维普资讯 http://www.cqvip.com

光子计数式PMT在荧光检测系统中的应用

The Application of Photon Counter PMT in Fluorescence Check and Measure System

(1.北京中国矿业大学; 2.张家界航空工业职业技术学院) 王红玲[1] 胡细东[2] 陈威[1] 唐兵[1]
Wang,Hongling Hu,Xidong Chen,Wei Tang,Bing

摘要:采用CR115型光电倍增管作为感光器件,设计了一种光子计数方式的荧光检测系统,该系统选用TM320F2812的DSP控制芯片作为核心器件,并通过模块化软件设计实现对荧光的检测、数据分析与处理,该装置具有准确度高、检测速度快、对外界环境要求低等特点,可广泛应用于生物、医学等领域。

关键词:PMT; 荧光检测;TM320F2812
中图分类号:TP274　　**文献标识码**:A
文章编号:1008-0570(2005)02-0144-02

Abstract: This paper introduces a photon counter fluorescence check and measure system which uses CR115 PMT as sensitization device. The core device is the DSP control chip that uses TM320F2812, and uses modular software design achieve check and measure, data analysis and processing to fluorescence. The features of this equipment are high precise, fast-footed check and measure, low demand to outside environment, and so on. This system has a wide use in biology and medicine field.

KeyWords: PMT; Fluorescence Check and Measure; TM-320F2812

1 引言

光电倍增管(PhotoMultiplier Tube ,PMT)是一种基于外光电效应的真空光电探测器件,具有极高的灵敏度与快速响应等特点,是用于探测微弱光信号及快速脉冲弱光的一种重要的探测器件,在光谱测量、微光检测、光子计数、射线探测中得到广泛应用并获得了良好的效果.近几年,随着生命科学研究的发展,生物细胞的荧光分析成为重要的研究方向。化学荧光试验能够检查出抗体或抗原性物质在生物细胞中的含量,这在临床医学、食品卫生检测、环保检测中都有广泛应用。本系统采用滨松公司生产的R115端窗型PMT设计一种荧光检测装置,用光子计数方式来完成对细胞的准确分类。工作原理见图1。

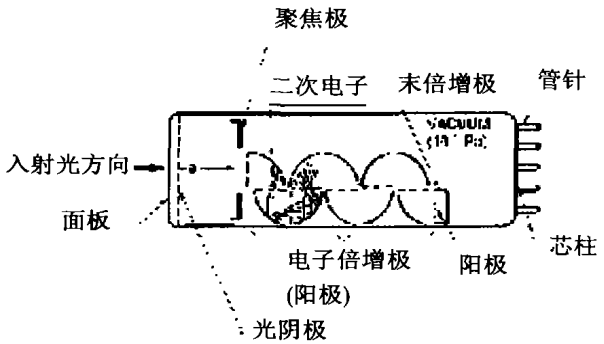

图1 PMT工作原理图

2 系统总体设计

这种荧光检测系统主要用于细胞分类,在样品中加入特定的试剂,此试剂与细胞结合发出不同波长的荧光,每种滤光片只接受一种波长的荧光,这样就完成了对不同细胞的区分。此系统要求实现的功能如下:能实现用PMT接受细胞荧光信号,计算出细胞个数、信号幅度和积分;能同时对8个PMT检测通道进行数据采集。其中上传到PC机的数据为:各通道的单位时间内细胞数、各个细胞的幅度和积分。装置分为荧光检测系统和信号处理系统两部分,系统原理如图2所示。

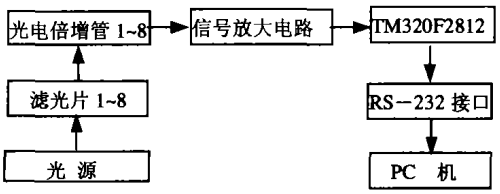

图2 系统原理图

2.1 荧光检测系统

荧光检测系统主要包括光源(待测样品)、光屏蔽罩、8片滤光片、8个光电倍增管(以上部件均放在箱体的暗室里)以及敏感度选择电路、高压电源等。待测样品放在一个多孔板上,由传动机构拖动其前后左右移动,可以实现多个样品的顺序检测。待测光是生化反应产生的荧光,生化反应的反应机理为:在特定的生化反应中生成的一些不稳定的中介体在分解过程中,从高能激发态向低能稳定态转变时发射出的光子,这种化学光光强微弱,但波长一定,发光可稳定地持续十分钟。

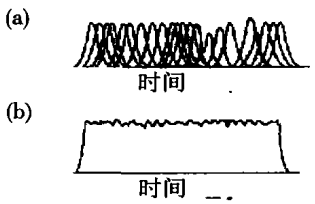

图3 输出信号交迭

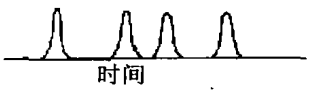

图4 离散的输出脉冲

为了避免检测过程的交叉干扰,需要安装一个一端直径略小于发光光源直径、另一端略小于光电倍增管窗口直径的光屏蔽罩。光线经特征波长滤光片后,仅有单一特征光通过,入射到光电倍增管的光阴极,再经光电倍增管后在阳极以平均电流0.1mA输出,其电流大小与入射的特征光强度成正比。

CR115光电倍增管具有如下特性:体积小(直径3/4英寸)、重量轻(18克)、10级倍增、高灵敏度、高能量分辨率、高稳定性、低噪声、300~650nm谱响应。

2.2 光子计数法

对于一般的应用,大量光子进入光电倍增管并在阳极输出大量的如图3(a)的脉冲序列。阳极输出是一个如图3(b)的带有波动的直流信号。当入射光强逐渐降低,以至于入射的光子分散到类似图4的状态时,这种状态称作单光子(或光电子)情况。输出的脉冲数与入射光成正比例,并且对这些脉冲计数的方法在

王红玲:硕士研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

信噪比和稳定性等方面,优于采用平均脉冲的电流测定方法。这种对脉冲计数的光量测量技术叫做光子计数法。

如图5，由于光电倍增管在输出由入射光子产生的单个脉冲的同时,也会输出一系列的噪声脉冲。简单地统计这些脉冲而不采取有效的手段排除噪声脉冲,将得不到正确的结果。排除噪声最有效的方法是准确区分每个脉冲的大小、高度。

图6为光电倍增管输出的典型的脉冲高度分布(PHD)。在PHD中,低脉冲高度基准(LLD)在波谷的位置,而高脉冲高度基准(ULD)是在输出脉冲较少的底部。绝大部分低于LLD的脉冲是噪声，同时绝大部分高于ULD的脉冲来源于宇宙射线等外界因素。这样,通过对介于LLD和ULD之间的脉冲的计数,可以正确地探测光的强度。在PHD中,Hm是脉冲的高度,通常LLD为Hm的1/3,ULD为Hm的3倍。大多数情况下,ULD可忽略掉。

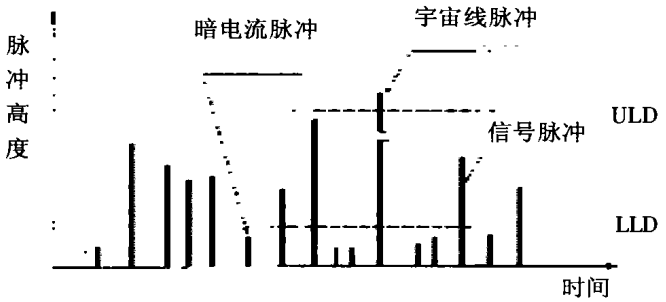

图5 输出脉冲及分区

3 信号采样处理电路

光电倍增管输出的电流信号可作为恒流源，将运算放大器作为负载电阻实现电流电压的转换，如图7所示，电路输出电压：$u_0=-R_f \times I_p$ 式中 R_f 为运算放大器AD648的反馈电阻。根据放大器的等效输入阻抗,光电倍增管的等效负载：$R \approx R_f/A$

式中,A为运算放大器的开环增益,一般为105~108。反馈电阻的选择标准是使阳极的最大输出电流<1μA。设A/D采样输入的满量程值是5.4V,则反馈电阻 R_f 为5.4MΩ,等效电阻 R_0 减小到100Ω,系统的高频频率特性才能得到保证。输出电路的最小可测量电流是受运算放大器的偏置电流、温度漂移、反馈电阻特性以及电路板的绝缘性能等因素的影响。阳极输出电流控制在1μA以内可减缓光电倍增管的老化。当检测光较强时,调整光电倍增管控制电极电压,降低其感光灵敏度,对所采集的信号按一定算法进行相应处理,反之亦然。这样,通过动态调整控制电压可调整光电管灵敏度，始终将阳极输出电流保证在一个合理、可控的范围内。光电倍增管的这种感光灵敏度可控特性使其可检测的光强范围达到7个数量级。为了去除信号噪声,利用信号调理电路对放大后的波形进行整形、检波后，再将其送入TM320F2812的A/D端口进行转换。

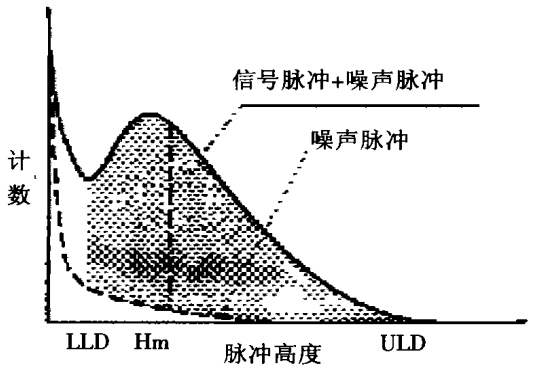

图6 典型的脉冲高度分布

TM320F2812的DSP控制单元电路可实现对光电倍增管控制极电压的调整，快速准确的对八通道的PMT信号进行采集、数据的存储及其分析计算。该控制单元具有以下特点:内部存储器为18K的RAM和128Kx16bit的内部Flash；事件管理器模块；12通道PWM输出;3个带有六种模式的通用目的定时器;3个可配置死区的比较器;3个单端比较单元;4个捕捉单元(其中两个完全捕捉单元和积分脉冲编码器完全兼容的接口);16通道12bit的内部模/数转换接口,可2通道同时采样,流水线采样最高速率60ns；外部程序/数据存储器扩展：零等待256K×16bit程序存储器256K×16bit数据存储器;串行接口:完全符合RS232标准。

因此选用的此款芯片能够快速准确的对八通道的PMT信号进行采集转化。

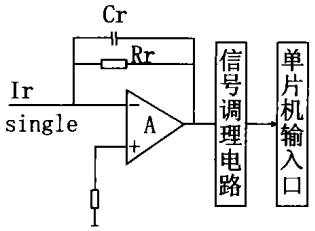

图7 信号处理电路

4 结束语

本文介绍了一种采用CR115型光电倍增管设计的荧光测试系统,它可作为一个最小系统实现微弱荧光的检测,通过实验证明利用光子计数方式使得系统具有高精确性，即能检测到单个光子,实现了对细胞进行准确分类的目的;采用TM320F2812完成了对所检测到的数据进行快速、准确的处理,并能将结果上传显示、打印输出。

这种技术具有准确度高、检测速度快、对外界环境要求条件低等特点,可以广泛应用于医学、生物、航天、材料等领域,具有很广泛的发展前景。

参考文献:

[1]张松涛. 硅光电二极管闪烁探测器. 核电子学与探测技术 1992.12(6)
[2]陈成杰,徐正卜. 光电倍增管. 北京:原子能出版社 1998.8
[3]缪家鼎,徐文娟. 光电技术. 杭州:浙江大学出版社,1995.64—101
[4]张永明,吴瑞生. 单片机液体荧光分析系统. 核电子学与探测技术,1998.18(1)

作者简介:王红玲(1978-),女,汉,山西洪洞人,硕士研究生,现就读于中国矿业大学 (北京校区) 机电一体化方向；电话:010-62331234转8201,13810170352;E_Mail:whl_crystal@163.com

(100083 北京中国矿业大学北京校区)王红玲 陈威 唐兵
(427000 湖南张家界航空工业职业技术学院机械系)胡细东
(China University of Mining & Technology, Beijing, 100083) Wang,Hongling Chen,Wei Tang,Bing
(Zhangjiajie Vocational and Technical College of Aeronautical Engineering,Zhangjiajie,China,427000) Hu,Xidong

通信地址:
(100083 北京中国矿业大学北京校区机电与信息工程学院2002-1)王红玲
(School of Mechanical, Electronic and Information Engineering, China University of Mining & Technology, Beijing, China, 100083)WANG, Hongling

(收稿日期:2004.9.12)