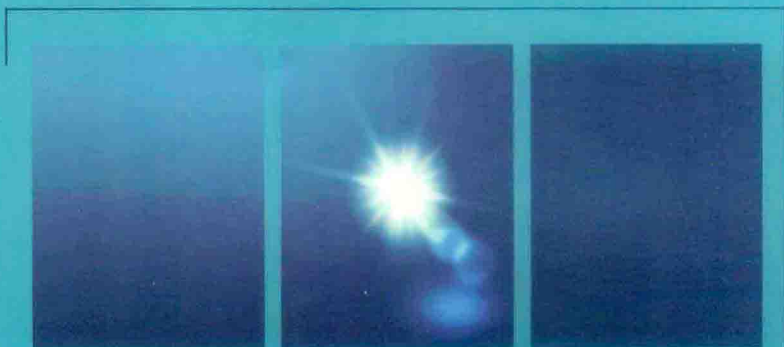


DANBAI NONGDU GUANGDIAN CESHU JISHU



# 蛋白浓度光电测试技术

王 高 著

 北京理工大学出版社  
BEIJING INSTITUTE OF TECHNOLOGY PRESS

# 蛋白浓度光电测试技术

王 高 著



北京理工大学出版社

BEIJING INSTITUTE OF TECHNOLOGY PRESS

## 内 容 提 要

本书较全面地介绍了一种基于共振瑞利散射, 适合现场检测的蛋白质浓度测试新技术。内容涉及国内外共振瑞利散射的研究现状、基本概念和基本理论, 重点介绍四羧基酞菁锌-蛋白质和四氨基酞菁铜体系的共振光散射光谱和吸收光谱; 详细介绍以蓝光增强光敏二极管的低噪声高增益光电放大器为探测器的血清蛋白质光电检测测试装置和实验方法。最后介绍血清蛋白浓度测试的实验结果和分析。

本书将理论、系统装置、实验技术及其当代科学研究方面的应用集为一体, 体现其系统性和科学先进性, 充分反映出作者对所论述问题的独到见解。本书对蛋白浓度的现场检测的应用研究具有重要意义。

本书可以作为电子工程、光学工程等相关专业研究生的教材和教学参考书, 还可以作为从事相关领域研究的教师、科学工作者的参考书。

版权专有 侵权必究

### 图书在版编目 (CIP) 数据

蛋白浓度光电检测 / 王高著. —北京: 北京理工大学出版社, 2014. 9  
ISBN 978-7-302-33955-3

I. ①蛋… III. ①王… IV. ①Q646.1

IV. ①Q646.1

中国版本图书馆CIP核字 (2014) 第 223955 号

出版发行 / 北京理工大学出版社有限责任公司

社 址 / 北京市海淀区中关村南大街 5 号

邮 编 / 100081

电 话 / (010) 68914775 (总编室)

82562903 (教材售后服务热线)

68948351 (其他图书服务热线)

网 址 / <http://www.bitpress.com.cn>

经 销 / 全国各地新华书店

印 刷 / 保定市中华美凯印刷有限公司

开 本 / 710 毫米 × 1000 毫米 1/16

印 张 / 7.5

字 数 / 165 千字

版 次 / 2014 年 9 月第 1 版 2014 年 9 月第 1 次印刷

定 价 / 29.00 元

责任编辑 / 王玲玲

文案编辑 / 王玲玲

责任校对 / 周瑞红

责任印制 / 王美丽

图书出现印装质量问题, 请拨打售后服务热线, 本社负责调换

# 目 录

1 绪论	1
1.1 研究背景和研究意义	1
1.2 国内外研究现状	3
1.2.1 测定蛋白质浓度的方法	3
1.2.2 共振瑞利散射法研究现状	7
1.3 本书研究内容	9
1.4 本书内容安排	10
2 理论与方案研究	12
2.1 散射原理	12
2.1.1 米散射	13
2.1.2 瑞利散射	14
2.1.3 共振瑞利散射	15
2.1.4 共振瑞利散射的应用	18
2.1.5 共振瑞利散射技术的发展	19
2.2 理论分析及验证	20
2.2.1 四羧基酞菁锌	20
2.2.2 四氨基酞菁铜	23
2.3 系统总体方案	26
3 金属酞菁配合物的合成	29
3.1 金属酞菁配合物的合成及表征	30
3.2 实验部分	31
3.2.1 仪器	31
3.2.2 试剂	32
3.2.3 金属酞菁配合物的合成	32
3.2.4 红外光谱测定	33
3.2.5 紫外-可见吸收光谱测定	34

3.3	结果与讨论 .....	35
3.3.1	红外光谱表征 .....	35
3.3.2	紫外-可见吸收光谱表征 .....	36
3.3.3	结论 .....	37
4	血清蛋白测量装置系统设计 .....	38
4.1	光学系统结构部件 .....	41
4.1.1	机械结构主体 .....	41
4.1.2	样品池 .....	42
4.1.3	光源投射单元 .....	43
4.1.4	激光束投射单元光学仿真 .....	56
4.1.5	散射光采集单元 .....	62
4.2	光电放大器 .....	67
4.2.1	光电探测器 .....	68
4.2.2	放大器电路 .....	74
4.2.3	光电放大器总体技术指标 .....	80
4.3	电路设计 .....	80
4.3.1	半导体激光器驱动电路设计 .....	80
4.3.2	信号处理电路 .....	82
4.3.3	显示电路 .....	85
4.4	小结 .....	86
5	实验结果与分析 .....	87
5.1	体系灵敏度影响因素 .....	87
5.1.1	主要仪器与试剂 .....	88
5.1.2	试验方法 .....	88
5.1.3	实验结果与讨论 .....	88
5.2	血清蛋白浓度测试实验 .....	91
5.2.1	实验仪器及试剂 .....	91

5.2.2	试剂配制 .....	92
5.2.3	实验环境搭建 .....	92
5.2.4	试验方法 .....	92
5.2.5	数据分析 .....	93
5.2.6	实验结论 .....	98
5.2.7	误差分析 .....	98
5.3	总结 .....	99
6	结论 .....	100
	参考文献 .....	102

# 1 绪 论



## 1.1 研究背景和研究意义

进入 21 世纪, 人类寿命在延长, 但是人们普遍存在亚健康问题, 结核病、类风湿关节炎、肝硬化、肝炎等疾病正在严重威胁着人的健康和生命<sup>[1]</sup>。而这些疾病主要是受血液中血清蛋白浓度的影响。蛋白质广泛存在于所有生物体细胞内, 是一类具有复杂结构和诸多生物学功能的重要生物大分子。蛋白质是构成生物体结构和功能的物质基础, 起着能量和物质的吸收、转化、传递等重要作用, 几乎参与了所有的生命活动。蛋白质是由多种氨基酸组成的肽链通过复杂的交互作用构成的。特定的构象决定了其特定的生物功能。人体中血清蛋白主要包括总蛋白、白蛋白、球蛋白<sup>[2]</sup>。其正常范围分别为: 总蛋白 60 ~ 80 g/L、白蛋白 40 ~ 55 g/L、球蛋白 20 ~ 30 g/L。所以, 临床上常用测定血清中蛋白质的浓度, 作为诊断疾病的重要指标之一。在临床诊断测试技术中, 发展的趋势一方面是在中心实验室广泛使用自动化综合测试, 另一方面是现场检测, 即 POCT (Point of Care Testing)。POCT 在临床诊断中是一个快速发展的领域, 它被认为是将来体外诊断市场的主要推动力之一<sup>[3]</sup>。

POCT 是指辅助的、临床的、快速诊断的、远程的和分散的实验测试, 它是在病人护理点进行的。它可以在医院、急诊室、医生办公室或

家中完成。通常不是由临床检验师来进行的<sup>[4,5]</sup>。POCT 仪器主要的特点是操作快速简便、试剂稳定性佳、便于保存使用和携带、仪器轻巧等,更重要的是,它可以减少诊所的访问量,住院时间,工作人员、设备和房地产的使用<sup>[6]</sup>。POCT 已经成为当前检验医学发展的潮流和热点。

目前,许多医疗实验都需要接近病人,从基本的血液血糖测定到混合的凝血测定、从传统实验室测试到及时检测的改变,缩短了有关进一步检查或治疗的决策的时间,比如不会再由于标本运输和准备而造成延误,测试结果可迅速提供诊断依据。随之而来的可能是更好的医疗效果和较低的成本<sup>[7]</sup>。在体外诊断市场中,POCT 现场诊断的年增长率是最快的(大约 10%)<sup>[3]</sup>。根据市场分析,2011 年,来自现场诊断市场的收入在美国达到 22.5 亿美元<sup>[8]</sup>,在欧洲达到 15.6 亿美元<sup>[9]</sup>。便携性和互联网功能的提升是现场诊断的主要市场推动力,这将使病人得到快速和及时的护理。

蛋白质 POCT 主要用于测试怀孕/排卵,例如 HCG (人绒毛膜促性腺激素); 传染性疾病,例如 CRP (C-反应蛋白); 心脏疾病,例如肌酸激酶 MB 和 hsCRP (高敏 C-反应蛋白)<sup>[10]</sup>; 癌症,例如 PSA (前列腺特异性抗原) 和糖尿病,例如血红蛋白等<sup>[3]</sup>。另外,POCT 在血液病学中也有广泛的应用<sup>[11]</sup>。但是,测定血清蛋白的 POCT 仪器当前还相对滞后,所以,对于患有肝炎、肝硬化等肝脏疾病的患者,测量血清蛋白的 POCT 仪器是十分必要的。用于蛋白测定的主要技术有凝集反应检测、免疫过滤检测和横向流技术<sup>[3]</sup>。其中横向流技术已在蛋白质测定的 POCT 仪器中得到应用,但是,基于这种技术的仪器有灵敏度低、准确性差等缺点。

针对这种需求和现有技术中存在的问题,本书对基于共振瑞利散射方法 RRS (Resonance Rayleigh Scattering) 测量血清蛋白浓度的 POCT 检测装置进行探索,为开发灵敏度高、选择性好、小型的血清蛋白浓度 POCT 仪建立相应的结构设计和理论。



## 1.2 国内外研究现状

### 1.2.1 测定蛋白质浓度的方法

蛋白质是生物体内最重要的物质之一，物质的逆转遗传、生命的起源和生物的进化等都与其有密切的联系。蛋白质的定量测定在临床和化学研究中具有很重要的意义，它是人体疾病诊断的重要指标<sup>[12]</sup>。目前已有许多对蛋白质进行定量分析的方法，如凯氏定氮法<sup>[13]</sup>、吸光光度法、荧光分析法、化学发光法、毛细管电泳分析法、共振光散射法等。

#### (1) 吸光光度法

① 双缩脲法<sup>[14]</sup>。双缩脲法也是早期使用的蛋白质定量分析方法。在强碱性溶液中，双缩脲与  $\text{Cu}^{2+}$  形成稳定的紫红色配合物，可用分光光度法测定蛋白质含量。该法灵敏度不高，选择性不强。陶健<sup>[15]</sup>等对双缩脲法使用的试剂和测定条件进行优化，从而使双缩脲法灵敏度提高，准确度和精密度也显著提高。

② Lowry 法。Lowry 法是将双缩脲试剂和 Folin - Ciocalten 试剂（磷钼酸盐 - 磷钨酸盐）结合使用，在蛋白质发生双缩脲反应后，再和 Folin - Ciocalten 试剂反应，该试剂在碱性条件下易被蛋白质中的酪氨酸的酚基还原，反应产物在 750 nm 处有最大吸收。此方法的线性范围宽，检出限为 0.1 mg/mL，灵敏度比紫外吸收光谱法的高 10 ~ 20 倍，比双缩脲法的高 100 倍，但它基于酸试剂与蛋白质的反应是非特效反应，抗干扰能力差。

③ 考马斯亮蓝法（Bradford 检测法）。考马斯亮蓝能与蛋白质分子中的疏水微区相结合，形成蓝色复合物。考马斯亮蓝 G - 250 随溶液酸度不同而呈现不同颜色。在酸性条件下，用乙醇配成橙黄色的溶液，最大吸收波长为 465 nm，当与蛋白质结合后，形成蓝色复合物，最大吸收波长为 595 nm，反应迅速而稳定。在 595 nm 处的吸光度值与蛋白质浓度成正比，此结论可用来测定蛋白质的含量。考马斯亮蓝法用于测定蛋白质的灵敏度高，耗时短。杨晋<sup>[16]</sup>等对这种方法进行了研究，认为

用此法测定蛋白质的适宜条件为温度不低于 24 ℃，反应时间不少于 3 min。

④ 染料结合的光度法。在蛋白质的临床分析中，尤其是血清蛋白和尿蛋白的测定中，染料结合法具有简便、快速、经济、准确的特点，受到人们的普遍关注，从而得到了广泛的应用。目前，在染料结合法测定蛋白质的方法中使用最多的染料主要有以下几类：酸性三苯甲烷类染料，例如溴甲酚绿（Bromocresol Green, BCG）法<sup>[17]</sup>、考马斯亮蓝（Coomassie Brilliant Blue, CBB）G-250 法和溴酚蓝（Bromophenol Blue, BPB）法<sup>[18]</sup>等；氧杂蒽类染料，例如藻红（Erythrosin B, EB）法<sup>[19]</sup>；羟基蒽醌类化合物，在酸性条件下，茜素红与蛋白质的反应产物在 540 nm 处有最大吸收，且吸光度与蛋白质浓度呈正比，反应时间短，干扰少，操作简便<sup>[20]</sup>；变色酸双偶氮类化合物，如偶氮胍Ⅲ<sup>[21]</sup>和偶氮磺Ⅲ<sup>[22]</sup>。

常见的染料测定蛋白质的吸光光度法见表 1.1（BSA——牛血清蛋白）。

表 1.1 常见染料测定蛋白质的吸光光度法

试剂	测定对象	pH	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	$\epsilon/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	线性范围 $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
敏试剂 (II)	BSA	4.0	624	$1.9 \times 10^5$	0 ~ 180
钍试剂 (I)	BSA	3.8	535	$3.65 \times 10^5$	20 ~ 160
硝基磺酚 C	BSA	3.4	675	$2.7 \times 10^5$	0 ~ 140
茜素红 S	HSA	4.3	530	—	10 ~ 900
铬蓝 SE	BSA	1.7	552	$5.4 \times 10^5$	0 ~ 65
偶氮胭脂红 B	BSA	—	570	$3.76 \times 10^5$	2.5 ~ 130
坚牢绿 FCF	BSA	1.4	660	$7.87 \times 10^5$	5 ~ 70
偶氮硝酸	BSA	3.0	680	$2.60 \times 10^5$	20 ~ 140
偶氮胍 M	BSA	2.3	625	$3.21 \times 10^5$	0 ~ 100
氯磺酚 S	BSA	2.4	632	$2.9 \times 10^5$	0 ~ 140
偶氮酸 I	BSA	1.4	529	$1.1 \times 10^6$	0 ~ 50
铬偶氮 KS	BSA	1.4	588	$2.97 \times 10^5$	10 ~ 140
氯磺酚 K	BSA	4.3	624	$2.49 \times 10^5$	0 ~ 240
变色酸 2C	BSA	3.82	560	$3.05 \times 10^5$	20 ~ 80
偶氮胍酸	BSA	1.5	612	$2.67 \times 10^5$	0 ~ 100

### (2) 荧光分析法<sup>[23]</sup>

当紫外光照射到某些物质的时候, 这些物质会发射出各种颜色和不同强度的可见光, 而当紫外光停止照射时, 这种光线也随之很快地消失, 这种光线称为荧光。利用某些物质被紫外光照射后所产生的、能够反映出该物质特性的荧光以进行该物质的定性分析和定量分析的方法, 称为荧光分析。随着新型仪器的不断应用和其他学科的迅速发展, 荧光分析法也取得了长足的进步, 推动了同步荧光测定、导数荧光测定、时间分辨荧光测定、相分辨荧光测定、荧光偏振测定、荧光免疫测定、低温荧光测定、固体表面荧光测定、荧光反应速率法、三维荧光光谱技术和荧光光纤化学传感器等多种新型荧光分析及荧光与其他分析方法的联用技术的出现和发展, 使荧光分析法的灵敏性和选择性不断提高。荧光分析法以其高灵敏度、高选择性、多信息量等优势, 广泛用于环境监测、生物医学、生物化学、临床分析, 以及从分子水平上对核酸、蛋白质、多肽等生物大分子及超痕量、超微量生物活性物质、单细胞内神经递质的分析等。荧光分析不断朝着高效、痕量、微观和自动化的方向发展, 已成为生命科学研究中重要的分析方法。常用的荧光分析法有内源荧光法和荧光探针法。常见的测定蛋白质的荧光光度法见表 1.2。

表 1.2 常见测定蛋白质的荧光光度法

试剂	测定对象	pH	$\lambda_{ex}/nm$	$\lambda_{em}/nm$	线性范围 $/(\mu g \cdot mL^{-1})$	检出限 $/(\mu g \cdot mL^{-1})$
藻红	BSA	4.5	317	550	1.36 ~ 20.4	0.16
钽(Ⅲ)	肾上腺素	6.6 ~ 7.2	305	550	0.005 ~ 3.4	0.0017
茚三酮-苯甲醛	HSA	8 ~ 9.5	372	450	0.68 ~ 34	0.18
萘红	BSA	4.03	348	556	1.0 ~ 4.0	0.1
四磺基铝酞菁	BSA	3.0	358	685	0.10 ~ 4.5	0.04
华青	BSA	5.0	765	812	0.4 ~ 12	0.07
姜黄素	BSA	2.5	428	530	0.005 ~ 20	0.0014

### (3) 化学发光法<sup>[24]</sup>

化学发光分析是根据化学反应产生的光辐射(化学发光)确定物质含量的一种痕量分析方法。产生化学发光的化学反应, 必须具备两个

条件：一是反应能释放出一定的能量，且能量可以被某种反应产物或中间体吸收，使其处于激发态；二是这种激发态物质具有一定的化学发光量子产率，或可以将其能量有效地转移给某种荧光物质，产生光辐射。化学发光可以产生于紫外、可见或近红外区，已知的化学发光反应主要产生在可见区。化学发光反应之所以能够用于化学分析，主要是因为化学发光强度与被测物质的浓度之间有一定的内在联系。对不同类型的化学发光，其分析的依据也不相同。

#### (4) 毛细管电泳分析法 (CE)<sup>[25]</sup>

毛细管电泳又叫高效毛细管电泳 (HPCE)，是 20 世纪 90 年代以来发展最快的分析方法之一，兼有普通电泳和色谱的双重优点，具有高效、快速、运行成本低、信息量大和易于自动化等特点。1981 年，Jorgenson<sup>[26]</sup>等首先提出了在内径为 75  $\mu\text{m}$  的毛细管柱内用高电压进行分离的可能性，创立了现代毛细管电泳。由于 CE 极大地满足了以生物工程为代表的生命科学各领域中多肽、蛋白质（包括酶、抗体）、核酸及脱氧核糖核酸 (DNA) 甚至单细胞的分离分析要求，短短十几年间得到快速发展。CE 是经典电泳技术与现代柱分离技术的结合。

#### (5) 共振光散射法<sup>[27]</sup>

光的散射与介质的不均匀性密切相关。如果介质是光学不均匀的，例如溶胶，分散相与分散介质折光指数相差较大，则产生的诱导偶极矩不同，次级辐射波不能抵消，这就出现光散射现象。在均相介质中，如果分子热运动引起密度或浓度的局部涨落，将使折光指数或介电常数也发生局部变化，则次级波不能抵消，也会出现光散射。

共振光散射技术有时也称为共振瑞利散射，其理论主要是从共振瑞利散射增强的角度出发的。介质中粒子大小不同，会产生不同的散射。当介质中的粒子直径远大于入射光波长 ( $\lambda_0$ ) 时，产生的散射可看成是反射和折射；介质中的粒子直径与入射光波长相近，会产生丁达尔散射；当介质中的粒子直径远小于入射光波长（如  $d \leq 20\lambda_0$ ）时，便产生以瑞利散射为主的分子散射。当瑞利散射波长接近分子的吸收带时，瑞利散射不再遵守  $I = 1/\lambda^4$  的瑞利定律，而且某些波长的强度将急剧提

高。这种现象称为共振增强瑞利散射或共振瑞利散射，由于共振瑞利散射具有瑞利散射和电子吸收光谱的双重特性，灵敏度与选择性都有所提高，这样弥补了瑞利散射信号水平低的缺陷，可以用于稀溶液中的分子研究<sup>[28]</sup>。

利用共振光散射可以测定蛋白质、核酸和糖类等大分子和高分子化合物的含量，因此分析工作者做了大量工作，研究了生物分子与其他物质相互作用的机理，并找到许多生物分子的探针，用来定量测定生物分子，并且努力提高方法的灵敏度、检测限，方法的抗干扰能力也有很大提高。其原理主要是基于以静电作用为主的体系中，当溶液的 pH 小于蛋白质等电点 (pI) 时，阴离子染料、阴离子表面活性剂，或当溶液的 pH 大于蛋白质的等电点时，阳离子染料、阳离子表面活性剂，与蛋白质肽链上带相反电荷的基团之间通过静电作用，形成蛋白质-染料或蛋白质-表面活性剂的复合物，其表现为染料或表面活性剂在蛋白质分子上堆积，产生增强的共振光散射信号。体系共振光散射增强程度与分析物各自的电荷性质、分析物之间的静电作用强度以及它们结合形成复合物粒子的大小紧密相关。由于各种蛋白质分子的大小和所带电荷情况不同，因此，用相同的共振光散射探针进行测定，其共振光散射响应强度不一样，故蛋白质种类不同时，所用的共振光散射探针不同，由此利用该现象达到对蛋白质进行定量测定的目的。

共振瑞利散射法现已成为继分光光度法、荧光分析法之后又一新的、高灵敏、快捷、操作简单的测定蛋白质的方法，开辟了生物大分子光散射探针研究的新领域。近 10 年发展极其迅速，这一技术已广泛应用于蛋白质的测定中。本书利用共振瑞利散射原理，将金属酞菁类化合物与人体蛋白质相结合，使得某些波长的共振瑞利散射强度急剧增强，从而完成对蛋白质的定量测定。

## 1.2.2 共振瑞利散射法研究现状

### (1) 国外现状

1944 年，Debye<sup>[29]</sup>在稀溶液中利用散射光强测定了高分子的相对分子质量，开始了其在化学领域中的应用。

1993年, Pasternack等第一次利用普通光源形成的共振光散射在荧光分光光度计上研究卟啉类化合物在DNA分子上的J型堆积, 将RRS (Resonance Rayleigh Scattering) 用于核酸的检测和研究, 并于1995年在《Science》上发表论文, 认为产生强烈的RRS主要是由于生色团的聚集作用<sup>[30]</sup>。

2000年, J. P. Prineas<sup>[31]</sup>等人用半导体多量子阱结构的激光对共振瑞利散射进行了实验和理论研究, 通过辐射具有不同时间的光, 确定了共振瑞利散信号快速衰减时间。2003年, H. Stolz<sup>[32]</sup>研究了半导体紊乱引起的谐振散射的一些问题, 涵盖了半导体材料的共振瑞利散射。

2001年, G. P. Petrova<sup>[33]</sup>等人提出了利用瑞利散射光和电子顺磁共振的方法检测水介质中的有毒重金属。

2010年, Ali、Mohd Sajid<sup>[34]</sup>等人利用小角中子散射(SANS)的内荧光共振瑞利散射(RRS)研究了兔血清蛋白(RSA)的阳离子表面活性剂十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)和十四烷基溴化(TTAB)。研究表明, TTAB能更迅速地溶解血清蛋白和分离蛋白, 比CTAB法更便捷。

2011年, Mohd Ayaz<sup>[35]</sup>等人基于离子缔FLD(氟他胺)的测定, 分析了共振瑞利散射、二级散射以及倍频散射方法。研究表明, 共振瑞利散射法(RRS)的灵敏度高于二级散射(SOS)和倍频散射(FDS), 并且讨论了RRS法的最佳工艺条件及影响因素的组成和反应机理。

## (2) 国内现状

1995年, 刘绍璞等<sup>[36]</sup>研究发现小分子之间在借助电荷转移作用、疏水作用和静电引力的情况下, 形成的离子聚合物能够产生强烈的共振瑞利散射信号, 这为RRS在金属、非金属和药物分析中的应用奠定了基础。

1997年, 黄承志等<sup>[37]</sup>发现生物大分子浓度与Meso-四卟啉在核酸分子表面缔合组装中产生的强烈共振光散射信号存在线性关系, 据此建立了定量测定生物大分子的新的分析方法——共振光散射方法。

2002年, 刘绍璞等人<sup>[38]</sup>利用阳离子表面活性剂(CS)与核酸反应

形成缔合物,在此过程中观察到了强烈的共振瑞利散射现象。研究发现,该方法因其选择性好,可用于测定微量的核酸;研究还发现,共振瑞利散射强度不仅与CS的相对分子质量和结构有关,而且其强度的变化与核酸构象的转变也有密切的联系。之后,杨睿、张莉等人<sup>[39,40]</sup>将共振瑞利散射技术用于蛋白质、糖类的定量测定。

2009年,龙巍然等人<sup>[41]</sup>提出了测定铀(IV)的共振瑞利散射光谱法。把钨酸盐与铀(IV)及罗丹明B形成的离子聚合物放入稀硫酸介质中,当介质中存在聚乙烯醇时,则在612 nm处会产生强烈的共振瑞利散射现象。

2010年,王媚等人<sup>[42]</sup>提出了用共振瑞利散射光散射法测定人体尿液和血浆中氟罗沙星的新方法。第二年,陈佩丽、刘绍璞等人<sup>[43]</sup>建立了选择性好、灵敏度高、快速准确测定尿液和血清中的法莫替丁(FMTD)的新方法;还探讨了三元混配物 $[\text{Hg}(\text{FMTD})\text{As}_2]$ 的形成对共振瑞利散射(RRS)光谱的影响以及引起共振瑞利散射(RRS)增强的原因。

### 1.3 本书研究内容

蛋白质定量分析是医学、生物、化学和其他学科中经常涉及的分析内容,又是临床检验中诊断和评价疗效的重要指标<sup>[44]</sup>,蛋白质定量测定在生命科学、临床、医疗、卫生等领域具有重要意义。共振瑞利散射法因其灵敏度高、操作简便的优点,用于蛋白质、核酸分析的研究受到越来越广泛的关注。POCT则因其方便、快速、准确、综合成本较低等特点,在传统医学发展成熟的今天凸显其特有的使用价值。因而本书将采用共振瑞利散射法对检测血清蛋白含量的POCT仪器的结构设计和理论进行研究。

目前,测量蛋白质溶液浓度的常用仪器有紫外可见分光光度计、荧光分光光度计等,而传统仪器设计的前提均基于实验室的应用,其光学部分往往复杂而精密,且体积庞大,耗电量大,因此使用条件苛刻,操

作复杂，不能胜任便携式测量的工作。近年来，国内外已经研制出了不少基于光纤技术的小型光度计，但这类产品却存在造价高、易损坏的缺点，大大限制了其推广。为此，本书构建了灵敏度高、选择性好、操作简便、小型的便携式蛋白质溶液浓度的 POCT 测量仪，并对它进行了实验验证。

针对现有蛋白质浓度测量仪器的体积大等缺点，提出了一种测定蛋白质浓度的新方法，即酞菁金属配合物与蛋白质溶液相结合，利用共振瑞利散射增强的方法来测定蛋白质的浓度。根据 POCT 测量装置的构想，设计相应的蛋白质试验装置，测量金属酞菁配合物与蛋白质结合物的 RRS 强度，处理实验数据并建立共振瑞利散射强度与蛋白质溶液浓度的关系式。本书主要的研究内容如下。

① 对共振瑞利散射法进行理论阐述，并明确这种分析法定量分析的依据，即光强度与分析物质的浓度成正比。

② 对系统进行设计，系统包括光学系统、机械系统、电路系统。由于传统光度计的光学部分中，光源和色散系统是直接影响体积的两个部件，为此，本方案采用经优选波长（能对酞菁锌与蛋白质溶液产生 RRS）的半导体激光器作为激发光源，省去复杂娇贵的色散系统。光路系统采用  $90^\circ$  散射结构，由透镜、滤光片等构成；经滤光后的 RRS 信号由低噪声、高增益的光电放大器探测；机械部分将光学系统中各部件精确固定，构成一个体积小、灵敏度高的便携式血清蛋白 POCT 测量分析试验装置。

## 1.4 本书内容安排

本书的主要章节安排如下。

第 1 章：阐述本书的研究背景和意义、测量蛋白质溶液浓度的各种方法和共振瑞利散射的国内外研究现状、蛋白质溶液浓度 POCT 测量的需求分析，最后对本书的主要研究内容进行介绍。

第 2 章：介绍测量蛋白质溶液浓度的一种新方法——共振瑞利散射



法。介绍共振瑞利散射原理、应用及介绍发展概况，酞菁金属配合物产生共振瑞利散射的理论及实验验证，基于共振瑞利散射法测量蛋白质溶液浓度总体框架和实验数据处理模型。

第 3 章：介绍金属酞菁配合物的合成方法。

第 4 章：介绍实验系统的总体设计，主要包括光学系统、机械结构和电路设计。

第 5 章：利用所设计的仪器对血清蛋白浓度进行实验测量，对实验数据进行分析，得出蛋白质溶液浓度与电压信号之间的关系。

第 6 章：对本书的研究工作进行了总结，指出了创新点，并提出了下一步研究方向。