

快速检测病原菌含量的简易微流控系统*

杨宁^{1,2}, 左志强², Jun Steed Huang³, 张荣标¹, 毛罕平²

(1. 江苏大学电气与信息工程学院 镇江 212013; 2. 江苏大学农业装备工程学院 镇江 212013;
3. 加州大学圣地亚哥分校机器学习与应用研究中心 圣地亚哥 92126)

摘要:针对现有水产养殖病原菌检测时效性差、自动化程度低的缺点,提出了一种快速检测水产养殖病原菌含量的简易微流控系统研究方法。该系统将微电极构造于微流控芯片通道底部并与数字阻抗测量电路连接,通过在磁珠表面包被水产病原菌抗体,利用外部高斯磁场控制诱导磁珠捕获水产病原菌,并将水产病原菌与磁珠结合体带至微电极阵列,通过在电极端构建基于阻抗测量的计数电路,从而有效检测水产病原菌含量。研究结果表明该系统能够有效测量水产病原菌的含量,检测时间由传统的平板计数法 48 h 减少至 30 min,检测效率提高为原来的 60 多倍,检出限相比现有的微流控阻抗法缩小 100 倍。

关键词:水产病原菌;集成微流控;快速检测;阻抗

中图分类号: TH79 TP2 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 460.40

Simple microfluidic system for rapid detection of aquatic pathogenic bacteria

Yang Ning^{1,2}, Zuo Zhiqiang², Jun Steed Huang³, Zhang Rongbiao¹, Mao Hanping²

(1. School of Electrical and Information Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. School of Agricultural Equipment Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 3. Machine Theory and Learning Applications Center, University of California San Diego, San Diego 92126, USA)

Abstract: To overcome the poor timeliness and the low automaticity of existing aquaculture pathogen detection, an integrated microfluidic system for rapid detection is proposed. The microelectrode is set on the bottom of the microfluidic channel and connected to a digital impedance measurement circuit in this system. The magnetic beads is encased by the aquatic pathogens antibody on its surface. The aquatic pathogens are captured by magnetic beads because of the induction and control of the external Gauss magnetic field. The combination of aquatic pathogens and beads is induced to the microelectrode array. The content of aquatic pathogens can be detected effectually by the counting circuit based on impedance measurement fixed at the electrode terminals. The research results show that the amount of aquatic pathogens can be detected effectively by this system. Moreover, the proposed system can reduce the detection time to one-sixtieth compared with traditional laboratory test.

Keywords: aquatic pathogens; integrated microfluidic; rapid detection; impedance

1 引言

水产病害使我国海水养殖病害发病率达到 50%, 引起的水质污染问题日益突出, 造成了巨大的经济损失^[1]。因此高效、快速、便携的水产病原菌检测是保证渔业生产质量, 促进集约化生产模式的关键技术。

目前, 国内外研究人员在水产养殖环境病原菌检测方面做了大量研究工作, 其检测方法归结起来主要有细菌学检验法^[2]、现代仪器细菌检验法^[3]、DNA 检验法^[4]、免疫荧光^[5]、智能图像识别^[6]等其他新型检测方法。早期, Decostere A 等人^[2]利用妥布霉素添加的特定介质选择性隔离了水产鱼类中柱状黄杆菌; 江涛^[7]通过目检法判断观赏鱼疾病及防治方法, 此类方法需依赖工作人员

经验且主观性强;Salma M 等人^[8]利用流式细胞仪和BOX/PI 染色检测葡萄酒中的乳酸菌,该方法需借助昂贵且结构复杂的现代科学仪器设备;Vinothkumar K 等人^[9]设计了河流弧菌特征基因的多重 PCR 检测体系;刘鹿山等人^[10]利用免疫技术针对对虾白斑综合征病毒建立了胶体金免疫层析试纸条,DNA 检验法和免疫学检验法相对比较先进,尤其免疫学检验法使用较为广泛^[7];Song Y. Q. 等人^[11]发明了一种在外界交互扰动下进行单胞菌动力学行为检测的微流控方法。此外,Zhang K 等人^[12]创建了磁致伸缩粒子传感平台,能够对沙门氏菌、大肠杆菌等多种抗原进行原位检测。但上述方法的实验步骤仍较复杂,且需借助昂贵的仪器设备。这都限制了水产养殖病原菌检测面向普及化方向发展。

近年来新兴的微流控技术是一种能将细菌检测过程中的进样、混合、反应及检测等环节集成到一块微米尺度芯片上自动完成的有效手段,它的引入大大提升了细菌检测过程的自动化与客观化水平,引起了国内外学者的广泛关注^[13-16]。郭建江等人^[17]针对病原菌检测,创建了免疫凝集微流控检测电控混合方法。然而,目前尚未见与微流控芯片相配套完整的水产养殖病原菌检测方法与检测系统。

为此,提出一种基于免疫磁珠捕获复合微电极阻抗检测技术的水产养殖病原菌集成微流控快速检测系统。

2 芯片工作原理

图1所示为水产养殖病原菌集成微流控快速检测系统的工作原理图,采用化学交联技术在微米级磁珠上包被水产病原菌抗体,将磁珠纳入微流控芯片系统,微通道中微米级磁珠与水产病原菌先在外加旋转磁场作用下混合,致使磁珠上包被的水产病原菌抗体和水产病原菌发生特异性结合,后在磁极产生的纵向磁场作用下转移至预先布置在微通道底部的电极阵列上,通过电极阵列上免疫磁珠捕获病原菌前后阻抗的变化来测量水产病原菌的数量。

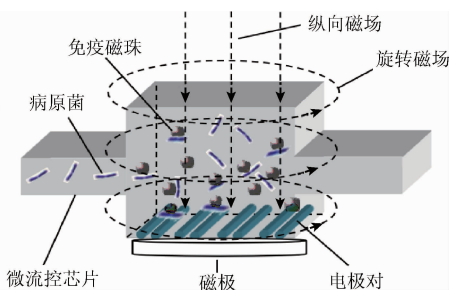


图1 病原菌快速检测原理

Fig.1 The principle of rapid detection of pathogenic bacteria

为了最大限度地提高检测概率,微流控芯片底部的电极阵列尽量密集布置。电极配对与检测电路紧密连接,每一对电极均有独立的XY 地址,可以单独测试记录。

在电极对之间有3种可能情况。1)没有任何磁珠游离至电极对之间,这时电极对间只存在电离介质,阻抗电平较低。2)只有免疫磁珠游离至电极对之间即磁珠并未捕获到水产养殖病原菌,这种情况下,阻抗电平最大。3)捕获有水产养殖病原菌的磁珠游离至电极对之间,在微磁珠电阻和细菌细胞质电阻并联作用下,阻抗电平降低至中间值。为了保证电极检测具有较高的灵敏度,要求横跨在一对电极上的电压必须始终大于细菌的细胞膜击穿电压,这里选用0.2~1.5 V^[18]。用这种方式,可以忽略细胞膜的电容特性,使得细菌变成较优越的良导体。通过以上工作原理,可以建立水产养殖致病菌浓度与阻抗变化的比例关系。水产养殖病原菌阻抗测量等效电路如图2所示。其中,Port1(P1)为端口1,Port2(P2)为端口2,Port3(P3)为端口3,Port4(P4)为端口4。

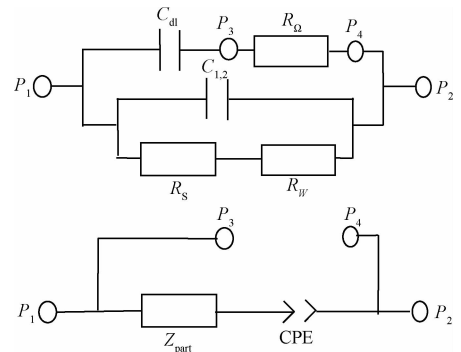


图2 致病菌阻抗测量等效电路和等效简化电路
Fig.2 The equivalent and simplified circuit for impedance measurement system for the detection of aquaculture pathogens

Port1、Port2 两端分别代表研究电极和辅助电极,则电极间的阻抗计算如下:

$$|Z_1| = \sqrt{R_{\Omega}^2 + \frac{1}{(2\pi f C_{dl})^2}} \quad (1)$$

$$|Z_2| = \sqrt{\frac{1}{(2\pi f C_{1,2})^2}} \quad (2)$$

$$|Z_3| = \sqrt{(R_s + R_w)^2} \quad (3)$$

$$\frac{1}{Z_{part}} = \frac{Z_2 Z_3}{Z_2 + Z_3} \quad (4)$$

$$\frac{1}{Z_{total}} = \frac{1}{Z_1} + \frac{1}{Z_{part}} \quad (5)$$

$$Z_{CPE} = \frac{K}{(j\omega)^\beta} \quad (6)$$

式中: $C_{1,2}$ 为电极间的电容, C_{dl} 为电极间界面双电层电容, R_{Ω} 电极间致病菌复合物的电阻, R_w 电极表面扩散电

阻, R_s 溶液电阻, f 为阻抗检测频率, Z_{dl} 为等效电路 $C_{dl} + R_d$ 的阻抗, Z_2 为等效电路 $C_{1,2}$ 的阻抗, Z_3 为等效电路 $R_s + R_w$ 的阻抗, Z_{part} 为 Z_2 和 Z_3 的总阻抗, Z_{total} 为检测系统阻抗, CPE 为简化常相角元件。通过确定检测系统阻抗 (以下简称系统阻抗) 与样本中致病菌浓度间的定量关系, 得出致病菌的浓度含量。

3 实验部分

3.1 微流控芯片和微电极制作

微流控芯片由聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 材料制作, 将 PDMS 与固化剂以 10:1 的比例搅拌混匀, 并注入容器, 通过抽真空的方式祛除搅拌过程中混入聚合物中的大量气泡, 室温静置约 10 h, 至 PDMS 固化脱模, 从而在微流控芯片 PDMS 基片上形成用于养殖水源和免疫磁珠进样及捕捉反应的微通道, 如图 3 所示为制作的微流控芯片, 其中 a 为水产养殖病原菌注射通道, b 为免疫磁珠注射通道, c 为缓冲液注射通道, d 为微通道, f 为废液排放通道。

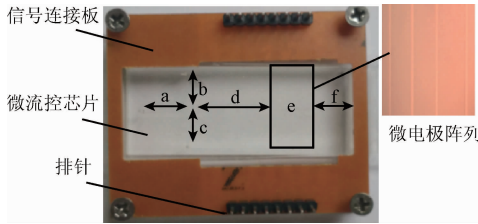


图3 微流控芯片实物

Fig.3 Photo of microfluidic chips

选用氧化锡 (ITO) 导电薄膜为基片, 通过甲苯、丙酮、乙醇去离子水依次实施超声清洗, 并采用 120℃ 烘焙去水, 通过甩胶、前烘、曝光和显影 4 步骤得到负胶光刻 ITO 阵列电极图形, 再经坚膜、腐蚀、去胶、清洗以及烘干等步骤完成用于实现阻抗检测的微电极阵列制备, 微电极尺寸长宽为 120 μm × 20 μm, 磁珠尺寸直径为 25 μm。图 3 所示为微流控芯片, 加工材料为聚二甲基硅氧烷 (PDMS), 芯片尺长宽尺寸为 50 mm × 20 mm, 其中 e 所示为微电极阵列照片。将带有微电极阵列 ITO 基片与 PDMS 芯片进行等离子键合便可得到整体微流控系统。

3.2 阻抗检测电路设计与制作

对于每一个电极对之间有 3 种可能情况, 可视为 3 种模型。第 1 种模型, 没有任何磁珠游离至电极对之间, 这时电极对间只存在电离介质; 第 2 种模型, 只有免疫磁珠游离至电极对之间即磁珠并未捕获到水产养殖病原菌; 第 3 种模型, 捕获有水产养殖病原菌的磁珠游离至电极对之间, 在微磁珠电阻和细菌细胞质电阻并联作用下, 阻抗电平降低至中间值。用开关关闭表示当前电路处在哪种

模型状态。图 4 所示为该测量电路的前端检测简化模型。

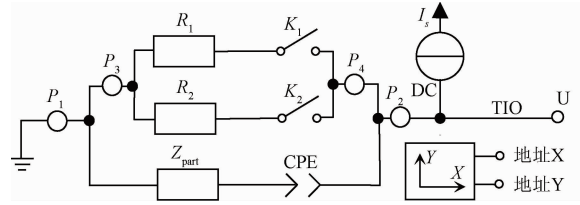


图4 阻抗检测电路模型

Fig.4 Model of Impedance detection circuit

图 4 中, R_1 为磁珠未捕获病原菌阻抗, R_2 为磁珠捕获病原菌阻抗, Z_{part} 为空载时阻抗, I_s 为电流源电流。XY 地址信号线输出坐标地址 X 和 Y。TIO 引线输出前端电压信号 U。

检测电路用于测量电极对之间的阻抗电平关系, 其具体步骤为: 从电极对的一端注入第一个参考电流经过待测目标后流入地。待测目标为免疫磁珠和水产养殖病原菌的并联模型, K_1 闭合而 K_2 断开表示未捕获到水产养殖病原菌的免疫磁珠游离至电极对; K_1 、 K_2 均闭合则表示携带有水产养殖病原菌的免疫磁珠游离至电极对; K_1 、 K_2 均断开则表示无磁珠游离至电极对, 此时处于空载状态。电流源输出的电流经电极对间过阻抗体转化为电压信号, 电压信号与参考电压进行比较, 输出反映电极间阻抗关系的输出信号。

对于每一个电极对, 均存在一套相应的检测电路。此电路是用于阻抗的实部检测。图 5 所示为该阻抗测量电路的原理。

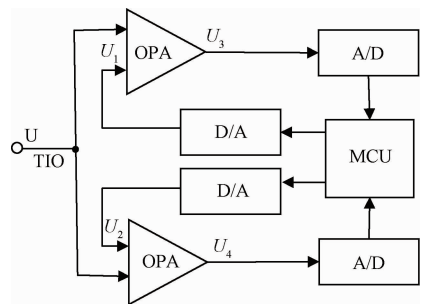


图5 阻抗检测电路原理

Fig.5 Schematic diagram of Impedance detection circuit

图 5 中, U 为前端输出电压, 微控制单元 (MCU) 通过数模转换单元 (D/A) 输出比较电压 U_1 和比较电压 U_2 。信号 U 在运算放大器 (OPA) 作用下与 U_1 进行比较, 输出信号 U_3 ; 信号 U 在 OPA 作用下与 U_2 比较, 输出信号 U_4 。 U_3 和 U_4 经过模数转换单元 (A/D) 采样处理后输入 MCU 进行处理。

为了使检测电路能够准确测量水产养殖病原菌的数量, 这里需要对判断落入微电极的水产养殖病原菌的阻

抗阈值进行准确设定,微电极测量得到的阻抗信号通过ITO引线引入逻辑电路,为了保证ITO导电玻璃与电子线路的紧密贴合,本文采用银浆焊接工艺完成。在显微镜下观测落入微电极的病原菌分布状况,根据分布结构条件分别测量有携带病原菌磁珠、无携带病原菌磁珠落入微电极及空载微电极条件下的不同阻抗水平。以水产养殖病原菌中最常见的食源性病原体大肠杆菌^[19]为例,测定在不同情况下微电极之间的阻抗。如表1所示,经测定微电极空载条件下的阻抗平均值为78 k Ω ,当磁珠未捕获病原菌条件下的阻抗平均值为1 350 k Ω ,而磁珠捕获病原菌条件下阻抗平均值则为620 k Ω 。根据阻抗水平对 R_5 和 R_6 进行有效设定,保证当磁珠捕获到水产病原菌时,比较器LM₁和LM₂同时输出高电平,这样与门电路输出数字“1”信号,而其他情况则输出数字“0”信号。

表1 电极对间不同情况的阻抗

Table 1 The impedance between microelectrodes under the different situations (k Ω)

样本	状态		
	空载	未捕获病原菌	捕获病原菌
1	70	1 310	610
2	80	1 389	605
3	82	1 375	623
4	73	1 340	627
5	80	1 362	635
6	87	1 330	605
7	70	1 335	613
8	74	1 377	632
9	80	1 348	611
10	84	1 334	639
平均值	78	1 350	620

3.3 系统检测平台

图6所示为系统检测平台。其中,高斯磁场发生器在微流控芯片周围产生外加磁场,搅拌免疫磁珠和病原菌的混合并驱动捕捉致病菌的免疫磁珠定向运动至电极对上;PDMS微流控芯片为所有的检测环节提供场所,实现高效、低廉的检测;微型注射泵,为整个样品和试剂进样提供动力;检测电路板把电阻信号转化为数字信号。通过微型注射泵分别以0.8 mm/s的速度对微通道入口a、b、c注射水产养殖病原菌、免疫磁珠、缓冲液。整个微流控芯片系统置于高斯磁场控制器内部,通过控制磁场变换很容易驱动磁珠运动,磁珠运动过程中利用表面包被的抗体有效捕捉水产养殖病原菌抗原。反应10 min

后,捕捉完毕再次利用高斯磁场控制器将水产病原菌与磁珠结合体带至微流控芯片底部布置好的微电极阵列,微电极阵列通过阻抗测量电路测量免疫捕获前后磁珠的阻抗变化从而确定水产病原菌的含量大小。

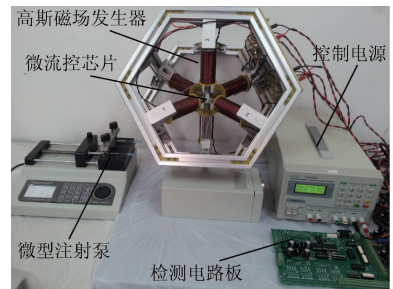


图6 磁场控制器

Fig. 6 The magnetic field controller

4 实验结果与讨论

4.1 误差分析

每一种类型的传感器都有其最佳检测范围。在此范围内,才能更好保证该传感器的检测精度。

本文设计的水产养殖病原菌集成微流控快速检测系统利用病原菌落在微电极上阻抗发生变化,通过比较器输出的电平高低,实现对检测对象水产养殖病原菌的有效计数。因此,当病原菌浓度低时,病原菌之间的距离相对较大,在与病原菌尺寸相近的微通道中流动,病原菌会尽可能先后缓慢单个有序地落在微电极对上,此时计数较清晰。相反,当病原菌浓度过高时,病原菌之间的距离就越小,空间分布就越杂乱,甚至在微通道流动中会发生挤压或者抢步,难以保证单个有序的落在微电极对上,此时计数相对混乱,检测精度难以保证。

为了寻找水产养殖病原菌最佳浓度检测临界值,现标定浓度为 2×10^8 CFU/ml的大肠杆菌样本菌液依次配成浓度分别 20 、 2×10^2 、 2×10^3 、 2×10^4 、 2×10^5 、 2×10^6 、 2×10^7 、 2×10^8 CFU/ml的样本菌液,每一浓度配制50组份,重复试验。使用该检测系统分别对以上每一浓度病原菌进行计数,与浓度真实值相比,计算出对应的检测误差,图7所示为该检测系统在不同病原菌浓度下的检测值和样本理论真实值的检测误差,通过与样本值的检测误差来反映该检测系统的检测性能。由图7结果分析可知,当病原菌的检测浓度等于或小于 2×10^6 CFU/ml,该检测系统的检测误差能有效保证在5%以内,当病原菌的检测浓度大于 2×10^6 CFU/ml时,该检测系统误差开始超出5%,并随着病原菌浓度变大而变大。综上所述,该系统的最大的浓度检测临界值约为 2×10^6 CFU/ml。当浓度大于此临界值,检测误差将变大,导致检测失真。

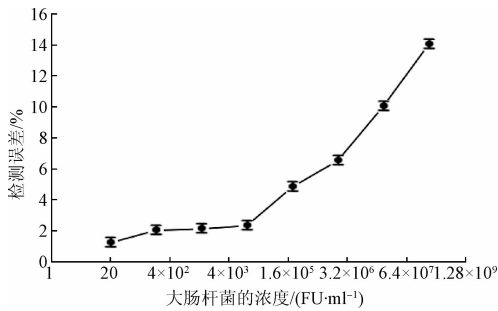


图7 大肠杆菌浓度检测误差分析

Fig. 7 Error analysis of Escherichia coli detection

4.2 可靠性验证

为了分析验证该微流控系统检测性能,以水产养殖病原菌中的大肠杆菌为例,取标定浓度为 12×10^4 CFU/ml 的样本菌液进行梯度稀释,稀释成的每一浓度菌液各有 50 组份,之后将标定梯度菌液进行微流控系统进样,将所述系统检测结果与标准平板计数法进行相关度分析,图 8 所示为利用两种方法分别检测稀释后每一浓度样本菌液获得的散点图,每个散点代表 50 组重复试验的检测值,且插入了误差棒,误差棒的上限表示检测浓度的最大值,下限表示检测浓度的最小值,中点表示检测平均值。通过线性回归分析推知数据相关系数达 0.967 3。两种方法的检测误差对比如表 2 所示,结果显示两种检测方法的平均相对误差小于 5%。从表 2 中容易看出,与目前使用最广泛的平板计数法相比,所提出的水产养殖病原菌集成微流控快速检测系统基本达到了日常检测所需精度。

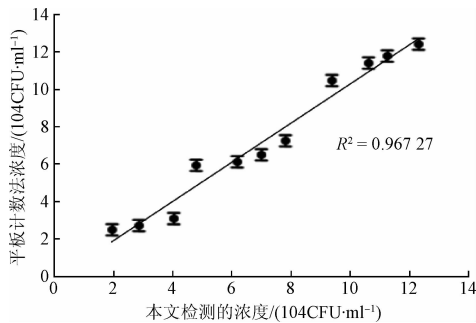


图8 所提出方法与平板计数法回归分析

Fig. 8 Regression analysis of the proposed method and plate counting method

表2 本方法与标准方法检测误差对比

Table 2 Error comparison of two detection methods

样本	平板计数法/ (CFU · ml ⁻¹)	微流控阻抗计数法/ (CFU · ml ⁻¹)	相对误差/ %
1	2.1×10^4	2.03×10^4	3.34
2	4.2×10^4	4.1×10^4	2.38
3	10.5×10^4	10.06×10^4	4.19

表 3 所示为 4 种主要的病菌检测方法的结果对比,在检出限方面,传统的平板计数法^[20]检出限最低约为 $2 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$,远远优于其他所有方法,所述检测方法的检出限虽大于平板计数法,但远小于其他两种方法;在耗时方面,平板计数法从病菌培养至检测整个环节耗时最长,约为 48 h,本文所述检测方法计数时间最少约为 30 min;在试剂耗费方面,主要耗材为病菌活体、培养液等,由表 3 可得,所述方法及微流控阻抗法试剂耗费最小,远小于传统的平板计数法和电化学阻抗法;在仪器造价方面,平板计数法表现了最大的优势,论文所述方法因为自制的电路检测板,所购买的电路元器件(电阻、电容、开关等)仅需 250 元,虽略大于平板计数法,但相比仪器造价昂贵的微流控电化学阻抗法和电化学阻抗法却也表现出不小的优势。

表3 四种主要方法的对比

Table 3 Comparison of four main detection methods

指标	检出限 (CFU · ml ⁻¹)	耗时/ h	试剂 耗费/元	仪器 造价/元
平板计数法 ^[20]	2	48	90	20
所述方法	10	0.5	25	8 500
微流控电化学阻抗法 ^[21]	1.6×10^3	0.83	30	45 000
电化学阻抗法 ^[22]	2.2×10^3	1	80	50 000

本文提出的微流控阻抗计数检测方法与 2015 年郭建江等人^[22]提出的微流控电化学阻抗法相比也有了较大改进,相比之下,检出限缩小约 100 倍,与传统的平板计数法相比,所述检测法时间却由原来的 48 h 缩短为现在的约 30 min,检测效率提高约 60 倍。综上所述,该方法检出限和仪器造价相对较低、耗材小、检测时间短。在众多的检测方法中综合表现出了较高的性价比,并且整个检测过程的人力投入和复杂度远低于传统平板计数法,大大提升了水产病原菌检测技术的自动化水平。

5 结 论

提出了一种快速检测水产养殖病原菌含量的简易微流控系统研究方法。该系统将微电极构造于微流控芯片通道底部并与数字阻抗测量电路连接,依据磁珠上包被的水产病原菌抗体和水产病原菌发生特异性结合的机理,检测相应的病原菌含量,鉴于病原菌种类很多,故应根据检测任务,有针对性的选择病原菌抗体,再利用外部高斯磁场控制诱导磁珠捕获水产病原菌,并将水产病原菌与磁珠结合体带至微电极阵列,电极端的阻抗测量电路实施水产病原菌含量检测。研究结果表明所提出的水

产养殖病原菌集成微流控快速检测系统基本达到了日常检测所需精度,而检测时间却由原来的48 h缩短为现在的约45 min,检测效率提高约60倍,且整个检测过程的人力投入和复杂度远低于传统平板计数法,大大提升了水产病原菌检测技术的自动化水平。为便携式水产病原菌自动检测系统的研制提供了研究经验。

参考文献

- [1] 何祥长,张荣福,吴晓.水质综合毒性在线检测仪设计[J].电子测量技术,2016,39(11):1-5.
HE X CH, ZHANG R F, WU X. Design of water synthetic toxicity online detector [J]. Electronic Measurement Technology, 2016, 39(11):1-5.
- [2] DECOSTERE A, HAESEBROUCK F, DEVRIESE L A. Shieh medium supplemented with tobramycin for selective isolation of flavobacterium columnare (flexibacter columnaris) from diseased fish [J]. Journal of Clinical Microbiology, 1997, 35(1): 322-324.
- [3] LIESBET D, HOFTE M, ERIK V B, et al. Applications of flow cytometry in plant pathology for genome size determination, detection and physiological status [J]. Molecular Plant Pathology, 2011, 12(8): 815-828.
- [4] GARRIDO A, CHAPELA M J, FERREIRA M, et al. Development of a multiplex real-time PCR method for pathogenic Vibrio parahaemolyticus detection (tdh plus and trh plus) [J]. Food Control, 2012, 24(1-2): 128-135.
- [5] 杨军,黄小玲,张丽果,等.一种小型高通量SPR生物传感检测装置的研制[J].仪器仪表学报,2011,32(7):1578-1584.
YANG J, HUANG X L, ZHANG L G, et al. Research and development of a miniaturized and high-throughput SPR biosensor device [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2011, 32(7):1578-1584.
- [6] 胡敏,陈红波,许良凤,等.基于颜色和纹理特征的黄瓜病害识别算法[J].电子测量与仪器学报,2015,29(7):970-977.
HU M, CHEN H B, XU L F, et al. Cucumber disease recognition algorithm based on color and texture features [J]. Journal of Electronic Measurement And Instrumentation, 2015, 29(7):970-977.
- [7] 江涛.用目检法判断观赏鱼疾病及防治方法[J].猪业观察,2004(11):51-52.
JIANG T. To judge by visual inspection method ornamental fish disease and prevention methods [J]. The Pig Industry to Observe, 2004(11):51-52.
- [8] SALMA M, ROUSSEAU S, GRAND S L, et al. Cytofluorometric detection of wine lactic acid bacteria; application of malolactic fermentation to the monitoring [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2013, 40(1):63-73.
- [9] VINOTHKUMAR K, BHARDWAJ A K, RAMAMURTHY T, et al. Triplex PCR assay for the rapid identification of 3 major Vibrio species, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, and Vibrio fluvialis [J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2013, 76(4): 526-8.
- [10] 刘鹿山,绳秀珍,战文斌.对虾白斑综合征病毒胶体金免疫层析试纸条的优化及应用[J].中国海洋大学学报:自然科学版,2013,43(11):43-48.
LIU L SH, SHEN X ZH, ZHAN W B. Optimization and application of colloidal gold immunochromatographic test strip for detection of white spot syndrome virus [J]. Periodical of Ocean University of China, 2013, 43(11): 43-48.
- [11] SONG Y Q, LI B, QIU Y, et al. Single bacteria studies using microfluidics [J]. Springer Protocols Handbooks, 2015(4): 1-19.
- [12] ZHANG K, FU L, ZHANG L, et al. Magnetostrictive particle based biosensors for in situ and real-time detection of pathogens in water [J]. Biotechnology & Bioengineering, 2014, 111(11):2229-2238.
- [13] DERMOT M, JUDY C, RINSE W, et al. Shared risk genes between inflammatory bowel disease (IBD) and other immune-mediated disorders: First results from the immunochip project of the international ibd genetics consortium (IIBDGC) [J]. Inflammatory Bowel Diseases. 2011, 17(2): S7-S8.
- [14] 杨宁,张荣标,徐佩锋,等.基于微流控芯片的乳胶免疫凝集光电检测方法[J].仪器仪表学报,2013,34(6):1395-1400.
YANG N, ZHANG R B, XU P F, et al. Latex immunoagglutination photoelectric detection method based on microfluidic chip [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2013, 34(6): 1395-1400.
- [15] YOON J Y, HAN J H, CHOI C Y, et al. Real-time detection of Escherichia coli in water pipe using a microfluidic device with one-step latex immunoagglutination assay [J]. Transactions of the ASABE, 2009, 52(3): 1031-1039.
- [16] 林炳承,秦建华.微流控芯片实验室[M].北京:科学出版社,2006.
LIN B Ch, QIN J H. Laboratory on a microfluidic chip [M]. Beijing: Science Press, 2006.
- [17] 郭建江,张荣标,杨宁,等.面向免疫凝集微流控检

测的电控混沌混合方法[J]. 仪器仪表学报, 2014, 35(3):685-690.

GUO J J, ZHANG R B, YANG N, et al. Electric field control chaotic mixing method for immunoagglutination microfluidic detection system [J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2014, 35(3):685-690.

- [18] LAFLEUR J P, SENKBEIL S, JENSEN T G, et al. Gold nanoparticle-based optical microfluidic sensors for analysis of environmental pollutants[J]. Lab on a chip, 2012, 12(22):4651-4656.

- [19] 孙登峰, 王顾希, 钱杉杉, 等. 食品安全检测技术与标准研究[J]. 中国测试, 2015, 41(8):1-7.
SUN D F, WANG G X, QIAN B B, et al. Review on testing technologies and standards for food safety [J]. China Measurement & Test, 2015, 41(8):1-7.

- [20] KHINE M, LAU A, CRISTIAN I Z, et al. A single cell electroporation chip[J]. Lab Chip, 2005, 5(1):38-43.

- [21] 郭建江, 张荣标, 杨宁, 等. 基于磁控分离的水产致病细菌微流控检测方法[J]. 农业机械学报, 2015, 46(4):277-281.

GUO J J, ZHANG R B, YANG N, et al. Aquaculture pathogens detection based on microfluidic system with magnetic isolation [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(4):277-281.

- [22] 王晶晶, 徐超, 杨题隆, 等. 壳聚糖协同 γ 射线辐照对冷鲜猪肉品质的影响[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版, 2016(2):220-227.

WANG J J, XU Ch, YANG T L, et al. Combined effect of chitosan and gamma ray on quality of chilled fresh pork[J]. Journal of Zhejiang University: Agriculture & Life Sciences, 2016(2):220-227.

作者简介



Yang Ning received his B. Sc. degree from First Aeronautical Institute of Air Force in 2008, received his B. Sc. and Ph. D. degrees both from Jiangsu University (UJS) in 2011 and 2013, respectively. Now he is an associate professor in Jiangsu University. His main research interest is micro-sensor and micro-system technology.



左志强, 2013 年于常州工学院获得学士学位, 现为江苏大学硕士研究生在读, 主要研究方向为基于微流控芯片生物传感。

E-mail: zuozhiqiang8888@163.com

Zuo Zhiqiang received his B. Sc. degree from Changzhou Institute of Technology. Now he is a master student in Jiangsu University. His main research interest is the biosensors based on the microfluidic chip.



张荣标(通讯作者), 分别在 1982 年和 2003 年于江苏大学获得学士和博士学位, 现为江苏大学电气信息工程学院教授、博士生导师, 主要研究方向为智能检测技术。

E-mail: zrb@ujs.edu.cn

Zhang Rongbiao (Corresponding author) received his B. Sc. and Ph. D. degrees both from Jiangsu University (UJS) in 1982 and 2003, respectively. He is currently a professor and doctoral supervisor in UJS. His main research interest is intelligent detection technology.