

# 基于智能手机图像处理的便携式生化检测仪

黄建伟<sup>1</sup>, 湛程森, 林智鹏, 谢晓娜, 张烨禹, 赖昌飞, 刘婷

(华侨大学, 厦门 361000)

**摘要:** 光谱检测作为最常见的检测手段, 被广泛用于各个领域, 但目前的光谱检测仪器存在着体积大、造价高等不足, 因此开发基于光谱检测的小型化仪器具有重要的研究意义。为此我们提出了一种能够检测吸光度和荧光强度实现生化物质定量检测的便携式手机生化检测仪, 采用小型 LED 灯作为光源, 由透射光路和垂直光路组成样品的检测光路, 透射光与荧光信号由光纤进行收集和传输, 信号光通过反射光栅的衍射分光产生光谱, 由智能手机摄像头采集光谱图像, 最后通过 Android studio 编写的手机 APP 程序计算并绘制出光谱谱线, 通过吸光度和荧光强度实现定量检测。通过检测 RhB 与 Rh110 的吸收光谱和发射光谱, 成功验证了生化检测仪能够通过吸光度和荧光强度实现定量检测。此外, 还通过测量吸光度和荧光强度实现了对亚硝酸盐的定量检测, 检测限能够达到 1 mg/L。与传统的光谱仪相比, 该设备主要通过检测吸光度和荧光强度的变化实现对生物物质的定量检测, 很大程度降低了对光路的设计要求和难度, 且具有小巧的体积和紧凑的结构, 能够随时随地进行检测; 与其他手机光谱检测仪相比, 无需进行准直且通过检测 1 阶光谱能够得到高达 0.140nm/pixel 的分辨率, 良好的检测性能证明其有望在生化检测和食品监测等领域实现广泛的应用。

**关键词:** 智能手机; 光纤; 吸光度; 荧光

## Portable biochemical detector based on smartphone image processing

Huang Jianwei, Zhan Chengsen, Lin Zhipeng, Xie Xiaona, Zhang Yeyu, Lai Changfei, Liu Ting

(Huaqiao University 361000)

**Abstract:** As the most common detection method, spectral detection is widely used in various fields. However, the current spectral detection instruments have deficiencies such as large size and high cost, it is important to develop a miniaturized instrument based on spectral detection. Here, we propose a portable biochemical detector based on smartphone to achieve quantitative detection of biochemical substances by detecting absorbance and fluorescence intensity. The detector uses a

第一作者信息: 黄建伟, 男, 研究方向: 荧光传感; 光纤传感, 邮箱: 1061254733@qq.com

通讯作者信息: 刘婷, 女, 副教授, 研究方向: 光纤荧光生物传感器技术; 光纤表面等离子体共振传感器技术; 表面等离子体近场光学器件的设计; 光学显微镜成像、测量技术, 邮箱: liut14@hqu.edu.cn

small LED lamp as the light source, the sample detection light path is composed of a transmission light path and a vertical light path. The transmission light and fluorescence signals are collected and transmitted by optical fiber, the signal light is diffracted and divided by a reflection grating to produce a spectrum, and the spectral image is collected by a smartphone camera. Finally, the spectrums are calculated and plotted by the smartphone APP that written by Android studio, and the quantitative detection is realized by calculating spectrum of absorbance and fluorescence intensity. The detector measuring the absorption and emission spectrum of RhB and Rh110, which successfully verified the biochemical quantitative detection can be achieved by detecting absorbance and fluorescence intensity. In addition, the quantitative detection of nitrite can be achieved by measuring the absorbance and fluorescence intensity, the detection limit can reach 1 mg/L. Compared with the traditional spectrometer, the detector mainly detects the absorbance and fluorescence intensity to achieve the quantitative detection of biochemical substances. Due to the advantages of small size and compact structure, the detector largely reduces the design requirements and difficulties of detector optical path, and can realize site-on detect. Compared with other smartphone spectrum detectors, the detector can obtain the resolution reach 0.140 nm/pixel by detecting the first-order spectrum and optical path collimation is not necessary. The experiments prove that the detector is expected to achieve wide range applications in the fields of biochemical detection and food monitoring.

**Keywords:**Smart phone; Optical fiber; Absorbance; Fluorescence

## 1 传感器设计背景和应用价值

### 1.1 设计背景

光谱分析作为目前分析检测和科学研究的重要手段，被广泛用于生物检测、化学分析、环境监测、医疗诊断和传感等领域，主要的光谱检测手段包括吸收光谱<sup>[1]</sup>、发射光谱<sup>[2]</sup>、反射光谱<sup>[3]</sup>、拉曼光谱<sup>[4]</sup>和 SPR 光谱<sup>[5]</sup>，它们是通过紫外分光光度计、荧光光谱仪、拉曼光谱仪和红外光谱仪等精密设备实现。这些商用仪器虽然具有较高的检测精度和分辨率，但体积较大，结构复杂，成本高昂，通常只在研发部门或科研实验室等重要场合使用，昂贵的价格更是使得这些仪器难以在人民的日常生活中普及。为了满足低成本和随时随地能够实现光谱分析与检测的需求，便携式光谱仪被开发出来，体积小和便于携带等优点很大程度弥补了常

见商用光谱仪的不足,但依旧存在操作不便和结构复杂的缺点。智能手机易于操作,便携性,良好的图像采集能力使得其能够代替一般的光谱仪实现光谱的分析检测,因此基于智能手机的光谱检测仪被研发出来。

许多科研团队以智能手机开发了便携式光谱检测仪并实现了应用,目前已报道的智能手机光谱仪主要是对吸收光谱、发射光谱、反射光谱、SPR 光谱和拉曼光谱进行检测,吸收光谱的检测主要采用透射式光路,利用光栅<sup>[6-9]</sup>或特殊元件<sup>[10, 11]</sup>实现透射光的色散,由摄像头采集图像并计算光谱实现检测,由于吸收光谱的应用非常广泛,已经存在大量关于检测吸收光谱的手机光谱仪的研究和报道。发射光谱的检测主要采用非透射式光路,利用光栅或特殊元件实现分光<sup>[12-14]</sup>,由摄像头采集图像并计算光谱实现检测,检测发射光谱的手机光谱仪研究较少,主要原因是该类手机光谱仪对光路的设计有较高的要求且实用性比吸收光谱差。反射光谱的检测主要采用反射式光路,利用光栅和特殊元件将反射光分散<sup>[15-17]</sup>,由摄像头采集图像并计算光谱实现检测,不仅应用广泛且具有良好的实用性,因此有较多的研究和报道。SPR 光谱的检测通常采用透射式光路,利用光栅的衍射作用实现透射光的色散<sup>[18, 19]</sup>,由摄像头采集图像并计算光谱实现检测,但需要额外制备传感探针和敏感单元,因此用于检测 SPR 光谱的智能手机光谱仪的报道并不多。拉曼光谱的检测主要采用反射式光路,利用二向色镜滤除激发光,光栅将拉曼散射光分散<sup>[20, 21]</sup>,由摄像头采集图像并计算光谱实现检测,由于光路复杂且需要特殊传感单元,检测拉曼光谱的手机光谱仪的研究与报道也较少。目前的智能手机光谱仪大多数只能检测一种光谱且主要用于生化检测领域,同时实现两种及以上光谱检测的智能手机光谱仪的研究较少, de Oliveira 等人<sup>[22]</sup>将透射光栅作为色散元件,采用透射光路实现了两种光谱的检测,在吸收模式下采用白炽灯作为光源,在发射模式下采用火焰作为激发光源,由摄像头采集图像并计算光谱实现了  $\text{Na}^+$  和  $\text{Fe}^{2+}$  浓度的检测。Arafat 等人<sup>[23]</sup>采用反射光栅作为色散元件,采用智能手机闪光灯和 LED 灯作为吸收光谱和发射光谱的光源,吸收光谱采用透射光路,发射光谱的检测采用垂直光路,由摄像头采集图像并计算光谱实现了 pH 和  $\text{Zn}^{2+}$  的定量检测。Zhang 等人<sup>[24]</sup>没有使用任何额外的光学元件,采用暗室作为检测环境,两盏紫外灯作为光源,由智能手机摄像头直接采集比色图像和荧光图像分别计算了吸收光谱和发射光谱,实现了碱性磷酸酶 (APL) 浓度的检测。虽然这些团队研制了通过吸收光谱和发射光谱检测实现生化定量检测的智能手机光谱仪,但还存在分辨率低、体积较大、结构较为复杂等不足,因此研制一种小巧紧凑且具有高分辨率的多功能智能手机光谱检测仪器有着重大意义。

## 1.2 应用价值

由于许多生物物质对人类的身体健康会造成很大的危害,传统的生化检测仪器难以携带,因此迫切需要一种能够实现现场检测的仪器对这些生物物质进行检测。对人体有害的生物物质如亚硝酸盐通常存在于腌制食品或者隔夜饭菜中,是引发癌症的重要因素,是人类饮食健康的重大威胁之一,因此对亚硝酸盐的检测也受到了巨大的关注;受到汞离子污染的水或者鱼类在被人食用后容易造成水俣病,给人类的健康带来了巨大的威胁,因此对水质的检测是非常有必要的。本文所设计的基于光谱检测的智能手机便携式生化检测仪能够快速便捷地进行定量检测,在环境监测、水质检测、食品安全检验等领域有着非常重要的应用价值。

## 2 创新点与优势

我们设计开发了一种通过检测吸光度和荧光强度实现生化检测的智能手机生化检测仪。该设备采用小型 LED 灯作为光源,透射光路和垂直光路构成样品检测模块;反射光栅作为色散元件,采用具有端面倾角的光纤作为光传输单元,端面倾角赋予光纤特殊的出光能力,与光栅紧密贴合的同时能够将光均匀分散在光栅反射面上,最大程度压缩空间提升了结构的紧凑性,此外,该设备主要以检测吸光度和荧光强度,无需准直透镜等光学元件进行准直,相较于多数手机光谱仪,光路结构更加简单,有效降低了设计难度,且光谱分辨率可高达  $0.140 \text{ nm/pixel}$ ;最后通过智能手机摄像头采集 1 阶光谱图像并计算光谱的吸光度和荧光强度实现定量检测。在仪器的搭建过程中,采用低成本的 3D 打印结构将样品检测模块和光路模块集成,再与智能手机组合成检测仪器,很大程度降低了仪器的成本和体积。通过检测 RhB 和 Rh110 的吸收光谱与发射光谱证明该设备在检测吸光度与荧光强度方面具有良好的性能,并成功通过吸光度和荧光强度的测量实现了亚硝酸盐的定量检测,检测限能够达到  $1 \text{ mg/L}$ ;该设计具备体积小,成本低廉,结构简单,检测速度快,功能多样等优点,具有良好的检测性能,有望在生化检测、食品安全监测等领域得到广泛的应用,具有巨大的市场潜力和发展前景。

## 3 实现方案简介

### 3.1 设计原理

本文提出了一种可同时实现对吸光度和荧光强度进行检测的基于智能手机的便携式生化检测仪,该仪器采用 3D 打印的结构将样品检测模块和光路模块进行集成。双光路结构实现多种光谱信号的检测,其中透射光路能够用于吸光度检测,而垂直光路能够用于荧光强度

的检测，最大程度降低了激发光对荧光的影响，提高荧光信号检测的准确性。通过光纤端面的倾角和光路参数的优化能够实现光纤与光栅紧凑的结合，压缩空间，缩小仪器的体积，在保证光谱检测性能的同时提升了结构的紧凑性。最后通过智能手机摄像头采集 1 阶光谱图像并计算光谱的吸光度和荧光强度实现定量检测。

## 3.2 设计方法

该设备采用小型 LED 灯作为光源，透射光路和垂直光路构成样品检测模块，而反射光栅作为色散元件，并进行了光纤端面优化及光路优化，使其达到最佳效果。智能手机的 CMOS 传感器被用于图像采集，能够通过调节曝光度和积分时间调节光谱的强度，更加灵活便捷地实现光谱检测；并采用 Android studio 编写 APP 应用程序实现光谱信号的处理和显示。

## 3.3 实验验证过程

### 3.3.1 试剂的配置

分析纯级 Rhodamine B (RhB) 购买自阿拉丁(中国)，激光级 Rhodamine 110 (Rh110) 购买自麦克林，浓度为 100 mg/L 的亚硝酸盐标准液购买自阿拉丁，含量为 36-38% 的分析纯级浓盐酸 (HCl) 购买自国药控股，去离子水通过实验室的超纯水机自行制备。在室温条件下，将 0.01 g 的 RhB 粉末溶解在 20 mL 的去离子水中，通过漩涡混匀器搅拌均匀后得到 0.5 g/L 的 RhB 母液，稀释母液得到浓度分别为 0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、3 mg/L、4 mg/L、5 mg/L 和 6 mg/L 的 RhB 稀释液备用。将 0.002 g 的 Rh110 粉末溶解在 20 mL 的去离子水中，通过漩涡混匀器搅拌均匀后得到 0.1 g/L 的 Rh110 母液，通过稀释母液得到浓度分别为 1 mg/L、2 mg/L、3 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L 的 Rh110 稀释液备用。将 3600  $\mu$ L 浓度为 0.1 g/L 的 Rh110 母液与 200  $\mu$ L HCl 混合得到亚硝酸盐检测液，通过加入 400  $\mu$ L 去离子水和浓度分别为 10 mg/L、20 mg/L、30 mg/L、40 mg/L、50 mg/L、60 mg/L 的亚硝酸盐标准液得到 4 mL 不同浓度的亚硝酸盐检测样本，其浓度分别为 1 mg/L、2 mg/L、3 mg/L、4 mg/L、5 mg/L、6 mg/L。

### 3.3.2 光纤端面的优化

透射光和荧光经过光纤传输后照射在反射光栅表面形成光谱，但光纤端面的出光情况会受到光纤端面倾角的影响，导致光在光栅反射面上的照射面积发生变化，最终影响仪器的分辨率。为了使信号光能够均匀照射在反射光栅上并得到最佳的分辨率，对光纤端面倾角进行优化是非常重要的。首先用光纤切割刀将光纤端面切至预设角度，再采用粗糙度不同的研磨

纸和光纤研磨机对光纤端面进行精细的研磨，最终制得具有不同端面倾角的光纤，利用 520nm 的小型半导体激光器作为光源，比较光纤的垂直出光情况和水平出光情况并进行分析，以确定最佳的端面倾角。

### 3.3.3 光路优化

光路参数的差异会影响光谱图像，从而对光谱的强度、分辨率、完整性产生影响，这些参数主要包括光纤端面与光栅反射间距、光纤与光栅反射面的夹角和智能手机摄像头与光栅反射面的夹角，为了能够获得最佳的光谱图像，需要对光路的参数进行优化是很有必要的。通过调节光纤与光栅反射面之间的距离从而改变间距参数，采集不同间距的光谱图像并对图像进行比较和分析，选择合适的实现光纤与反射光栅间距对光路实现优化；通过调节光纤与光栅反射面的位置从而形成不同的夹角，拍摄不同夹角的光谱图像并对图像进行比较和分析，选择合适的光纤与光栅反射面夹角实现优化。通过调节智能手机的位置改变摄像头与光栅反射面夹角达到改变拍摄角度的目的，从不同拍摄角度采集光谱图像并对图像进行比较和分析，选择合适拍摄角度实现优化。

### 3.3.4 硬件设计及便携式生化检测仪的搭建

如图 1 (A) 所示，展示了便携式生化检测仪的 3D 原理图，设计了双光路样品检测结构，该结构具有两种光路，分别是用于检测吸光度的直线透射光路和用于检测荧光强度的垂直光路，其中垂直光路能够最大程度降低激发光的干扰，提高荧光强度检测的准确性，这种设计使得两种信号光的检测互不干扰，且在切换检测模式时无需更换元件，只需根据不同的检测物质选择不同波段的激发光源即可。光源采用额定功率为 3W 的小型 LED 灯，光纤作为传输单元，分别在两个光源和光纤前端设置聚焦透镜，利用透镜的聚焦作用提升信号光的强度，有利于光谱信号的检测。采用反射式衍射光栅作为光色散元件，信号光经光纤传输并均匀照射在光栅表面形成不同级次的衍射光谱，分别为 0 阶衍射光谱和 1 阶衍射光谱，0 阶衍射光谱虽然具有很高的强度，但彩色光带过于集中难以分辨，对分辨率有很大影响；1 阶衍射光谱虽然光强较低，但光带分散，通过对 1 阶衍射光谱的检测能够有效提高生化检测仪的分辨率，选择采集 1 阶光谱图像进行检测能够得到更易于区分的光谱信号；此外，由于该仪器主要针对信号强度的变化进行检测，对光路设计要求并不高，因此光纤出光端面无需增加准直透镜之类的光学元件，最大程度简化了光路，降低了设计难度和制作成本。图像采集元件选用智能手机 (Nubia Z17mini) 的 CMOS 传感器，其前置摄像头的像素为 1600 万，具有良好的拍摄性能。此外，集成样品池、光源和光路的样品检测模块与集成传输光纤、光栅

的光路模块的结构都是采用 3D 打印制作的，很大程度降低了仪器的成本。最终将两个模块与智能手机组合形成一体化的便携式智能手机生化检测仪，实物的正面与侧面如图 1 (B-C) 所示。

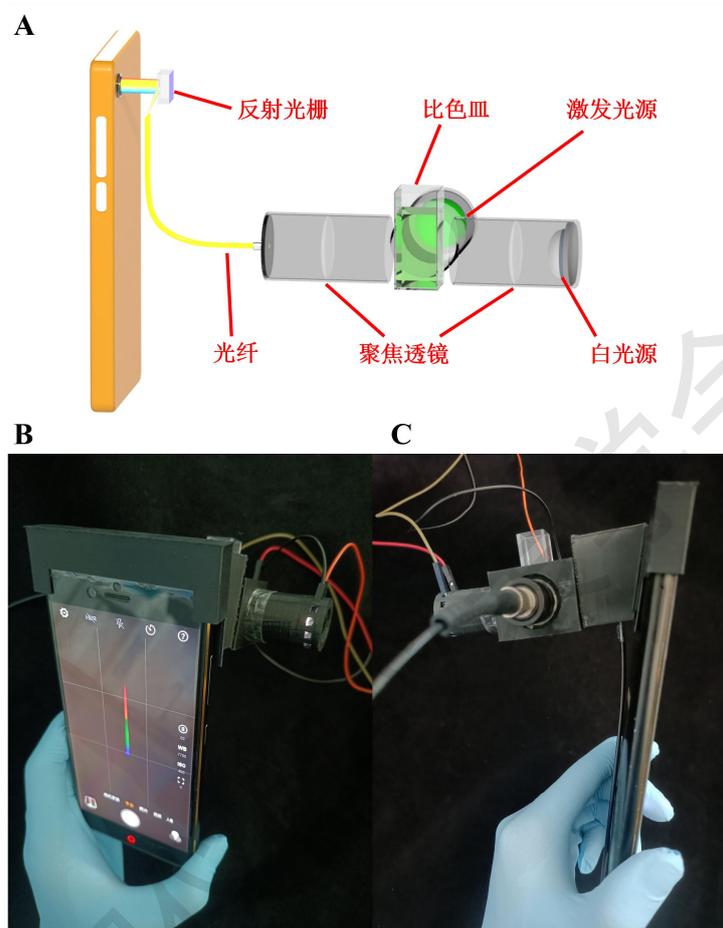


图 1 便携式生化检测仪的结构；(A) 整体结构；(B) 正面视图；(C) 左侧视图

### 3.3.5 图像处理及软件设计

为了实现光谱的检测、分析和显示，采用 Android studio 软件编写图像处理程序和手机 APP，对智能手机摄像头采集的光谱图像进行计算和处理能够得到吸收峰的吸光度和发射峰的荧光强度。首先，对原始的光谱图像进行有效区域的截取。完成图像的截取后，计算光谱图像中心线每个像素点的灰度值，计算的灰度值代表光的强度值。再将像素点的位置作为横坐标，像素点所对应的强度值作为纵坐标，绘制出像素光谱谱线，通过与像素-波长的对应关系进行标定绘制出波长光谱并得到吸收峰的吸光度和发射峰的荧光强度。其中吸收光谱与发射光谱还需要通过额外的步骤进行处理才能够得到，吸收光谱 $S_A$ 的检测是通过公式 $S_A = (S_S - S_B) / (S_R - S_B)$ 实现的，其中 $S_S$ 为信号光谱； $S_B$ 为暗光谱； $S_R$ 为参考光谱，吸光度。发射光谱 $S_E$ 的检测是通过公式 $S_E = S_S - S_B$ 实现的，通过上述处理后可得到吸收光谱与发射光谱。

软件的图标如图 2 (A) 所示, 主界面主要分为“光谱标定”和“光谱分析”两个功能, 如图 2 (B) 所示; 点击“光谱标定”按钮后进入标定界面, 主要有“加载图片”、“标定”、“保存”和输入标定波长四个功能组成, 点击加载图片可以从手机相册中选择图片, 加载图片完成后输入波长, 点击“保存”按钮保存光谱信息, 如图 2 (C) 所示; 保存的光谱达到三张以上即可点击“标定”按钮完成标定, 标定的数据如图 2 (D) 所示, 生成像素-波长对应的拟合曲线如图 2 (E) 所示; 点击“确认”完成标定后可通过主界面的“光谱分析”按钮进入分析界面, 主要功能包括“加载图片”和“分析”两个按钮, 如图 2 (F) 所示; 加载图片后点击“分析”即可完成检测, 可以得到相应的光谱图、峰值的波长以及强度, 便于定量检测, 如图 2 (G) 所示; 完成检测后, 可点击“导出”按钮即可进入光谱保存界面, 将光谱信息保存为 txt 文件, 便于后续的数据处理, 如图 2 (H) 所示。

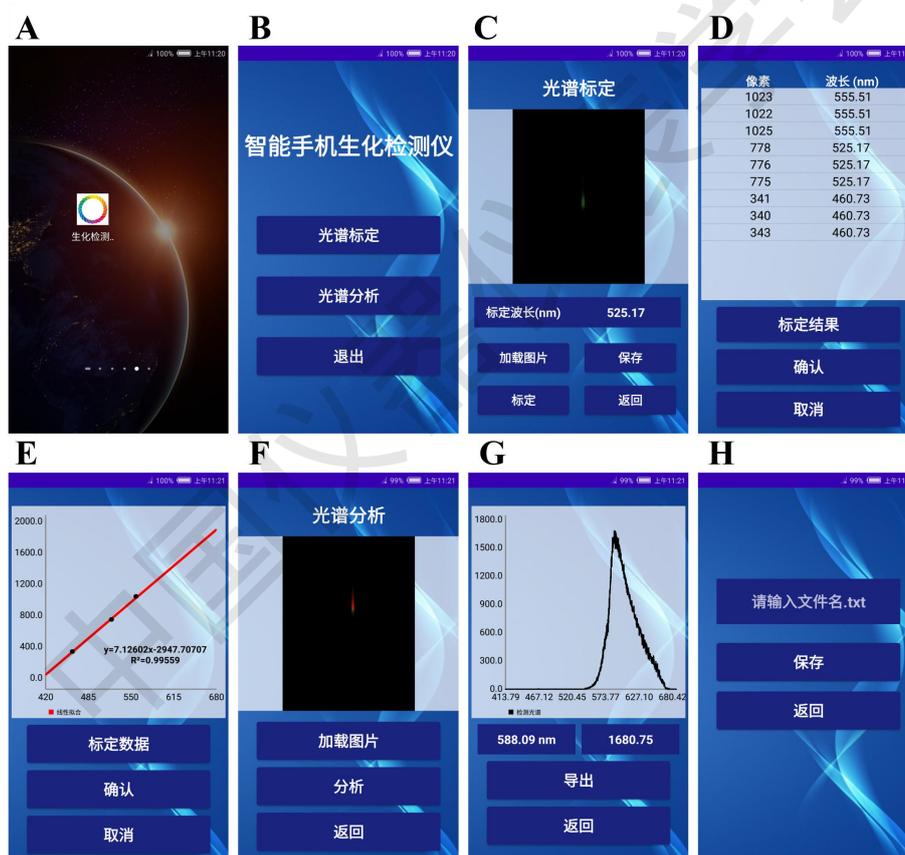


图 2 软件界面; (A) 软件图标; (B) 主界面; (C) 标定界面; (D) 标定数据; (E) 拟合曲线; (F) 分析界面; (G) 检测结果; (H) 导出界面

## 3.4 结果与讨论

### 3.4.1 光纤端面的优化

光纤端面倾角对光纤出光情况有很大的影响, 光在光栅上的分散情况决定了光谱图像的

形状和分辨率，因此对光纤端面倾角的优化是非常重要的。采用研磨纸和光纤研磨机对光纤端面倾角进行研磨，制得端面倾角分别为 35°，45°，60°，70°，85°的光纤，连接 520 nm 激光器后通过垂直和水平照射白纸得到垂直出光情况和水平出光情况。如图 3 (A-E)，从垂直出光情况来看，倾角为 35°时，光的强度很低，且大部分的光都被截取，导致出射光并不明显；45°时，光的形状为半椭圆形，有部分光在出射时被截取；60°时，光的形状为一个明显的椭圆，分散均匀且没有光被截取；75°时，光的形状还是椭圆，但与 60°的出光情况相比更接近圆；85°时，光的形状非常接近圆。通过实验能够很明显地发现，随着光纤端面倾角的增大，光被截取的部分逐渐消失，光的形状逐渐由椭圆变为圆，这是因为端面倾角的变化会引起光与出射面的夹角的变化，根据临界角 $\theta_c$ 的计算公式 $\theta_c = \sin^{-1}(n_1/n_2)$ 推算，其中 $n_1$ 为光疏介质的折射率， $n_2$ 为光密介质的折射率，当入射角度大于临界角时，光就不会发射折射而会发生全反射。光纤纤芯为光密介质，空气为光疏介质，改变光纤端面倾角会改变光与出射面的夹角，最终导致入射角发生变化，光纤倾角越小入射角越大，光纤中的光更倾向于发生反射而无法射入至空气，因此出现光很弱和光被截断的现象；随着光纤倾角的增大入射角减小，更多的光能够发生折射进入空气，并呈现出椭圆状；当倾角继续增大时，入射角再度变小，折射角也变小，射出的光更加集中，出光形状开始趋近于圆形。如图 3 (F-J) 所示，从水平出光情况来看，随着光纤倾角的增加，光的出射形状由点状逐渐发散，照射范围也逐渐增加，这是由于端面倾角的增加改变光与出射面的夹角，从而改变了入射角，入射角大于临界角会导致大量光无法折射出去，造成只有点状光的情况；随着倾角的增大，入射角随之增大，更多的光能够从纤芯中射出并照射在白纸上。由于光栅的大小有限，为了能够将信号光均匀地照射在光栅的反射面上，既不能让光过于集中形成圆形，也不能让光过于分散导致光强过低，因此选择具有 60°端面倾角的光纤作为传输光纤搭建生化检测仪是合适的。

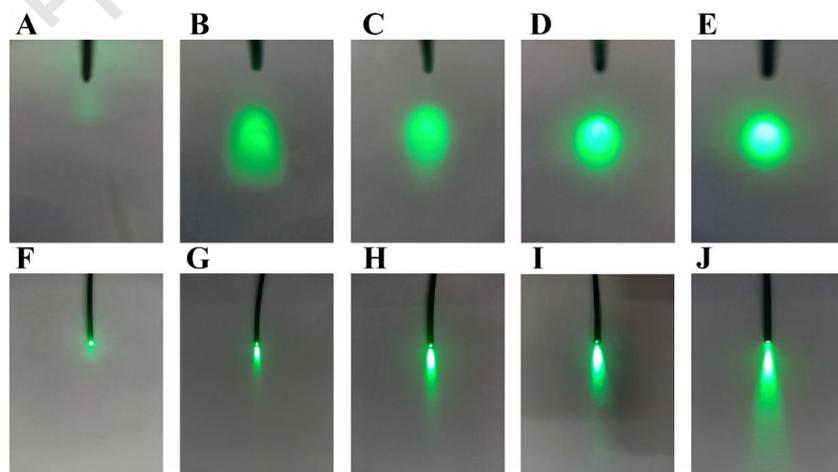


图 3 不同光纤端面倾角的垂直出光情况；(A) 35°；(B) 45°；(C) 60°；(D) 75°；(E) 85°；不同

光纤端面倾角的水平出光情况；(F) 35°；(G) 45°；(H) 60°；(I) 75°；(J) 85°

### 3.4.2 光路的优化

光学模块的参数对仪器的性能也会产生巨大的影响，主要的影响包括光谱图像的形状、分辨率和完整性，能够产生影响的主要参数包括光纤端面与光栅反射面的距离  $L$ ，光纤与光栅反射面的夹角  $\theta$  和智能手机与光栅反射面的拍摄夹角  $\gamma$ ，如图 4 (A) 所示。光纤与光栅反射面间距会对光谱强度和形状产生一定的影响，如图 4 (B) 所示，在保证光纤与光栅反射面的夹角  $\theta$  和手机与反射面拍摄夹角  $\gamma$  分别为  $0^\circ$  和  $-15^\circ$  不变的同时，光纤与光栅反射面间距从左至右逐渐减少，距离分别为 10 mm，8 mm，6 mm，4 mm，2 mm 和 0 mm，可以很明显的看出，随着间距的增加，光谱图像变细变长，有利于提高光谱分辨率，但光的强度也逐渐变弱，不利于光谱的计算，因此选择合适的间距非常重要，6 mm 的间距不仅能够有效提高光谱分辨率，而且能够保证反射光的强度足够高。光纤与光栅反射面的夹角会对光谱强度和光谱的完整性产生影响，如图 4 (C) 所示，在保证光纤与光栅反射面的距离  $L$  和手机与反射面拍摄夹角  $\gamma$  分别为 6 mm 和  $-15^\circ$  不变的同时，光纤与光栅反射面的夹角从左向右逐渐增加，夹角  $\theta$  分别为  $-10^\circ$ ， $-5^\circ$ ， $0^\circ$ ， $5^\circ$ ， $10^\circ$  和  $20^\circ$ ，可以很明显观察到随着夹角的增加，光谱的强度越来越高，有利于光谱的计算和检测。但随着角度的增加，在 1 阶光谱的旁边会出现干扰光带，同时还会出现 0 阶光谱，0 阶光谱的强度高容易引起过度曝光影响光谱的检测。除此之外，1 阶光谱的红色光带被截断消失，对光谱的完整性产生很大的影响，为了能够在保证光谱的完整性的同时兼顾光谱信号的强度，选择一个合适的夹角非常重要， $0^\circ$  的光纤与光栅反射面夹角在确保光谱完整的同时保证反射光具有一定的强度能够实现定量检测。光栅反射面的拍摄夹角会对光谱图像的形状和完整性产生一定的影响，如图 4 (D) 所示，在保证光纤与光栅反射面的距离  $L$  和光纤与光栅反射面的夹角  $\theta$  分别为 6 mm 和  $0^\circ$  不变的同时，智能手机摄像头与光栅反射面的夹角  $\gamma$  从左至右逐渐增大，夹角分别为  $-20^\circ$ ， $-15^\circ$ ， $-10^\circ$ ， $-5^\circ$ ， $0^\circ$  和  $5^\circ$ ，随着夹角的增加，光谱的强度没有出现明显的变化，但 1 阶光谱逐渐消失，并出现 0 阶光谱，因此选择一个合适的拍摄角度是非常重要的， $-15^\circ$  的夹角能够保证光谱的完整性，且光谱的形状为规则的条状，效果最好。考虑上述三种因素对光谱图像的影响，将光纤与光栅反射面的间距定为 6 mm，光纤与光栅反射面夹角定为  $0^\circ$ ，光栅反射面与智能手机摄像头的夹角定为  $-15^\circ$  搭建仪器的光路模块能够取得最佳的效果。

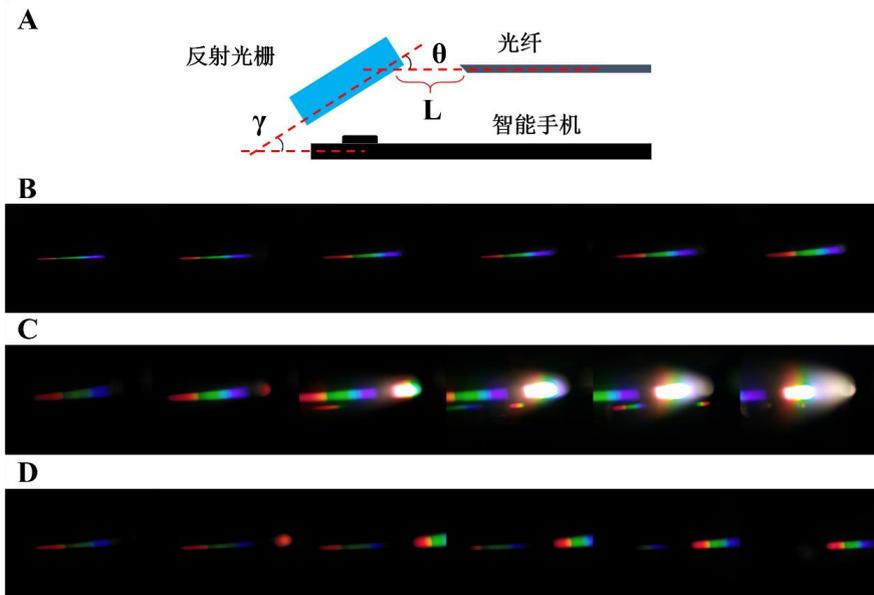


图 4 不同参数对光谱图像的影响；(A) 光路结构示意图；(B) 光纤端面与光栅的距离；(C) 光纤与光栅反射面的夹角；(D) 不同的拍摄角度

### 3.4.3 光谱标定

为了能够确定光谱中峰值的大致波长，需要对仪器进行光谱的标定，采用发射峰为 460 nm、525 nm 和 555 nm 的小型 LED 灯作为标定光源，光纤光谱仪作为校准的仪器，对生化检测仪进行光谱标定和校准。首先，采用智能手机采集光谱图像，并通过 Android studio 编写的 APP 计算出 LED 灯的光谱，再采用光纤光谱仪对 LED 灯的发射光谱进行检测，将生化检测仪计算出的像素峰位与光纤光谱仪测定的波长峰位对应，波长作为横坐标，像素作为纵坐标绘制出像素与波长的关系图，如图 5 所示，通过拟合可以得到线性拟合曲线  $y=7.12602x-2947.70707$ ，拟合相关系数高达 0.99559，能够很明显地看出像素与波长具有良好的线性关系，能够测定波长范围为 420-690 nm 的光谱，根据公式  $S = \lambda/P$  计算仪器的分辨率，其中  $\lambda$  为波长范围， $P$  为像素范围，光谱分辨率  $S$  能够达到 0.140 nm/pixel，与大部分手机光谱仪相比有所提高。

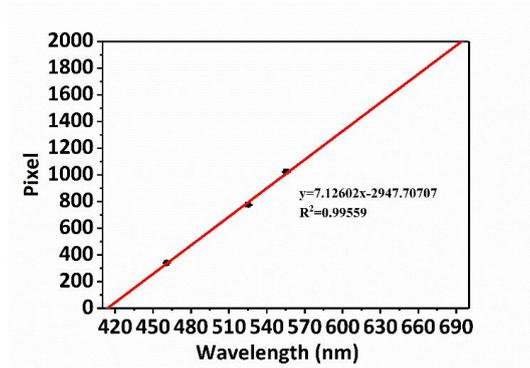


图 5 光谱的标定的拟合曲线

#### 3.4.4 RhB 和 Rh110 吸光度与荧光强度的检测

RhB 和 Rh110 具有良好光吸收和发光性能，常被用于细胞染色和生化检测，因此检测 RhB 和 Rh110 吸光度和荧光强度能够验证生化检测仪检测吸光度与荧光强度的性能，分别配置浓度分别为 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2 mg/L, 3 mg/L、4 mg/L、5 mg/L 和 6 mg/L 的 RhB 水溶液，浓度分别为 1 mg/L、2 mg/L、3 mg/L、5 mg/L、10 mg/L 和 20 mg/L 的 Rh110 水溶液。RhB 的吸收光谱图像如图 6 (A) 所示，吸收光为蓝绿光，随着浓度的增加，蓝绿光逐渐变暗直至消失，表明该波段的光被完全吸收了；Rh110 的吸收光谱图像如图 6 (B) 所示，吸收光为蓝光，随着浓度的增加，蓝光逐渐变暗直至消失，表明该波段的光被完全吸收。不同浓度 RhB 的吸收光谱如图 7 (A) 所示，RhB 的吸收峰波长为 555 nm，与实际相符；吸光度与浓度的关系如图 7 (C) 所示，随着浓度的增加，RhB 的吸收强度逐渐增加；不同浓度 Rh110 的吸收光谱如图 7 (B) 所示，Rh110 的吸收峰波长为 497 nm，与实际相符；吸光度与浓度的关系如图 7 (D) 所示，在 1-10 mg/L 浓度范围内，随着浓度的增加，Rh110 的吸光度逐渐增加，但在浓度达到 20 mg/L 时出现略微下降，可能的原因是单体分子聚集形成了大量的多聚体，多聚体的形成会导致对 497nm 光具有吸收能力的单体数量下降，因此吸光度出现了降低。

RhB 的发射光谱图像如图 6 (C) 所示，发射光为橙光，随着浓度的增加，橙色的光强度越来越高，表明发射光正在逐步增强；Rh110 的发射光谱图像如图 6 (D) 所示，发射光为绿光，随着浓度的增加，绿色的光强度越来越高，表明发射光正在逐步增强。不同浓度 RhB 的发射光谱如图 7 (E) 所示，RhB 的发射峰波长为 585 nm，与实际相符；发射强度与浓度的关系如图 7 (G) 所示，随着 RhB 浓度的增加，发射峰强度逐渐增强；不同浓度 Rh110 的发射光谱如图 7 (F) 所示，Rh110 的发射峰波长为 523 nm；发射强度与浓度的关系如图 7 (H) 所示，在 1-10mg/L 浓度范围内，随着 Rh110 浓度的增加，发射峰强度逐渐增加，但

浓度达到 20 mg/L 时，发射峰强度出现下降，原因可能是产生了大量的多聚体，多聚体会降低 Rh110 溶液的荧光强度，因此发射峰强度出现了下降。实验证明生化检测仪在吸收光谱和发射光谱检测方面具有良好的性能，能够通过测量吸光度和发射峰强度实现 RhB 和 Rh110 的定量检测，检测限分别能够达到 0.5 mg/L 和 1 mg/L，具有良好的检测性能。

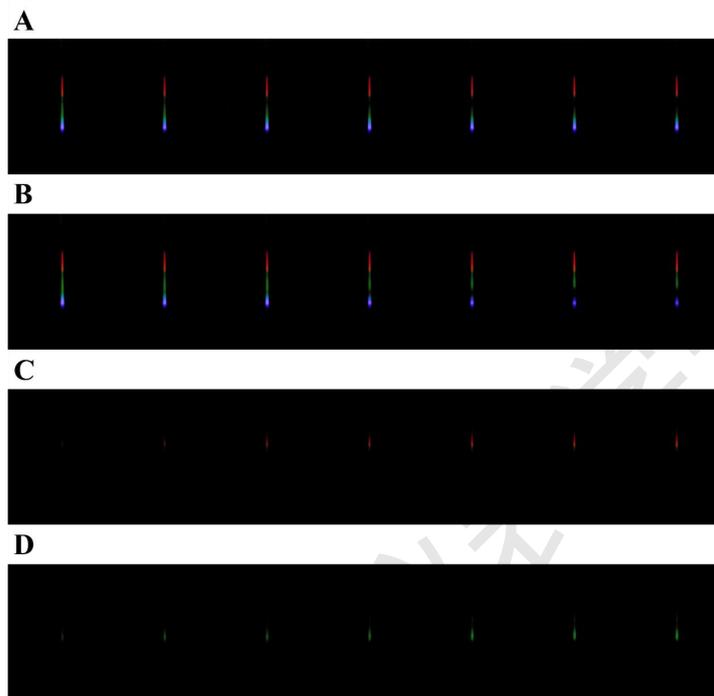


图 5 光谱图像；(A) RhB 吸收；(B) Rh110 吸收；(C) RhB 发射；(D) Rh110 发射

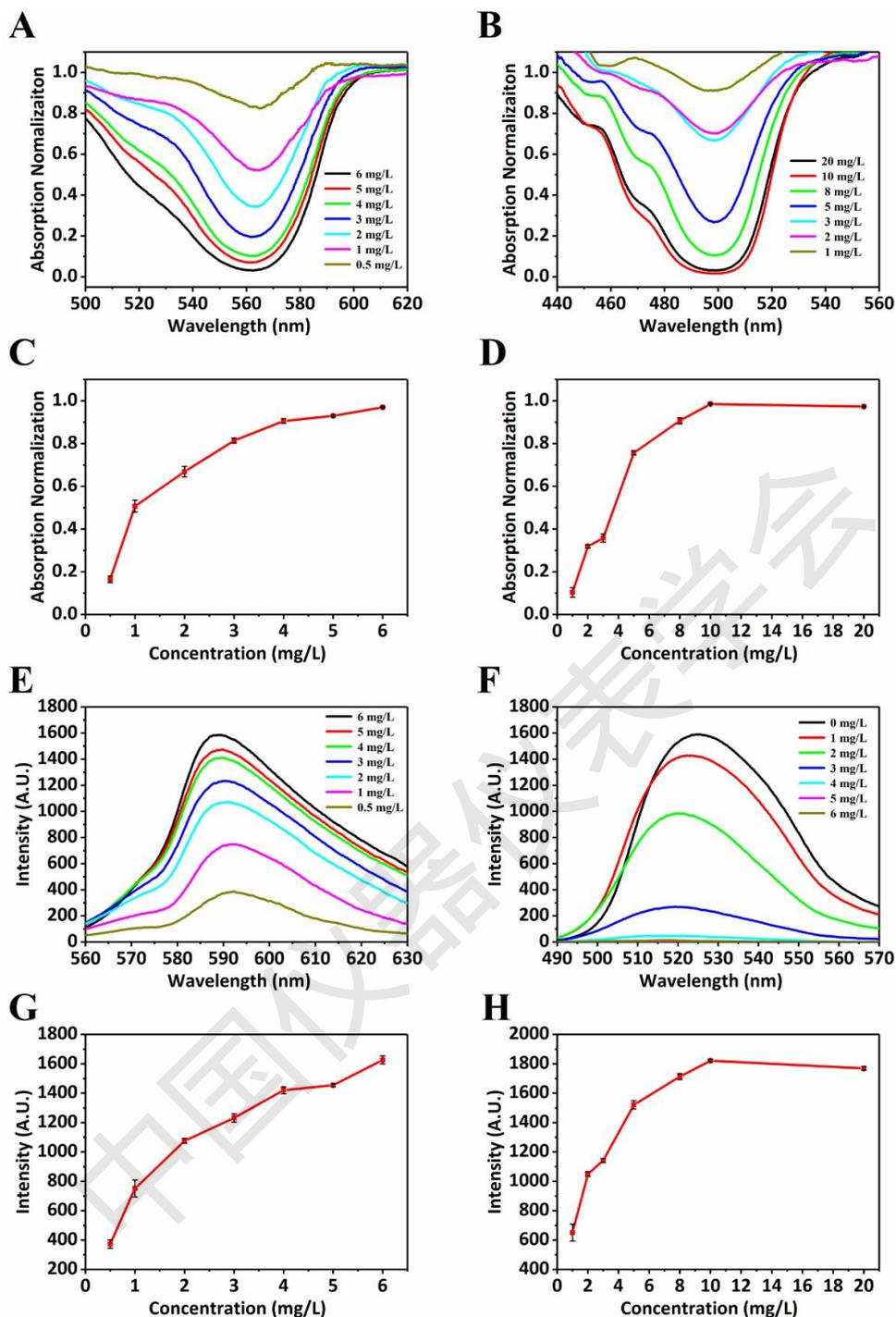


图7 RhB 和 Rh110 的吸收和发射；(A) RhB 吸收；(B) Rh110 吸收；(C) RhB 吸收曲线；(D) Rh110 吸收曲线；(E) RhB 发射；(F) Rh110 发射；(G) RhB 发射曲线；(H) Rh110 发射曲线

### 3.4.5 亚硝酸盐吸收光谱和发射光谱的检测

亚硝酸盐通常存在于腌制食品或者隔夜饭菜中，是引发癌症的重要因素，是人类饮食健康的重大威胁之一，因此对亚硝酸盐的检测也受到了巨大的关注。由于 Rh110 在酸性条件下会与亚硝酸盐反应引起荧光淬灭<sup>[25]</sup>，因此能够通过检测 Rh110 的吸光度和荧光强度实现

亚硝酸盐的定量检测。Rh110 浓度为 10 mg/L 时吸光度和荧光强度最强，因此将检测液中 Rh110 的浓度配置为 10 mg/L。不同浓度亚硝酸盐样品溶液的吸收光谱如图 8 (A) 所示，吸光度与亚硝酸盐浓度的关系如图 8 (C) 所示，在 0-5 mg/L 浓度范围内，随着亚硝酸盐浓度的升高，Rh110 的吸收峰和吸光度都出现了明显下降，而在 5-6 mg/L 的浓度范围内，吸收峰与吸光度没有出现明显变化，这主要是由于大量的 Rh110 分子与亚硝酸根离子充分反应，反应后剩余的 Rh110 分子很少，因此吸光度非常低且变化不明显。不同浓度亚硝酸盐样品溶液的发射光谱如图 8 (B) 所示，发射峰强度与亚硝酸盐浓度的关系如图 8 (D) 所示，在 0-5 mg/L 的浓度范围内，发射峰强度随着亚硝酸盐浓度的增加而出现明显下降，而在 5-6 mg/L 的浓度范围内，发射峰强度的变化较小，主要是由于 Rh110 与亚硝酸根离子充分反应，能够发出荧光的 Rh110 分子数量大幅下降，因此荧光强度很低且没有出现较大的变化。通过吸光度和荧光强度的检测证明该生化检测仪具有实现亚硝酸盐定量检测的能力，且检测限能够达到 1 mg/L，能够在实际生活中实现应用。

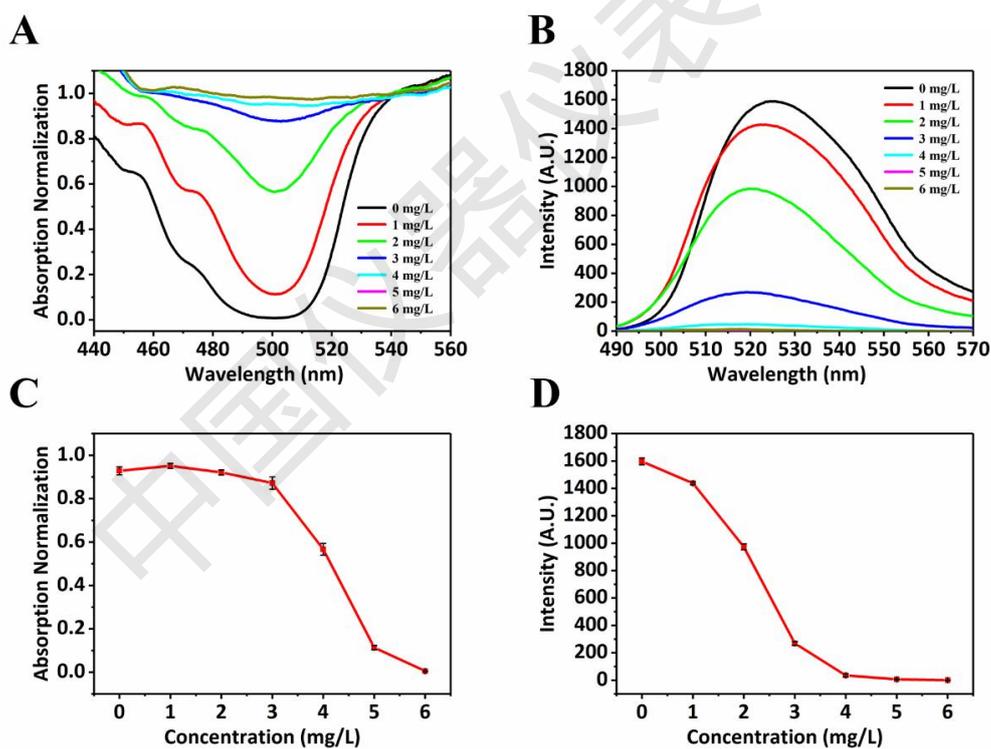


图 8 亚硝酸盐混合溶液的吸收和发射；(A) 吸收；(B) 发射；(C) 吸收曲线；(D) 发射曲线

#### 参考文献：

- [1] Botewad S N, Paturkar V G, Muley G G, et al. PANI-ZnO Cladding-Modified Optical Fiber Biosensor for Urea Sensing Based on Evanescent Wave Absorption[J]. *Frontiers in Materials*,

2020, 7.

- [2] Van Nguyen C, Matsagar B M, Ahamad T, et al. Unraveling the highly selective nature of silver-based metal–organic complexes for the detection of metal ions: the synergistic effect of dicarboxylic acid linkers[J]. *Journal of Materials Chemistry C*, 2020, 8 ( 15 ) : 5051-5057.
- [3] Li S, Li Y, Liu X, et al. An In-Situ Electroplating Fabricated Fabry-Perot Interferometric Sensor and Its Temperature Sensing Characteristics[J]. *Coatings*, 2020, 10 ( 12 ) .
- [4] Tzeng Y.Lin B Y. Silver SERS Adenine Sensors with a Very Low Detection Limit[J]. *Biosensors (Basel)* , 2020, 10 ( 5 ) .
- [5] Lu Y, Li H, Qian X, et al. Beta-cyclodextrin based reflective fiber-optic SPR sensor for highly-sensitive detection of cholesterol concentration[J]. *Optical Fiber Technology*, 2020, 56.
- [6] Wang L-J, Chang Y-C, Ge X, et al. Smartphone Optosensing Platform Using a DVD Grating to Detect Neurotoxins[J]. *ACS Sensors*, 2016, 1 ( 4 ) : 366-373.
- [7] Wang Y, Liu X, Chen P, et al. Smartphone spectrometer for colorimetric biosensing[J]. *Analyst*, 2016, 141 ( 11 ) : 3233-8.
- [8] Özdemir G K, Bayram A, Kılıç V, et al. Smartphone-based detection of dyes in water for environmental sustainability[J]. *Analytical Methods*, 2017, 9 ( 4 ) : 579-585.
- [9] Ding H, Chen C, Qi S, et al. Smartphone-based spectrometer with high spectral accuracy for mHealth application[J]. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2018, 274: 94-100.
- [10] Wang J, Sailor M J.Chang B Y. Fabrication of a Lateral Gradient Rugate in Porous Silicon for a Miniature Spectrometer Application[J]. *ChemElectroChem*, 2019, 6 ( 24 ) : 5967-5972.
- [11] Chuang E Y, Lin P Y, Wang P F, et al. Label-Free, Smartphone-Based, and Sensitive Nano-Structural Liquid Crystal Aligned by Ceramic Silicon Compound-Constructed DMOAP-Based Biosensor for the Detection of Urine Albumin[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 763-773.
- [12] Bi Z, Zhang Y, Zhang S, et al. A Handheld Miniature Ultraviolet LED Fluorescence Detection Spectrometer[J]. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2019, 86 ( 3 ) : 538-541.
- [13] Mai H H.Le T T. Testing edible oil authenticity by using smartphone based spectrometer[J]. *Computer Optics*, 2020, 44 ( 2 ) : 189-194.
- [14] Edwards P, Zhang C, Zhang B, et al. Smartphone based optical spectrometer for diffusive

- reflectance spectroscopic measurement of hemoglobin[J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1) : 12224.
- [15] Woodburn E V, Long K D, Cunningham B T, et al. Analysis of Paper-Based Colorimetric Assays With a Smartphone Spectrometer[J]. *IEEE Sens J*, 2019, 19 (2) : 508-514.
- [16] Chen C, Ding H, Yue Y, et al. The Self-Assembly Composite Photonic Crystal: Toward Easy Humidity Detection by a Smartphone[J]. *IEEE Photonics Technology Letters*, 2020, 32 (23) : 1469-1472.
- [17] João A F, Squissato A L, Fernandes G M, et al. Iron (III) determination in bioethanol fuel using a smartphone-based device[J]. *Microchemical Journal*, 2019, 146: 1134-1139.
- [18] Bremer K, Roth B. Fibre optic surface plasmon resonance sensor system designed for smartphones[J]. *Opt Express*, 2015, 23 (13) : 17179-84.
- [19] Lo S-C, Lin E-H, Lee K-L, et al. A Concave Blazed-Grating-Based Smartphone Spectrometer for Multichannel Sensing[J]. *IEEE Sensors Journal*, 2019, 19 (23) : 11134-11141.
- [20] Mu T, Wang S, Li T, et al. Detection of Pesticide Residues Using Nano-SERS Chip and a Smartphone-Based Raman Sensor[J]. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 2019, 25 (2) : 1-6.
- [21] Zeng F, Mou T, Zhang C, et al. Paper-based SERS analysis with smartphones as Raman spectral analyzers[J]. *Analyst*, 2018, 144 (1) : 137-142.
- [22] De Oliveira H J S, De Almeida P L, Sampaio B A, et al. A handheld smartphone-controlled spectrophotometer based on hue to wavelength conversion for molecular absorption and emission measurements[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 238: 1084-1091.
- [23] Arafat Hossain M, Canning J, Ast S, et al. Combined "dual" absorption and fluorescence smartphone spectrometers[J]. *Opt Lett*, 2015, 40 (8) : 1737-40.
- [24] Zhang S, Lu Z, Li S, et al. Portable smartphone device-based multi-signal sensing system for on-site and visual determination of alkaline phosphatase in human serum[J]. *Mikrochim Acta*, 2021, 188 (5) : 157.
- [25] Zhang X, Wang H, Fu N, et al. A fluorescence quenching method for the determination of nitrite with rhodamine 110[J]. *Spectrochimica Acta Part A-molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2003, 59 (8) : 1667-1672.