

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5461. 2018.04.002

微弱荧光信号高灵敏大动态范围检测技术及应用

董 鸣^{1,2,3}, 殷高方^{1,3}, 赵南京^{1,3}, 覃志松^{1,2,3},
赵 山^{1,2,3}, 马明俊^{1,2,3}, 肖 雪^{1,3}

(1 中国科学院安徽光学精密机械研究所, 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031;
2 中国科学技术大学, 安徽 合肥 230026;
3 安徽省环境光学检测技术重点实验室, 安徽 合肥 230031)

摘 要: 针对水体有机物离散三维荧光光谱测量, 设计了基于可变增益与积分放大技术的微弱荧光信号高灵敏、大动态范围检测电路和控制软件, 进行了实验验证并应用于水体有机物离散三维荧光在线测量系统。在电路设计中, 自动程控 CMOS 多路模拟开关根据输入信号强度实现了前置增益放大器的调节, 基于开关型电荷积分器实现了微弱脉冲荧光信号的同步积分放大。结果表明所设计电路最低检测电流为 $0.09 \mu\text{A}$, 动态检测范围为 $0.09 \mu\text{A} \sim 0.21 \text{ mA}$, 检测限提高了 79.25 倍。在水体有机物离散三维荧光测量系统的应用中, 保证了系统的检测灵敏度, 并提高了荧光信号的动态检测范围, 实现了水体有机物的高精度测量。

关键词: 光谱学; 微弱荧光信号; 可变增益; 同步积分; 水体有机物

中图分类号: O433

文献标识码: A

文章编号: 1007-5461(2018)04-0395-07

High sensitivity and large dynamic range detection technology of weak fluorescence signal and its application

DONG Ming^{1,2,3}, YIN Gaofang^{1,3}, ZHAO Nanjing^{1,3}, QIN Zhisong^{1,2,3},
ZHAO Shan^{1,2,3}, MA Mingjun^{1,2,3}, XIAO Xue^{1,3}

(1 Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

2 University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;

3 Key Laboratory of Optical Monitoring Technology for Environment, Anhui Province, Hefei 230031, China)

Abstract: According to the discrete three-dimensional (3D) fluorescence spectrum detection of organic matter in water, the high sensitivity and large dynamic range detection circuit and control software of weak fluorescence signal based on the variable gain and integral amplification technology are designed. Experiment verification is carried out and it's applied to the on-line detection system for discrete 3D fluorescence of organic matter in water. In the designed circuit, according to the input signal intensity, automatic program control CMOS multi-channel analog switch is used to realize the adjustment of front gain amplifier. Based on the switching charge integrator, the synchronous integral amplification of weak pulse fluorescence signal is realized. Results show that the minimum detection current of the designed circuit is $0.09 \mu\text{A}$, dynamic

基金项目: Supported by National Natural Science Foundation of China (国家自然科学基金, 61378041, 31400317), National Key Research and Development Program of China (国家重点研发计划项目, 2016YFC1400600), Anhui Science and Technology Major Project (安徽省科技重大专项, 15CZZ04125), Science and Technology Service Network Initiative (中科院 STS 计划项目, KFJ-SW-ST5-170)

作者简介: 董 鸣 (1991 -), 研究生, 主要从事水体有机物荧光光谱检测技术研究。E-mail: mdong@aiofm.ac.cn

导师简介: 赵南京 (1976 -), 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事环境污染污染物光谱检测技术与方法研究。

E-mail: njzhao@aiofm.ac.cn(通信联系人)

收稿日期: 2017-03-22; 修改日期: 2017-05-03

detection range is $0.09 \mu\text{A} \sim 0.21 \text{ mA}$, the detection limit is increased by 79.25 times. In the application of discrete 3D fluorescence detection system of organic matter in water, the system detection sensitivity is guaranteed, and dynamic detection range of fluorescence signal is improved. The high precision measurement of organic matter in water is realized.

Key words: spectroscopy; weak fluorescence signal; variable gain; synchronous integral; organic matter in water

1 引言

有机物是衡量水质状况的重要参数, 因地理位置和人类活动的差异性, 不同水体有机物含量差异较大。荧光光谱技术是快速识别分析水体有机物的一种有效手段, 但在实际应用中仍面临着高灵敏度和大动态范围测量的难题。除不同来源水体有机物含量差异较大之外, 在荧光探测时, 激发光源如脉冲氙灯谱线强度分布并不均匀^[1], 紫外波段光谱较强, 辐照度相差达 $0.7 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$; 典型的光电探测器件光电倍增管在不同波段的阴极辐射灵敏度相差近几十 $\text{mA} \cdot \text{W}^{-1}$ 。因此, 由于激发光源与探测器响应的差异, 在不同波段的光谱响应可相差几十分贝^[2], 恒定增益电路无法实现如此宽范围信号的高灵敏检测。

本文设计了基于可变增益与积分放大技术的微弱信号检测电路和自动增益控制算法软件, 并进行了实验验证, 应用于水体有机物离散三维荧光在线测量系统, 可满足水体有机物微弱荧光信号高灵敏、大动态范围检测的需要。

2 检测电路设计

微弱荧光信号检测电路由光电倍增管、可变增益放大器、积分放大器和反相放大器组成。光电倍增管将水体有机物荧光信号转化为电流信号, 电流信号经过可变增益放大器实现一级放大, 并能够根据电流信号强度自动调节增益模式, 提高检测限; 可变增益放大器的输出信号通过积分放大器实现二级同步放大, 并对荧光脉冲区域和非荧光脉冲区域的积分结果作减法运算, 从背景光中提取出荧光信号; 积分放大器的输出信号经过反相放大器反相后被 ADC 采集, 实现了宽动态范围有机物荧光微弱信号的高灵敏检测。

检测电路结构如图 1 所示, 其中可变增益放大器由电阻网络 (R_2 、 R_3 和 CMOS 多路模拟开关)、负反馈回路 (高精密运放、反馈电阻 R_1 , 相位补偿电容 C_1) 组成, GPIO 口输出低电平控制电阻网络的导通状态, 以改变可变增益 A_1 , 提高检测限; 积分放大器由高精密低噪声积分器组成, 内置可外接积分电容 C_{INT} , 两路微秒量级脉冲可控开关 S_1 、 S_2 , 积分时间 T_{INT} 根据微弱荧光的脉冲特性编程设置, 对可变增益的输出信号进行同步积分放大; 反相放大器由高精密运放和电阻组成的负反馈回路组成, 增加积分放大器的输出信号相位, 反相放大的输出信号通过 ADC 输入单片机 Cortex-M4, ADC 的采样精度能够达到 2^{16} 。整个检测电路由 Cortex-M4 实现高精度控制, 微秒量级脉冲控制信号能够实现信号的同步积分, 保证微弱信号检测的精度和稳定性。

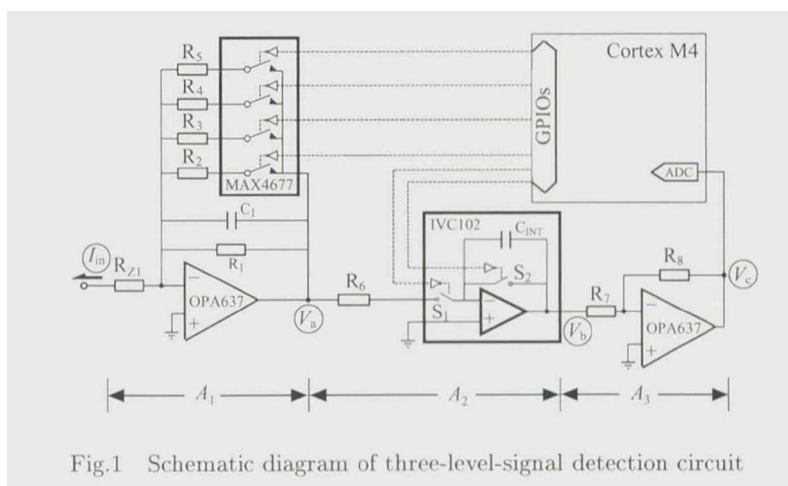


Fig.1 Schematic diagram of three-level-signal detection circuit

2.1 可变增益放大器设计

可变增益放大器根据输入信号强度改变信号增益, 以达到提高检测限的作用^[3]。可变增益的互阻增益 $A_1 = -R_F$, 其中 $R_F = R_2/3^N$, $N = 0, 1, 2, 3, 4$, 对应 GAIN0 GAIN4 增益模式下的反馈电阻。实际应用中考虑到相位补偿电容 C_1 的作用, 通常用 C_1 与反馈电阻并联的阻抗 Z_F 表示可变增益的互阻增益, 即

$$A_1 = \frac{V_a}{I_{IN}} = |Z_F| = \frac{R_F}{\sqrt{1 + (2\pi f C_1 R_F)^2}}, \quad (1)$$

由(1)式可知, 反馈电阻 R_F 的值越大, 互阻增益越高; 输入信号频率越低, 互阻增益越高。

电路中 C_1 具有补偿输出电压 V_a 相位滞后、防止电路振荡发生及滤波放大的作用, 超前补偿相位的零点^[4], 截止频率 $f_0 = 1/(2\pi R_F C_1)$, 通过计算可以得出截止频率范围为 79.6~6450 kHz。

模拟开关导通电阻是影响信号增益的重要因素, 可导致输入输出线性失真^[5]。MAX4677 最大导通电阻为 1.5 Ω , 反馈电阻值可表示为

$$R_F = \frac{R_1(R + \Delta R)}{R_1 + R + \Delta R}, \quad (2)$$

式中 ΔR 是模拟开关的导通电阻。

当 R_1 与 R_2 并联, $R_F = 66667.33 \Omega$, 放大器实际增益比理论值增加了 $9.90 \times 10^{-4}\%$; 当 R_1 与 R_5 并联, 增益比理论值增加了 $5.91 \times 10^{-2}\%$ 。因此, 在电路设计中可以忽略导通电阻对信号传输精度的影响。

2.2 积分放大器设计

积分放大器对可变增益的输出信号进行同步积分放大。在水体有机物荧光的测量过程中, 可变增益检测到的不仅有微弱荧光信号, 还有外界的背景光信号。因此, 如何实现信号的同步积分与去除背景光就成了积分放大的两个难点。

积分放大电路的电压增益 $A_2 = -T_{INT}/(R_6 C_{INT})$, 可变增益输出信号 $V_a(t)$ 与积分放大输出信号 $V_b(t)$ 的关系为

$$V_b(t) = -\frac{1}{R_6 C_{INT}} \int_0^{T_{INT}} V_a(t) dt, \quad (3)$$

$$\frac{V_b}{V_a} = -\frac{T_{INT}}{R_6 C_{INT}}. \quad (4)$$

由(4)式可知, 积分放大的电压增益与积分时间 T_{INT} 成正比, 与积分电容 C_{INT} 成反比^[6], 实际应用中 T_{INT} 应根据荧光特性来设置, 可变增益检测到的微弱脉冲荧光信号有初始 9 μs 的固定噪声, 荧光信号周期为 50 ms, 脉冲宽度为 10 μs , 因此 T_{INT} 设置为 10 μs 。

可变增益输出信号 $V_a(t)$ 由荧光信号 $V_{as}(t)$ 和背景光 $V_{an}(t)$ 组成, 即荧光区域 $V_a(t) = V_{as}(t) + V_{an}(t)$, 非荧光区域 $V'_a(t) = V_{an}(t)$ 。

对荧光区域进行积分, 积分放大电路输出结果可表示为

$$V_b(t) = -\frac{1}{R_6 C_{INT}} \int_0^{T_{INT}} V_a(t) dt, \quad (5)$$

非荧光区域积分放大电路输出结果可表示为

$$V'_b(t) = -\frac{1}{R_6 C_{INT}} \int_0^{T_{INT}} V'_a(t) dt, \quad (6)$$

荧光区域积分减去非荧光区域积分, 即扣除背景光后的荧光信号可表示为

$$V_b(t) - V'_b(t) = -\frac{1}{R_6 C_{INT}} \int_0^{T_{INT}} V'_{as}(t) dt. \quad (7)$$

在实际测量中, $V_a(t)$ 有 9 μs 的初始固定噪声, 将积分开关 S_1 延迟 9 μs , 以保证积分脉冲与荧光脉冲信号同步。初始状态, S_1 断开、 S_2 闭合, 电路处于重置期, 此时 $V_b(t)$ 输出为 0; 光电倍增管检测到荧光

信号, S_2 断开, 电路处于待积分期并准备积分; S_1 延时 $9 \mu\text{s}$ 闭合, C_{INT} 开始积分, 电路处于积分期; 积分结束 S_1 断开, $V_b(t)$ 输出保持不变, 电路进入保持期, 积分结果送入反相放大, 由 ADC 实现数据采集; 重复上述积分过程, 在非荧光脉冲区域积分一次, 积分结果由 ADC 送入单片机 Cortex-M4, 单片机对两次积分结果进行减法运算, 完成荧光信号的提取。

积分的时序如图 2 所示, 其中 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_4 、 T_5 分别是重置期、待积分期、积分期、保持期及延迟时间 [7]。

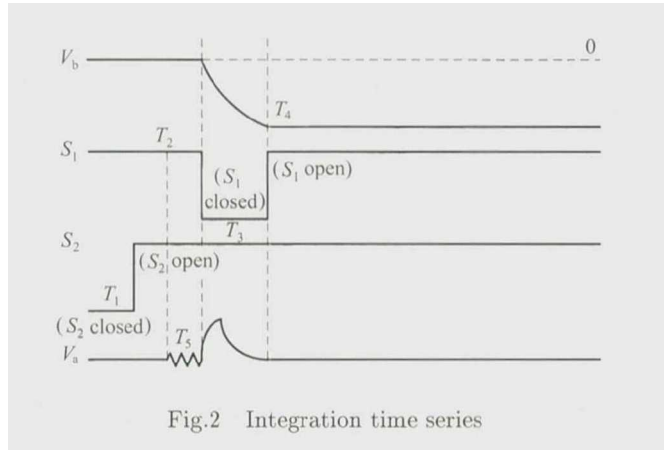


Fig.2 Integration time series

2.3 反相放大器设计

反相放大器的作用是对积分放大的输出信号 V_b 反相放大, 以保证微弱信号检测输入输出信号之间的相位关系。

反相放大的电压增益 $A_3 = V_c/V_b = -R_8/R_7$, 由于反相电路的输出电压 V_c 最高只能达到基准电压 U_{Ref} , 依据三级信号电路之间的信号传递关系, 可以得到微弱信号检测的检测限 I_{MAX} 与 U_{Ref} 的关系, 表示为

$$I_{\text{MAX}} = \frac{U_{\text{Ref}}}{A_1 A_2 A_3} = -U_{\text{Ref}} \frac{R_6 R_7 C_{\text{INT}}}{R_8 R_F T_{\text{INT}}}, \quad (8)$$

由此可见降低可变增益反馈电阻 R_F 能够提高检测限。已知 $R_F = R_1/3^N$, $N = 0, 1, 2, 3, 4$, 因此可变增益最高能够使检测限提高 81 倍。

微弱信号检测的输入信号经过三级信号放大, 输入信号与输出信号的关系为

$$V_c = I_{\text{IN}} A_1 A_2 A_3 = -\frac{R_8 R_F T_{\text{INT}}}{R_6 R_7 C_{\text{INT}}} I_{\text{IN}}, \quad (9)$$

可见微弱信号检测的输入信号与输出信号成正比, 相位差为 180° 。

3 软件设计

用 ARM 公司 Cortex M4 单片机作为处理器, 根据输入信号强度由单片机自动发送指令脉冲实现增益调节及积分放大, 程控软件流程如图 3 所示。

初始化可变增益模式默认设为 GAIN0、GAIN1~GAIN4 均为高电平, 积分放大处于重置期。反相电路基准电压设置为 $U_{\text{Ref}} = 2.5 \text{ V}$, 积分放大对应输出电压为 $V_b = 7.6 \text{ V}$, 以可变增益输出信号 $V_{\text{cop}} = 510 \text{ mV}$ 作为比较电压。输入信号经可变增益放大输出, 输出电压 V_a 与比较电压 V_{cop} 做比较, 如果 $V_a < V_{\text{cop}}$, 则输入信号在 GAIN0 增益模式的检测范围内, 对 V_a 进行同步积分放大, 去除外界背景光, ADC 采集到反相放大的输出信号 V_c ; 如果 $V_a > V_{\text{cop}}$, 说明输入信号强度超过了 GAIN0 增益模式的检测范围, 单片机输出低电平切换可变增益模式, 重复上述步骤直到 $V_a < V_{\text{cop}}$, ADC 采集反相放大输出信号 $3^N V_c$ 。

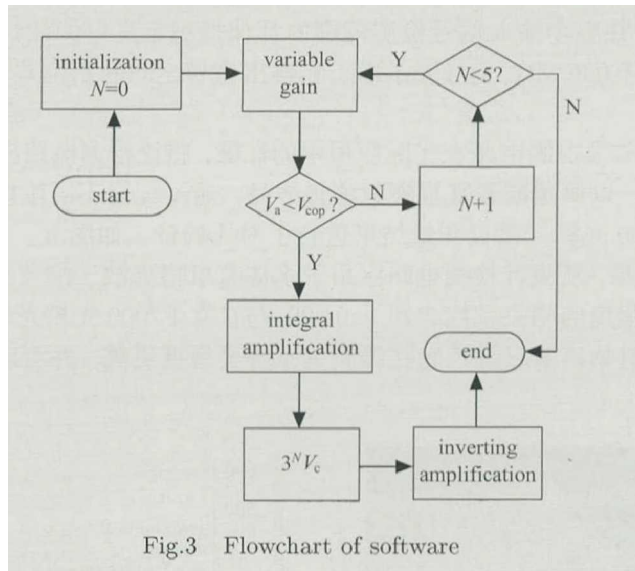


Fig.3 Flowchart of software

4 实验测试与数据分析

4.1 电路测试

为了验证可变增益微弱信号检测电路的检测限值和输入 - 输出变化关系, 以频率 100 Hz、幅值 4 mV 的方波信号为信号源 ($R_{in} = 47 \text{ k}\Omega$), 通过改变信号偏移模拟光电倍增管电流输出, 并由串口发送指令分别测量 GAIN0~GAIN4 五档可变增益的输入 - 输出变化, 得到各档量程最小输入电流 i_{min} 和最大输入电流 i_{max} , 测试结果如表 1 所示。

Table 1 Input signal current under GAIN mode

Control word	$i_{min} (\mu\text{A})$	$i_{max} (\mu\text{A})$
GAIN0	0.09	2.65
GAIN1	0.12	7.84
GAIN2	0.26	23.53
GAIN3	0.65	68.83
GAIN4	1.76	210

由表 1 可知, 所设计电路能够实现微安量级微弱荧光信号的有效检测, 最低检测限为 $0.09 \mu\text{A}$, 输入电流范围为 $0.09 \mu\text{A} \sim 0.21 \text{ mA}$ 。单片机根据输入信号强度自动切换增益, 当输入电流小于 $2.65 \mu\text{A}$ 时, 系统工作在 GAIN0 增益模式, ADC 采集到的反相电压 V_c 即为荧光信号强度; 当输入电流范围介于 $2.65 \sim 7.84 \mu\text{A}$ 、 $7.84 \sim 23.53 \mu\text{A}$ 、 $23.53 \sim 68.83 \mu\text{A}$ 和 $68.83 \mu\text{A} \sim 0.21 \text{ mA}$ 时, 对应增益模式分别为 GAIN1、GAIN2、GAIN3 和 GAIN4, 采集到的荧光信号强度对应为 $3^N V_c$ (N 分别为 1,2,3,4)。检测电路在整个检测范围内的输入输出关系如图 4 所示。

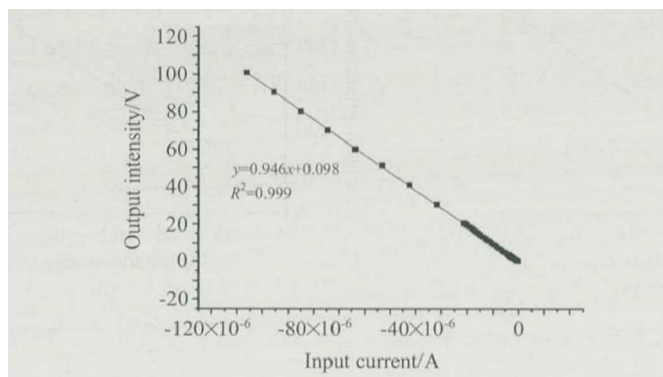


Fig.4 Input-output relationship of designed circuit

如图 4 所示, 检测电路在整个输入信号检测范围内都保持稳定良好的线性关系, 线性相关系数可达 0.999, 互阻增益达到 $A_R = -0.946 \text{ M}\Omega$, 负号表示输入和输出信号之间的相位差为 180° 。

4.2 应用对比验证

为了验证可变增益积分放大检测电路在实际应用中的性能, 将该检测电路应用于水体有机物离散三维荧光在线测量系统, 如图 5。以腐殖酸和富里酸为测量样品, 通过配置不同浓度的标准溶液, 在实验室进行了数据获取并与日立 F7000 光栅光谱仪测量结果进行了对比验证, 如图 5、图 6、图 7 所示。

相比于 F7000 的测量结果, 所设计检测电路应用于水体有机物离散三维荧光在线测量系统, 腐殖酸和富里酸标准溶液浓度与荧光强度的相关系数达到了 0.999, 与日立 F7000 光栅光谱仪相比, 获得了更好的线性关系, 且低浓度下水体有机物离散三维荧光在线测量系统灵敏度更高, 并可以通过控制光电倍增管电压进一步降低系统检测下限。

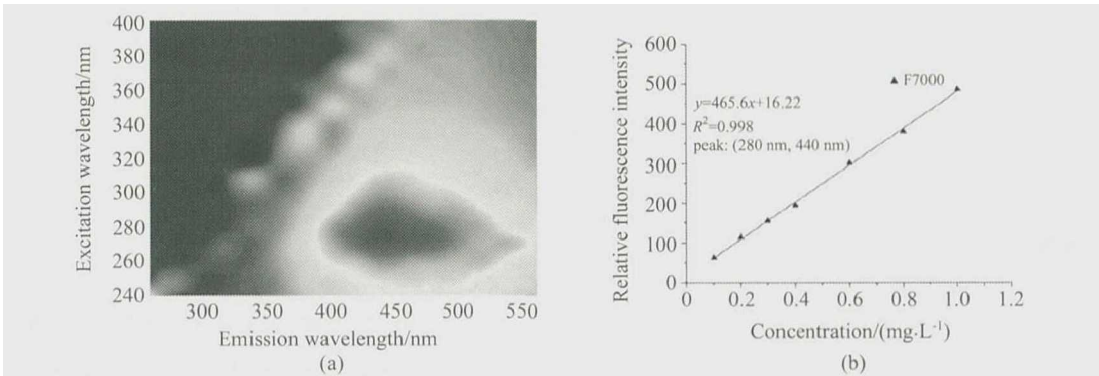


Fig.5 (a) F7000 fluorescence spectroscopy; (b) Linear fitting

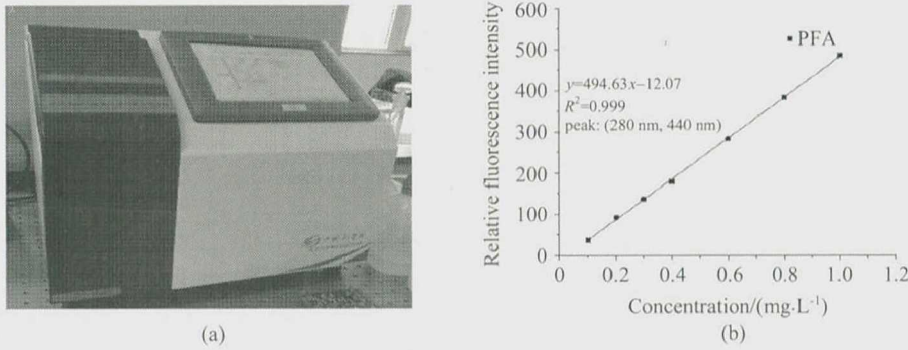


Fig.6 (a) Discrete 3D fluorescence on-line measurement system; (b) Linear fitting

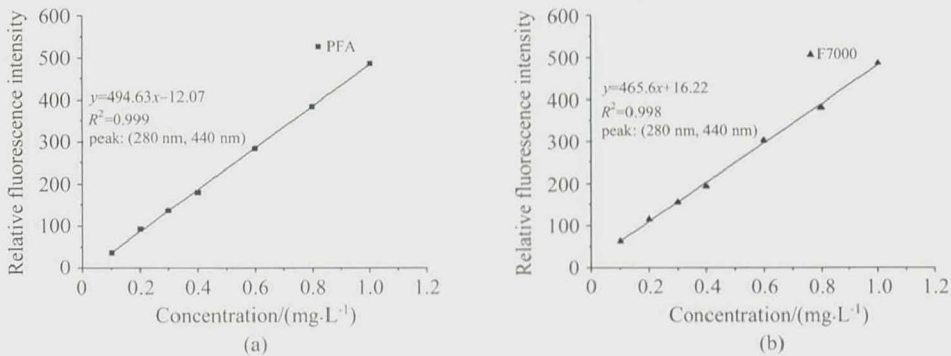


Fig.7 (a) PFA fulvic acid linear fitting; (b) F7000 fulvic acid linear fitting

5 结 论

微弱荧光信号的高灵敏、大动态范围检测对实际应用有重要价值。针对水体有机物离散三维荧光光谱测量,设计了基于可变增益与积分放大技术的微弱荧光信号检测电路,进行了实验测试与应用对比验证。在保证检测信号信噪比和灵敏度的基础上,通过程控 CMOS 多路开关切换反馈电压改变增益,再对信号进行积分放大,准确获取了宽动态范围、高灵敏荧光信号。在水体有机物离散三维荧光在线测量系统应用中,实现了水体有机物的高精度测量。

参考文献:

- [1] Du Zhiming, Pan Haiyan, Ding Yukui. Research on radiation characteristics of pulse Xe-lamp and saturated behaviors of photo-detector PbS [J]. *Transactions of Beijing Institute of Technology* (北京理工大学学报), 2005, 25(8): 722-725 (in Chinese).
- [2] Zhou Weiye. *Design of CMOS Variable Gain Amplifier with Wide Gain Dynamic Range* (宽增益动态范围 CMOS 可变增益放大器设计) [D]. Chengdu: Master Thesis of University of Electronic Science and Technology of China, 2006 (in Chinese).
- [3] Wang Ziqiang, Chi Baoyong, Wang Zhihua. An overview of CMOS variable gain amplifiers [J]. *Microelectronics* (微电子学), 2005, 35(6): 612-617 (in Chinese).
- [4] Hu Tao, Si Hanying. Design and research of pre-amplifier circuit from a photoelectric detector [J]. *Electro-Optic Technology Application* (光电技术应用), 2010, 25(1): 52-55 (in Chinese).
- [5] Zhou Shenghai, Wang Dongchen, Ma Jianzhong. Implementation of variable gain amplifier [J]. *Instrument Technique and Sensor* (仪表技术与传感器), 2001, 7: 32-34 (in Chinese).
- [6] Gao Jinzhan. *Detection of Weak Signals* (微弱信号检测) [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 2011: 219-220 (in Chinese).
- [7] Lu Weimin, Tian Shuxiang, Chen Zhencheng. Pulse data acquisition system based on integral amplifier IVC102 [J]. *Chinese Medical Equipment Journal* (医疗卫生装备), 2015, 36(2): 17-20 (in Chinese).