

USB 在单光子计数种子活性快速检测仪中的应用*

魏亚东, 邢 达, 何永红

(华南师范大学激光生命科学研究所, 广东 广州 510631)

摘要: 研制了一种超微弱发光单光子计数种子活性快速检测仪(FSAA)。该仪器利用单光子计数手段, 能够灵敏、直接并有对照性地检测种子的超微弱化学发光(TUCL), 获得种子的活力信息。该检测仪可以区分老化程度相差1季的水稻种子的超弱发光。本系统利用Cypress公司的EZ-USB AN2131Q芯片实现了单片数据采集和控制。介绍了通用串行总线(USB)的特点及其在数据采集过程中的优点。

关键词: 超微弱化学发光(UCL); 通用串行总线(USB); 数据采集; 种子活力

中图分类号: R318.51 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-0086(2002)10-1077-04

The Application of USB in the Fast Seeds Activity Analyzer

WEI Ya-dong, XING Da, HE Yong-hong

(Institute of Laser Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract A fast seed activity analyzer(FSAA) based on the detection of ultra-weak chemiluminescence(UCL) was developed. Using the analyzer, vigor of seeds could be quantified with the self-developed software. High sensitivity and good signal-to-noise ratio was achieved by use of single photon counting technique. This instrument can distinguish the rice seeds that are different one season in aging at least. The EZ-USB AN2131Q chip was engaged to dominate control and data-acquisition of the analyzer. The universal serial bus(USB) and its advantages in data acquisition were also introduced in this paper.

Key words: Ultra-weak Chemiluminescence(UCL); Universal Serial Bus(USB); Data acquisition; Seeds vigor

1 引言

生物体(组织)自身随其代谢过程进行着多种形式的能量转化, 其中一部分以极其微弱的光子流形式辐射出来就形成了生物系统的超微弱发光。这种光极其微弱, 所以须用高灵敏度的光电倍增管(PMT)经过放大和甄别后才能检测到其真实信号。

植物超微弱化学发光(UCL)在农业的应用是极有意义的课题。近年来, 大量证据表明食品与水的相互作用产生的UCL强度能反映食品的贮藏时间和质量, 如利用水和饼干等食品相互作用自发产生的检测其保质期的长短^[1]等。

检测植物的UCL需要将检测仪器和主机相连, 以便于对检测到的光强信息进行记录及分析处理。同

时, 在需要的时候还可以通过主机对检测仪器进行控制。传统的数据采集一般是通过在计算机内部插接数据采集板卡来实现的, 但是PC机的机箱容量及系统资源有限, 而且它的安装繁琐复杂, 一般需要专业人员进行安装调试, 从而制约了它的扩展。本文阐述了如何用通用串行总线(USB)开发新的数据采集系统以克服以上缺陷。

2 超弱发光单光子计数系统的构成

种子的UCL与其本身的生物活性之间的对应规律的理论依然处于探索阶段。在此阶段, 经过不同处理的种子的自发光有何不同, 是进行讨论的实验基础。如何在完全相同的环境下对经过不同处理的种子进行测量, 以得到相应的对照关系就成了实验首先要

* 收稿日期: 2002-04-15 修订日期: 2002-07-01

* 基金项目: 国家教育部骨干教师基金资助项目; 广东省自然科学基金团队基金资助项目(015012); 广东省环保局重点攻关资助项目(2000-

考虑的问题。如：要对比新旧种子的超微弱发光有何不同，需要对新旧种子在相同情况下进行测量才能真实的反应出他们之间的差别；给被测种子加某种淬灭剂使其活性发生一定的改变，以便于讨论其与外界环境等的作用时与没有加淬灭剂或者加其他淬灭剂的进行对比等；测量过程需要在不间断的环境下进行。出于测量要求的考虑，我们研制了单光子计数种子活力快速检测仪(FSAA)。图1给出了单光子计数

FSAA 系统框图。其中，PC 机部分主要用来控制测量并对所采集到的数据进行观察、记录并分析处理的；测量部分完全安置在全封闭的暗箱中(以减小外界干扰)，由托着 6 个完全一样的小样品池的托盘、用来转动样品托盘的步进电机、用来采集微弱光信号的 PM T 和之后的放大及甄别器、用来加试剂的蠕动泵、快门以及温度控制器等构成。

在系统中，核心是超微弱光信号的采集部分，它

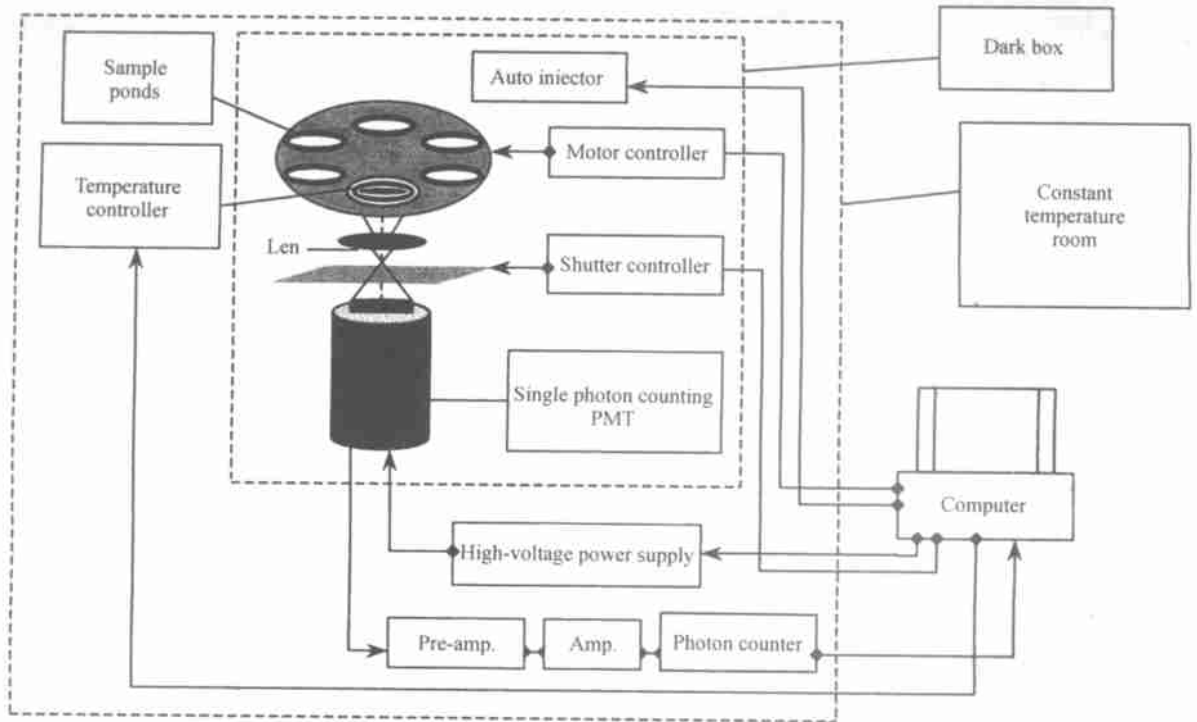


图1 UCL 单光子计数 FSAA 框图

Fig 1 A schematic representation of the single photon counting system for FSAA of UCL

由可进行单光子计数的 PM T 和与它联合工作的前置放大器、放大器和甄别器组成。微弱的光信号被 PM T 采集到并转换为电信号后被放大，再经甄别以后输出为标准的 TTL 脉冲，数值被 U S B 的数据采集卡记录并传给 PC 机显示和处理；样品室由放着完全相同的 6 个小样品池的托盘构成，托盘由电机按照试验的要求进行转动(电机的转速、转动角度可以通过程序来调整)；托盘上面是由继电器 PC 机程序控制的蠕动泵，测量过程中可以通过其对各种试剂进行定量添加而不需打开样品室的门，以免种子吸收光而产生延时发光等误差；温度控制器用来恒定暗箱内部温度，避免红外辐射的影响；快门用于托盘转动期间的遮光，测量时打开以得到精确的测量，由于 PM T 只有在电压稳定一段时间后能较好地工作于其线性区，用快门开关替代频繁的开关 PM T 的电源是用以

解决 PM T 的线性工作区问题的方法。另外为了标定样品池的位置，在托盘上安置了红外信号的发射和检测装置，托盘每转 1 圈就进行 1 次校准和判断，这样可以保证 PM T 所接受到的始终是在样品池的同一位置处进行测量，避免了由于测量位置偏差而造成的误差。因为是对超微弱光的检测，所以整个测量系统都放在自行设计的暗室中。测量部分输出的 TTL 脉冲被 U S B 采集卡采集后所得到的结果传送给 PC 机，PC 机同时通过 U S B 对继电器进行控制，从而达到开始采集、开始加试剂、停加试剂和停止采集等多个控制选项的目的。同时，测量部分通过 U S B 采集数据并传送给 PC 机，PC 机用 Lab V IEW 编写的软件进行显示和记录，以得到实验结果并进行统计分析。

系统的数据采集卡是我们自行开发的 U S B 数据采集卡。U S B 是由 Intel\Microsoft、BM 及 NEC 等



共同制定的微机总线接口规范^[2]。它具有较高的传输速度(U SB 协议 1.1 支持的最高传输速度为 12 M b p s, U SB 协议 2.0 支持的最高传输速度高达 480 M b p s), 能够满足测试的实时传输的要求; 支持即插即用和带电热插拔功能, 使得测试系统操作简单便捷, 只要在 U SB Cable 插到 PC 机的 U SB 接口上就可以实现实验数据采集的显示、记录, 并进一步由主机软件进行方便地处理, 用便携式电脑的现场作业不用另加插转接卡, 节约了成本, 提高了工作效率; 可通过 U SB Hub 进行层式星型拓扑连接(1 台主机理论上最多可连接 27 个 U SB 设备, 最多可实现 5 级的拓扑级连), 并支持主机和外围设备之间多个数据和信息流的传输, 这使得实现多台仪器的同时测量成为可能; 不占用更多的系统资源, 所以不容易象传统的采集卡那样会产生硬件的冲突; 可总线供电, 不再需要另外加接电源; 具有较高的传输可靠性, 可以保证传输数据的可靠性; 具有支持 Bulk、Isochronous、Interrupt 和 Control 传输模式等特点^[3]。U SB 的诸多优点适合于实现实验仪器和 PC 机的通信, 所以我们选择 U SB 作为通信接口开发了自己的数据采集部分。

我们设计了一种同步传输方式的单片方案, 应用内置微处理器的 EZ-U SB AN 2131Q 芯片。因为该芯片内部集成了微处理器, 缩短了开发时间, 提高了开发效率。EZ-U SB AN 2131Q 是 Cypress 公司的一种 80 脚芯片, 包含 3 个 8 位多功能口、8 位数据端口、16 位地端口、2 个 U SB 数据端口、2 个可定义为 16 位的定时/计数器和其他输入输出端口^[4]; 采用了一种基于内部 RAM 的解决方案, 允许客户随时不断的设置和升级, 不受端口数、缓冲大小和传输速度及传输方式的限制; 片内嵌有增强型的 8051 微控制器, 其 4 个

时钟的循环周期使它比标准 8051 的速度快 3 倍。

3 EZ-USB AN2131Q 数据采集原理

在该系统中, P M T 把所采集到的光信号变为电信号, 由于该信号比较微弱, 所以经过两级放大(前置放大和放大), 再由甄别器进行阈值甄别后, 输出标准 TTL 脉冲, 然后用 EZ-U SB、AN 2131Q 芯片上集成的 8051 内部计数器 T₀ 进行计数, 并把计数结果通过 U SB Cable 传送给 PC 机, 由 PC 机显示和记录。这样, 不间断地把 T₀ 的计数值送达 PC 机就实现了对超弱发光的实时检测。光子数对应光强, 光强则直接反映了种子的生理特性。

8051 对外来脉冲计数的原理为: 通过程序对计数器 T₀(或 T₁) 进行初始化, 使其工作在 16 位计数器模式。此时, 外部输入信号的下降沿将触发计数, 计数器在每个机器周期的特定期限内采样外部输入信号, 若 1 个周期的采样值为 1, 下 1 个采样周期的采样值为 0, 则计数器加 1, 故识别 1 个从 1 到 0 的跳变需要 2 个机器周期^[5]。对于 EZ-U SB AN 2131Q 内部集成的增强的 8051, 它的 1 个机器周期是 4 个时钟周期^[5]。所以, 对外部输入信号最高的计数频率是晶振频率 24 M H z 的 1/8。同时, 外部输入信号的高电平与低电平保持时间均需大于或等于 1 个机器周期。其时序图如图 2 所示。由图可以看到, 当外来脉冲过于狭窄, 也就是当计数过于高时, 计数结果就会有失真, 而我们所选择的芯片的晶振频率恰好能够满足实验要求的。

在数据采集的过程中, 需要一系列的控制。如采集的开始、结束; 试剂的加入; 快门的开闭等。这些都由主机在软件上通过 U SB 接口芯片来控制, 是在需要时给芯片的某个端口送 1 或者 0 来实现的。

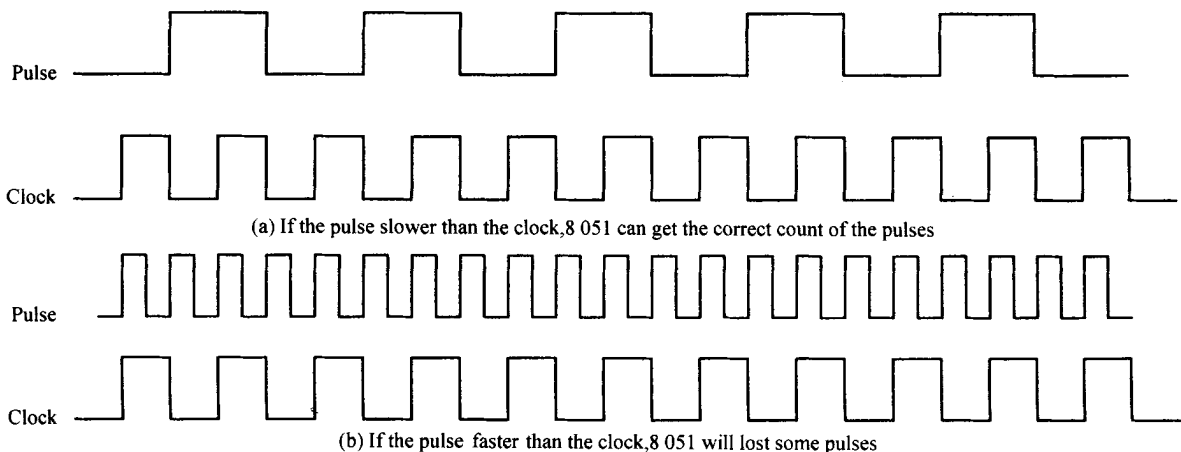
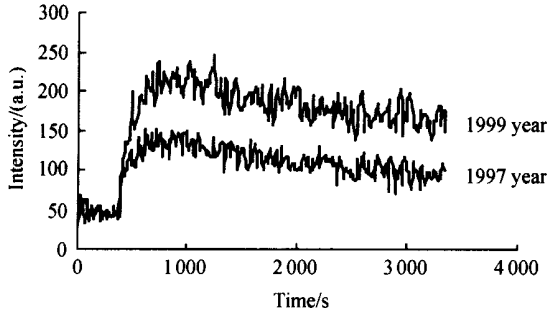


图 2 数据采集的时序图

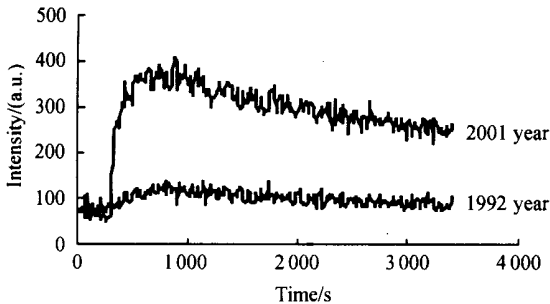
Fig 2 The timing diagram of data acquisition

4 实验结果与结论

图3是测量得到的2组实验结果。从图可以看到:所得到的结果具有很好的信噪比;新种子的超弱发光明显高于旧种子。由于不同年份的种子同时测量,减少了误差的产生。



(a) The ultraweak chemiluminescence from rice seed harvested in 99 and 97 year



(b) The ultraweak chemiluminescence from rice seed harvested in 01 and 92 year

图3 不同老化程度的种子的超微弱发光对比图

Fig 3 The ultraweak chemiluminescence from early rice seed of the different aging degree

实验结果表明仪器工作稳定;运行方便快捷;能够有效地检测动态指标,如在实验过程中对样品加水,以观察种子在吸涨初期的一些活性的信息等。我们还做了一些对比实验,如加选择性发光试剂海萤荧光素类似物(MCLA),观测它特异性地与单线态氧和超氧阴离子反映所产生的化学发光^[6]等。该过程中,我们可以通过暗箱内的蠕动泵来控制自动加入试剂

而不会影响到整个测量过程;而在测量过程中,温度和湿度等环境因素的保持也都相应地由仪器进行监测并在必要时给予及时修正。

USB数据采集部分独立于计算机之外,这使得利用便携式计算机进行现场作业成为可能;使用方便,不再需要由专门人员进行安装配置,直接插到计算机的USB接口上就可以使用;不占用箱的内部空间;而且由于放在机箱外,所以避免了传统的数据采集卡所难以避免的机箱内部板卡间的电磁干扰,使所获得的实验数据更加准确、稳定;不占用更多的系统资源以及灵活的拓扑结构,方便了USB数据采集系统的扩展;它的高速特性更使得以后进一步实现高精度的图像数据的时时监控、处理成为可能。

EZ-USB AN 2131Q 由于集成了增强的8051在其中,缩短了开发周期,减少了开发过程中的差错造成的途径,简化了整个系统的构成,方便了实验操作。

参考文献:

- [1] Slaw inska D, Slaw inski J, Chem ilum in scence of cereal products I Kinetics, A ctivation energy and effect of solvents[J] *J B iolum in Chem ilum in*, 1997, **12**: 249-259
- [2] U niversal Serial Bus Specification, Revision 1. 1, September 23, 1998
- [3] Don Anderson: U niversal Serial Bus System A rchitecture, M indshare, Inc 1997.
- [4] The EZ-USB Integrated Circuit Technical Reference M anual
- [5] 武庆生 单片机及其应用[M] 电子科技大学出版社, 2000 10
- [6] Nakano M. Detection of active oxygen species in biological systems[J] *Cellul M olecu Neurobio*, 1998, **18** (6): 565-579

作者简介:

魏亚东 (1977-),男,河北武邑人,2000年毕业生河北大学物理系获学士学位,同年进入华南师范大学激光生命科学研究所以攻读硕士学位,研究方向为超弱发光检测仪器的研制、USB数据采集系统的开发