



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105628658 A

(43) 申请公布日 2016. 06. 01

(21) 申请号 201510968715. 0

(22) 申请日 2015. 12. 22

(71) 申请人 南京先进激光技术研究院

地址 210038 江苏省南京市经济技术开发区
恒园路龙港科技园 A 栋

(72) 发明人 张佩 鲁晨阳 杨巍 朱永康
王光辉 张凯思 刘华 黄惠杰

(74) 专利代理机构 北京中济纬天专利代理有限
公司 11429

代理人 张晓霞

(51) Int. Cl.

G01N 21/64(2006. 01)

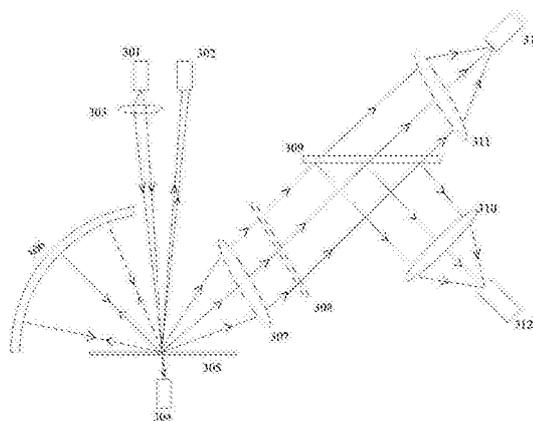
权利要求书2页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

一种生物气溶胶光学检测系统及检测方法

(57) 摘要

本发明提供一种生物气溶胶光学检测系统及检测方法,检测系统包括粒子计数单元、富集单元、荧光检测单元和结果判定单元,气溶胶样品先在所述粒子计数单元中进行粒子计数,再经所述富集单元被富集,富集后的气溶胶样品由荧光检测单元进行荧光检测,结果判定单元接收处理粒子计数单元和荧光检测单元的检测信号,判定检测的气溶胶样品是否为生物气溶胶。荧光检测单元采用分光路系统,紫外光源使用紫外半导体激光器,本发明所述检测系统具有灵敏度高、信噪比高、结构灵活性和适应性广的优点,基于该检测系统的检测方法增加了判定依据,具有更好的可靠性,减少了误报的可能。



1. 一种生物气溶胶光学检测系统,包括富集单元(2)和荧光检测单元(3),所述荧光检测单元(3)包括富集板(305);所述富集单元(2)将气溶胶粒子收集到所述富集板(305)上形成多气溶胶粒子的待测样品,荧光检测单元(3)对所述待测样品进行荧光检测;其特征在于:

所述检测系统还包括粒子计数单元(1)和结果判定单元(4);所述粒子计数单元(1)连接富集单元(2),气溶胶粒子在粒子计数单元(1)中计数后进入富集单元(2);所述结果判定单元(4)分别与粒子计数单元(1)和荧光检测单元(3)信号连接;

所述荧光检测单元(3)还包括分光路设置的激发单元和荧光收集单元,其中:

所述激发单元包括紫外激光器(301)和激发光聚焦镜(303),所述紫外激光器(301)发出的激发光经激发光聚焦镜(303)后斜入射至所述富集板(305)上的待测样品区域;

所述荧光收集单元包括准直透镜(307)、分色单元、第一聚焦透镜(310)、第二聚焦透镜(311)、第一光电倍增管(312)和第二光电倍增管(313);所述分色单元可将入射光分束为高波段和低波段的兩束出射光,所述高波段和低波段为预先选定的生物气溶胶本征荧光波长范围中的两段,高波段波长大于低波段;所述待测样品发出的荧光依次经过准直透镜(307)和分色单元后分束为高、低波段的兩路荧光,低波段的荧光经第一聚焦透镜(310)入射第一光电倍增管(312),高波段的荧光经第二聚焦透镜(311)入射第二光电倍增管(313),检测信号输出至结果判定单元(4)。

2. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述分色单元为镜面法线方向和准直透镜(307)光轴成一夹角的分色镜(309),准直透镜(307)出射的荧光在所述分色镜(309)经反射和透射分束为兩路荧光。

3. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述荧光收集单元还包括球面镜(306),所述球面镜(306)光轴、准直透镜(307)光轴和富集板(305)法线共面,球面镜(306)和准直透镜(307)分别位于富集板(305)法线两侧,球面镜(306)的球心和准直透镜(307)的焦点均位于富集板(305)上的待测样品区域。

4. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述紫外激光器(301)为紫外半导体激光器。

5. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述富集板(305)的材质为熔石英,在其表面镀有荧光波段的增反膜。

6. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:在所述激发光入射富集板(305)后的反射光路中设置第一光陷阱(302),透射光路中设置第二光陷阱(304)。

7. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述准直透镜(307)和分色镜(309)之间光路中设置有荧光滤光片(308)。

8. 根据权利要求1所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述球面镜(306)的表面镀有荧光波段的增反膜。

9. 根据权利要求1至8任一项所述的生物气溶胶光学检测系统,其特征在于:所述粒子计数单元(1)采用激光尘埃粒子计数传感器,所述富集单元(2)采用虚拟冲击器或撞击式冲击器。

10. 使用权利要求1至9任一项生物气溶胶光学检测系统的检测方法,其特征在于包括下列步骤:

步骤一、设置本底测量值：

①将所述的生物气溶胶检测系统置于正常空气的目标环境中；

②启动系统,开始采集本底测量值,以所述低波段荧光的检测值为第一荧光值,以所述高波段荧光的检测值为第二荧光值；

③连续采集 n 个周期的第一荧光值,计算出这 n 个值的平均值 F_{1a} ,取 $a \times F_{1a}$,作为第一荧光本底值 F_{1b} ,其中 a 为预设的大于1的无量纲常数, n 大于1;以同样的方式采集 F_2 并得到第二荧光本底值 F_{2b} ;

步骤二、设置荧光参考比值：

设置荧光参考比值 S_r , S_r 取值标准为:高于生物气溶胶粒子的第一荧光值与第二荧光值的比值,同时低于非生物气溶胶荧光粒子的第一荧光值与第二荧光值的比值;

步骤三、检测并判断目标环境的生物气溶胶状况：

①启动所述的生物气溶胶光学检测系统,每个周期均能得到一组测量值,设第 x 个周期分别得到粒子浓度值 N_x 、第一荧光值 F_{1x} 以及第二荧光值 F_{2x} ;

②所述的结果判定单元依次判断第一荧光值 F_{1x} 和第二荧光值 F_{2x} ,如 $F_{1x} > F_{1b}$ 且 $F_{2x} > F_{2b}$,执行接下来的步骤③,否则不报警并直接执行接下来的步骤④;

③以第 $x-1$ 个周期的粒子浓度值作为粒子浓度本底值 N_b ,如 $N_x > c \times N_b$ 且 $F_{1x}/F_{2x} < S_r$,其中 c 为预设的大于1的无量纲常数,则表明生物气溶胶粒子浓度显著升高,系统报警;否则不报警;

④重复步骤三①开始下一周期。

一种生物气溶胶光学检测系统及检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于环境检测技术领域,具体涉及一种生物气溶胶光学检测系统,可监测环境大气中细菌、病毒等生物粒子的浓度及其变化。本发明还涉及使用上述光学检测系统的生物气溶胶检测方法。

背景技术

[0002] 传染性病菌或病毒等微生物都是以气溶胶粒子状态存在于大气中,当大气中传染性病菌或病毒的浓度超过某一阈值时,将对人类和动植物的健康造成威胁,因此大气中气溶胶粒子的检测成为环境检测的重要一环。生物气溶胶的微生物粒子中所含的有机分子或分子团,如氨基酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)、核黄素等物质在特定波长,尤其是紫外波段激发光激发下会产生本征荧光,通过测量待测样本中各种微生物粒子的本征荧光,可以得到生物粒子的特性,以此可以区分生物气溶胶和非生物气溶胶;更进一步地,结合其他特征如气溶胶粒子的形状可以得到生物气溶胶粒子的更多信息。基于光学测量的生物气溶胶检测技术具有快速、无损、灵敏等优点,成为目前的研究主流之一。

[0003] 目前,微生物气溶胶的光学检测方法,按检测样本的数量可分为单粒子荧光检测方法和多粒子荧光检测方法。单个生物气溶胶粒子的荧光强度很弱,需要专用的单气溶胶粒子产生气路与微弱光信号检测系统,此方法虽然测量的精度高、准确率高,但装置组成复杂、成本高且技术难度相对较高。为此,可通过对多气溶胶粒子样本进行荧光检测以提高灵敏度。

[0004] 中国发明专利ZL201010177954.1公开了一种使用多气溶胶粒子荧光检测方法的双通道实时生物气溶胶监测装置,通过撞击式富集采样及荧光检测的方法可以监测空气中是否有生物气溶胶,但该技术方案还存在如下缺点:1.紫外光源采用的是紫外发光二极管,紫外发光二极管一般体积小、功率低、价格高,其光功率较低导致仪器检测灵敏度低。功率较高的紫外发光二极管价格昂贵,体积也显著增加,且发出的光具有较大的光束发散角,不利于光束整形,同时功率的提高也会造成光噪声的增加甚至导致光电倍增管输出信号饱和;2.当荧光检测装置的激发光路和接收光路采用共光路设置,随着光源功率提高,光路的光噪声也随之增加,会影响荧光信号的检测,而且可能会降低光电倍增管的使用寿命。且检测光路系统的荧光收集效率较低,不能充分地接收生物气溶胶样品发出的荧光;3.荧光检测虽然采用了两种波长的激发光路通道,但是每个通道只检测气溶胶样品的总荧光强度,因此结果判断所依据信息较少,可能使装置出现较多误报警。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于克服上述现有技术的不足,提供一种生物气溶胶光学检测系统及检测方法,该检测系统具有灵敏度高、信噪比高等特点,基于该检测系统的检测方法具有误报率低的特点。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明装置的技术方案为:

一种生物气溶胶光学检测系统,包括粒子计数单元、富集单元、荧光检测单元和结果判定单元;所述粒子计数单元连接富集单元,气溶胶粒子在粒子计数单元中计数后进入富集单元;所述荧光检测单元包括富集板,富集单元将气溶胶粒子收集到所述富集板上形成多气溶胶粒子的待测样品,荧光检测单元对所述待测样品进行荧光检测;所述结果判定单元分别与粒子计数单元和荧光检测单元信号连接,结果判定单元接收处理粒子计数单元和荧光检测单元的检测信号,判定待测样品是否为生物气溶胶。

[0007] 所述荧光检测单元还包括分光路设置的激发单元和荧光收集单元,其中:所述激发单元包括紫外激光器和激发光聚焦镜,所述紫外激光器发出的激发光经激发光聚焦镜后斜入射到所述富集板上的待测样品区域,入射角为一较小的角度,可选择5度左右;所述荧光收集单元包括准直透镜、分色单元、第一聚焦透镜、第二聚焦透镜、第一光电倍增管和第二光电倍增管;所述分色单元可将入射光分束为高波段和低波段的两束出射光,所述高波段和低波段为预先选定的生物气溶胶本征荧光波长范围中的两段,高波段波长大于低波段;所述待测样品发出的荧光依次经过准直透镜和分色单元后分束为高、低波段的两路荧光,低波段的荧光经第一聚焦透镜入射第一光电倍增管,高波段的荧光经第二聚焦透镜入射第二光电倍增管,检测信号输出至结果判定单元。

[0008] 优选地,所述分色单元为分色镜,所述镜面法线方向和准直透镜光轴成一夹角,由准直透镜出射的荧光在所述分色镜上经反射和透射分束为两路荧光,该两路荧光分属高、低波段且传播方向不同,实现了不同波段荧光的空间分离。

[0009] 优选地,所述荧光收集单元还包括球面镜,所述球面镜光轴、准直透镜光轴和富集板法线共面,球面镜和准直透镜分别位于富集板法线两侧,球面镜的球心和准直透镜的焦点均位于富集板上的气溶胶样品区域;入射所述球面镜的荧光反射回富集板,再经富集板反射至准直透镜从而被收集,使用球面镜反射荧光的设计增加了荧光收集的范围。

[0010] 优选地,所述紫外激光器为紫外半导体激光器,其功率较高且体积小。

[0011] 优选地,所述富集板的材质为熔石英,在其表面镀有荧光波段的增反膜,增加对荧光的反射率。

[0012] 优选地,在所述激发光入射富集板后的反射光路中设置第一光陷阱,透射光路中设置第二光陷阱,用于消除反射和透射后的激发光中的强紫外光,减少杂散光,提高信噪比。

[0013] 优选地,所述准直透镜和分色镜之间光路中设置有荧光滤光片,可消除激发光的影响,提高信噪比。

[0014] 优选地,所述球面镜的表面镀有荧光波段的增反膜,增加对荧光的反射率。

[0015] 优选地,所述粒子计数单元采用激光尘埃粒子计数传感器;所述富集单元采用虚拟冲击器或撞击式冲击器,分别采用浓缩富集或被撞击式冲击富集的方式将经过粒子计数的气溶胶样品收集到富集板上,再由荧光检测单元对富集板上的气溶胶样品进行荧光检测。

[0016] 由于所述的荧光检测单元采用分光路系统,其激发光路和荧光收集光路的布局比较灵活,激发光路光轴和荧光收集光路光轴不拘囿于同一平面。

[0017] 本发明检测方法的技术方案为,包括以下步骤:

步骤一、设置本底测量值:

- ①将所述的生物气溶胶检测系统置于正常空气的目标环境中；
- ②启动系统,各单元进入工作状态,待仪器稳定工作后,开始采集本底测量值;以所述低波段荧光的测量值为第一荧光值,所述高波段荧光的检测量值为第二荧光值;
- ③连续采集 n 个周期的第一荧光值,计算出这 n 个值的平均值 F_{1a} ,取 $a \times F_{1a}$,作为第一荧光本底值 F_{1b} ,其中 a 为预设的大于1的无量纲常数, n 大于1;以同样的方式采集第二荧光值并得到第二荧光本底值 F_{2b} ;

步骤二、设置荧光参考比值:

设置荧光参考比值 S_r , S_r 取值标准为:高于生物气溶胶粒子的第一荧光值与第二荧光值的比值,同时低于非生物气溶胶荧光粒子(伪生物粒子)的第一荧光值与第二荧光值的比值;

步骤三、检测并判断目标环境的生物气溶胶状况:

①启动所述的生物气溶胶光学检测系统,每个周期均能得到一组测量值,设第 x 个周期分别得到粒子浓度值 N_x 、第一荧光值 F_{1x} 以及第二荧光值 F_{2x} ;

②所述的结果判定单元依次判断第一荧光值 F_{1x} 和第二荧光值 F_{2x} ,如 $F_{1x} > F_{1b}$ 且 $F_{2x} > F_{2b}$,执行接下来的步骤③,否则不报警并直接执行接下来的步骤④;

③以第 $x-1$ 个周期的粒子浓度值作为粒子浓度本底值 N_b ,如 $N_x > c \times N_b$ 且 $F_{1x}/F_{2x} < S_r$,其中 c 为预设的大于1的无量纲常数,则表明生物气溶胶粒子浓度显著升高,系统报警;否则不报警;

④重复步骤三①开始下一周期。

[0018] 与现有技术相比,本发明技术方案的有益效果如下:

1. 紫外光源使用的是紫外半导体激光器,功率较高、体积小。跟以发光二极管为激发光源的装置相比,在不增加系统体积的情况下,生物气溶胶检测系统具有更高检测灵敏度;
2. 荧光检测单元选择了分光路系统,避免了共光路系统的缺陷,不仅减少了激发光源对荧光检测噪声的影响,增加了信噪比,且具有更加的结构灵活性,适应性广;
3. 检测方法增加了气溶胶粒子浓度的判断,并且利用两个波段的荧光比值来进一步判断被测目标是否是生物气溶胶,增加了判定的依据,具有更好的可靠性,减少了误报的可能。

附图说明

[0019] 图1为本发明生物气溶胶光学检测系统的结构框图;

图2为本发明一个实施例中荧光检测单元光学系统结构示意图,在该实施例中激发光路的光轴所在平面与荧光收集光路光轴所在平面共面;

图3为本发明检测方法的工作流程框图;

图4a为大肠杆菌的荧光光谱图;

图4b为聚酯纤维的荧光光谱图。

[0020] 其中:

- 1:粒子计数单元;2:富集单元;3:荧光检测单元;301:紫外激光器;302:激发光聚焦镜;303:第一光陷阱;304:第二光陷阱;305:富集板;306:球面镜;307:准直透镜;308:荧光滤光片;309:分色镜;310:第一聚焦透镜;311:第二聚焦透镜;312:第一光电倍增管;313:第二光

电倍增管;4:结果判定单元。

具体实施方式

[0021] 以下结合附图通过实施例对本发明做进一步说明,以便更好地理解本发明。

[0022] 图1所示为本发明所述的生物气溶胶光学检测系统,该检测系统主要包括四个单元模块:粒子计数单元1、富集单元2、荧光检测单元3和结果判定单元4;具体的:

所述粒子计数单元1用于实时测量气溶胶样品中的粒子数浓度,所述富集单元2用于收集气溶胶粒子从而得到气溶胶多粒子样本,所述荧光检测单元3用于对气溶胶样品进行荧光检测,所述结果判定单元4用于处理检测数据。如图1,气溶胶样品首先经过粒子计数单元1进行粒子计数,然后经过富集单元2被富集,接着荧光检测单元3对富集后的气溶胶样品进行荧光检测,并且把检测数据送到结果判定单元4;最后由结果判定单元4根据粒子计数单元1的所测量的粒子浓度以及荧光检测单元3的荧光检测结果,来判定是否为生物气溶胶。

[0023] 一种具体实施方式下的荧光检测单元3组件和光学系统结构如图2所示,该荧光检测单元3是由激发光路和荧光收集光路组成的分光路系统,激发光路的光轴所在平面与荧光收集光路的光轴所在平面共面,荧光检测单元3包括:激发光路中设置的紫外激光器301、激发光聚焦镜303、第一光陷阱302、第二光陷阱304和富集板305,以及荧光收集光路中设置的球面镜306、准直透镜307、荧光滤光片308、分色镜309、第一聚焦透镜310、第二聚焦透镜311、第一光电倍增管312和第二光电倍增管313,其中:

所述的富集板305的材料是熔石英,在其表面镀有荧光波段的增反膜,气溶胶样品粒子经过富集单元2被收集到富集板305上,在富集板305上形成气溶胶待测样品区域。

[0024] 紫外激光器301采用紫外半导体激光器,发出的激光束的波长是375nm;紫外激光器301发出的激光经激发光聚焦镜303后,与富集板305中心法线成5度角入射到富集板305上的气溶胶待测样品区域,一部分激发光透过富集板305直接透射进入富集板305后的第二光陷阱304中,另一部分激发光经过富集板305反射到第一光陷阱302中。

[0025] 生物气溶胶样品经过紫外激光的激发产生荧光,荧光收集光路布置在富集板305的法线两侧,球面镜306的球心和准直透镜307焦点均位于富集板305上的气溶胶待测样品区域,其中:

一部分荧光进入一侧布置的准直透镜307中,依次穿过荧光滤光片308和分色镜309;分色镜309的法线方向和准直透镜307的光轴成一夹角,特别当夹角为45度角时,可把收集的荧光分成空间方向互相垂直的两路荧光;经分色镜309反射的为低波段的荧光,经分色镜309透射的为高波段的荧光,本实施例中,设置所述低波段为300-450nm,所述高波段为450-600nm;两路荧光分别经过第一聚焦透镜310和第二聚焦透镜311聚焦到第一光电倍增管312和第二光电倍增管313的光敏面中,第一光电倍增管312测量得到300-450nm波段荧光值,该低波段荧光值记为第一荧光值;第二光电倍增管313测量得到450-600nm波段荧光值,该高波段荧光值记为第二荧光值;两只光电倍增管检测荧光并向结果判定单元4输出检测信号。

[0026] 另一部分荧光被另一侧布置的球面镜306反射后再经富集板305反射到所述的准直透镜307中,所述的球面镜306的球心处于富集的气溶胶样品区域,其光轴和富集板305中心法线方向成30度角,其表面可镀增反膜以增加荧光波段的反射率。

[0027] 作为一种实施方式,粒子计数单元1采用商品化的激光尘埃粒子计数传感器,该传

传感器通过光散射测量技术可实现多粒径档的粒子计数。

[0028] 作为一种实施方式,富集单元2采用撞击式冲击器,将经过粒子计数的气溶胶样品收集到富集板305上,撞击式冲击器的切割粒径为 $0.5\mu\text{m}$,可富集几乎所有微生物粒径段的粒子;也可以根据实际需要采用虚拟冲击器。

[0029] 利用所述的生物气溶胶光学检测系统对生物气溶胶进行实时检测,工作流程如图3所示:

1. 设置本底测量值

(1)将所述的生物气溶胶光学检测系统置于正常空气的目标环境中,一般正常空气中生物气溶胶粒子浓度较低,可适当借助灭菌措施确保目标环境中的生物气溶胶粒子处于较低浓度;

(2)启动系统,各单元进入工作状态,待仪器稳定工作后,开始采集本底测量值;

(3)连续测量采集5个周期的第一荧光值,计算出这5个值的平均值 F_{1a} ,取 $a \times F_{1a}$ 作为第一荧光本底值 F_{1b} ;以相同的方法通过测量第二荧光值得到第二荧光本底值 F_{2b} ;其中, a 为预设的大于1的无量纲常数。

[0030] 2. 设置荧光参考比值

设置荧光参考比值 S_r ,其取值方法如下: S_r 高于绝大部分生物气溶胶粒子的第一荧光值与第二荧光值的比值,同时 S_r 低于伪生物气溶胶荧光粒子的第一荧光值与第二荧光值的比值。

[0031] 如图4a为大肠杆菌的荧光光谱图,图4b为聚酯纤维的荧光光谱图,从这两幅典型样品光谱图可以看出生物气溶胶和伪生物气溶胶的第一荧光值和第二荧光值的比值有明显的差别。

[0032] 3. 检测并判断目标环境的生物气溶胶状况

(1)启动所述的生物气溶胶光学检测系统,每个周期均能得到一组测量值,设第 x 个周期分别得到粒子浓度值 N_x 、第一荧光值 F_{1x} 以及第二荧光值 F_{2x} ;

(2)所述的结果判定单元依次判断第一荧光值 F_{1x} 和第二荧光值 F_{2x} ,如 $F_{1x} > F_{1b}$ 且 $F_{2x} > F_{2b}$,执行下述工作过程(3),否则不报警并直接执行下述工作过程(4);

(3)以第 $x-1$ 个周期的粒子浓度值作为粒子浓度本底值 N_b ,如 $N_x > c \times N_b$ 且 $F_{1x}/F_{2x} < S_r$,则表明生物气溶胶粒子浓度显著升高,系统报警;否则不报警; c 为根据实际需要预设的大于1的无量纲常数,此处可设定为1.5;

(4)重复步骤三①开始下一周期。

[0033] 应理解,上述实施例只为说明本发明的技术构思及特点,其目的在于供本领域技术人员了解本发明的内容并据以实施,并非具体实施方式的穷举,并不能以此限制本发明的保护范围。凡根据本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的宗旨和范围,其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

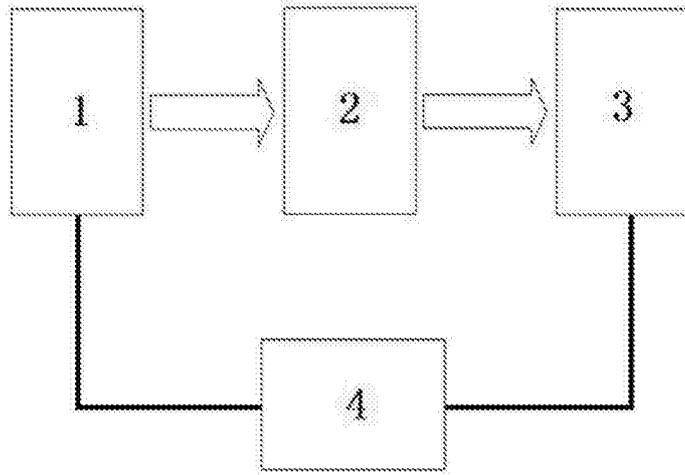


图1

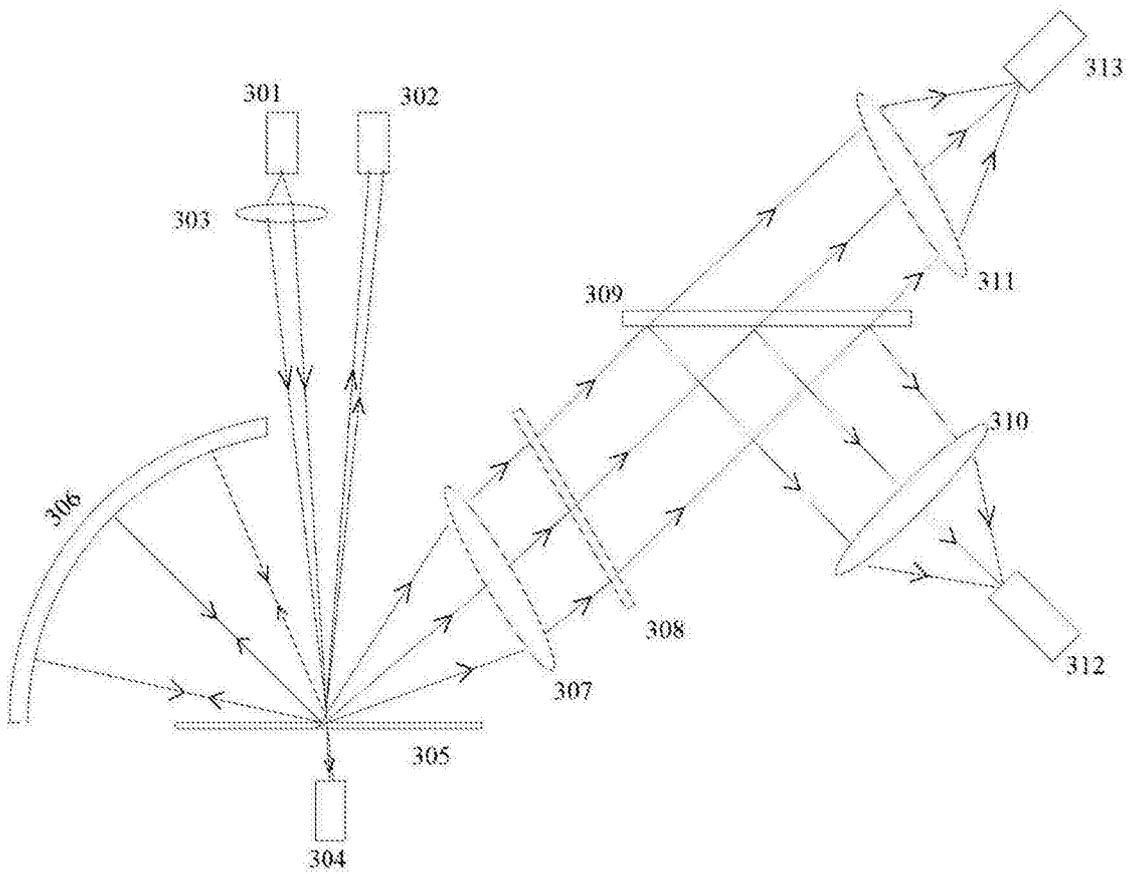


图2

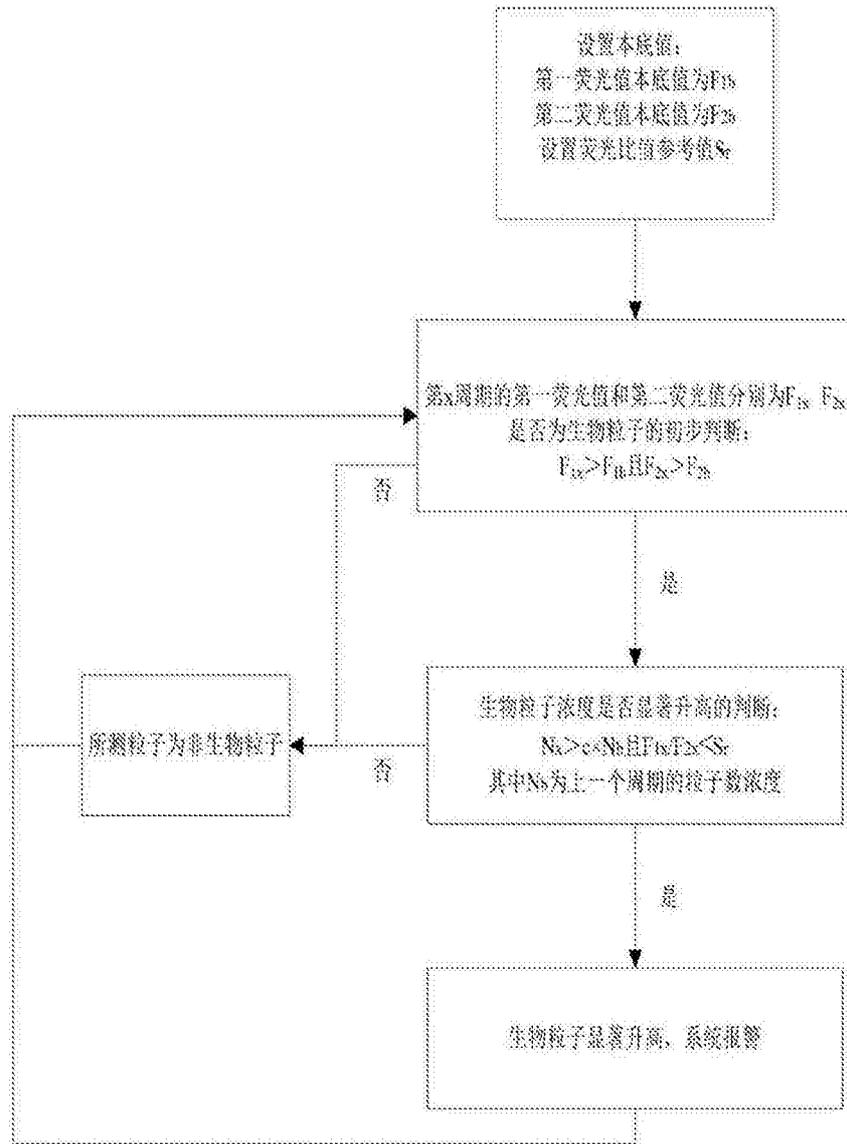


图3

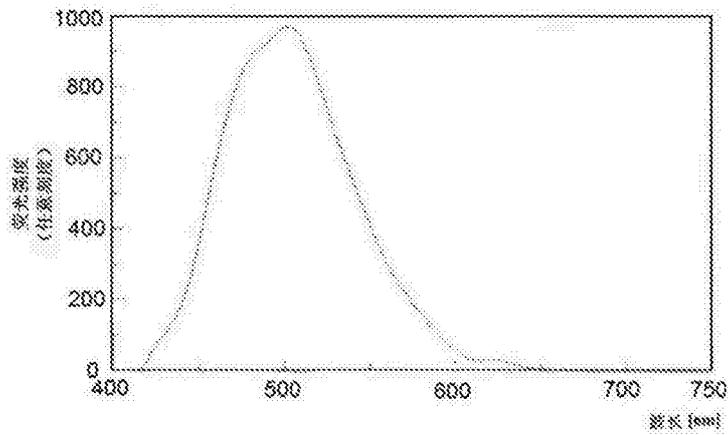


图4a

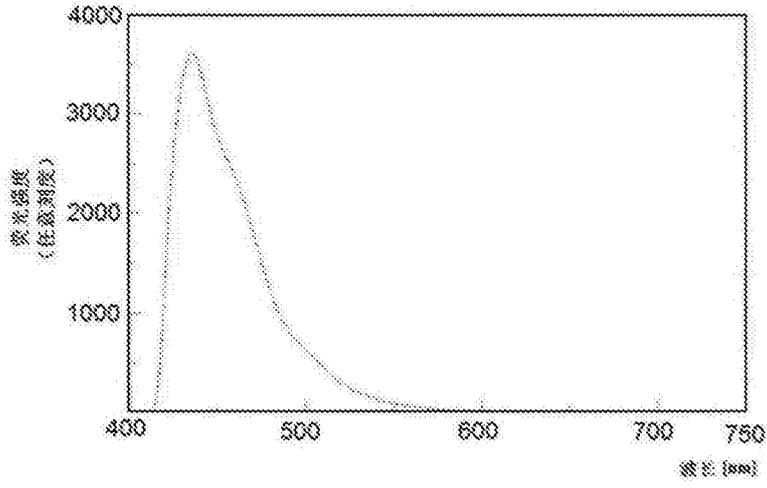


图4b