

## Design and Research of a Photoelectrical Apparatus for Lateral-Flow Based on CCD

WANG Yan<sup>\*</sup>, BAI Yur-jie, ZHANG Yan-chao, LI Ning

(State Key Laboratory of Precision Measurement Technology and Instruments Tianjin, Tianjin 300032, China)

**Abstract :** A photoelectrical apparatus with CCD detector was designed for on-site detection, to quantify the measurement results of pesticide residues by lateral-flow. The apparatus is composed of the light path module and circuitry module. In the circuitry module, the FIFO chip was used for cache memory, which greatly reduced the cost of designing; auto locating devices were introduced to increase the target positioning accuracy. The working curve and parameters of the system were derived from the experiments. Results showed that the measurement accuracy reached 1 ng/mL, and the linear range was 1 ~ 20 ng/mL. The apparatus can meet the demand of detection criteria for pesticide residues.

**Key words :** detection for pesticide residues; lateral-flow; photoelectrical detection; CCD; FIFO  
EEACC :7230 G

## 基于 CCD 的胶体金试纸条光电检测仪器设计及实验研究

汪 燕<sup>\*</sup>, 白玉洁, 张艳超, 李 宁

(天津大学精密测试技术与仪器国家重点实验室, 天津 300072)

**摘 要 :** 为了将农残检测的胶体金试纸条检测结果数值化, 设计了基于线阵 CCD 的光电检测仪器, 用其进行现场检测。仪器设计包括光路和电路部分, 其中电路部分使用 FIFO 芯片进行数据缓存, 有效降低了开发成本; 采用自动定位插槽的定位装置, 用于提高检测目标定位的准确度。实验测定了系统的工作曲线及参数, 精度可达 1 ng/mL, 线性范围为 1 ~ 20 ng/mL, 符合农残检测范围。

**关键词 :** 农残检测; 胶体金试纸条; 光电检测; CCD; FIFO

**中图分类号 :** TP212; TP23

**文献标识码 :** A

**文章编号 :** 1004-1699(2008)08-1370-04

近年来我国农产品出口量不断增加, 但出口成本却呈上涨趋势, 原因之一是农药残留分析检测仪器的成本昂贵、技术要求高、耗时耗力。因此, 采用成本低廉、操作简便、测量准确的农残检测仪器成为降低出口成本的重要途径之一, 同时也是市场的一个迫切需要。在农残检测技术领域, 上个世纪六十年代已有人利用薄层色谱酶抑制法测定有机磷农药等残留量, 检测限量为毫克级; 八十年代开始, 农药的酶抑制和免疫检测技术作为快速筛选检测方法受到许多发达国家的高度重视, 并因此得到了快速发展。我国在近十多年来也相继开展了农药残留酶抑制法和免疫法的研究, 取得了一定的成果, 其中免疫法中的胶体金试纸条法<sup>[1]</sup>由于检测速度快, 准确率较高成为近年来发展较快的农残快速检测方法。国外已开始试纸条定

量检测仪器的相关研究, 文献中报道 Suhyeon<sup>[2]</sup>等利用绿光 LED 作为光源, 光电二极管作为光电检测器研制出用于免疫活性化验的胶体金试纸条读数仪; 国内相关研究成果有上转换磷光免疫层析试纸条检测系统<sup>[3]</sup>, 装置采用半导体激光器作为检测光源, 通过光纤传输经过准直透镜传输到 CCD 的光敏面上。但是我国目前的胶体金试纸条检测还处于定性和半定量检测水平, 尚未大量推广使用。因此, 本文采用 CCD 作为光电接收器件, 开发低成本的便携式胶体金试纸条光电读数农残检测仪器, 以满足快速定量检测残留农药浓度值的要求。

### 1 仪器检测原理

本文设计的光电检测仪器的检测对象为胶体金

免疫层析试纸条,其结构如图 1 所示。本文主要对甲霜灵胶体金试纸条<sup>[4]</sup>进行检测。甲霜灵胶体金试纸条是一种用于检测农药甲霜灵残留的快速筛选试纸,其工作原理为:在硝酸纤维素膜上的检测区包被甲霜灵合成免疫原,对照区包被羊抗鼠多克隆抗体。当待测物中有被测的抗原物质(即甲霜灵)时,待测物中的抗原物质就会与标记胶体金的甲霜灵单克隆抗体形成 Ag-Ab-Au 复合物,复合物不与包被在硝酸纤维素膜上的甲霜灵合成免疫原结合,仅会在控制线处出现一条色带(C 线),结果为阳性。当待测物质中没有被测的抗原物质时,标记胶体金的甲霜灵单克隆抗体就会与包被在硝酸纤维素膜上的甲霜灵合成免疫原结合,形成 Ag-Ab-Au 复合物,此时检测线处可看到一条明显色带(T 线),T 线颜色深浅和样品中抗原的量呈负相关,待测样品中抗原的量越多,T 线上的 Ag-Ab-Au 量就越少,T 线颜色越浅。

由吸光度原理,颜色的深浅与光的吸收和反射程度有关,颜色越浅,吸收光量值越小,反射光强也就越大。基于上述胶体金试纸条抗原抗体免疫显色反应原理,只要测得检测带的光反射强度即可求得农药浓度的大小。依据光的吸收定律,检测器在吸收峰波长处测量灵敏度最高。胶体金因为金颗粒大小的因素影响其吸收波长位于 520 nm 至 600 nm (酒红色至蓝紫色)之间,本实验中使用的试纸条胶体金颗粒直径在 20~30 nm 之间,光吸收峰波长为 540 nm<sup>[4]</sup>。彩色线阵 CCD 图像的 RGB 三色中的绿色分量的波长为 540 nm<sup>[5]</sup>,正好对应于胶体金的吸收峰,因此检测试纸条照射光的反射率可以达到最高的检测精度。

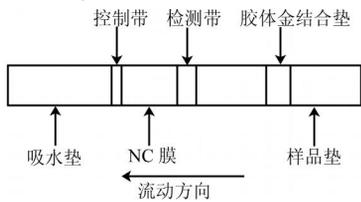


图 1 胶体金免疫层析试纸条结构图

## 2 系统设计

### 2.1 系统电路设计

本文选取彩色线阵 CCD 为光电接收装置,与普通信号相比,CCD 采集的图像数据传输速率要求高,数据量大,其实现方式主要有两种: FPGA 方式,用硬件实现图像的采集和处理,优点是并行处理程度高、速度快,但开发难度较大,成本较高; 专用 DSP 体系结构,主要是围绕视频处理设计的,但

其工作温度大都在室温,无法满足特殊工作环境的要求<sup>[6]</sup>。本文采用 AT89C52 单片机<sup>[7]</sup>完成系统控制和数据处理,具有成本低,稳定性好,外围电路简单,且易实现嵌入式应用等优点,但其接收 CCD 信号的速度不能满足要求,故利用 FIFO 芯片进行数据缓存,解决了 CCD 信号数据传输快的问题。电路系统组成如图 2 所示。

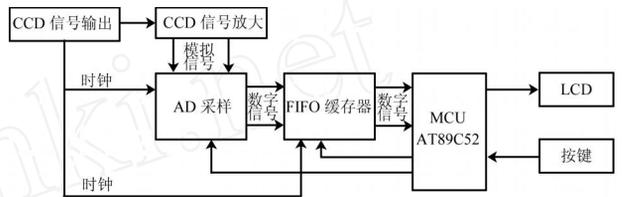


图 2 电路系统组成

采用 AT89C52 单片机对整个系统进行控制, TLC5510<sup>[8]</sup>模数转换器和 IDT7206FIFO<sup>[9]</sup>缓存器作为数据模拟转换和缓存电路的核心器件。TLC5510 芯片采用了半闪结构,具有高速度、低功耗和低成本的特点,最大转换频率可达 20 MHz; FIFO 为 IDT 公司推出的存储容量为 8192X9 的存储器。对于线阵 CCD 的红绿蓝三路输出<sup>[10]</sup>,只取绿色分量信号,经过放大器放大后输入到 A/D 中进行模数转换。因为数据的传输速率远超过单片机的接收速率,故先通过 FIFO 进行数据缓存然后输入到单片机进行数据处理<sup>[11]</sup>。驱动板输出的行同步信号 FC 和像元同步信号 SP 首先通过施密特触发器 74HC14N 进行方波整形去噪后作为模数转换的采样时钟和 FIFO 写入数据的时钟。FIFO 的读出脉冲信号由单片机产生。单片机通过 I/O 扩展控制显示、按键及打印等功能。

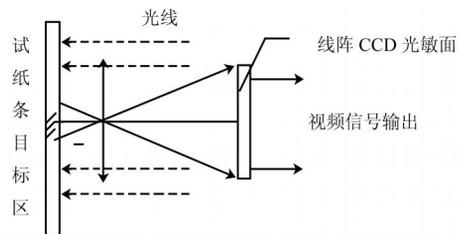


图 3 系统光学系统组成

由于 A/D 转换器和 FIFO 缓存器的工作电压均为 5V,故可由单片机提供 5V 电压。A/D 转换器的输入电压伏值要求为 0~5V,CCD 输出信号 OS1 不能直接作为 A/D 转换电路的电压输入信号,必须经过放大电路放大后将 CCD 输出信号的电压稳定在 A/D 转换的电压范围内。

### 2.2 系统光路设计

光学系统组成如图 3 所示,光路传输过程为白光 LED 照射到试纸条的目标区,反射光通过镜头成

像在 CCD 的像敏面上, CCD 输出视频信号。本文采用白光 LED 灯作为光源(如图 4 所示), 试纸条四周排列 4 列白光 LED 灯, 通过调整光强将试纸条本身的色彩恢复到最佳。镜头的选择首先考虑了系统放大率。线阵 CCD 光敏面总长度为 21.6 mm, 排除哑元等不感光像元, 取光敏面长度为 21 mm, 试纸条目标区按照线阵 CCD 的扫描方向选取 7 mm 长度, 故系统放大率为  $21/7$ , 即 3 倍。镜头选用焦距为 50 mm 具有放大功能的望远镜头, 物距为焦距的三分之一, 即为 16.7 mm。

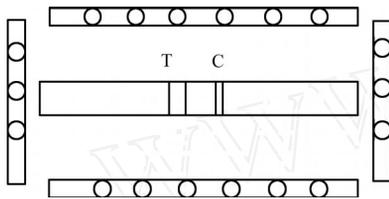


图 4 光源排列示意图

### 3 实验及结果

#### 3.1 数据处理

系统软件设计如图 5 所示, 对提取出的 CCD 图像信号绿色分量经过模数转换和数据缓存, 进而传输到单片机中。由于传感器总是不可避免地产生各种各样的噪声, 如光子噪声、电流噪声、输出噪声等, 这些噪声使得扫描结果曲线因小的波动而变得粗糙, 同时由于胶体金试纸条制作工艺的限制, 如试纸条上胶体金颗粒分布的不均匀性, 导致了像点的波形存在尖峰, 上述都对系统的检测结果造成影响, 因此在单片机中需进行数据平滑滤波处理及峰值计算, 再通过标定确定农残浓度值。

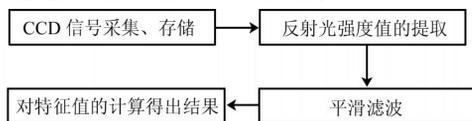


图 5 系统软件设计

读取 CCD 的存储数据后, 进行五点平滑滤波以去除噪声, 求得的峰值即为目标值。另外, 由于试纸条胶体金颗粒显色不均匀, 检测的电信号容易出现较大的尖峰, 因此本仪器不适合采用最小值并设定阈值的方法来寻找峰值。为了解决这一问题, 我们设计了自动定位插槽, 确保每次检测带的位置不变, 直接将检测带对应位置的峰值光强取平均得到光电信号的峰值。实验数据处理基于 MATLAB 软件平台完成。

#### 3.2 系统性能指标检测

实验采用北京万华生物科技有限公司提供的甲霜灵胶体金试纸条。甲霜灵农药标准品由 Chem-

Service 公司生产, 药品纯度为 98%。根据农药甲霜灵在谷子、黄瓜、葡萄中的最大允许残留量<sup>[12]</sup>以及实际检测需要, 实验配比了空白基质的标准溶液并测量 5 个浓度 (1 ng/mL, 2 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL) 的试纸条。为了准确评价装置性能, 每个浓度分别用 30 根试纸条测量, 剔除 30 组数据中的粗大误差后求得平均值作为该浓度的测量值, 用以排除试纸条本身的差异性。得到实验结果及数据分析如表 1 所示。将每种浓度试纸条检测带的反射光强平均结果作为纵坐标, 将农药浓度 (单位 ng/mL) 作为横坐标做出散点图, 拟合得到的工作曲线如图 6 虚线所示, 拟合直线方程为

$$y = 0.455x + 148.3 \quad (1)$$

计算可得相关系数为 0.995 6, 残差平方和为 0.221 9, 线性化比较好。系统重复性验证由公式计算得到重复性误差和变异系数, 如表 1 所示。系统的重复性误差 ( $e_{R^2}$ ) 不超过 0.54%, 平均变异系数为 0.13%, 说明系统重复性良好, 性能稳定。

表 1 标准品实验数据结果及分析 单位: ng/mL

浓度	1	2	5	10	20
光强相对值	148.5362	149.3923	150.7179	152.4976	157.4575
标准偏差	0.2742	0.0861	0.0899	0.1609	0.4144
$e_{R^2} / \%$	0.36	0.11	0.12	0.21	0.54
变异系数 / %	0.18	0.058	0.059	0.11	0.26
最大偏差	0.5279	0.1603	0.1776	0.2845	0.7233
精度 <sup>[13]</sup> / %	0.70	0.22	0.23	0.40	1.01

在实际现场检测中, 通常是将蔬菜样品剪成 1 cm 左右见方碎片再加入缓冲溶液作为农药检测的试剂<sup>[4]</sup>, 因此试纸条的检测带上易受到叶绿素的干扰。对比实验用含叶绿素的农药溶液和上述的标准品溶液进行对比, 得到的工作曲线如图 6 实线所示, 拟合直线方程为

$$y = 0.454x + 144.3 \quad (2)$$

计算可得相关系数为 0.999 5, 残差平方和为 0.0249 1, 线性化较好。可见含叶绿素的溶液的拟合直线的斜率基本和标准溶液的一致, 由于叶绿素的干扰引起了拟合直线截距的变化, 本文通过检测带与背景反射光强的反射比作为拟合点来消除此影响。对标样数据分析时取检测带周围的白色部分作为背景测得背景反射光强值, 将检测带与此背景反射光强值相比即得反射比, 拟合得到的工作曲线如图 7 虚线所示。空白基质的标样的拟合方程为

$$y = 0.002725x + 0.844 \quad (3)$$

计算可得相关系数为 0.976 9, 残差平方和为  $4.24e-05$ , 线性化较好。同理将含叶绿素的试纸条

检测带周围含绿色干扰的部分作为背景,将检测带与此背景的反射光强值相比得到反射比,拟合直线如图 7 实线所示,含叶绿素的标样的工作曲线直线方程为

$$y = 0.002\ 964x + 0.841\ 7 \quad (4)$$

计算可得相关系数为 0.980 8,残差平方和为  $4.143e-05$ ,线性化较好。

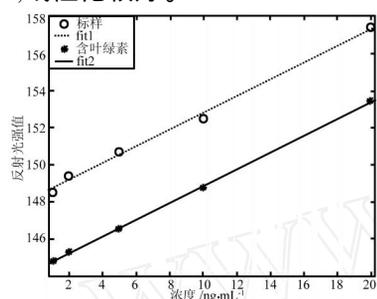


图 6 峰值点线性标定

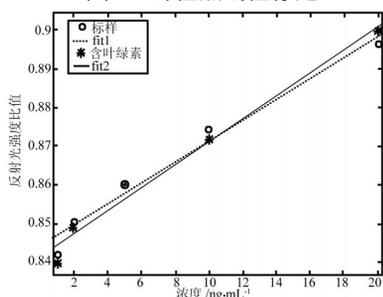


图 7 标准液与含叶绿素反射比标定

由此可见,通过求得检测带与背景的反射比作为拟合点可以较好地消除背景颜色(如叶绿素)的干扰。而且,同样的方法,可以得到不同农药试纸条的反射比工作曲线,从而实现多种农药的快速检测。

## 4 结语

本文采用彩色线阵 CCD 作为光电图像传感器,设计了用于农残检测的胶体金试纸条检测的仪器。硬件上采用单片机与外围器件——A/D 转换

器和 FIFO 缓存器等相结合的方案,实现了数据采集、模数转换和存储,解决 CCD 数据高速传输的关键问题。

从实验数据结果来看,在试纸条标准化和测试条件规范化的前提下,用仪器可对胶体金试纸条进行定量测试。通过改变测试条件以及工作曲线,该仪器同样适用于其他农残检测的试纸条,如甲草胺、除草定、霜霉威等的定量检测,因此本文研制的仪器可以进行农残检测的推广使用。

## 参考文献:

- [1] 黄芬,叶绍辉. 免疫层析快速诊断试纸条的制备及其应用[J]. 当代畜牧,2006,(8).
- [2] Kim Suhyeon, Park Je-kyun (2004) Development of a Test Strip Reader for a Lateral Flow Membrane-based Immunochromatographic Assay. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 9, 127:131.
- [3] 刘蕾,周蕾,黄立华等. 基于一维 CCD 的免疫层析试纸条检测系统[J]. 仪器仪表学报,2007,28(2):246-251.
- [4] 北京万华生物有限公司. 甲霜灵胶体金检测试纸条品质报告及使用说明书.
- [5] 高明等. 光电仪器设计[M]. 陕西:西北工业大学出版社,2005.
- [6] 马志波,乔大勇,虞益挺等. 一种新型 CCD 图像采集系统设计[J]. 传感技术学报,2006,19(4):1250-1252.
- [7] 李刚,林凌,王焱. 新概念单片机教程[M]. 天津大学出版社,2004.
- [8] TLC5510 Data Sheet. SLAS095 K-SEPTEMBER1994-REVISED MAY 1999.
- [9] IDT7206 Data Sheet. SEPTEMBER 2002.
- [10] 王庆友. 图像传感器应用技术[M]. 北京:电子工业出版社,2003.
- [11] 高礼忠. FIFO 在高速数据采集系统中应用[J]. 电子测量技术,2005,(1):51-52.
- [12] 食品中农药最大残留限量[S]. 中华人民共和国国家标准(GB 2763-2005).
- [13] 冯冬霞. 便携式叶面积仪的研制[D]. 中国农业大学硕士学位论文,2005. 1-51.



汪 曛(1955-),男,教授,博士生导师,主要从事分析测试技术及仪器研究, wangyan@tju.edu.cn



白玉洁(1982-),女,硕士研究生,研究方向为科学仪器, a3034534@tju.edu.cn