

## 光学学报

## 生物气溶胶的光学探测技术研究进展与展望(特邀)

黄忠伟<sup>1,2\*</sup>, 姬源宗<sup>1</sup>, 王雍恺<sup>1</sup>, 周天<sup>1</sup>, 李武仁<sup>2</sup>, 霍雪飞<sup>1</sup><sup>1</sup>兰州大学大气科学学院半干旱气候变化教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000;<sup>2</sup>兰州大学西部生态安全省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州 730000

**摘要** 生物气溶胶作为大气中的重要组分,对区域气候、环境以及人类健康均具有显著影响。近年来,先进光学技术在生物气溶胶监测方面具有独特的优势,已被广泛应用于环境中细菌、花粉、病毒等生物气溶胶的实时探测。总结了国内外用于探测生物气溶胶数浓度、活性、大小与种类的典型光学手段,例如荧光散射、拉曼散射、质谱分析等,内容主要包括这些技术的探测原理、优缺点以及研究进展,最后给出了今后光学技术在生物气溶胶探测领域的发展趋势,为生物气溶胶前沿研究与业务应用提供参考。

**关键词** 生物气溶胶; 荧光散射; 拉曼散射; 质谱分析; 生物三磷酸腺苷自发荧光

**中图分类号** P412.25

**文献标志码** A

**DOI:** 10.3788/AOS241448

## 1 引言

生物气溶胶是大气中的主要气溶胶类型,包括细菌、真菌、病毒以及花粉等,广泛存在于大气环境中,对全球生态系统、气候环境以及人体健康均有显著影响<sup>[1]</sup>。生物气溶胶可以作为云凝结核(CCN)和冰核(IN),影响水循环和气候<sup>[2-3]</sup>。此外,生物气溶胶还会影响大气的辐射收支平衡,从而改变地表温度和气候<sup>[1,4-5]</sup>。生物气溶胶可以将沙尘、云雾等作为传输载体,对区域生物多样性、生态环境产生不容忽视的影响<sup>[1,6-8]</sup>。与其他气溶胶类型相比,具有过敏性和致病性的生物气溶胶会引发人类与动植物的疾病。尤其是近年来频发的季节性流感、禽流感以及新型冠状病毒感染(COVID-19)等重大疫情,进一步凸显了生物气溶胶检测在公共卫生领域中的关键作用<sup>[9]</sup>。

目前,针对生物气溶胶的检测技术主要分为离线分析和在线监测<sup>[10]</sup>。离线分析首先通过采样器采集生物气溶胶样品,然后使用培养法、显微镜(如荧光显微镜、扫描电子显微镜)分析、分子生物学检测(如聚合酶链反应、DNA测序、化学示踪)、免疫学检测等方法进行分析<sup>[11]</sup>,存在成本高、效率低和时效性差等问题<sup>[12]</sup>。与传统的离线方法相比,基于光学原理的在线探测技术因其实时、高灵敏度、高分辨率的优点,成为生物气溶胶研究的关键技术。其中激光诱导荧光(LIF)的应用最为广泛,在特定波长的激光激发下,可以依据荧光

物质的荧光光谱识别生物气溶胶。1994年,荧光激光雷达便投入使用<sup>[13]</sup>;基于LIF的实时生物气溶胶检测仪器,如紫外空气动力学粒径谱仪(UV-APS)、多波段生物气溶胶传感器(WIBS)等,也被广泛应用于生物气溶胶探测研究。与荧光光谱类似,依据拉曼光谱的特征峰,也可以有效识别花粉和细菌等生物气溶胶<sup>[14-16]</sup>。生物三磷酸腺苷(ATP)自发荧光检测也是生物气溶胶研究中不可或缺的重要技术,其与微流控芯片的组合更是活性微生物检测研究的热点<sup>[17]</sup>。但是,由于生物气溶胶的多样性以及时空分布的复杂性,相关探测技术仍面临着巨大挑战。

本文综述了基于光学原理的生物气溶胶先进探测技术,包括荧光散射、拉曼散射、生物ATP自发荧光反应以及质谱分析等手段,总结了这些方法的基本探测原理、优缺点及相关进展等。

## 2 生物气溶胶光学探测技术

生物气溶胶的探测是一项多学科交叉的前沿研究领域,涉及荧光散射、拉曼散射、质谱分析、生物ATP自发荧光、激光诱导击穿光谱以及微流控芯片等多种技术(图1),通过分析荧光光谱、拉曼光谱、质荷比等实现生物气溶胶的识别。

### 2.1 荧光散射

当某些物质受到特定波长光线的照射后,物质中的电子吸收能量并跃迁至高能级,电子处在高能级不

收稿日期: 2024-08-20; 修回日期: 2024-09-18; 录用日期: 2024-09-21; 网络首发日期: 2024-10-08

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFC3708202)、第二次青藏高原综合科学考察研究项目(2019QZKK0602)、首席科学家负责制项目(22JR9KA001)

通信作者: \*huangzhongwei@lzu.edu.cn

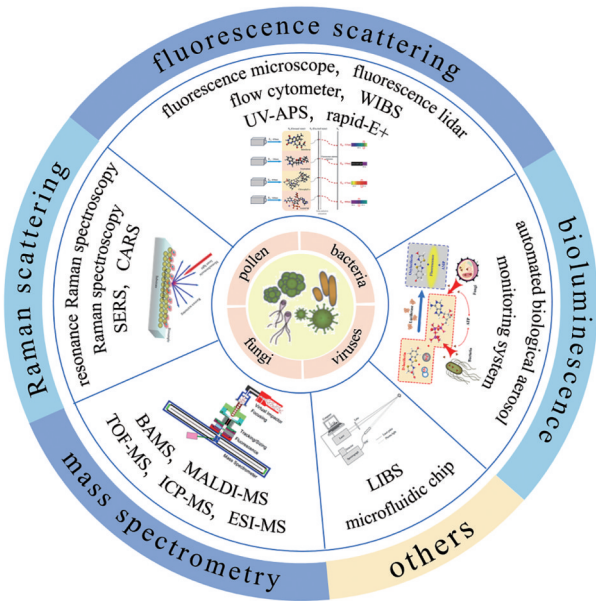


图 1 当前国内外学者广泛使用的生物气溶胶光学探测技术及其设备

Fig. 1 Bioaerosol optical detection technologies and equipment widely used by scholars over world

稳定态,会立即释放能量并跃迁至低能级,若这一放能过程产生特定波长的光线,则称之为光致发光现象<sup>[18]</sup>。荧光散射是一种特殊的光致发光现象,当荧光物质受到特定波长的激光照射时,其内部的分子、原子会吸收

一部分入射光能量并跃迁至激发态,随后通过释放能量复原至基态。在此过程中,入射光波长小于出射光波长,出射光被称为荧光<sup>[19]</sup>。图 2 展示了光致荧光的基本原理( $E_x$ 为激发波长, $E_m$ 为荧光发射波段的峰值)。荧光物质在受到特定波长激光的激发后会发出荧光,每种分子都会产生其特定的荧光光谱<sup>[20]</sup>。

激光诱导荧光技术可以对粒子进行非侵入性和近乎瞬时的检测,被用于快速检测生物战剂(BWAs)。几十年来研究人员对BWAs的检测研究促进了LIF仪器的发展和商业化,包括荧光显微镜、荧光激光雷达等。其中,商业化较为成熟的相关产品包括紫外空气动力学粒径谱仪(UV-APS)、多波段集成生物气溶胶传感器(WIBS)、花粉/生物气溶胶自动监测仪(SwisensPoleno Jupiter)、在线生物气溶胶探测器(BioScout)、实时颗粒物监测仪(Rapid-E+)、光谱强度生物气溶胶传感器(SIBS)、多参数生物气溶胶光谱仪(MBS)等。

### 2.1.1 荧光显微镜

荧光显微镜是专门用于观察和检测荧光现象的光学显微镜,通过使用高功率光源和激发滤色系统发射特定波长的激光来激发样品,使其产生荧光<sup>[21]</sup>。经物镜和目镜的放大,荧光即使很微弱,也能在强烈的对衬背景下被轻松辨认。这种显微镜特别适用于研究微生物的细胞结构及其化学成分<sup>[22]</sup>。

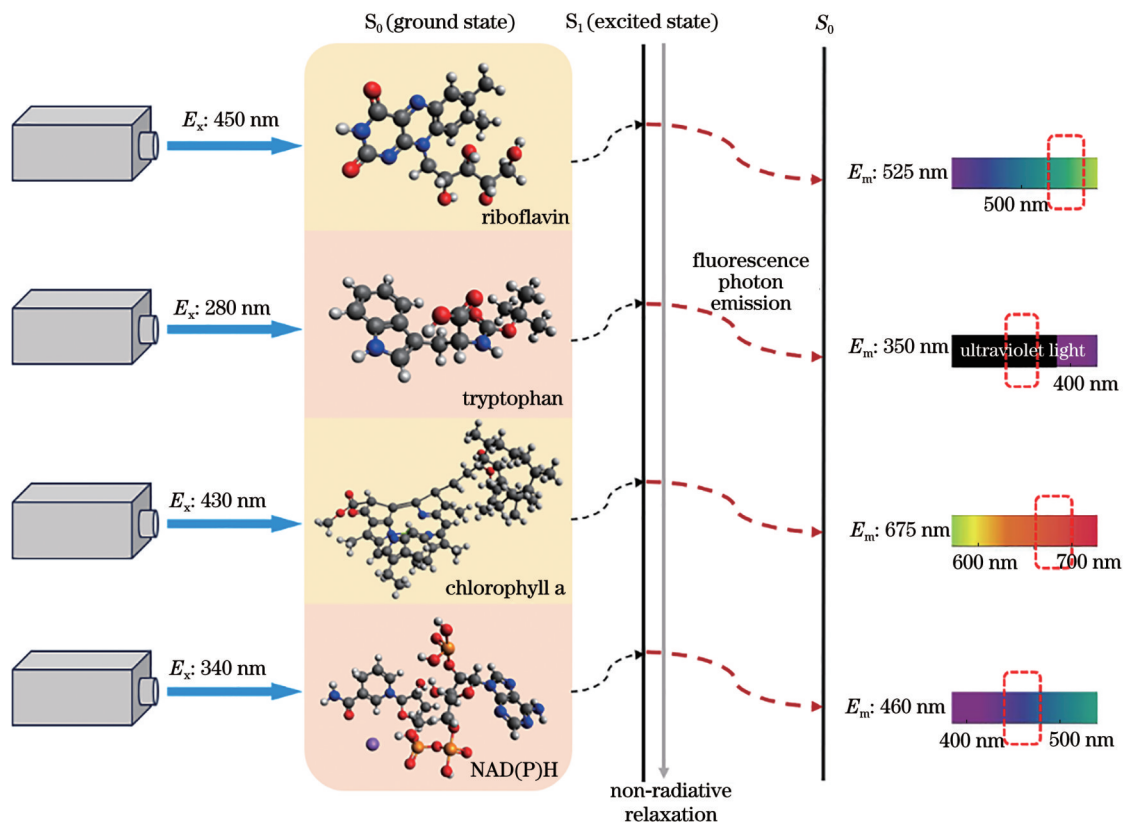


图 2 激光诱导荧光技术的基本原理示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the basic principle of laser induced fluorescence technology

根据光学结构以及光路传播路径的不同,荧光显微镜可以分为透射式和落射式两种类型(图 3)。落射式荧光显微镜有效地解决了透射式荧光显微镜随着放大倍率的增加荧光强度迅速减弱这一问题,更适用于观察透明度较低的样本和各种活体成分<sup>[23]</sup>,是测量大气微生物总数的常用仪器。相关实验通常使用的荧光染料包括 DAPI(4',6-二甲基-2-苯基吡啶)和 AO(吖啶橙)<sup>[24]</sup>。在最大波长为 470 nm 的激光照射下,AO 染色

的单链核酸发出橘红色荧光,而双链核酸通常发出绿色荧光<sup>[25]</sup>。在引入 DAPI 后,AO 逐渐被取代。DAPI 可与 DNA 结合并在 365 nm 波长的激光激发下发出明显的蓝色或蓝白色荧光,广泛应用于微生物总数的确定。另外,近些年研究人员研发的 BacLight™ 染料可用于活菌和死菌的定量检测<sup>[26]</sup>。目前,由于在显微镜下进行人工分选和计数会产生较大误差,因此荧光显微镜将逐渐与基于计算机的自动化系统结合。

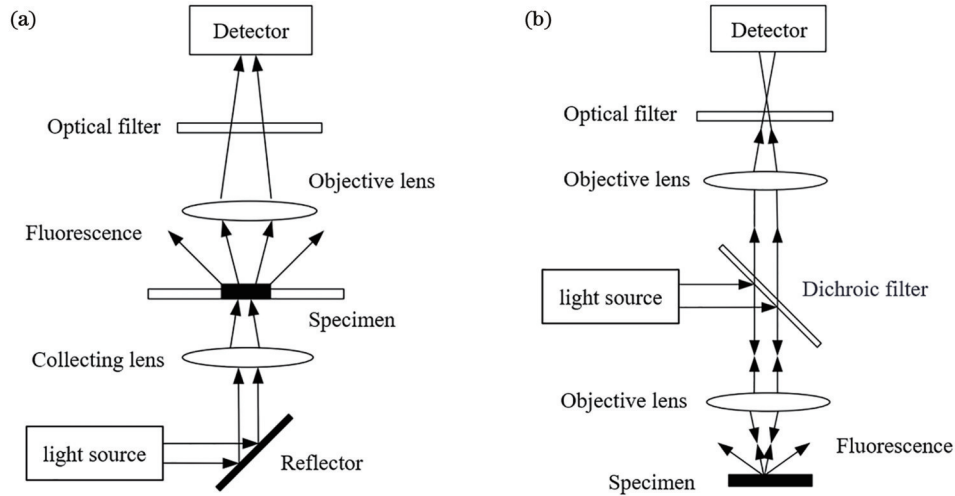


图 3 荧光显微镜<sup>[23]</sup>。(a)透射式荧光显微镜的结构示意图;(b)落射式荧光显微镜的结构示意图

Fig. 3 Fluorescence microscopes<sup>[23]</sup>. (a) Schematic diagram of transmission fluorescence microscope structure; (b) schematic diagram of fall-light fluorescence microscope structure

### 2.1.2 荧光激光雷达

将荧光散射与激光雷达技术相结合,可以实时、高空分辨率地探测到大气生物气溶胶<sup>[27]</sup>。目前,荧光激光雷达的激发波长通常为 266 nm 或 355 nm,荧光光谱范围为 200~600 nm。与激光雷达接收到的米散射信号不同,荧光激光雷达接收到的荧光回波信号要弱

很多,且荧光光谱强度受大气环境温度、pH 值以及激光能量的影响较大<sup>[28]</sup>。在实际探测中,通常采用光子计数法进行探测,并以氮气的拉曼散射信号作为辅助,这样可在有效保证精度的同时避免繁琐的数据校准。激光雷达系统接收到距离  $R_0$  以外的荧光信号光子数的方程式如下所示<sup>[29]</sup>:

$$N(R) = \eta_0 \frac{E_0 \lambda}{hc} T(R_0) K_0(\lambda) \xi(R_0) \frac{A_0}{R^2} N_0 \frac{\sigma_F(\lambda_0, \lambda)}{4\pi} \frac{c\tau_d}{2} \exp[-\sigma(R - R_0)] \quad (1)$$

式中: $R$ 为激光雷达系统与被测生物气溶胶云团的距离; $\eta_0$ 为探测的量子效率; $E_0$ 为激光脉冲能量; $\lambda_0$ 为入射波长; $\lambda$ 为荧光发射波长; $h$ 为普朗克常数; $c$ 为真空中的光速; $T(R_0)$ 为传输路径上的系统透过率; $K_0(\lambda)$ 为物质在波长  $\lambda$  处的吸收系数; $\xi(R_0)$ 为几何重叠因子; $A_0$ 为望远镜的接收面积; $N_0$ 为分子在受到激光激发前的基态粒子数浓度; $\sigma_F(\lambda_0, \lambda)$ 为荧光散射截面; $\tau_d$ 为单个脉冲的持续时间; $\sigma(R - R_0)$ 为大气消光系数。由上述公式可以看出,当系统测量得到生物气溶胶的后向散射荧光光子数、激发波长的大气消光系数、荧光波长的大气消光系数以及生物气溶胶的有效荧光散射截面等参数时,就可以对生物气溶胶数浓度进行初步的反演分析<sup>[29-30]</sup>。

荧光激光雷达系统研究被许多国家作为发展和完

善有害生物防御体系的关键研究方向。早在 1994 年,美国 Edgewood 研究中心搭建了一套激发波长为 266 nm 的荧光激光雷达系统,该系统可探测 0.6~3 km 高度的生物气溶胶<sup>[13]</sup>。国内关于荧光激光雷达的研究起步较晚。兰州大学黄忠伟研发的多波段拉曼-荧光光谱偏振激光雷达系统(图 4<sup>[31]</sup>),其激发波长范围为 250 nm~11  $\mu\text{m}$ ,可以同时接收气溶胶米散射、拉曼散射以及多通道荧光光谱等多种信号。其他研究包括荧光-偏振激光雷达<sup>[32]</sup>、荧光激光雷达系统<sup>[29]</sup>、荧光-米激光雷达以及生物气溶胶遥测激光雷达系统<sup>[33-34]</sup>。

### 2.1.3 流式细胞仪

流式细胞仪(FCM)以流式细胞术为核心,能够对快速流动状态中的直线单列生物颗粒进行逐个、快速、多参数的定性定量分析以及分选,具有检测速度快、测

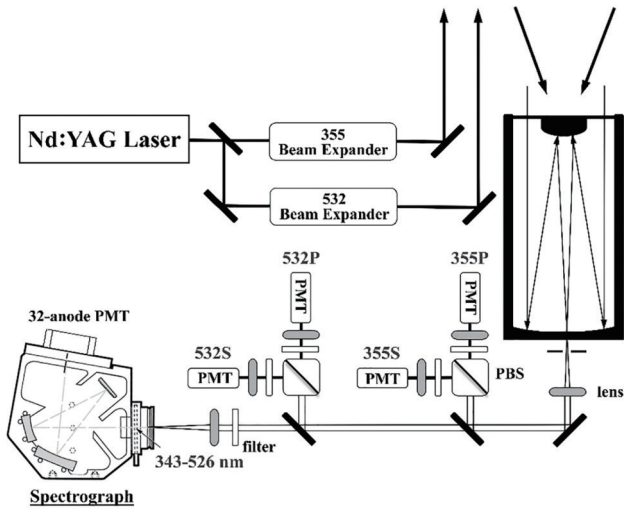


图4 兰州大学研究团队研发的多波段拉曼-荧光激光雷达探测原理示意图<sup>[31]</sup>

Fig. 4 Schematic diagram of multi-wavelength Raman-fluorescence lidar developed by researchers from Lanzhou University<sup>[31]</sup>

量参数多和数据采集量大等优势<sup>[35]</sup>,被誉为实验室的“CT”。图5所示为流式细胞仪的基本结构,流体系统将荧光染色的单细胞悬液单行排列并使其通过光学系统,通过激光垂直照射产生散射光和荧光,将荧光信号转化为电信号并由计算机进行处理和分析。部分流式细胞仪还包括分选系统,通过高压电场的偏转作用实现细胞的分选<sup>[36]</sup>。

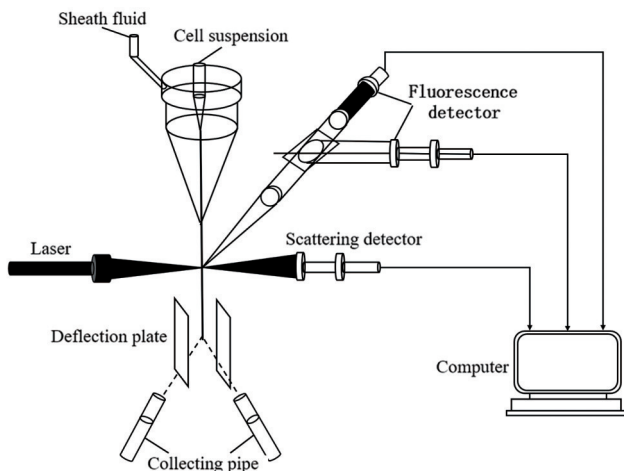


图5 流式细胞仪的工作原理示意图<sup>[37]</sup>

Fig. 5 Schematic diagram of working principle of flow cytometer<sup>[37]</sup>

目前声聚焦流式细胞仪、荧光激活细胞分选仪以及成像流式细胞仪在环境监测等领域的应用广泛<sup>[35]</sup>,当与紫外粒径谱仪组合使用时,其检测效率更高。但由于在不同的地点和时间使用不同的流式细胞仪平台获取的实验结果并不一致<sup>[38]</sup>,所以只能通过采用多种控制条件来获得可比较和可重复的结果。未来,在以

大数据库为依托的精准检测中,基于荧光检测以及其他类型流式细胞仪测试的流程及计量方法的逐步标准化将愈加迫切。

#### 2.1.4 紫外空气动力学粒径谱仪

Brosseau等<sup>[39]</sup>最先提出紫外空气动力学粒径谱仪(UV-APS)的初代模型,根据空气中单粒子的气动尺寸及其在特定激发和发射波段的固有荧光,构建了测量仪器样机。图6展示了初代仪器模型的原理图。UV-APS结合了流式细胞术中常用的荧光测量技术和空气动力学粒度测量技术,可对采样气流中的单个气溶胶颗粒进行参数测量并提供实时数据,其固有荧光在325 nm波长激发,发射波段为420~580 nm,特别针对0.5~10 μm的气溶胶颗粒进行测量<sup>[40]</sup>。

从城市工业区到热带雨林,UV-APS的广泛应用展示了其评估生物和非生物颗粒的性能<sup>[41]</sup>。与其他气溶胶收集技术相比,UV-APS在捕捉活性生物颗粒方面具有更高的效率和分辨率,并在室内空气质量研究以及模拟大气条件对生物粒子荧光的影响研究中发挥重要作用<sup>[42]</sup>。作为第一个商业化的在线生物气溶胶监测仪器,UV-APS虽然对真菌孢子等空气中微生物的敏感性和准确性较低,但由于能够适应多种天气条件,在生物气溶胶在线检测中仍具有重要意义。

#### 2.1.5 多波段集成生物气溶胶传感器

WIBS是基于LIF的实时单颗粒气溶胶荧光监测仪器,能测量单颗粒的荧光强度、光学粒径以及不对称度<sup>[43]</sup>。图7(a)为WIBS结构示意图。如图7(b)所示,WIBS有三种有效信号通道,分别被命名为FAP-FL1( $E_x$ 为280 nm, $E_m$ 为310~400 nm)、FAP-FL2( $E_x$ 为280 nm, $E_m$ 为420~650 nm)和FAP-FL3( $E_x$ 为370 nm, $E_m$ 为420~650 nm)。通常被测颗粒物不只在某一个通道产生信号,依据三个通道的信号,可以将荧光颗粒物划分为7类,记为A、B、C、AB、AC、BC和ABC。大气颗粒物经采样口被抽入WIBS的中央光室,在635 nm激光照射下产生弹性散射,由FL2通道确定颗粒物的等效光学直径和形状参数(即不对称性)。粒径在0.5~15 μm内的颗粒会触发氙灯,随后被280 nm和370 nm的紫外激光照射,荧光信号被FL1和FL3荧光检测通道识别并记录<sup>[44]</sup>。

WIBS由赫特福德大学的Paul教授团队发明,用于检测空气中的气溶胶颗粒。目前升级的WIBS-3已被用于研究多种野外环境和城市地区的生物气溶胶<sup>[45]</sup>。在英国曼彻斯特、马来西亚婆罗洲、法国高山地区以及美国科罗拉多州半干旱森林中,WIBS-3被用于测量空气中的真菌孢子,以研究它们对混合相云和水文循环的影响<sup>[46]</sup>。WIBS-4和WIBS-4A作为WIBS-3的升级版,其适用的环境类型更为广泛,包括城市室内外、森林、草原、工业区和高海拔地区等<sup>[45]</sup>。WIBS-NEO(WIBS-4A的新版本)由美国DMT公司研发,采用了双激发和双发射波段技术,能够区分不同

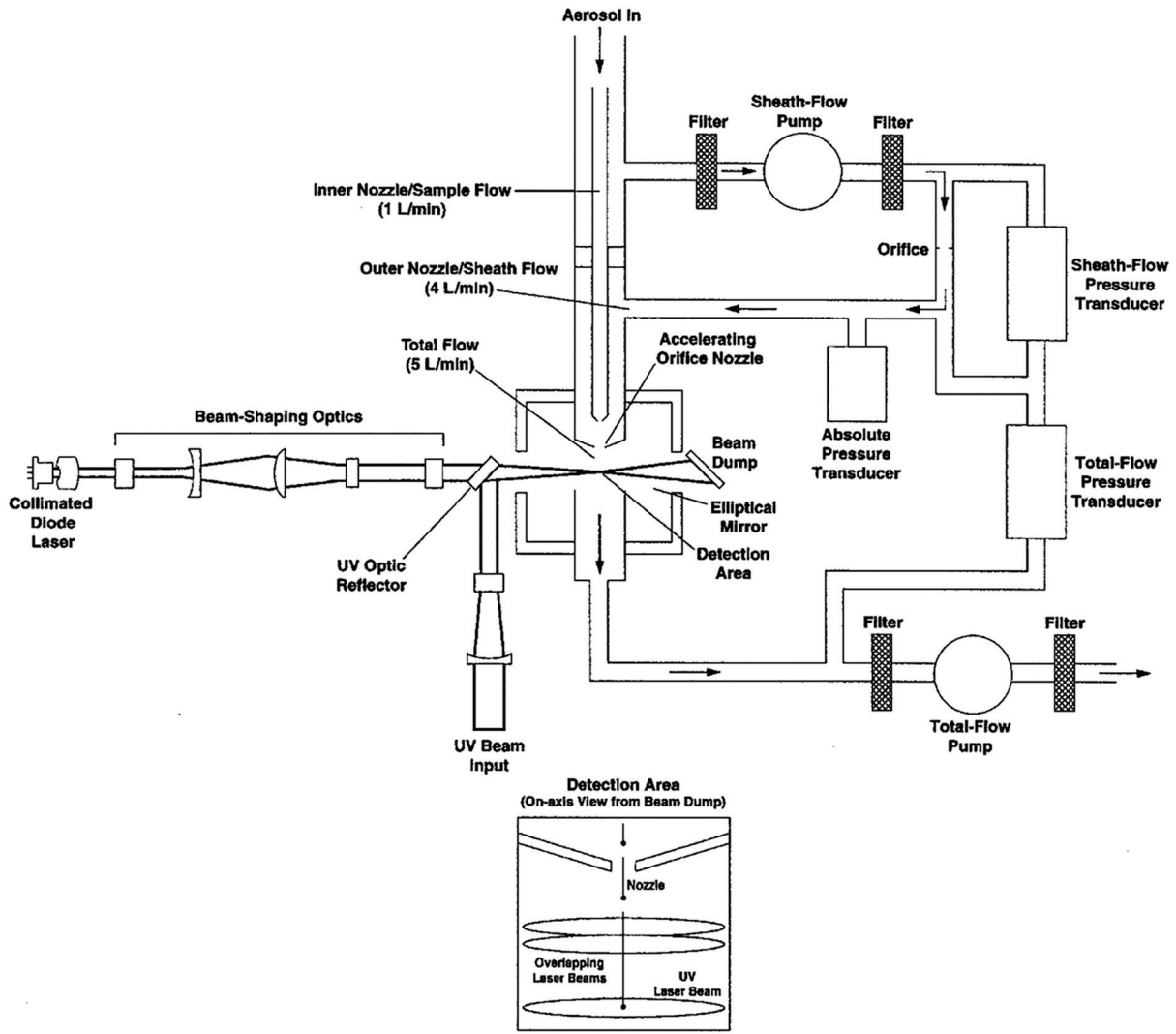


图 6 紫外空气动力学粒径谱仪 (UV-APS) 的探测原理示意图<sup>[39]</sup>

Fig. 6 Schematic diagram of detection principle of ultraviolet aerodynamic particle size spectrometer (UV-APS)<sup>[39]</sup>

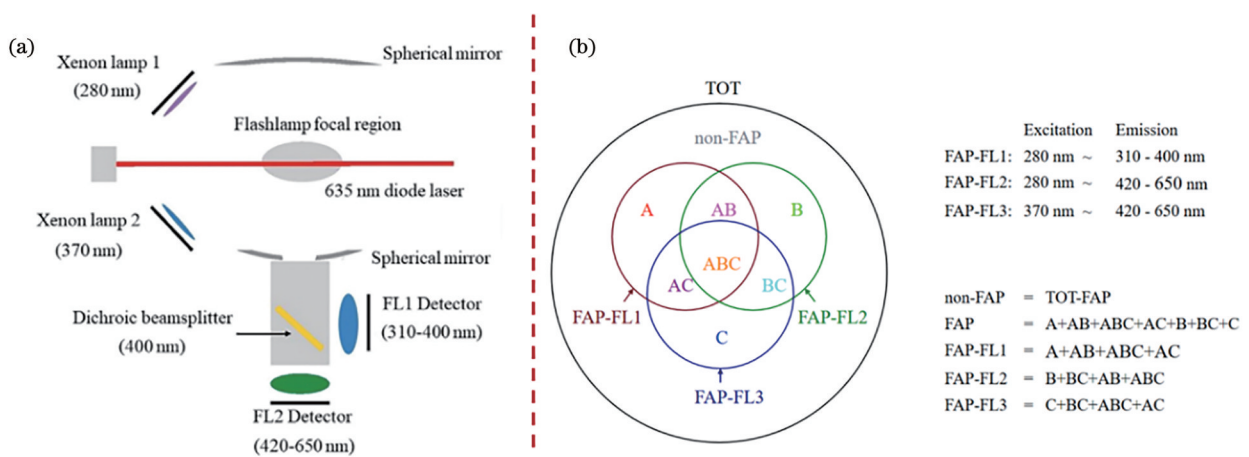


图 7 WIBS 的探测原理与数据分类方法。(a) WIBS 结构示意图<sup>[12]</sup>; (b) WIBS 数据结果分类示意图<sup>[44]</sup>

Fig. 7 Detection principle and data classification method of WIBS. (a) Schematic diagram of WIBS structure<sup>[12]</sup>; (b) schematic diagram of WIBS data result classification<sup>[44]</sup>

种类的花粉,并有效检测叶绿素-a 的荧光,且其检测小粒径颗粒数量的准确性更高<sup>[47]</sup>。WIBS 获得的不同类型的信息(大小、形状、荧光信号)可组成丰富的数

据矩阵,原则上具备对不同气溶胶类型的高精度识别能力,但需要更复杂的技术和算法来分析和挖掘这些矩阵。

### 2.1.6 实时颗粒物监测仪

Rapid-E+ 是 Plair SA 公司生产的第一代粒子分析仪 PA-300 的升级版,该仪器综合利用激光散射和荧光检测技术,能够提供颗粒的形态信息、荧光光谱和荧光寿命<sup>[12]</sup>。图 8 为 Rapid-E+ 的工作原理示意图,图中 N1 为喷嘴, L1、L2、L3 为激光器, D1 为散射检测器, D2 为光谱检测器, D3、D4、D5 为寿命检测器, D6 为散射光图案成像传感器, PD1、PD2、PD3 为激光光电检测器, F1、F2、F3、F4 为滤波片, M1、M2、M3 为二向色分光镜, O1、O2 为准直透镜。Rapid-E+ 可以连续测量和表征 0.3~100  $\mu\text{m}$  范围内空气中的颗粒物,并在自主和远程操作下随时获取数据。改进的采样头设计使气流速率增加,同时粒子损耗减小。该仪器还配置了高速 GPU,以加速数据采集和处理,并通过应用深度学习算法,在更复杂的检测环境下完成颗粒识别任务<sup>[48]</sup>,在生物气溶胶检测领域具备强大的竞争力和应用前景。

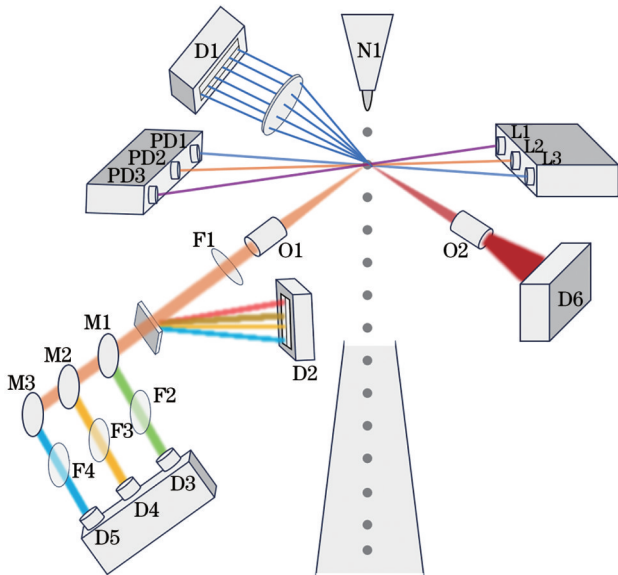


图 8 Rapid-E+ 生物气溶胶监测仪的工作原理示意图

Fig. 8 Schematic diagram of working principle of Rapid-E+ bioaerosol sensor

Rapid-E+ 获取的数据具有数据源完全自动化的优点,但该类型的数据对目前的分类模型来说不易学习。之前有研究使用卷积神经网络进行颗粒物分类<sup>[49]</sup>,虽然获得了较好的结果,但无法在没有强大工作站或计算资源的情况下扩展到野外工作。目前的研究大多集中于 Rapid-E+ 与机器学习算法的结合,以增强其颗粒物分类和分析的能力<sup>[50]</sup>。

### 2.1.7 基于荧光散射的其他仪器

基于 LIF 的生物气溶胶监测仪器还在不断创新发展中,如 SwisensPoleno Jupiter、BioScout、MBS、SIBS 系列等。这些仪器结合全荧光发射波段分析、人工智能以及全息影像等技术,提高了对生物气溶胶颗粒的

检测能力。

SwisensPoleno Jupiter 是由瑞士 Swisens AG 公司研发的自动花粉/生物气溶胶监测仪。该设备结合激光散射、数字全息成像以及紫外诱导荧光技术,并基于人工智能和公开数据评估等新方法,能够系统地测量并自主识别空气中的生物气溶胶(如花粉、孢子)以及固体颗粒等<sup>[51]</sup>,且在 2  $\mu\text{m}$  的粒径范围条件下的工作效率最高<sup>[52]</sup>。

BioScout 是坦佩雷理工大学开发的 LIF 实时生物气溶胶系统<sup>[53]</sup>,通过 405 nm 的脉冲激光激发单个待测颗粒的荧光,并由两个光电倍增器接收散射信号和荧光信号。BioScout 的最佳检测粒径范围为 0.3~5  $\mu\text{m}$ 。另外,新型号的 BioScout 还添加了过滤底物,可对生物气溶胶进行二次空气采样<sup>[43]</sup>。

MBS 和 SIBS 由英国赫特福德大学设计制造。MBS 可以提供气溶胶颗粒的大小(1~20  $\mu\text{m}$ )、形状和荧光强度信息<sup>[54]</sup>。MBS 同时配有两个 512 pixel 的 CMOS 检测器阵列以提高颗粒分类的准确性。SIBS 能够实时提供有关单个颗粒的大小、颗粒不对称性和荧光物质的信息<sup>[55]</sup>。SIBS 可以在更广泛的发射波长范围(300~720 nm)内测量 16 个波段的荧光信号,并且可以区分叶绿素 a 和细菌叶绿素 b,从而提供识别藻类、植物残留物和蓝细菌的可能性<sup>[56]</sup>。

## 2.2 拉曼散射

拉曼散射分为斯托克斯拉曼散射与反斯托克斯拉曼散射<sup>[57]</sup>。当入射光子激发分子从一个振动激发态跃迁到一个更高的能量态时,分子在这一过程中将部分振动能量转移给散射光子,这导致散射光子的频率高于入射光子的频率,这种散射被称为反斯托克斯拉曼散射。而当入射光子将一部分能量传递给分子,可使分子从一个振动基态跃迁到一个更高的振动能级,使散射光子的频率低于入射光子的频率,这种散射称为斯托克斯拉曼散射<sup>[57-58]</sup>。一般情况下讨论的拉曼散射是指斯托克斯拉曼散射,它会在拉曼光谱中产生尖锐峰,而这些就是样品中某些分子的拉曼特征峰<sup>[58]</sup>。由于普通拉曼光谱受到固有的微弱拉曼信号的影响,每  $10^6\sim 10^8$  个光子中约只有 1 个是非弹性散射<sup>[59]</sup>。到目前为止,研究人员已经开发了各种增强拉曼技术来解决这个问题,例如相干反斯托克斯拉曼光谱(CARS)、表面增强拉曼光谱(SERS)、共振拉曼光谱(RRS)等。其中,SERS 和 CARS 的应用最为广泛,前者依靠金属表面效应实现信号放大,后者则利用相干光学效应增强拉曼信号。

### 2.2.1 显微共焦拉曼光谱仪

大气中的生物气溶胶通常呈现复杂的混合态,基于拉曼光谱识别和分析复杂混合物时需要结合其他分析方法。尤其是在背景噪声较大的环境中,信号的检测和分析会受到较大的影响,需要提高检测灵敏度和分辨率来克服这一问题<sup>[59]</sup>。显微共焦拉曼光谱技术

(CMRS)将显微镜技术与拉曼光谱相结合,用于在微米甚至纳米尺度上获得样品的化学和结构信息。该技术利用共焦光学系统来提高空间分辨率,并通过拉曼散射光谱提供分子和晶体结构的信息,在不受其他物质的影响下能够更加精确地得到样品的化学组分和拉曼光谱信息<sup>[59-60]</sup>。

图 9 展示了法国 HORIBA 公司生产的 LabRAM HR Evolution 型显微共焦拉曼光谱仪的光路结构,该仪器配有 532 nm、633 nm、785 nm 三种激光器。激发光通过干涉滤光片得到单色激光,功率衰减片可调节激光功率,避免损伤样品,激光照射到样品上并发生散

射,仅拉曼散射光能通过瑞利滤光片,接着通过共聚焦针孔,光栅将其反射分光并照射到 CCD 上,并将其转换为不同波段的拉曼信号<sup>[61]</sup>。通过调整激光波长和共焦孔径,显微共焦拉曼光谱仪区分花粉类型的能力已得到验证<sup>[60,62]</sup>。在具有干扰背景的生物气溶胶样品中,拉曼技术仍具备识别不同类型细菌混合物的能力以及区分其物种簇的潜力<sup>[63]</sup>。最新报道的光学捕获-拉曼光谱技术(OT-RS)发展迅速,并用于表征单个气溶胶颗粒,已成功实现对碳、生物气溶胶(花粉、真菌、维生素、孢子)、灰尘、生物战剂替代品等不同类别气溶胶颗粒的拉曼光谱的识别<sup>[64]</sup>。

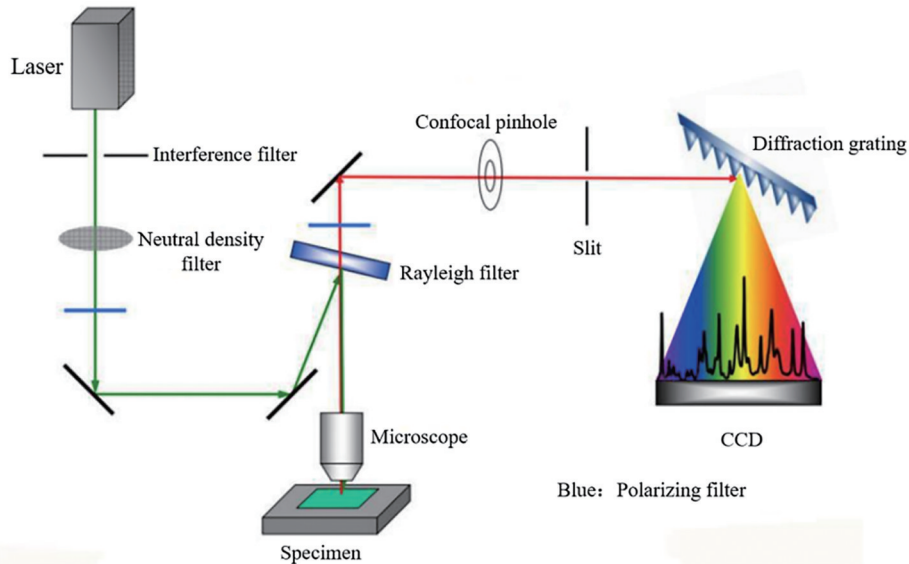


图 9 显微共焦拉曼光谱仪的探测原理示意图<sup>[60]</sup>

Fig. 9 Schematic diagram of detection principle of micro confocal Raman spectrometer<sup>[60]</sup>

### 2.2.2 表面增强拉曼光谱系统

1974 年, Fleischmann 等<sup>[65]</sup>在对光滑的银介质表面进行粗糙处理后,以吡啶分子作为样品吸附在银介质表面,并获得了高质量的拉曼光谱。1977 年, van Duyne 等发现这种方法得到的拉曼光谱信号强度比在液相中的拉曼光谱信号增大了约 6 个数量级,并将这种依靠介质表面来增强信号的现象称为 SERS 效应。目前对 SERS 效应的产生机制的解释主要分为两种:一种为电磁增强,另一种为化学增强。前者注重电磁场的增强,电磁场可以在具有适当形态的金属表面上得到增强;而后者则注重吸附在粗糙金属表面的物质的分子极化率的改变<sup>[66]</sup>。图 10 为利用纳米金属粒子基底进行生物细胞检测的 SERS 原理示意图。

在利用 SERS 技术分析细菌的实验中,可通过控制与纳米颗粒相互作用的细菌的化学成分来进行选择性检测。该方法主要利用细菌外膜的成分来识别生物样品<sup>[67]</sup>。使用 Klarite(由金涂层组成倒金字塔纳米结构)作为 SERS 基底,可以定量分析不同细胞生长阶段活菌和死菌的数量<sup>[68]</sup>。含银颗粒的纳米胶体(AgNPs)

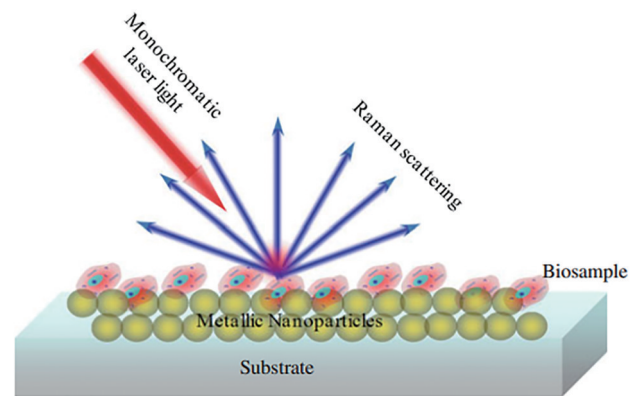


图 10 SERS 的主要探测原理<sup>[67]</sup>

Fig. 10 Main detection principle of SERS<sup>[67]</sup>

悬浮液应用则更为广泛,可以用于快速检测和表征空气中的花粉和细菌。最新的研究指出,基于 AgNPs 覆盖倒锥形纳米孔阵列的阳极氧化铝模板的 SERS 生物气溶胶快速检测方法能在 10 min 内区分大肠杆菌和表皮葡萄球菌,这展示了 SERS 在快速、低成本且无需标记和培养的生物气溶胶分析中的应用潜力<sup>[69]</sup>。

### 2.2.3 相干反斯托克斯拉曼光谱系统

CARS 技术是一种基于四波混频信号的非线性光学过程<sup>[70]</sup>,其物理原理可以简要概括为以下步骤(图 11):1)泵浦光 P 和斯托克斯光 S 的频率差被调谐到样品中某种分子振动模式的共振频率上;2)泵浦光和斯托克斯光与分子的振动模式共振时,会产生反斯

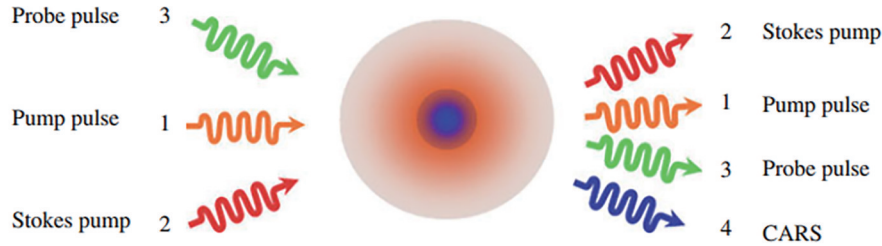


图 11 CARS 的主要探测原理<sup>[67]</sup>[在泵浦脉冲(1)、斯托克斯泵浦脉冲(2)和探针脉冲(3)与样品相互作用后产生 CARS 光子(4)]  
Fig. 11 Main detection principle of CARS<sup>[67]</sup>[CARS photons are generated after pump pulse (1), Stokes pump pulse (2), and probe pulse (3) interact with sample (4)]

CARS 技术具有无需外加荧光标记以及不引起样品污染的巨大优势。CARS 系统的信号灵敏度比传统自发拉曼系统提高 4~5 个量级,非常适用于生物成像的弱光激发条件<sup>[71]</sup>,这些优势使其成为研究生物颗粒成分和其他复杂系统的强大工具,尤其是在需要高空间分辨率和化学特异性时。自 Zumbusch 等<sup>[72]</sup>率先将 CARS 用于活细胞成像以来,其在生物气溶胶检测中的应用不断被报道。另外,结合尖端增强拉曼技术、CARS 技术以及飞秒自适应光谱(FASTER)技术的病毒颗粒检测系统,为单个病毒颗粒的检测和鉴定提供了思路<sup>[73]</sup>。

### 2.3 质谱分析

近年来,用于分析生物气溶胶粒子的质谱方法不断丰富,如飞行时间质谱(TOF-MS)法、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法、电喷雾电离质谱(ESI-MS)法、基质辅助激光解吸电离质谱(MALDI-MS)法等。无基质激光解吸/电离方法以生物气溶胶质谱系统(BAMS)为代表。为克服 BAMS 离子传输效率较低、检测极限较低和灵敏度相对较低的问题,MALDI-MS 迅速发展,通过在线添加基质并配合 TOF-MS,可以更精准地解析生物气溶胶。

#### 2.3.1 生物气溶胶质谱系统

BAMS 是一种用于实时检测和鉴定生物气溶胶的仪器<sup>[74]</sup>。图 12 所示为 BAMS 的基本结构,气溶胶粒子首先被吸入一个撞击器,该撞击器将落在可吸入尺寸范围(1~10  $\mu\text{m}$ )内的颗粒集中起来,然后将聚集的气溶胶抽入 BAMS 的真空系统,真空中的超音速膨胀将粒子聚焦成垂直方向的光束。接着 BAMS 分阶段逐步减小粒子的速度。跟踪阶段可确定粒子的空气动力学直径,然后在一个或多个阶段检查粒子的固有荧光(激发波长通常为 266 nm 或 355 nm),这些具有适当荧光特性的粒子分子随后被 266 nm 脉冲激光解吸和

托克斯光,反斯托克斯光的相干性导致 CARS 信号比自发的拉曼散射信号强,从而提高了探测灵敏度。反斯托克斯光的频率高于泵浦光和斯托克斯光,因此通过滤除泵浦光和斯托克斯光的频率可轻易地分离和检测 CARS 信号。这个特性使得 CARS 能够在有强背景光的情况下被有效测量<sup>[67]</sup>。

电离,最终在双极性质谱仪中收集离子的双极性质谱<sup>[75]</sup>。

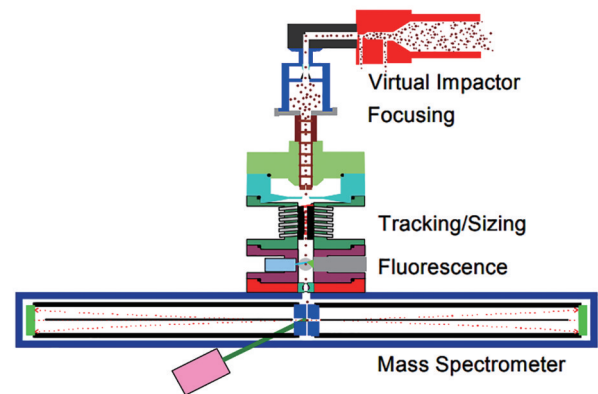


图 12 BAMS 的探测原理示意图<sup>[76]</sup>

Fig. 12 Schematic diagram of detection principle of BAMS<sup>[76]</sup>

目前 BAMS 技术可以通过特征离子峰识别出生物气溶胶(包括孢子气溶胶和活性细菌气溶胶)<sup>[12]</sup>,但难以在属、种水平上鉴定生物气溶胶。要想实现此目标,不仅对仪器高质量范围内的灵敏度有更高的要求,同时也须进一步研究单细胞质谱图中的离子峰。

#### 2.3.2 基质辅助解吸电离质谱仪

与 BAMS 相同,MALDI-MS 也是先进行气溶胶粒子采样,然后使用激光电离,产生的离子用质谱仪进行检测,根据得到的质谱图来分析生物气溶胶粒子的化学组成<sup>[77]</sup>。与 BAMS 不同的是,MALDI-MS 使用基质实时覆盖生物气溶胶,为生物气溶胶提供了一种新的软电离技术,获得最小的碎片量<sup>[78]</sup>。因此 MALDI-MS 可用于区分非常相似的颗粒类型,且分辨率更高,其在花粉、细菌和真菌分离物检测中的应用已有报道<sup>[79]</sup>。

综上所述,BAMS 侧重于提高实时生物气溶胶检



测的准确性,而MALDI-MS侧重于普适性。这两种方法都可以用于检测和区分实验室内空气中的细菌和真菌,但不能用于现场实验。BAMS对高质量生物分子具有较高的准确度,但灵敏度较低。增加粒子入口和消除电离过程的限制可能会提高总体检测限。MALDI-MS需要的底物和试剂更少,并且可以提供更高的灵敏度和更大的操作质量范围<sup>[80]</sup>,适用于病原体鉴定,但准确性有待提高。

## 2.4 生物 ATP 自发荧光检测仪

ATP是化学物质三磷酸腺苷的简称,广泛存在于所有类型的生物活细胞中,是细胞进行自由能转换的载体。这一物质的主要作用是储存、传递生物化学能,为各种生物的生命活动提供能源<sup>[81]</sup>。基于ATP的生物发光测定是对ATP和荧光素酶之间反应产生的光的测量。由于产生的光强度与ATP含量成正比(即与生物含量成正比),因此可以通过生物发光法测量ATP含量来量化微生物粒子数浓度<sup>[82]</sup>,其化学反应式<sup>[83]</sup>为

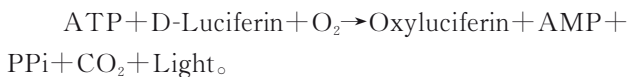


图13所示为生物ATP自发荧光反应的基本原理示意图。

ATP生物荧光检测具有响应快、灵敏度高、操作简便且重现性好等优点,广泛应用于食品安全、医疗和环境科学等领域。20世纪50年代,美国国家航空航天局的科学家就提出了生物ATP发光测定法来识别其

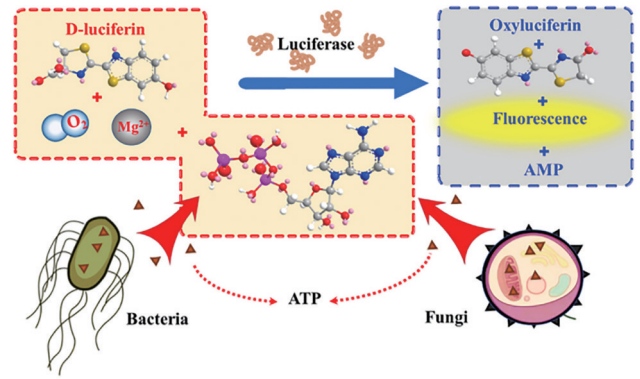


图13 生物ATP自发荧光反应的基本原理示意图<sup>[12]</sup>

Fig. 13 Schematic diagram of basic principle of biological ATP autofluorescence reactions<sup>[12]</sup>

他行星上的活细胞。近几十年里,生物ATP发光迅速而广泛地应用于环境微生物污染监测,并在短时间(<1 min)内提供检测结果<sup>[82]</sup>。图14(a)为Cho等<sup>[84]</sup>设计的现场自动生物气溶胶检测系统(ABMS)的工作原理图。该系统使用集成化模块,包括湿旋流生物气溶胶采样单元、ATP热裂解提取单元以及用于生物发光的荧光素酶/荧光素固定化的ATP检测单元和光电倍增器。实验以大肠杆菌为模拟源,现场检测稳定性超过30 d,验证了ABMS高灵敏度连续监测的能力。图14(b)所示为另一种基于生物ATP自发荧光的生物气溶胶检测仪器,与ABMS的采集方式不同,该设备通过电极放电产生空气离子,空气离子附着在生物气溶胶粒子上,使其带电,进而被缓冲液采集<sup>[85]</sup>。

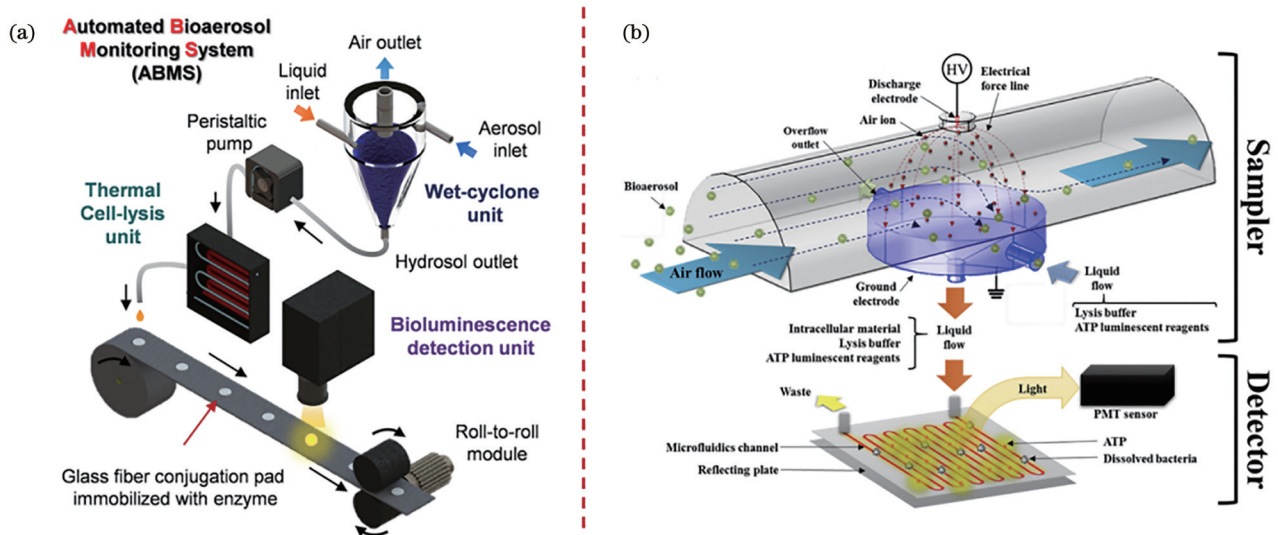


图14 ATP生物发光检测生物气溶胶。(a)用于实时检测生物气溶胶的基于ATP的生物发光测定<sup>[84]</sup>;(b)用于检测细菌生物气溶胶的微流控芯片上基于ATP的生物发光测定<sup>[85]</sup>

Fig. 14 ATP bioluminescence detection of bioaerosols. (a) ATP-based bioluminescence assay for real-time detection of bioaerosols<sup>[84]</sup>; (b) ATP-based bioluminescence assay on microfluidic chips for bacterial bioaerosols<sup>[85]</sup>

ATP生物荧光检测法已经在环境监测领域得到了较为广泛的应用,但在生物气溶胶检测领域的研究相对较少。目前的研究重点主要集中在将ATP荧光

反应和各类采样富集方法有效结合以进一步提高检测效率,但由于ATP可溶,故无论是和哪种采样富集方法结合,均会影响到生物荧光的测定,而且采样效率越

高,溶解程度越高,影响越大;其次,复杂环境下一些干扰物质也可能影响ATP荧光反应的酶体系<sup>[17]</sup>。因此,如何更准确地反映生物气溶胶的微生物水平,且避免游离ATP的影响以及尽可能避免复杂环境下某些成分对ATP荧光反应酶体系的影响是该方法需要解决的重要问题。

## 2.5 其他光学探测技术

### 2.5.1 激光诱导击穿光谱

激光诱导击穿光谱(LIBS)是一种可用于现场部署的分析技术,也称为激光诱导等离子体光谱(LIPS)或激光火花光谱(LSS)<sup>[86]</sup>。图15是LIBS的简易装置示意图<sup>[87]</sup>,LIBS使用低能量脉冲激光(通常为几十到几百毫焦耳每脉冲)产生等离子体,使少量样品汽/气化。受激物质(主要是原子)发出的光谱用于对信息的定量和定性分析。LIBS的目标包括气体、气溶胶、液体和固体,其应用范围广泛。

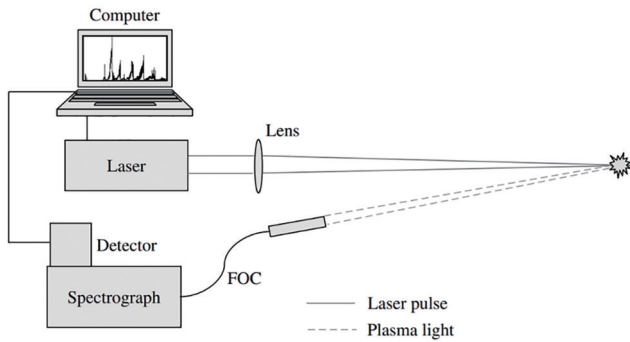


图15 LIBS的基本探测原理示意图<sup>[87]</sup>

Fig.15 Schematic diagram of basic detection principle of LIBS<sup>[87]</sup>

许多研究团队已经证明了LIBS对BWAs模拟物的化学和生物检测的能力,以及生物气溶胶的检测能力<sup>[88-89]</sup>。美国陆军研究实验室(ARL)的研究小组使用LIBS进行了多年的化学和生物战剂检测研究。2007年,Gottfried等<sup>[90]</sup>为ARL开发了便携式背包系统(ST-LIBS),研究了室内表面化学和BWAs替代品和干扰物的检测。这些研究结果表明,LIBS与化学计量分析相结合,有望实现有害生物物质的远距离识别。

### 2.5.2 微流控芯片

近年来,随着微加工技术和微流控技术的快速发展,一些基于微流体的生物气溶胶收集和检测方法得到了发展和报道。相比于传统的生物气溶胶收集方法,微流控芯片因其低成本、小尺寸、易于集成等优点,受到了广泛关注,在现场快速采集生物气溶胶方面显示出巨大的潜力。目前,新开发的微流控芯片方法主要包括基于人字结构、基于离心和基于液滴的微流控芯片,这些方法的收集效率普遍超过70%<sup>[91]</sup>。

人字结构的微流控芯片使用泵将气溶胶吸入具有交错人字形结构的微流控芯片<sup>[92]</sup>。气溶胶在人字结构

引发的涡旋作用下旋转和拉伸,增加了与微通道壁面的接触,从而提高捕获效率。Jing等<sup>[93]</sup>的研究结果验证了人字结构的微流控芯片在9 min内对大肠杆菌和耻垢分枝杆菌的捕获效率接近100%。同时,人字结构的微流控芯片对空气中的病原体和真菌<sup>[94]</sup>的捕获效率也优于传统采集方法。

离心的微流控芯片通过生物气溶胶的惯性差异,使用弯曲、圆形或螺旋形通道有效分离和收集不同粒径的生物气溶胶<sup>[91]</sup>。Hong等<sup>[95]</sup>研发的微流控分离芯片基于惯性差和迪安涡流原理,由两个90°弯曲微通道和3个出口组成,能够有效分离含有病毒和细菌的生物气溶胶。基于离心力的生物气溶胶采集微流控芯片的操作简单、成本低廉,可连续分离空气中的生物气溶胶,并捕获特定直径的生物气溶胶,可提高采集纯度和检测精度<sup>[91,96]</sup>。

液滴微流控芯片是收集生物气溶胶的新途径<sup>[97]</sup>。Damit<sup>[97]</sup>采用微流控芯片将生物气溶胶通过微流控技术转移到液滴中,利用气动聚焦透镜和气溶胶聚焦毛细管的光学显微镜,在20 s内就能区分出含有大肠杆菌的生物气溶胶和不含大肠杆菌的生物气溶胶,收集效率在27%~100%之间。基于液滴的微流控芯片已经显示出很大的优势,其具有将单个细胞快速封装成液滴的强大能力,使单个细胞的检测成为可能。

微流控芯片与分子生物学测定(如聚合酶链反应,PCR)、免疫学测定(如生物传感器、效应晶体管、荧光和化学发光)<sup>[98]</sup>以及ATP生物发光传感器<sup>[85]</sup>等方法的有效组合,在现场检测含病原微生物的生物气溶胶方面展现出巨大的潜力。

## 3 结论与展望

近年来,大气生物气溶胶在线监测技术得到了快速发展。光学技术具有探测成本低、响应快、实时检测等独特优势,已成为探测生物气溶胶不可或缺的重要手段。随着生物气溶胶在气候变化、生态环境、公共卫生、生物安全等领域的研究与业务需求逐渐增多,今后光学技术手段在生物气溶胶探测方面的优势更为突出,必将发挥更大的作用。作者认为,该领域未来很长一段时间将呈现以下几方面的发展趋势:

1) 人工智能与光学技术的高度融合。随着人工智能技术的发展,充分发挥光学技术与人工智能的优势,强强联合,解决当前光学技术存在鉴别实际大气中生物气溶胶种类误判率高、定量检测其质量浓度精度较低的问题,有望显著提升对生物气溶胶的探测能力。

2) 多种技术手段高度集成。如表1所示,使用单一技术探测生物气溶胶存在较大的局限性,高度集成多种光学探测技术(如拉曼散射+荧光散射)或将光学与传统生物监测技术相结合,针对监测需求选择合适的技术组合,有望提高实际大气中生物气溶胶的准确性和丰富度。

表 1 生物气溶胶典型光学探测技术的原理以及优缺点

Table 1 Detection principles, advantages, and disadvantages of different optical technologies for detecting bioaerosols

Technology	Detection principle	Advantage	Disadvantage
Fluorescence scattering	Uses laser to excite biological molecules, causing specific fluorescence signals	Highly sensitive; real-time detection for various biological molecules	Require specific equipment; background noise can affect fluorescence signals
Raman scattering	Laser irradiation generates Raman scattering signals	Provides molecular structure information, no need for sample labeling	Weak signal; need sensitive detectors and complex data processing
Mass spectrometry	Ionize sample to analyze its molecular composition	High sensitivity and specificity; capable of quantitative analysis	Costly equipment; need ionization and vacuum systems
Biological ATP Autofluorescence	Detect natural fluorescence of ATP in cells	Rapid detection; no complex sample preparation needed	Relatively lower sensitivity; limited applicability.
LIBS	Use high-energy laser to create plasma, and analyze its light to identify elements	Rapid detection; capable of detecting multiple elements	Need high-energy laser for low organic molecule sensitivity
Microfluidic chip	Use micro-scale channels and zones for sample processing and detection	Low sample requirement; capable of high-throughput and integrated operations	Need complex design, fabrication, and special detection tools

3) 工程化、系统化程度越来越高。现有的生物气溶胶探测设备普遍存在体积庞大、稳定性差、环境适应性差等问题,无法满足对生物气溶胶探测的巨大需求。随着光电技术、芯片等领域的发展,未来仪器将更加小型化、低成本化,环境适应性更强,适用场景更丰富(如便携式、无人机等)。

## 参 考 文 献

- [1] Fröhlich-Nowoisky J, Kampf C J, Weber B, et al. Bioaerosols in the earth system: climate, health, and ecosystem interactions [J]. *Atmospheric Research*, 2016, 182: 346-376.
- [2] Hoose C, Möhler O. Heterogeneous ice nucleation on atmospheric aerosols: a review of results from laboratory experiments[J]. *Atmospheric Chemistry & Physics*, 2012, 12(20): 9817-9854.
- [3] Zhang S, Huang Z W, Alam K, et al. Derived profiles of CCN and INP number concentrations in the Taklimakan Desert via combined polarization lidar, Sun-photometer, and radiosonde observations[J]. *Remote Sensing*, 2023, 15(5): 1216.
- [4] 陈安南, 赵传峰. 气溶胶直接辐射强迫研究进展[J]. *科学通报*, 2024, 69(1): 30-44.  
Chen A N, Zhao C F. Progress of aerosol direct radiative forcing [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2024, 69(1): 30-44.
- [5] Qi J, Huang Z W, Xue F L, et al. Aridification alters the diversity of airborne bacteria in drylands of China[J]. *Atmospheric Environment*, 2023, 315: 120135.
- [6] Huang Z W, Dong Q, Xue F L, et al. Large-scale dust-bioaerosol field observations in East Asia[J]. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 2024, 105(3): E501-E517.
- [7] Liu Q T, Huang Z W, Liu J Q, et al. Validation of initial observation from the first spaceborne high-spectral-resolution lidar with a ground-based lidar network[J]. *Atmospheric Measurement Techniques*, 2024, 17: 1403-1417.
- [8] Tang K, Huang Z W, Huang J P, et al. Characterization of atmospheric bioaerosols along the transport pathway of Asian dust during the Dust-Bioaerosol 2016 Campaign[J]. *Atmospheric Chemistry & Physics*, 2018, 18(10): 7131-7148.
- [9] Huang Z W, Huang J P, Gu Q Q, et al. Optimal temperature zone for the dispersal of COVID-19[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 736: 139487.
- [10] Huang Z W, Yu X R, Liu Q T, et al. Bioaerosols in the atmosphere: a comprehensive review on detection methods, concentration and influencing factors[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 912: 168818.
- [11] 马雪征, 魏昭慧, 郑飞, 等. 生物气溶胶的采集和分析方法研究进展[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2022, 45(6): 516-520.  
Ma X Z, Wei Z H, Zheng F, et al. Collection and analysis methods of bioaerosol and its future prospects[J]. *Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine*, 2022, 45(6): 516-520.
- [12] An T C, Liang Z S, Chen Z, et al. Recent progress in online detection methods of bioaerosols[J]. *Fundamental Research*, 2024, 4(3): 442-454.
- [13] Christesen S D, Meroo C N, DeSha M S, et al. UV fluorescence lidar detection of bioaerosols[J]. *Proceedings of SPIE*, 1994, 2222: 228-237.
- [14] Adar F. Monitoring chemical changes by Raman spectroscopy [J]. *Spectroscopy*, 2024, 39(2): 8-10.
- [15] Song J, So P T C, Yoo H, et al. Swept-source Raman spectroscopy of chemical and biological materials[J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2024, 29(Suppl 2): S22703.
- [16] Miura A. Application of Raman spectroscopy for analytical science[J]. *Analytical Sciences*, 2024, 40(8): 1385-1386.
- [17] 张月琪. 磁性纳米粒子富集联合ATP荧光反应检测生物气溶胶研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事科学院, 2022: 20-40.  
Zhang Y Q. Detection of bioaerosols by magnetic nanoparticle enrichment combined with ATP bioluminescence reaction[D]. Beijing: Academy of Military Sciences, 2022: 20-40.
- [18] 刘小峰, 王林, 邱建荣. 等离子体纳米材料的光致发光(特邀)[J]. *激光与光电子学进展*, 2024, 61(3): 0316001.  
Liu X F, Wang L, Qiu J R. Photoluminescence of plasmonic nanomaterials (invited)[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2024, 61(3): 0316001.

- [19] Veerabuthiran S. Exploring the atmosphere with lidars[J]. *Resonance*, 2003, 8(5): 47-51.
- [20] 朱鑫琦, 张佩, 王光辉, 等. 基于归一化本征荧光信号的气溶胶分类技术研究[J]. *中国激光*, 2023, 50(13): 1310005.  
Zhu X Q, Zhang P, Wang G H, et al. Study of aerosol classification technique based on normalized intrinsic fluorescence signal[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2023, 50(13): 1310005.
- [21] 周瑶, 费鹏. 光片荧光显微成像技术的发展及应用(特邀)[J]. *激光与光电子学进展*, 2024, 61(6): 0618019.  
Zhou Y, Fei P. Development and application of light sheet fluorescence microscopy technology (invited) [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2024, 61(6): 0618019.
- [22] 林曼娜. 荧光显微镜的成像原理及其在生物医学中的应用[J]. *电子显微学报*, 2021, 40(1): 90-93.  
Lin M N. Imaging principles of fluorescence microscopy and its application in biomedicine[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2021, 40(1): 90-93.
- [23] 任利强. 荧光显微镜中景深和自动对焦方法的研究[D]. 天津: 天津大学, 2012: 16-40.  
Ren L Q. Research on depth of field and autofocus methods in fluorescence microscopy[D]. Tianjin: Tianjin University, 2012: 16-40.
- [24] Hara K, Zhang D Z, Yamada M, et al. A detection of airborne particles carrying viable bacteria in an urban atmosphere of Japan [J]. *Asian Journal of Atmospheric Environment*, 2011, 5(3): 152-156.
- [25] Rigler R, Jr. Microfluorometric characterization of intracellular nucleic acids and nucleoproteins by acridine orange[J]. *Acta Physiologica Scandinavica Supplementum*, 1966, 267: 1-122.
- [26] Hara K, Zhang D Z. Bacterial abundance and viability in long-range transported dust[J]. *Atmospheric Environment*, 2012, 47: 20-25.
- [27] 杨子健. 基于激光雷达技术的生物气溶胶监测系统构建与关键技术研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2015: 19-50.  
Yang Z J. Construction and key technology research of bioaerosol monitoring system based on lidar technology[D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2015: 19-50.
- [28] 黄忠伟. 气溶胶物理光学特性的激光雷达遥感研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2012: 20-60.  
Huang Z W. Study of physical and optical properties of atmospheric aerosols using lidar[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2012: 20-60.
- [29] 饶志敏. 大气边界层内生物气溶胶荧光激光雷达探测技术与实验研究[D]. 西安: 西安理工大学, 2018: 26-57.  
Rao Z M. Study on detection techniques and experiments of biological aerosols in the atmospheric boundary layer by fluorescence lidar[D]. Xi'an: Xi'an University of Technology, 2018: 26-57.
- [30] Pan Y L. Detection and characterization of biological and other organic-carbon aerosol particles in atmosphere using fluorescence [J]. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 2015, 150: 12-35.
- [31] Wang Y K, Huang Z W, Zhou T, et al. Identification of fluorescent aerosol observed by a spectroscopic lidar over Northwest China[J]. *Optics Express*, 2023, 31(13): 22157-22169.
- [32] 杨辉, 赵雪松, 孙彦飞, 等. 荧光偏振短距激光雷达测量生物战剂/气溶胶[J]. *红外与激光工程*, 2017, 46(10): 1030004.  
Yang H, Zhao X S, Sun Y F, et al. Bio-agents and aerosol measurement by fluorescence and depolarization short-distance lidar[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2017, 46(10): 1030004.
- [33] Li B W, Chen S Y, Zhang Y C, et al. Fluorescent aerosol observation in the lower atmosphere with an integrated fluorescence-Mie lidar[J]. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 2019, 227: 211-218.
- [34] 魏雨, 王国强, 王旭东, 等. 基于激光雷达和无人机的生物气溶胶监测技术研究[J]. *中国口岸科学技术*, 2022, 4(7): 11-19.  
Wei Y, Wang G Q, Wang X D, et al. Research on bioaerosol monitoring technology based on lidar and UAV[J]. *China Port Science and Technology*, 2022, 4(7): 11-19.
- [35] 史亮. 流式细胞仪的发展历史及其原理和应用进展研究[J]. *中国设备工程*, 2021(12): 13-14.  
Shi L. The development history, principle and application progress of flow cytometry[J]. *China Equipment Engineering*, 2021(12): 13-14.
- [36] Telford W G. Basic principles of flow cytometer operation: the make your own flow cytometer[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2024, 2779: 11-31.
- [37] 赵书涛, 武晓东, 王策, 等. 流式细胞仪的原理、应用及最新进展[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(22): 4378-4381.  
Zhao S T, Wu X D, Wang C, et al. Principles, applications and latest developments of flow cytometer[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2011, 11(22): 4378-4381.
- [38] Winson M K, Davey H M. Flow cytometric analysis of microorganisms[J]. *Methods*, 2000, 21(3): 231-240.
- [39] Brosseau L M, Vesley D, Rice N, et al. Differences in detected fluorescence among several bacterial species measured with a direct-reading particle sizer and fluorescence detector[J]. *Aerosol Science and Technology*, 2000, 32(6): 545-558.
- [40] Hairston P P, Ho J, Quant F R. Design of an instrument for real-time detection of bioaerosols using simultaneous measurement of particle aerodynamic size and intrinsic fluorescence[J]. *Journal of Aerosol Science*, 1997, 28(3): 471-482.
- [41] Huffman J A, Sinha B, Garland R M, et al. Size distributions and temporal variations of biological aerosol particles in the Amazon rainforest characterized by microscopy and real-time UV-APS fluorescence techniques during AMAZE-08[J]. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2012, 12(24): 11997-12019.
- [42] Pereira M L, Knibbs L D, He C, et al. Sources and dynamics of fluorescent particles in hospitals[J]. *Indoor Air*, 2017, 27(5): 988-1000.
- [43] Fennelly M J, Sewell G, Prentice M B, et al. Review: the use of real-time fluorescence instrumentation to monitor ambient primary biological aerosol particles (PBAP) [J]. *Atmosphere*, 2017, 9(1): 1.
- [44] 程柏榕. 天津市夏、冬季荧光生物气溶胶特征分析[D]. 天津: 天津大学, 2020: 13-43.  
Cheng B R. Characteristics of fluorescent bioaerosols in Tianjin during summer and winter[D]. Tianjin: Tianjin University, 2020: 13-43.
- [45] O' Connor D J, Healy D A, Hellebust S, et al. Using the WIBS-4 (waveband integrated bioaerosol sensor) technique for the on-line detection of pollen grains[J]. *Aerosol Science and Technology*, 2014, 48(4): 341-349.
- [46] Gabey A M, Vaitilingom M, Freney E, et al. Observations of fluorescent and biological aerosol at a high-altitude site in central France[J]. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2013, 13(15): 7415-7428.
- [47] Healy D A, O' Connor D J, Sodeau J R. Measurement of the particle counting efficiency of the "Waveband Integrated Bioaerosol Sensor" model number 4 (WIBS-4) [J]. *Journal of Aerosol Science*, 2012, 47: 94-99.
- [48] Brdar S, Panić M, Matavulj P, et al. Explainable AI for unveiling deep learning pollen classification model based on fusion of scattered light patterns and fluorescence spectroscopy [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 3205.
- [49] Boldeanu M, Cucu H, Burileanu C, et al. Multi-input convolutional neural networks for automatic pollen classification [J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(24): 11707.
- [50] Šikoparija B, Matavulj P, Mimić G, et al. Real-time automatic

- detection of starch particles in ambient air[J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2022, 323: 109034.
- [51] Crouzy B, Lieberherr G, Tummon F, et al. False positives: handling them operationally for automatic pollen monitoring[J]. *Aerobiologia*, 2022, 38(3): 429-432.
- [52] Lieberherr G, Auderset K, Calpini B, et al. Assessment of real-time bioaerosol particle counters using reference chamber experiments[J]. *Atmospheric Measurement Techniques*, 2021, 14(12): 7693-7706.
- [53] Saari S, Reponen T, Keskinen J. Performance of two fluorescence-based real-time bioaerosol detectors: BioScout vs. UVAPS[J]. *Aerosol Science and Technology*, 2014, 48(4): 371-378.
- [54] Ruske S, Topping D O, Foot V E, et al. Evaluation of machine learning algorithms for classification of primary biological aerosol using a new UV-LIF spectrometer[J]. *Atmospheric Measurement Techniques*, 2017, 10(2): 695-708.
- [55] 方乐天, 刘文斌, 丁一波, 等. 生物气溶胶远程探测装置研究进展[J]. *海军军医大学学报*, 2023, 44(9): 1086-1094.  
Fang L T, Liu W B, Ding Y B, et al. Remote detection device for bioaerosol: research progress[J]. *Academic Journal of Naval Medical University*, 2023, 44(9): 1086-1094.
- [56] Ferguson R M W, Neath C E E, Nasir Z A, et al. Size fractionation of bioaerosol emissions from green-waste composting[J]. *Environment International*, 2021, 147: 106327.
- [57] Treado P J, Morris M D. Infrared and Raman spectroscopic imaging[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 1994, 29(1): 1-38.
- [58] Gerrard D L, Birnie J. Chapter 4. Raman spectroscopy[J]. *Annual Reports Section C: Physical Chemistry*, 1988, 85: 77-90.
- [59] Sreejith M V, Thomas J R, Aravindakumar C T, et al. Characterisation of atmospheric particulate matter over a site in southern Kerala, India-using ATR-FTIR and confocal micro-Raman spectroscopy[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2020, 33: 1410-1414.
- [60] 王杰. 基于拉曼光谱和荧光光谱技术的生物气溶胶检测及识别方法研究[D]. 杭州: 中国计量大学, 2019: 21-42.  
Wang J. Study on detection and recognition of bioaerosol based on Raman spectroscopy and fluorescence spectroscopy[D]. Hangzhou: China University of Metrology, 2019: 21-42.
- [61] 高维亚, 赵春海, 窦守席. 显微共焦拉曼光谱仪的使用与维护[J]. *化学分析计量*, 2024, 33(1): 100-105.  
Gao W Y, Zhao C H, Dou S X. Usage and maintenance of micro confocal Raman spectrometer[J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2024, 33(1): 100-105.
- [62] 曹馨艺, 金尚忠, 侯彬, 等. 基于拉曼光谱的花粉检测及分类方法[J]. *激光与光电子学进展*, 2020, 57(13): 133001.  
Cao X Y, Jin S Z, Hou B, et al. Pollen detection and classification method via Raman spectroscopy[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(13): 133001.
- [63] Tripathi A, Jabbour R E, Guicheteau J A, et al. Bioaerosol analysis with Raman chemical imaging microspectroscopy[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(16): 6981-6990.
- [64] Alali H, Ai Y K, Pan Y L, et al. A collection of molecular fingerprints of single aerosol particles in air for potential identification and detection using optical trapping-Raman spectroscopy[J]. *Molecules*, 2022, 27(18): 5966.
- [65] Fleischmann M, Hendra P J, McQuillan A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode[J]. *Chemical Physics Letters*, 1974, 26(2): 163-166.
- [66] Kharintsev S S, Saparina S V, Fishman A I, et al. Spectrally resolving coherent TERS spectroscopy of electrically biased carbon-coated fibers[J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2020, 124(27): 14752-14758.
- [67] Félix-Rivera H, Hernández-Rivera S P. Raman spectroscopy techniques for the detection of biological samples in suspensions and as aerosol particles: a review[J]. *Sensing and Imaging: an International Journal*, 2012, 13(1): 1-25.
- [68] Ali Tahir M, Zhang X L, Cheng H Y, et al. Klarite as a label-free SERS-based assay: a promising approach for atmospheric bioaerosol detection[J]. *Analyst*, 2020, 145(1): 277-285.
- [69] Liu J, Liu Y Y, Zhang Y Y, et al. Efficient V-shaped substrate for surface and volume enhanced Raman spectroscopic analysis of bioaerosol: prevention from potential health risk[J]. *Environment & Health*, 2024, 2(4): 212-220.
- [70] 李润华, 周达君, 李庆行, 等. CARS技术中泵浦激光光场相干特性的研究[J]. *光学学报*, 1994, 14(1): 19-22.  
Li R H, Zhou D J, Li Q X, et al. Study on coherent characteristics of pump laser light field in CARS technology[J]. *Acta Optica Sinica*, 1994, 14(1): 19-22.
- [71] 刘双龙, 刘伟, 陈丹妮, 等. 相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术研究[J]. *物理学报*, 2016, 65(6): 064204.  
Liu S L, Liu W, Chen D N, et al. Research on coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy[J]. *Acta Physica Sinica*, 2016, 65(6): 064204.
- [72] Zumbusch A, Holtom G R, Xie X S. Three-dimensional vibrational imaging by coherent anti-Stokes Raman scattering[J]. *Physical Review Letters*, 1999, 82(20): 4142-4145.
- [73] Deckert V, Deckert-Gaudig T, Cialla-May D, et al. Laser spectroscopic technique for direct identification of a single virus I: FASTER CARS[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(45): 27820-27824.
- [74] Ferguson D P, Pitesky M E, Tobias H J, et al. Reagentless detection and classification of individual bioaerosol particles in seconds[J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(2): 373-378.
- [75] Steele P T, Tobias H J, Ferguson D P, et al. Laser power dependence of mass spectral signatures from individual bacterial spores in bioaerosol mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75(20): 5480-5487.
- [76] McJimpsey E L, Steele P T, Coffee K R, et al. Detection of biological particles in ambient air using bioaerosol mass spectrometry[J]. *Proceedings of SPIE*, 2006, 6218: 62180B.
- [77] Novotný K, Krempel I, Pečinka L, et al. Pulsed laser ablation synthesis of fresh Te nanoparticles for matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) applications[J]. *Talanta*, 2024, 274: 126061.
- [78] Karas M, Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10, 000 daltons[J]. *Analytical Chemistry*, 1988, 60(20): 2299-2301.
- [79] Madsen A M, White J K, Nielsen J L, et al. A cross sectional study on airborne inhalable microorganisms, endotoxin, and particles in pigeon coops: risk assessment of exposure[J]. *Environmental Research*, 2022, 204: 112404.
- [80] McJimpsey E L, Jackson W M, Lebrilla C B, et al. Parameters contributing to efficient ion generation in aerosol MALDI mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2008, 19(3): 315-324.
- [81] 王丽芸, 李新, 杨佳生, 等. 基于ATP生物发光法的微生物数量快速检测技术的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(8): 3451-3468.  
Wang L Y, Li X, Yang J S, et al. Research progress in rapid detection of microbial count based on ATP bioluminescence[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(8): 3451-3468.
- [82] Yoon K Y, Park C W, Byeon J H, et al. Design and application of an inertial impactor in combination with an ATP bioluminescence detector for *in situ* rapid estimation of the efficacies of air controlling devices on removal of bioaerosols[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(5): 1742-1746.
- [83] Theobald L S, Morton R A, Codd L W. Book reviews[J]. *The Analyst*, 1960, 85(1017): 924-927.
- [84] Cho Y S, Kim H R, Ko H S, et al. Continuous surveillance of bioaerosols on-site using an automated bioaerosol-monitoring system[J]. *ACS Sensors*, 2020, 5(2): 395-403.

- [85] Park J W, Kim H R, Hwang J. Continuous and real-time bioaerosol monitoring by combined aerosol-to-hydrosol sampling and ATP bioluminescence assay[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 941: 101-107.
- [86] Pasquini C, Cortez J, Silva L M C, et al. Laser induced breakdown spectroscopy [J]. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2007, 18(3): 463-512.
- [87] Pathak A K, Kumar R, Singh V K, et al. Assessment of LIBS for spectrochemical analysis: a review[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2012, 47(1): 14-40.
- [88] Ciniglia D, Migliorini F, Dondé R, et al. Loading effect of matrix compounds in aerosol LIBS measurements[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2023, 208: 106784.
- [89] Gallou G, Sirven J B, Dutouquet C, et al. Aerosols analysis by LIBS for monitoring of air pollution by industrial sources[J]. *Aerosol Science Technology*, 2011, 45(8): 918-926.
- [90] Gottfried J L, de Lucia F C, Munson C A, et al. Double-pulse standoff laser-induced breakdown spectroscopy for versatile hazardous materials detection[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2007, 62(12): 1405-1411.
- [91] Wang L, Qi W Z, Liu Y J, et al. Recent advances on bioaerosol collection and detection in microfluidic chips[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(26): 9013-9022.
- [92] Mahdavi-pour O, Fahimi D, Paprotny I. Focusing of airborne particles using groove-induced envelope (GRIP) flow air-microfluidic concentrator[J]. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 2019, 28(3): 453-459.
- [93] Jing W W, Zhao W, Liu S X, et al. Microfluidic device for efficient airborne bacteria capture and enrichment[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(10): 5255-5262.
- [94] Li X X, Zhang X L, Liu Q, et al. Microfluidic system for rapid detection of airborne pathogenic fungal spores[J]. *ACS Sensors*, 2018, 3(10): 2095-2103.
- [95] Hong S C, Kang J S, Lee J E, et al. Continuous aerosol size separator using inertial microfluidics and its application to airborne bacteria and viruses[J]. *Lab on a Chip*, 2015, 15(8): 1889-1897.
- [96] 张聪, 吕霁, 刘雨, 等. 病原微生物核酸快速提取及其微流控芯片研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(21): 63-70.  
Zhang C, Lü J, Liu Y, et al. Advances in rapid nucleic acid extraction from pathogenic microbes and associated microfluidic chips[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(21): 63-70.
- [97] Damit B. Droplet-based microfluidics detector for bioaerosol detection[J]. *Aerosol Science and Technology*, 2017, 51(4): 488-500.
- [98] Farka Z, Kovár D, Skládal P. Quartz crystal microbalance biosensor for rapid detection of aerosolized microorganisms[J]. *Proceedings of SPIE*, 2015, 9455: 945507.

## Research Progress and Prospects of Optical Technologies for Detecting Bioaerosols (Invited)

Huang Zhongwei<sup>1,2\*</sup>, Ji Yuanzong<sup>1</sup>, Wang Yongkai<sup>1</sup>, Zhou Tian<sup>1</sup>, Li Wuren<sup>2</sup>, Huo Xuefei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory for Semi-Arid Climate Change of the Ministry of Education, College of Atmospheric Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China;

<sup>2</sup>Collaborative Innovation Center for Western Ecological Safety, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu, China

### Abstract

**Significance** Bioaerosols, as a critical component in atmospheric aerosols, significantly affect regional climate, environmental systems, and human health. These microscopic airborne particles encompass a wide range of biological entities, including bacteria, viruses, fungi, and pollen. Their interactions with atmospheric processes can alter the chemical and physical properties of the atmosphere, influencing ecosystems and public health through multiple mechanisms. For instance, the dispersion of specific pathogens via bioaerosols can trigger infectious disease outbreaks, posing serious public health challenges. Pollen, a common allergen, affects millions of people worldwide by causing allergic reactions. In addition, bioaerosols play a pivotal role in the climate system. They can serve as cloud condensation nuclei (CCN) and ice nuclei (IN), thus influencing cloud formation, water cycles, and precipitation patterns. Furthermore, bioaerosols can modify the Earth's radiation budget by absorbing and scattering solar radiation, which in turn affects temperature and precipitation. This dual influence on both climate and public health highlights the importance of understanding and monitoring bioaerosol dynamics. In recent years, advancements in optical detection technologies have revolutionized real-time bioaerosol monitoring, enabling researchers and public health agencies to better understand and manage bioaerosols. These technologies offer several advantages, such as high sensitivity, rapid response, and non-invasive detection, which are crucial for accurately tracking bioaerosol concentrations and compositions in the atmosphere. The integration of these advanced optical technologies is essential in bioaerosol research, enhancing our understanding of bioaerosol dynamics and their influence on public health and climate models. As the field progresses, the development and deployment of cutting-edge optical tools will continue to play a key role in addressing the challenges posed by bioaerosols.

**Progress** Fluorescence scattering technology is one of the most commonly utilized methods for bioaerosol detection. This technique capitalizes on the fluorescence emitted by specific biomolecules when exposed to light of particular wavelengths. It offers high sensitivity and rapid response, making it well-suited for real-time environmental monitoring of bioaerosols. However, the method can be prone to interference from the fluorescence of non-biological particles, leading to potential false positives. Another widely utilized method is Raman scattering, a high-precision spectroscopic technique that identifies bioaerosols by detecting molecular vibrations and rotations. These molecular “fingerprints” provide detailed information about bioaerosol components. Although Raman scattering offers high resolution and selectivity, its inherently weak signal requires the use of sophisticated, high-sensitivity detection systems, limiting its widespread application. Mass spectrometry, particularly techniques like laser desorption ionization mass spectrometry, has also gained prominence for bioaerosol analysis. This method enables rapid and precise compositional analysis of bioaerosols, offering high sensitivity and resolution. However, the high cost and operational complexity of the equipment remain major drawbacks, requiring skilled personnel for operation and maintenance. Adenosine triphosphate (ATP) bioluminescence detection is another critical technology in bioaerosol research. It measures light emission from a biochemical reaction involving ATP, which serves as a universal energy carrier in biological cells, making it effective for detecting active microorganisms. The integration of ATP detection with microfluidic chips has emerged as a promising research direction, offering enhanced sensitivity and specificity for real-time monitoring of active microorganisms. Each of these optical and analytical technologies offers unique advantages and faces specific challenges in bioaerosol detection. Continued research and development will likely focus on refining these methods and integrating them with complementary technologies to further advance our understanding of bioaerosols and their impact on both the environment and human health.

**Conclusions and Prospects** Optical technologies hold immense potential for future applications in bioaerosol detection. Trends point towards the integration of artificial intelligence with optical technologies, and ongoing improvements in engineering and systematization. These advancements will drive future progress in bioaerosol research, enhancing our ability to monitor and mitigate their effects.

**Key words** bioaerosol; fluorescence scattering; Raman scattering; mass spectrometry; biological adenosine triphosphate autofluorescence