟合特性参数	参数值
SSE	0.000 088 89
RMSE	0.002 222
R-square	0.997 1
Adjusted R-square	0.996 9

3.3 线性化处理

根据理论分析对式(2)做线性化处理,得到:

$$\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = -kNl + \ln(m) \quad (5)$$

根据式(5)对输出的比值数据取对数,而浓度数据仍然采用原值。线性化处理后进行多项式拟合,可获得如图 6 所示的拟合曲线。

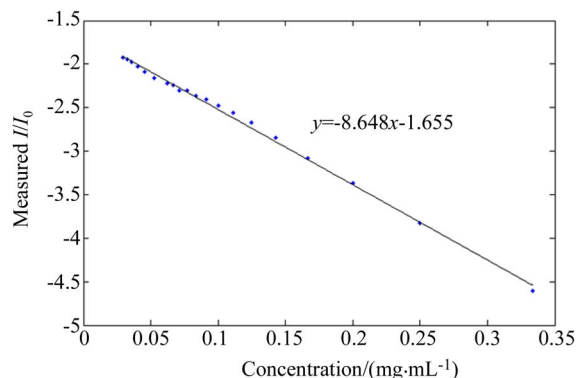


图 6 线性化处理-多项式拟合结果

Fig. 6 Result of linearization-polynomial fitting

根据拟合结果,可以确定拟合多项式为:

$$y = -8.648x - 1.655 \quad (6)$$

表 2 线性化处理的拟合特性参数

Tab. 2 Fitting parameters of linearization

拟合特性参数	参数值
SSE	0.024 64
RMSE	0.037 00
R-square	0.997 3
Adjusted R-square	0.997 1

拟合特性参数如表 2 所示,SSE(残差平方和)和 RMSE(均方根)均很小,尤其是确定系数 R-square 值为 0.997 3,很接近 1,这说明线性模型的拟合效果很好,理论分析与实验结果是高度吻合的。

4 测量结果分析

4.1 测量误差分析

根据经过线性化处理后获得的多项式模型,可以计算系统的相对测量误差。相对测量误差的计算公式为:

$$\text{相对测量误差} = \frac{|\text{测量值} - \text{理论值}|}{\text{理论值}} \quad (7)$$

计算结果如表3所示,相对测量误差均在2.5%以内,可见磁珠浓度测量系统的测量精度较高。为了进一步降低测量系统的相对测量误差,可以从以下几个方面加以改进:首先,改善测量系统的封闭性,要求系统有效隔绝外界自然光;其次,测量系统内壁应为黑色,无光亮面,以免反射光干扰测量;增强激光器功率的稳定性,减小激光器的功率波动,从而使测量结果更加稳定,提高测量精度;最后,减小外界干扰,提高检测单元的稳定性和抗干扰能力。

表3 磁珠浓度测量误差

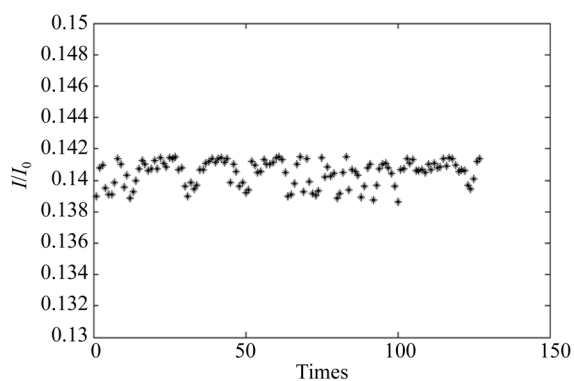
Tab.3 Measurement errors of magnetic bead concentration

序号	磁珠悬浊液浓度/ (mg · mL ⁻¹)	相对测量误差/%
1	1/3	1.524
2	1/4	0.229
3	1/5	0.651
4	1/6	0.502
5	1/7	1.586
6	1/8	2.279
7	1/9	2.219
8	1/10	1.534
9	1/11	1.293
10	1/12	0.664
11	1/13	0.529
12	1/14	1.140
13	1/15	0.524
14	1/16	1.299
15	1/19	2.412
16	1/22	1.794
17	1/25	1.404
18	1/28	0.668
19	1/31	0.601
20	1/34	0.768

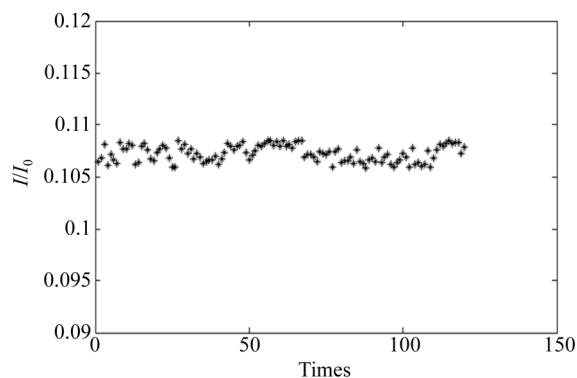
4.2 重复性测试

为了分析测量系统的重复性,实验中取特定浓度的磁珠悬浊液进行多次测量,统计分析测量

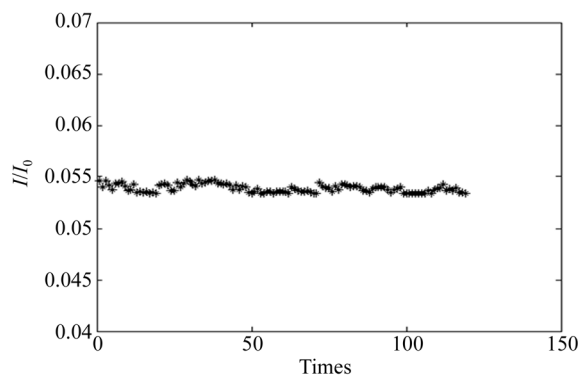
数据。为了分析测量系统对不同浓度磁珠悬浊液的测量重复性,实验中分别选择浓度为1/28, 1/13, 1/5 mg/ml的磁珠悬浊液进行重复性测试。每个浓度下进行超过100次测试。图7是不同浓度磁珠悬浊液重复性测试数据的散点图,重复性测试的数据分析结果如表4所示。



(a) 1/28 mg/mL



(b) 1/13 mg/mL



(c) 1/5 mg/mL

图7 磁珠悬浊液浓度重复性测试结果

Fig.7 Repeatability test results for magnetic bead concentration measurement

表 4 磁珠悬浊液浓度重复性测试数据分析

Tab. 4 Data analysis of repeatability test for magnetic bead concentration measurement

磁珠悬浊液浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	测量值 标准差	测量值 波动范围	测量值相对 波动范围/%
1/28	0.000 812 3	0.002 907	2.069
1/13	0.000 788 5	0.002 677	2.497
1/5	0.000 382 9	0.001 337	2.482

分析表 4 可以发现,对于不同浓度的磁珠悬浊液,测量值标准差都很小,测量值的相对波动范围均在 2.5%以内。这些数据表明磁珠悬浊液测量系统具有良好的重复性。

参考文献:

- [1] 闻一鸣,李志清,童吉宇,等. 免疫磁珠富集技术联合选择性培养基快速检测单增李斯特菌[J]. 生物工程学报, 2013,29(5): 672-680.
WEN Y M, LI ZH Q, TONG J Y, *et al.*. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* by immunomagnetic separation combined with selective medium [J]. *Chin. J. Biotech.*, 2013, 29(5): 672-680. (in Chinese)
- [2] 郭慧芳,张文红,温冬青,等. 基于可重复利用免疫磁珠的抗体检测方法的建立[J]. 免疫学杂志, 2006,22(5):577-579.
GUO H F, ZHANG W H, WEN D Q, *et al.*. A new method to detect antibodies based on reusable immunomagnetic beads [J]. *Immunological Journal*, 2006, 22(5): 577-579. (in Chinese)
- [3] 张祥林. 一种基于低场 NMR 检测磁珠浓度的方法及其应用: 中国专利, 201410326418. 1[P]. 2014-10-29.
ZHANG X L. A method of detecting magnetic beads concentration based on low field NMR and its application; Chinese patent, 201410326418. 1[P]. 2014-10-29. (in Chinese)
- [4] ZHENG Y S, JACQUEMOD C, SAWAN M. A portable lab-on-chip platform for magnetic beads density measuring [C]. 2013 *IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS2013)*, IEEE, 2013: 1071-1074.

5 结 论

本文设计了基于激光透射法的双光路磁珠浓度测量系统,通过测量入射激光与透射激光功率的比值来获得磁珠浓度。实验中配置了系列浓度磁珠悬浊液,分别采集数据。根据获得的数据,拟合确定了磁珠浓度-测量值的指数函数关系,这与理论分析相吻合。指数模型的拟合残差平方和仅为 0.000 088 89,确定系数可达 0.997 1,证明指数模型的拟合性能良好。经过线性化处理,测量系统展现了良好的线性特性。测量系统的相对测量误差在 2.5%以内,测量精度高、测量范围大。重复性测试结果显示,测量值的相对波动范围在 2.5%以内,重复性良好。由此证明了基于激光透射法的双光路磁珠浓度测量系统的可行性。

- [5] 刘瑞鹏,刘桥,祁志美. 基于散射光功率比值测量的抗扰浊度探测器[J]. 光学 精密工程, 2011,19(6): 1221-1227.
LIU R P, LIU Q, QI ZH M. Interference-resistant turbidity detector based on measurement of scattered light power ratio [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2011, 19(6): 1221-1227. (in Chinese)
- [6] MIZAIKOFF B. Infrared optical sensors for water quality monitoring [J]. *Water Science and Technology*, 2003, 47(2): 35-42.
- [7] 孟庆磊,孙国强,佟国香. 液体浊度测量系统[J]. 仪器仪表学报, 2005, 26(8): 252-253.
MENG Q L, SUN G Q, TONG G X. A measuring apparatus for turbidity of liquids [J]. *Chinese Journal of Scientific Instruments*, 2005, 26(8): 252-253. (in Chinese)
- [8] 王锦平. 菌体浊度在线光电测量研究[D]. 济南: 山东大学, 2005.
WANG J P. *Study on Cell Turbidity Measurement Based on On-line Photoelectric Method* [D]. Jinan: Shandong University, 2005. (in Chinese)
- [9] 余卿,余晓芬,崔长彩. 单光源双光路激光并行共焦测量系统设计[J]. 光学 精密工程, 2013, 21(2): 281-285.
YU Q, YU X F, CUI CH C. Design of laser parallel confocal measurement system with single source and dual beam paths [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2013, 21(2): 281-285. (in Chinese)

- [10] 李亚萍,张广军,李庆波.空间双光路红外 CO₂ 气体传感器及其测量模型[J].光学精密工程,2009,17(1):14-19.
LI Y P, ZHANG G J, LI Q B. Infrared CO₂ gas sensor based on space double beams and its measurement model[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2009, 17(1):14-19. (in Chinese)
- [11] 王茜茜,刘佳,彭中,等.基于 LabView 的激光束发散角测量系统[J].中国激光,2012,39(11):1108005.
WANG Q Q, LIU J, PENG ZH, *et al.*. Measurement system for laser divergence angle based on LabView[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2012, 39(11):1108005. (in Chinese)

作者简介:



钟虹(1993—),男,安徽合肥人,2015年于天津大学获得学士学位,主要从事光电测量与计算机视觉方面的研究。
E-mail:zh2624823227@163.com



陶卫(1975—),女,辽宁大连人,博士,副教授,硕士生导师,1997年、1999年、2003年于哈尔滨工业大学分别获得学士、硕士和博士学位,主要从事光电测试技术与系统的研究。E-mail:taowei@sjtu.edu.cn