**Hans**汉斯

# 便携式PCR实时光电检测系统设计

徐志凯<sup>1,2</sup>、瑚 琦<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>上海市现代光学系统重点实验室,上海 <sup>2</sup>上海理工大学光电信息与计算机工程学院,上海

收稿日期: 2025年2月24日; 录用日期: 2025年3月17日; 发布日期: 2025年3月26日

### 摘要

针对传统荧光聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)检测仪操作复杂、体积大、成本高的问题,设计了一款便携式实时荧光检测设备。该设备集光机电一体化,集成度高。光学系统基于Zemax光学设计软件优化,光能利用率可达90%以上。硬件电路以CH32V305FPB6芯片为主控,光源功率输出稳定,外围信号处理电路精度和采样信噪比高。结合Solidworks软件进行机械设计,将光学与电路系统集成,体积仅4.1 cm×3 cm×2 cm,可单独使用或集成于其他设备。经乙型肝炎病毒(HBV)样品测试,可快速准确判断阳性,经过高中低浓度样品检测测试10次变异系数CV值分别为0.01%、0.07%、0.62%,均小于国家标准的2%,线性实验相关系数为0.998,检测重复性和线性度好,具有良好应用前景。

# 关键词

便携式设备,聚合酶链式反应,荧光实时检测,光学设计,电路设计

# The Design of a Portable PCR Real-Time Optical Detection System

#### Zhikai Xu<sup>1,2</sup>, Qi Hu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Shanghai Key Laboratory of Modern Optical Systems, Shanghai <sup>2</sup>School of Optical-Electrical & Computer Engineering, University of Shanghai for Science & Technology, Shanghai

Received: Feb. 24<sup>th</sup>, 2025; accepted: Mar. 17<sup>th</sup>, 2025; published: Mar. 26<sup>th</sup>, 2025

#### Abstract

Aiming to address the issues of complex operation, large size, and high cost associated with traditional fluorescence Polymerase Chain Reaction (PCR) detection instruments, we have developed a portable real-time fluorescence detection device. This device integrates optics, mechanics, and

\*通讯作者。

electronics, achieving a high level of integration. The optical system is optimized using Zemax software, resulting in an optical efficiency exceeding 90%. The hardware circuit employs the CH32V305FPB6 chip as the main controller, ensuring stable light source power output and high precision in peripheral signal processing circuits with excellent signal-to-noise ratios. Mechanical design is conducted using SolidWorks software, integrating the optical and circuit systems into a compact unit measuring only 4.1 cm × 3 cm × 2 cm, which can function independently or be integrated into other devices. Testing with hepatitis B virus (HBV) samples demonstrates rapid and accurate positive detection. When testing samples at high, medium, and low concentrations, the coefficients of variation (CV) for ten repeated tests are 0.01%, 0.07%, and 0.62%, respectively, all below the national standard of 2%, and the linear experiment correlation coefficient was 0.998, indicating excellent detection repeatability and linearity. This device holds promising application prospects.

### **Keywords**

Portable Device, Polymerase Chain Reaction, Real-Time Fluorescence Detection, Optical Design, Circuit Design

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0). http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

# 1. 引言

当代社会,传染病已演变成为威胁人类生命安全的首要因素[1]。在此背景下,研制兼具高灵敏度、 强特异性和快速响应特征的病原体检测技术,对于精准溯源传播链、实施有效隔离措施具有关键性意义 [2]。美国科学家 Kary Mullis 提出的聚合酶链式反应[3]可以通过温度循环调控实现核酸指数级扩增,因其 具备微痕量样本检测能力和低假阳性率特征,已成为病原体核酸定性与定量分析的核心技术[4] [5]。

在分子诊断技术体系中,扩增产物的高效分离与精准检测直接影响检测系统的分析效能[6]。当前主流的检测方法主要分为光学检测与电化学检测两大技术。其中荧光光谱分析法通过检测受激分子发射的 二次光子强度实现定量分析[7],其检测灵敏度可达单分子水平,对于生物分析和检测仪器设计具有很大的研究价值[8]。该技术的光学架构设计涵盖正交型、非共焦型、共聚焦型、平行型等[9]。

传统的 PCR 扩增产物检测方法不仅灵敏度欠佳,而且在操作过程中还极易出现交叉污染的情况[10]。 与之相比,实时荧光定量 PCR 技术通过对反应样品内荧光信号的积累进行实时监测,能够对起始模板进 行定性及定量分析,不仅极大地拓展了其应用范围,还显著提高了检测的准确性和有效率[11][12]。然而, 普通 PCR 荧光检测仪器价格高、体积大且不便携带[13]。

基于荧光光谱检测法和实时荧光定量 PCR 技术,本文从光学系统装置设计和硬件驱动电路设计两方 面出发,研发了一套集成度高、价格便宜、操作简单、检测灵敏度较高的便携式快速荧光光电检测设备, 并将其与 PCR 扩增设备进行集成装配通过电机驱动循环扫描,进行多通道检测。荧光检测数据以 USB 口 输出传入电脑,通过上位机软件转换为曲线图像,进行检测结果分析,人机交互良好,可以实现随时随 地的传染病快速筛检,如一般的生活小区或者医疗不发达地区。

# 2. 总体设计

本系统主要分为光学系统模块、硬件驱动电路模块和上位机软件模块三部分。其中光学模块用于进 行样品激发和荧光收集,并通过 Zemax 光学设计软件进行设计优化,提高光能利用率和检测信噪比。硬 件驱动电路模块中恒流驱动电路负责对激发光源进行恒流驱动,确保光源持续稳定的输出;放大采样电 路模块将 PD 探测器接收到的荧光信号进行光电转换放大后接入单片机进行 A/D 模数转换输出;同时单 片机输出 PWM 脉冲对光源进行亮度调节,并且可以驱动电机带动探测器进行多个样品循环扫描检测; 上位机软件模块用于对采集到的数据进行波形转换和分析。系统设计框图如图 1 所示。



Figure 1. System design block diagram 图 1. 系统设计框图

- 3. Zemax 光学设计与仿真
- 3.1. 光学系统设计



**Figure 2.** Optical system structure diagran 图 2. 光学系统结构图

结合应用场景,光学模块基于共聚焦型光路系统进行优化,能对激发和收集光路的信号完成精准分离。在设计上主要分为激发光路与收集光路两部分。激发光路负责对激发光源进行准直和汇聚,并经激

发滤光片滤光后,再由二向色镜反射通过聚焦透镜以点汇聚的方式照射到待测样品的微小区域,对样品 进行激发,从而产生微弱荧光,同时仅收集该区域的荧光信号。收集光路则将激发后的荧光从共轭焦点 处反射回透镜进行收集和准直,再经过窄带探测滤光片过滤掉其余波段的杂散光,最后通过收集透镜汇 聚到 PD 光电探测器上进行光电信号转换与探测。整个光路结构简洁紧凑,仅需少量光学元件即可实现 较高的检测精度,使得设备具有较高的性价比且尺寸较小。整体光路结构示意图如图 2 所示,机械装配 图如图 3 所示。机械装置使用 Solidworks 软件设计,采用模块化和螺纹紧固的方式进行装配,共轴度较高,可以较好地保证该装置的光学性能。



Figure 3. Optical module assembly drawing 图 3. 光学模块装配图

#### 3.2. 非球面透镜设计原理

激发光路中的光线汇聚与收集光路中的荧光收集准直所使用的是同一个透镜[14],因此该透镜的设 计至关重要。为了在实现更好的荧光激发效果和收集效果的同时,更有效地矫正关键的球差和畸变,本 文选用了较大数值孔径的非球面凸平透镜,在被允许的尺寸范围内,将透镜口径设置为了10 mm。该透 镜朝向远处物方的第一面为凸形非球面,朝向聚焦焦点的第二面为平面。之所以采用这种形式,一方面 是因为其相较于球面透镜加工成本最低;另一方面,这种形式相比于平凸透镜具有较小的彗差,在使用 时可降低瞄准要求。其优势在于在达到相同成像质量的情况下,能够减少所需透镜的数量,从而实现更 小的光学系统。这不仅可以大幅降低成本和重量,更加便于加工,还能缩小整体结构尺寸,有利于提升 设备的便携性。如下为计算数值孔径 NA 的公式:

$$NA = n\sin\theta \tag{1}$$

在 ZEMAX 程序中, 轴对称高次非球面的方程表示成如下的形式:

$$Z = \frac{ch^2}{1 + \sqrt{1 - (1 + k)(ch)^2}} + a_2h^2 + a_4h^4 + a_6h^6 + a_8h^8 + \dots$$
(2)

其中, *c* 为表面极位置的曲率; *k* 为圆锥常数; *a*<sub>2</sub>~*a*<sub>8</sub> 为 2 阶及 2 阶以上变形项。在设计优化时,先优化 输出结构,然后在此基础上将 4 阶、6 阶非球面系数设置为变量进行优化,能够有效降低像差。

#### 3.3. 激发光路设计与仿真

进行激发光路设计时采用非序列模式,将已经设计好的非球面透镜数据导入,镜头数据参数如表 1 所示,工作波长选择 470 nm,工作距离为 6.60 mm,实体仿真图如图 4 所示。

Table 1. The lens data of the excitation optical path   表 1. 激发光路镜头数据			
Surface	Radius/mm	Thickness/mm	Semi-diameter/mm
0	Infinity	Infinity	0.000
1	Infinity	20.000	5.400
2	/	0.000	0.000
3	Infinity	0.000	10.000
4	/	-8.000	0.000
5	-5.492	-5.824	6.000
6	Infinity	-6.600	6.000









spor Diagram			
2024/11/12 Units are µm. Airy Radius: 1.6 Field : 1 RMS radius : 0.485	91 µm. Legend items refer to Wavelengths	Zemax Ansys Zemax OpticStudio 2022 R2.02	
GEO radius : 0.731 Scale bar : 4 Reference : Chief R	ау	Zemax_zmx-AC4202-A.ZMX Configuration 1 of 1	

**Figure 5.** Spot diagram of excitation optical path 图 5. 激发光路点列图 依据几何光学原理,可运用点列图量化像质进行评价。通过点列图中光斑的密集程度能够评判像质。 点列图中光斑面积越小,意味着光线越集中,像质就越好。从图 5 的仿真结果可看出,激发光路的点列 图中弥散斑光斑面积很小, RMS 半径为 0.485 μm,小于艾里斑半径,说明该系统的像质接近衍射极限。 从图 6 的仿真结果可看出,其圈入能量分数接近衍射极限,表明在较小半径处光斑能够圈入较多能量, 且光线能高效地聚焦于一点,聚焦效果优良。MTF 曲线可以直观地反映光学系统的成像质量,从图 7 可 看出,激发光路的 MTF 曲线接近衍射极限,系统成像质量较好。



**Figure 6.** Energy-in diagram of diffraction rings in the excitation optical path 图 6. 激发光路衍射圈入能量图



**Figure 7.** MTF curve diagram of the excitation optical path 图 7. 激发光路 MTF 曲线图

# 3.4. 收集光路设计与仿真

收集光路的设计基于两个相同的已经设计好的非球面透镜,镜头数据参数如表 2 所示,工作波长选择 525 nm,工作距离为 6.72 mm。图 8 为实体仿真图。

2. The lens data of the light-collecting optical path 收集光路镜头数据			
Surface	Radius/mm	Thickness/mm	Semi-diameter/mm
0	Infinity	6.725	0.000
1	Infinity	5.800	6.000
2	-5.541	6.672	6.000
3	5.541	5.800	6.000
4	Infinity	6.724	6.000
5	Infinity	/	/



Figure 8. Physical diagram of the collection optical path 图 8. 收集光路实体图





#### Surface: IMA

Spot Diagram		
2024/11/12 Units are μm. Field : RMS radius :	Airy Radius: 0.8833 µm. Legend items refer to Wavelengths 1 0.664	Zemax Ansys Zemax OpticStudio 2022 R2.02
GEO radius : Scale bar : 4	1.214 Reference : Chief Ray	Zemax_zmx-AC4202-Azmx Configuration 1 of 1

**Figure 9.** Spot diagram of the collection optical path 图 9. 收集光路点列图

从图 9 的点列图可看出,该收集光路的点列图中弥散斑光斑面积同样很小,RMS 半径为 0.664 μm, 小于艾里斑半径。从图 10 和图 11 的仿真结果可看出,该收集光路的圈入能量分数和 MTF 曲线都接近衍



射极限。说明该收集光路系统光能利用率高,系统成像质量较好。

Figure 10. Energy-in diagram of diffraction rings in the collection optical path 图 10. 收集光路衍射圈入能量图



Figure 11. MTF curve diagram of the collection optical path 图 11. 收集光路 MTF 曲线图

# 4. 电路系统设计与实现

为了便于对转换后的光电信号进行检测和后续分析,本文设计了外围硬件电路系统来对其进行处理。 该电路系统包括电源模块、LED 恒流驱动电路模块、PD 信号放大及采样电路模块和 AD 模数转换电路模 块。整体流程与主控板实物如图 12 和图 13 所示。



Figure 12. Hardware circuit system flowchart 图 12. 硬件电路系统流程图



Figure 13. Main control board physical diagram 图 13. 主控电路板实物图

电源模块选取高效开关电流降压型 DC-DC 转换器 XL1509 进行电源电路设计,其输出电流最大可达 2 A。在设计中进行了降压及输入输出端滤波处理,用于为运放芯片 ADA4625 提供±5 V 双电源供电、为 激发光源 LED 提供+5 V 供电以及为 MCU 芯片提供+3.3 V 供电。该模块具有纹波噪声低、输出过电流保 护等优势,可实现稳定可靠的电源输出,在信号检测时能大幅降低供电产生的电压噪声影响。

PD 光电二极管将检测到的荧光信号转化为电流信号,无法直接进行检测,故需设计专门的电路对其进行 I-V 转换和放大处理。本方案中转换后的电流信号十分微弱,所以采用了跨阻放大电路的设计。在运放选择上,由于检测电流在 nA 以下,综合比较后选择了 JFET 类型的 ADA4625,该运放具有极高的阻抗、极低的偏置电流和较低的输入失调电压,同时增加了二级滤波电路进行滤波,能极大降低信号放大过程中产生的噪声影响。电路图如图 14 所示。



Figure 14. Transimpedance amplification sampling circuit diagram 图 14. 跨阻放大采样电路图

LED 光源的稳定激发对荧光信号的产生与收集至关重要[15],所以需要依据所用元件设计专门的稳

压恒流驱动电路。在设计电路时,选用了高精度的 LED 恒流驱动芯片,该电路模块能够实现光源持续稳定发光,并且光源亮度可通过 PWM 结合电位器的方式进行调节。电路图如图 15 所示。



Figure 15. Light source constant current drive circuit diagram 图 15. 光源恒流驱动电路图

AD 模数转换电路模块采用沁恒的单片机芯片 CH32V305FBP6 作为转换芯片,该芯片内置 12 位高精度 ADC。使用过程中采用双路 ADC 同步采样,结合 DMA 传输,加入了通讯中断处理机制,大大提高了数据传输速度。同时对双路采样数据进行差值分析和修正提高了测量数据的准确性,转换后的数字信号通过 USB 口进行输出,结合上位机软件进行数据采集与分析处理。

#### 5. 实验与分析

为验证该光电检测设备的功能,我们结合 PCR 变温扩增模块进行了灭活乙肝病毒的 PCR 扩增实验,获得多个反应样品,并使用该设备进行了检测重复性以及线性度测试。

在荧光检测系统研究中,高重复性系统可确保多次测量结果一致,提升数据可靠性与可信度,对后 续根据测量结果反映样品阳性物质浓度并进行精确化定标定量分析至关重要。

#### 5.1. 实验流程

在本研究中,采用灭活后的乙型肝炎病毒 DNA 作为扩增模板,构建了荧光定量 PCR 反应体系。该体系由特异性引物对、核酸模板、荧光标记物及纯水组成。实验设计包含阴性对照(无 HBV 核酸样本)与阳性对照(含标准 HBV 核酸样本)两组质控体系。同时通过模板 DNA 的浓度稀释构建了高、中、低三个浓度梯度的试剂样品,初始模板浓度为 10 ng/μL,配置后的反应体系浓度分别为 1.4 ng/μL、0.8 ng/μL、0.2 ng/μL。

检测过程如下:

(1) 将配置好的反应液样品放置于由温控系统进行加热和降温控制的温控装置上,将荧光检测模块 通过转接板集成在 PCR 扩增设备上,使得盛放反应液样品的试剂管待测端位于检测模块的工作距离,以 达到最好的检测效果。

(2) 通过相关程序脚本进行设置样品扩增所需的温度和循环周期进行扩增得到反应液。

(3) 将设备通过 USB 连接在电脑上,打开上位机软件,设置好相关参数和采样时间,在反应过程中 实时观察信号数据和荧光曲线。

(4) 观察荧光曲线, 根据荧光曲线的变化来判断样品是否为阳性。

#### 5.2. 实验数据处理与结果分析

经过转换之后,所测得的电压值的大小范围为 0 V~3.3 V 之间。病毒核酸扩增反应液的检测结果如 图 16 所示。从图中能够看出,荧光曲线在样品未扩增时电压值为 0 V,当样品扩增完成后,荧光曲线立 刻开始上升,并逐渐趋于稳定,稳定后的数值即为测得的荧光信号转换后的电压值,表明病毒检测结果 为阳性。所测得中浓度样品的电压转换值为 1.5 V 左右,高浓度样品的电压转换值为 2.7 V 左右,根据电 压值的大小可以判断病毒含量的高低。



Figure 16. Fluorescence detection curve graph 图 16. 荧光检测曲线图

Table	<b>3.</b> Fluorescence detection repeatability test data
表 3.	荧光检测重复性测试数据

数量	高浓度/V	中浓度/V	低浓度/V
1	2.7320	1.5010	0.3987
2	2.7324	1.4999	0.4012
3	2.7324	1.5028	0.4001
4	2.7322	1.5024	0.3998
5	2.7328	1.4995	0.3998
6	2.7326	1.5011	0.4061
7	2.7324	1.5015	0.4043
8	2.7322	1.5022	0.4033
9	2.7326	1.5016	0.4028
10	2.7322	1.5022	0.3999
CV (%)	0.01%	0.07%	0.62%

进行重复性测试时,使用该荧光检测设备对扩增反应后的高、中、低三个浓度梯度的反应液分别进 行连续多次检测,选取其中 10 次测试进行记录分析,测试数据和结果如表 3 所示。从表 3 中可知,高中 低浓度样品检测重复性测试的 CV 值分别为 0.01%、0.07%、0.62%,稳定性良好,远低于 GB/T 42753-2023《实时荧光定量 PCR 仪性能评价通则》中规定的荧光强度重复性 CV ≤ 2%,完全满足实验要求。

为了便于定量分析,将标准样品进一步稀释为了7个等浓度梯度,分别为0.2 ng/µL、0.4ng/µL、0.6 ng/µL、0.8 ng/µL、1.0 ng/µL、1.2 ng/µL和1.4 ng/µL。然后以信号转换值为纵坐标,样品浓度值为横坐标构建了荧光转换信号强度值与样品浓度的线性关系曲线进行线性度分析,测得其线性相关系数 R=0.998,达到了 GB/T 42753-2023《实时荧光定量 PCR 仪性能评价通则》中规定的荧光强度线性标准(R≥0.990)。线性关系图如图 17 所示。



**Figure 17.** Fluorescence conversion signal intensity value vs. sample concentration linear relationship plot 图 17. 荧光转换信号强度值与样品浓度线性关系图

### 6. 结论

本文所设计的便携式 PCR 荧光光电检测系统的光学模块借助 Zemax 光学软件仿真优化提升了光学 系统性能。聚焦和收集透镜采用较大孔径的非球面凸平单透镜设计,减少了透镜数量,缩小了结构尺寸, 大幅提高了性价比。电路系统采用两层板设计,通过专门电路设计和选用合适高性能芯片,进一步缩小 了整体尺寸,提高了信号检测信噪比。最后将其集成于 PCR 扩增设备上,对扩增后的 HBV 样品试剂盒 进行检测,通过实时读取荧光信号,快速准确地判断出了样品是否为阳性,达成了实验目标和要求。该 设备经过高中低浓度样品检测测试重复性均满足市场标准要求,为 PCR 荧光光电检测设备向微型化、低 成本、便携式的商业化产品发展提供了较大参考价值。

#### 基金项目

国家自然科学基金资助项目(62474112)。

#### 参考文献

- [1] Ackerman, C.M., Myhrvold, C., Thakku, S.G., Freije, C.A., Metsky, H.C., Yang, D.K., *et al.* (2020) Massively Multiplexed Nucleic Acid Detection with Cas13. *Nature*, **582**, 277-282. <u>https://doi.org/10.1038/s41586-020-2279-8</u>
- [2] 付强. 用于核酸快速检测的微流控装置研究与实现[D]: [博士学位论文]. 北京: 北京化工大学, 2023.
- [3] 尹居鑫, 夏丽萍, 邹哲宇, 等. 多重数字聚合酶链式反应技术及其应用[J]. 分析化学, 2022, 50(1): 25-38.
- [4] 戴皓正. 面向核酸现场检测仪器的荧光检测系统研制[D]: [硕士学位论文]. 厦门: 厦门大学, 2021.
- [5] 欧维正,秦万,王琼,等. 恒温扩增实时荧光检测快速诊断结核性脑膜炎的临床价值[J]. 检验医学, 2020, 35(11): 1169-1172.
- [6] 林港沅,杨秀娟,陈缵光. 微流控芯片荧光检测系统的研究进展[J]. 理化检验-化学分析, 2023, 59(6): 859-867.
- [7] 谢欣茹,杨波,潘帅,等.多通道 PCR 荧光检测仪的光学系统设计[J].光学技术,2019,45(5):531-534.
- [8] 杨佳羽, 曾俊添, 奚邦朝, 等. 面向核酸现场快速检测的多重实时荧光检测系统[J]. 应用光学, 2023, 44(4): 859-867.
- [9] 杨李彬. 基于不同微流控体系的实时 PCR 装置光电检测系统研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 中国科学院大学 (中国科学院长春光学精密机械与物理研究所), 2021.
- [10] 谢璐, 吴义才, 刘家宇, 等. 用于核酸检测的现场即时检测装置设计[J]. 生物医学工程, 2022, 41(2): 1672-6278.
- [11] Koo, S., Kim, Y., Park, C. and Lee, D. (2022) Compact Camera Fluorescence Detector for Parallel-Light Lens-Based Real-Time PCR System. *Sensors*, 22, Article No. 8575. <u>https://doi.org/10.3390/s22218575</u>
- [12] 郭佳. 便携式非洲猪瘟病毒快速检测系统研究[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东师范大学, 2023.
- [13] 张帅, 胡志刚, 杜喆, 等. 基于嵌入式 ARM 的微流控 PCR 检测系统设计[J]. 传感器与微系统, 2024, 43(1): 76-79.
- [14] 杨海涛, 刘桂礼, 孔全存, 等. 基于微流控芯片荧光成像检测仪研制[J]. 传感器与微系统, 2020, 39(9): 77-79.
- [15] 王丰琳,周新颖,王文晶,等.基于光源切换的发光二极管诱导荧光检测器的研制与评价[J].分析测试系统, 2021,40(10):1460-1466.