

DOI: 10.19650/j.cnki.cjsi.J2514821

基于集成密封阀的碟式微流控芯片制备及性能分析*

王 哲¹, 王 岩¹, 赵梓朝^{2,3}, 张书豪⁴, 张 昊¹

(1. 长春理工大学 长春 130022; 2. 吉林省计量科学研究院 长春 130103; 3. 吉林省计量测试仪器与技术
重点实验室 长春 130103; 4. 长春卓谊生物股份有限公司 长春 130616)

摘 要:针对传统实时荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 仪存在管式检测试剂消耗量大、易产生气溶胶污染的问题,提出了一种集成密封阀的碟式微流控芯片设计方法。根据核酸扩增反应的作用机理,系统分析其对高温、密闭等特殊环境的内在需求,构建了基于流体力学理论的多物理场耦合模型,并依托该模型完成了微流道与阀组关键结构参数的优化设计。采用仿真模拟与物理实验结合的方法,对比不同参数下阀单元的流体突破阈值,验证了阀结构合理性的最优方案,通过搭建专用工装开展高温循环密封性验证实验,最终完成对密封阀的可靠性评估。通过搭建核酸扩增实验系统,选取多种不同类型的核酸样本,基于 SYBR Green 荧光定量技术开展核酸扩增效率检测,并与传统管式扩增平台进行平行对照实验。实验结果表明,经结构优化后的芯片综合性能表现优异:密封后的相对重量变化率仅为 0.379%,与密封前 98.588% 的数值相比差异显著;实验组与对照组的变异系数分别为 4.73% 和 0.27%,均满足实验设计的精度要求。该芯片与传统管式平台的检测结果高度吻合,线性相关系数 R^2 达 0.995,证实其可实现对目标核酸的精准特异检测。该芯片集成 16 个独立检测单元,可实现多份核酸样本的同步并行检测,为核酸的高通量快速筛查提供新方案,具有广阔临床应用前景。

关键词: 碟式微流控芯片; 实时荧光定量 PCR; 毛细阀; 密封阀

中图分类号: TH165+.4 **文献标识码:** A **国家标准学科分类代码:** 460.4099

Fabrication and performance analysis of disc-type microfluidic chip based on integrated sealing valves

Wang Zhe¹, Wang Yan¹, Zhao Zichao^{2,3}, Zhang Shuhao⁴, Zhang Hao¹

(1. Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022, China; 2. Jilin Institute of Metrology, Changchun 130103, China; 3. Jilin Provincial Key Laboratory of Metrology Testing Instruments and Technology, Changchun 130103, China; 4. Changchun Zhuoyi Biological Co., Ltd., Changchun 130616, China)

Abstract: To solve the problems of large reagent consumption and aerosol contamination in tube-based detection of traditional real-time fluorescent quantitative PCR instruments, a disc-shaped microfluidic chip integrated with sealed valves was proposed. Based on the mechanisms of nucleic acid amplification reaction, the intrinsic requirements for high temperature and airtightness were analyzed, and a multiphysics field coupling model was constructed to optimize the key structural parameters of microchannels and valve groups. Combining simulations and physical experiments, we compared the fluid burst pressure of valve units under different parameters to validate the optimal valve structure. Furthermore, reliability evaluations of the sealed valves were completed by conducting high-temperature thermal cycling sealing tests using a custom-built fixture. By establishing a nucleic acid amplification experimental system, amplification efficiency was evaluated on various samples using SYBR Green fluorescence chemistry, alongside parallel controls on a traditional tube-based platform. The results show that the optimized chip has excellent performance; the relative weight change rate after sealing is only 0.379% (vs. 98.588% before sealing); the coefficients of variation of the experimental and control groups are 4.73% and 0.27% respectively, meeting the precision requirements. The detection results are highly consistent with the traditional platform ($R^2 = 0.995$), realizing accurate detection of target nucleic acids. Integrating 16 independent detection units for synchronous parallel detection, the chip provides a novel solution for high-throughput rapid nucleic acid screening and has broad clinical application prospects.

Keywords: disc-shaped microfluidic chip; real-time fluorescent quantitative PCR; capillary valve; sealing valve

0 引 言

核酸扩增技术在生命科学研究与临床诊断^[1]领域至关重要,聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)可实现特定脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)片段的指数级扩增^[1]。传统 PCR 依赖大型设备,存在操作繁琐、试剂消耗大、易产生气溶胶污染等缺陷。相较常规实验技术,微流控技术能大幅降低试剂用量,且密闭性可有效避免气溶胶污染^[2],并且在微尺度下能量传递与物质分散更高效均匀,具有反应快、效率高、污染少、成本低的优势。近年来,微型化、集成化的微流控芯片已广泛应用于疾病诊断、食品安全检测等领域。尤其碟式微流控芯片以离心力驱动样品,无需额外驱动单元,既降低操作复杂度,又推动装置便携轻量化发展,对实现现场即时检测、提升公共卫生安全保障能力意义重大^[3]。

在核酸检测微流控芯片研究领域,国内外均聚焦于集成化、便携化及高灵敏度检测技术的突破,形成了多元技术路径并存的发展格局。国外研究以特异性扩增与精准检测集成化为核心,如丹麦技术大学基于滚环扩增技术,采用毛细截止阀与相位导向器实现试剂可控加样,构建集成核酸提取、扩增与光磁检测的聚合物流控芯片,通过磁珠完成 DNA 跨腔室运输^[4];宾夕法尼亚大学则利用弗林德斯技术滤膜核酸结合特性,开发集成核酸提取、环介导等温扩增技术(loop mediated isothermal amplification, LAMP)等温扩增与荧光检测的微流控芯片,无需洗脱转移步骤,简化操作流程^[5]。国内研究侧重低成本便携化与高效扩增技术融合,长春应用化学研究所基于环介导等温扩增技术,采用聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)微沟道与图案化金电极键合结构,实现实时电化学检测,检出限低至 80 个拷贝;清华大学开发纸基微流控芯片,借助壳聚糖改性滤纸提取核酸,结合 LAMP 扩增与智能手机荧光检测,大幅降低对检测设备的依赖。

碟式微流控芯片凭借离心力驱动的独特优势,成为现场即时检测领域的研究热点,国内外研究均以全自动化、集成化和高通量为核心目标。国外代表性成果为弗莱堡大学的集成试剂预存储碟式芯片,关键技术在于采用频率可控的铝箔棒状试剂封装结构,结合磁珠运输与离心操控,实现病原体裂解、核酸提取、清洗、洗脱及荧光检测的全自动化流程,适配轻量化检测设备。国内研究聚焦应急检测与产业化应用,清华大学开发的新冠检测集成式碟式芯片,以离心力为核心驱动力,集成样本入结果出全流程,通过优化温控与流道设计,45 min 内检出限达 150 个拷贝,北京博奥晶典则采用多通道并行设计与恒温扩增技术,开发 24 通道碟式芯片,借助离心力实现

多样本多指标同步检测,推动技术产业化落地。

尽管国内外在核酸检测微流控芯片领域已取得诸多进展,但现有研究仍存在明显不足,难以满足现场即时检测的综合需求。通用微流控芯片多依赖外部动力源,便携性差,被动驱动型则手动操作繁琐、多重检测能力有限。碟式微流控芯片核心短板突出,多数仅支持等温扩增,适配变温扩增的产品温控均匀性不足,密封设计不完善,易引发污染,现有防污染方案结构复杂难推广,部分芯片通道少、通量低,且存在手动转移样本的环节,检测效率低、污染风险高,这些问题严重限制了技术的实际应用。

针对上述现有研究的不足,设计了一款基于密封阀的多通道碟式微流控芯片,专门用于变温核酸扩增及荧光定量检测。该芯片以离心力作为流体驱动动力,无需额外外部动力源,有效简化了装置结构,实现了体积小型化。通过多通道并行设计提升检测通量,可同时处理多个样本或检测多个指标^[6]。集成高效密封阀结构,能显著降低气溶胶污染风险,保障检测结果的准确性;结合优化的温控与流道设计,不仅可适配变温扩增的精准温度循环需求,还能缩短反应时间,提升检测效率。该芯片的开发旨在攻克现有技术 in 防污染、便携性、高通量及变温适配性上的瓶颈,为现场即时核酸检测提供更可靠高效的解决方案。

1 碟式微流控芯片整体设计及结构布局

1.1 碟式微流控芯片总体设计方案

碟式微流控芯片凭借其集成化、微型化优势在生物检测领域备受关注,其流体操控多以离心力为核心驱动方式。在实时荧光定量 PCR(quantitative PCR, qPCR)检测系统这一关键应用场景中^[7],qPCR 反应循环需经历 95℃ 变性、55℃~65℃ 退火及 72℃ 延伸的高温过程,这对微流控芯片的密封性能提出了远超常规场景的严苛要求,成为制约技术落地的核心瓶颈之一。碟式微流控芯片总体设计制备流程如图 1 所示。

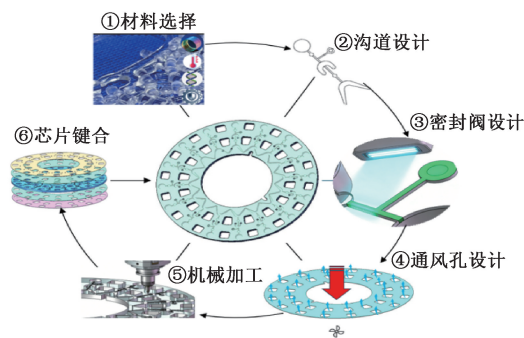


图 1 微流控设计制备流程

Fig. 1 Flow of the overall design scheme for microfluidic devices

建立了系统制备流程,以耐高温、光学透过、机械强度、生物相容性为指标优选基材,结合流体动力学仿真与离心驱动特性,精准设计微流道、耐高温密封阀及通风孔,将三维结构转化为数控代码,经高精度铣削加工流道与反应腔,通过等离子体活化键合组装各层板材,最终得到目标芯片^[8]。

1.2 碟式微流控芯片选材及结构布局

PCR 碟式微流控芯片材料选择关乎性能、稳定性及

应用,需满足生物相容、热稳定、易加工、成本可控四大核心要求,既要耐受 PCR 温度循环,避免生物分子非特异性结合,又要适配离心驱动流体操控。常用的材料主要包括聚合物、玻璃与硅基材料,各类材料的性能差异决定了其在不同应用场景中的适用性。通过对几种不同材料基片的性能进行了分析对比,对比结果如表 1 所示。

聚碳酸酯 (polycarbonate, PC)、聚甲基丙烯酸甲酯 (polymethylmethacrylate, PMMA)、环烯烃共聚物 (cyclo

表 1 不同材料基片的性能比较
Table 1 Performance comparison of different material substrates

材料	热导系数/(W·(m·K) ⁻¹)	软化温度/℃	机械强度	生物相容性	化学稳定性	光学透过性
PDMS	0.15	-40	较低	细胞毒性 1 级	不耐丙酮、氯仿	>90%
PMMA	0.19	105	良好	细胞毒性 1 级	不耐丙酮、强碱	92~94%
PC	0.20	140	好	细胞毒性 1 级	不耐氯甲烷	88~90%
COC	0.16	130~170	好	细胞毒性 1 级	不耐强氧化剂	90~92%
Glass	1.10	820	较低	细胞毒性 1 级	不耐氢氟酸	>90%
Si	148	1 414	较低	相容性一般	不耐强碱、氢氟酸	不透明

olefin copolymer, COC) 的细胞毒性均达 1 级,满足生物实验要求,光学透过性 PMMA 最优,热导系数 PC 最高,软化温度 COC 区间最宽,机械强度 PC 与 COC 优于 PMMA,化学稳定性各有耐受短板。在 PCR 反应中,PC 热导系数高、均温快,140℃ 软化温度远高于 PCR 最高温,温循无变形;机械强度优,适配芯片加工与离心,化学稳定且透光性满足荧光检测,低热膨胀、高成型精度,是碟式微流控芯 PCR 首选基材。

由基片、PMMA 胶层、底片及盖片组成,PMMA 胶层作为核心键合介质,夹设于各层之间,经室温等离子体活化键合实现层间贴合,既避免了高温损伤材料,又保障了键合界面的气密性与长期稳定性。

芯片结构设计经三维软件建模绘图,集成 16 个参数一致的独立检测单元,各检测单元间隙设置方形与梯形通风孔,增大热交换面积以最大化热交换效率。每个检测单元配独立弹性密封阀,保障高温循环中反应体系密封。芯片内环不对称地设置 2 个定位孔,确保与仪器精准对位,避免位移导致荧光信号采集偏差,保障检测准确性。芯片整体结构如图 2 所示。

1.3 碟式微流控芯片密封原理及使用流程

碟式微流控芯片以密封阀为核心,密封阀采用圆形进液腔与细支管集成架构:圆形进液腔作为光敏胶加注区,细支管一端连通进液腔,另一端接入毛细阀。其关键参数包括细支管长度 (L) 进液腔半径 (R) 细支管深度 (h) 及宽度 (w),密封所需光敏胶量受上述参数调控。密封阀结构图如图 3 所示。

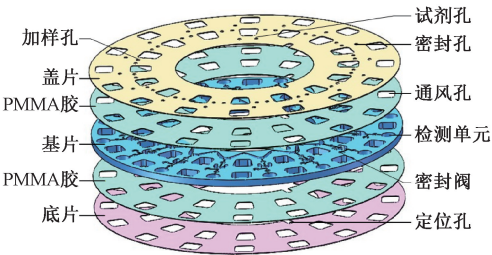


图 2 碟式微流控芯片整体结构

Fig. 2 Overall structural diagram of the disc-type microfluidic chip

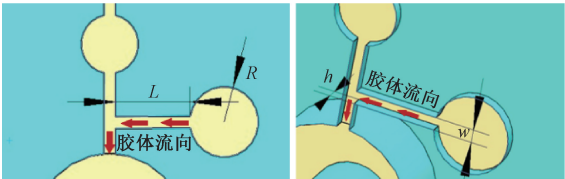


图 3 密封阀结构

Fig. 3 Diagram of sealing valve

芯片加样密封过程如图 4 所示,先用胶贴密封样本腔与密封阀进液口,移液器向试剂腔加样,离心力驱动试剂进入检测腔。

再密封试剂腔与密封阀进液口,向样本腔加样,离心使样本进入检测腔,正反向离心实现样本与试剂混合。向密封阀注入光敏胶,胶液经毛细作用填充毛细阀窄通道,经紫外光照射 5~30 s 固化,形成刚性密封

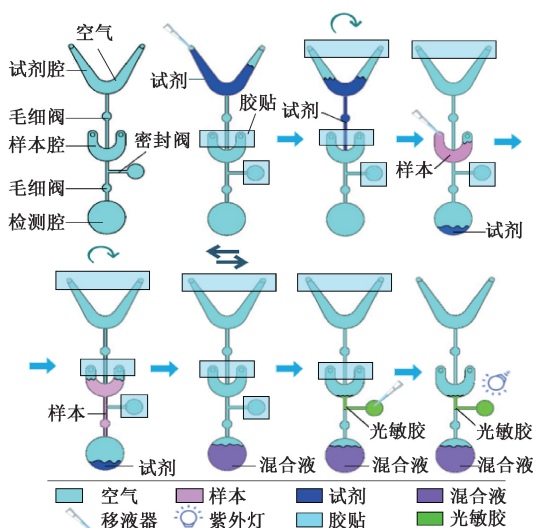


图4 芯片加样密封过程

Fig. 4 Diagram of chip sample loading and sealing process

塞,阻断试剂腔与检测腔流体通路,防止反应液回流及杂质侵入。

针对 qPCR 高温密封需求及芯片变温适配、防污染、加工精度等瓶颈,碟式微流控芯片建立系统制备流程,经过基材优选、仿真辅助设计、高精度铣削及等离子体键合组装,最终制备而成。配密封阀保障密封效果,经试剂样本加注、离心混合后,光敏胶固化形成密封塞,阻断流体通路防回流与污染,保障检测可靠性^[9]。

2 碟式微流控芯片阀结构性能分析

2.1 碟式微流控芯片的阀结构原理

在碟式微流控芯片的仿真场景中,受离心力驱动的液体冲破毛细阀并流入下游腔室的过程,属于不可压缩流体的气液两相流动范畴;描述该过程的基础控制方程,主要涵盖连续性方程^[10]、动量方程^[11],以及用于相界面求解的水平集方程^[12]。

连续性方程为:

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (1)$$

式中: $\mathbf{u}$ 为流体速度,单位为 m/s。纳维-斯托克斯方程为:

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = -\nabla P + \mu \nabla^2 \mathbf{u} + \mathbf{F} \quad (2)$$

式中: ρ 为流体密度,单位为 kg/m^3 ; t 为时间,单位为 s; μ 为流体动力黏度,单位为 $\text{Pa} \cdot \text{s}$; P 为流体压力,单位为 Pa; $\mathbf{F}$ 为作用在流体上的体积力,单位为 N/m^3 。

水平集方程为:

$$\frac{\partial \Phi}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \Phi = \gamma \nabla \cdot \left(\varepsilon_s \nabla \Phi - \Phi(1 - \Phi) \frac{\nabla \Phi}{|\nabla \Phi|} \right) \quad (3)$$

$$\rho = \rho_1 + (\rho_2 - \rho_1) \Phi \quad (4)$$

$$\mu = \mu_1 + (\mu_2 - \mu_1) \Phi \quad (5)$$

式中: Φ 为水平集函数,取为 1; γ 为初始化参数,单位为 m/s; ε_s 为界面厚度控制参数,单位为 m; ρ_1 和 ρ_2 分别为连续相、离散相的密度,单位为 kg/m^3 ; μ_1 和 μ_2 分别为连续相和离散相的动力黏度,单位为 $\text{Pa} \cdot \text{s}$ 。

2.2 碟式微流控芯片的阀结构参数仿真

借助 COMSOL Multiphysics 仿真软件,针对水相试剂腔与空气相样本室两类结构,建立相应的流体力学模型并实施系统性仿真分析。仿真工况设定为 25℃ 室温环境,相关物性参数取值为:水的密度为 $977 \text{ kg}/\text{m}^3$,动力黏度为 $8.55 \times 10^{-4} \text{ Pa} \cdot \text{s}$;空气的密度为 $1.614 \text{ kg}/\text{m}^3$,动力黏度为 $1.864 \times 10^{-5} \text{ Pa} \cdot \text{s}$;水与空气两相界面的表面张力系数设定为 $7.2 \times 10^{-2} \text{ N}/\text{m}$,扩散系数则取 $1 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 。在没有外部驱动力的情况下,选取 4 个不同尺寸的毛细阀进行仿真,分别为宽为 0.2、0.3、0.5 和 0.8 mm 测试各个毛细阀的阻断能力。仿真结果如图 5 所示。

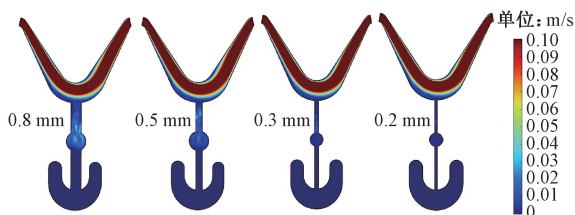


图5 不同宽度毛细阀流体速度仿真

Fig. 5 Simulation diagram of fluid velocity of capillary valves with different widths

由图 5 可以得出,当阀的宽度为 0.5 和 0.8 mm 时,毛细左右不明显,0.2 和 0.3 mm 宽的毛细阀能实现毛细阀的功能,考虑到后续加工的难度问题,最终采用宽为 0.3 mm 的毛细阀。

2.3 碟式微流控芯片的阀结构仿真

图 6 为液体突破毛细阀仿真过程的可视化结果,其采用水相流体的流速进行表征,即通过流速直观反映水在芯片内部的流动情况。

物理场初始参数设置为忽略重力,试剂室上端两侧入口速度设为 0,样本室底部出口压力设为 0,壁面设无滑移条件,非进出口边界为湿壁。仿真以芯片圆心为旋转中心,试剂腔距圆心 21 mm,流体设为水相,壁面接触角 72°。流体流动由离心力与科里奥利力调控,采用水平集方法计算液面动态变化。仿真显示,角速度与第一毛细阀内体积分数关系如图 7 所示。

图 8 为仿真结果可视化图,其结果通过流体(水)的体积分数进行表征,即利用体积分数反映水在芯片内部的流动状态,并通过相函数 Φ 的动态变化,实现对不同相界面迁移过程的追踪。

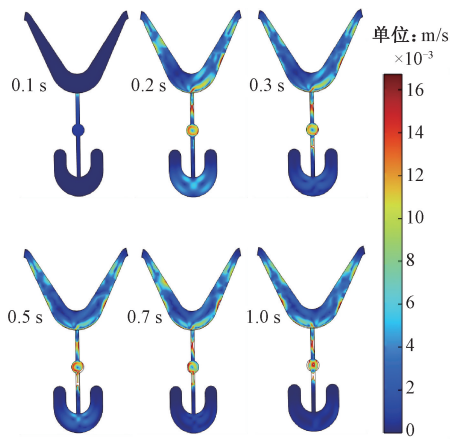


图 6 液体突破第一毛细阀流体速度仿真

Fig. 6 Simulation diagram of fluid velocity when liquid breaks through the first capillary valve

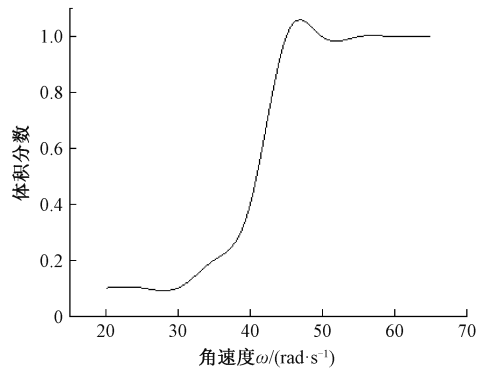


图 7 角速度与第一毛细阀内体积分数之间的关系

Fig. 7 The relationship between angular velocity and volume fraction in the first capillary valve

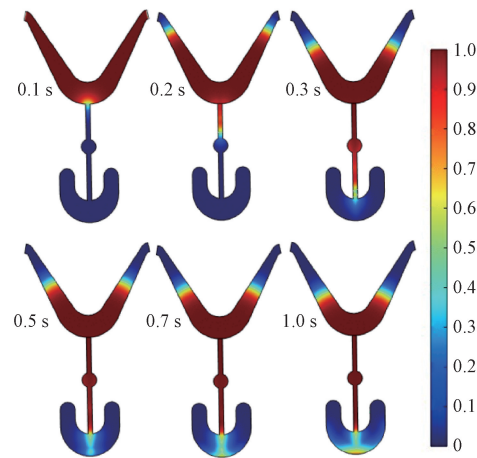


图 8 液体突破第一毛细阀体积分数仿真

Fig. 8 Simulation diagram of volume fraction when liquid breaks through the first capillary valve

由图 8 可见,液体首先克服表面张力的作用进入毛细阀区域,在离心力的持续驱动下,逐步向混合室内部流动并完成填充。

采用与试剂腔一致仿真方法,仿真以芯片圆心为旋转中心,样本腔距圆心 31.5 mm。图 9 为仿真可视化结果,以水相流速分布表征流体流动路径与动态变化。

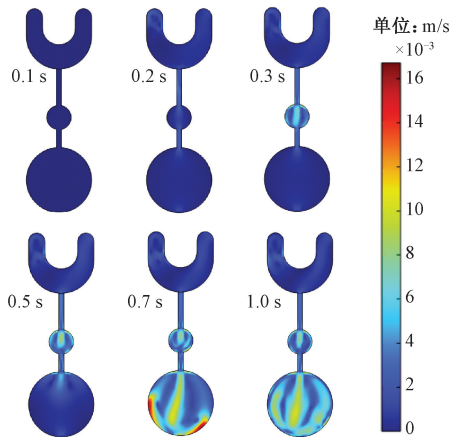


图 9 液体突破第二毛细阀流体速度仿真

Fig. 9 Simulation diagram of fluid velocity when liquid breaks through the second capillary valve

仿真显示,角速度与毛细阀内水相体积分数的定量关系如图 10 所示。

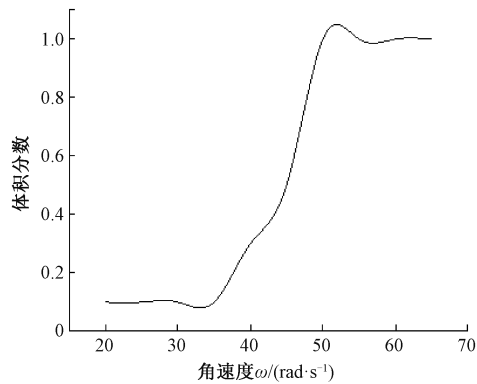


图 10 角速度与第一毛细阀内体积分数之间的关系

Fig. 10 The relationship between angular velocity and volume fraction in the second capillary valve

图 11 为该仿真过程的可视化结果,其采用水相流体的体积分数进行表征,由图 11 可见,液体首先克服表面张力的阻碍进入毛细阀通道,在离心力的持续驱动下,逐步向检测室内部流动并完成填充。

仿真结果表明,试剂腔与样本室间毛细阀,角速度达 45 rad/s 时,液体可突破毛细阀进入混合室。样本腔与检测腔间毛细阀,角速度升至 50 rad/s 时,液体能突破毛细阀进入检测室。

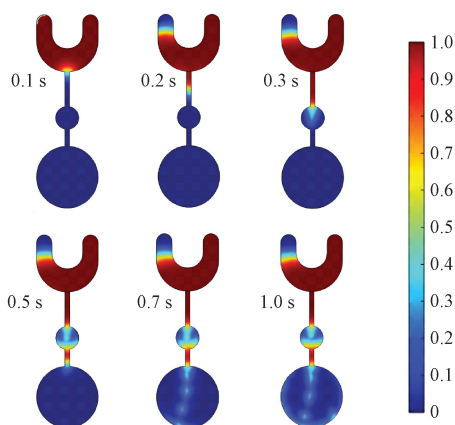


图 11 液体突破第二毛细阀体积分数仿真

Fig. 11 Simulation diagram of volume fraction when liquid breaks through the second capillary valve

3 碟式微流控芯片设计制备及性能验证

3.1 碟式微流控芯片驱动原理

离心微流体的驱动机制依托离心诱导压力来实现,其作用效果由芯片旋转速率、微通道几何构型与空间排布,以及流体自身物性参数共同决定。在离心微流控芯片的运转过程中,腔内流体将同时受到离心力^[13]、科氏力^[14]及欧拉力^[15]的耦合作用,相关力学表达式如式(6)~(7)所示。

$$\mathbf{F}_c = -m\boldsymbol{\omega} \times (\boldsymbol{\omega} \times \mathbf{r}) \quad (6)$$

$$\mathbf{F}_{co} = -2m\boldsymbol{\omega} \times \frac{d}{dt}\mathbf{r} \quad (7)$$

$$\mathbf{F}_E = -m \frac{d}{dt}\boldsymbol{\omega} \times \mathbf{r} \quad (8)$$

力学分析模型如图 12 所示。

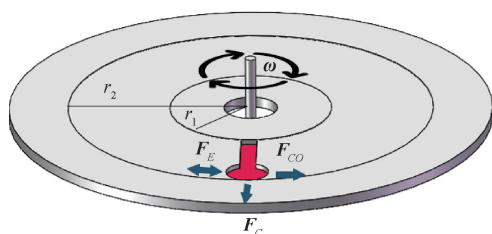


图 12 碟式微流控芯片力学分析模型

Fig. 12 Mechanical analysis model of the disc-type microfluidic chip

离心力始终呈现径向向外的作用方向,是驱动流体在微通道与腔室中完成迁移过程的核心动力^[16];科氏力的作用方向通常与线速度矢量、角速度矢量二者均保持垂直关系;欧拉力的方向则与离心力相互垂直,其作用特

性由角加速度的方向所决定,且该作用力仅在芯片圆盘的角速度随时间发生动态变化时才会产生。

为简化后续定量计算流程,各类矢量形式作用力,均可等效替换为标量形式的压力差。径向液体填充通道两端的压力差可表述为:

$$\nabla p = \frac{1}{2}\rho\omega^2(r_1^2 - r_2^2) \quad (9)$$

式中: r_1 、 r_2 分别为微通道液柱的内径向点和外径向点。

3.2 碟式微流控芯片的设计及制作

碟式微流控芯片集成 16 个结构一致的独立检测单元,各组件尺寸依流体动力学特性与反应需求匹配,样品腔、检测室、试剂腔深度均为 1.8 mm,毛细阀宽深 0.3 mm,密封阀宽 0.3 mm、深 0.45 mm,芯片表面分布矩形与梯形通风孔。测室、功能阀件及对应通气孔,其具体结构参数分布如图 13 所示。

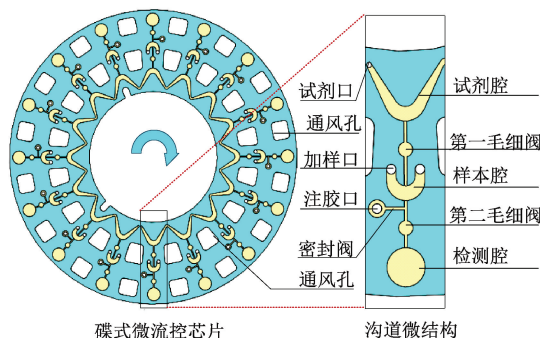


图 13 碟式微流控芯片沟道结构

Fig. 13 View of channel structure in disc-shaped microfluidic chip

芯片加工流程严格遵循微纳制造规范,首先将 PMMA 板材平整固定于数控机床工作台,依据微流道、腔室及阀件的尺寸差异,精准选用适配刀具。随后导入数控加工代码,通过数控雕刻机在 PC 板材表面进行高精度铣削,一次性成型预设的微流道、样品腔、试剂腔等功能结构。加工后的沟道在影响测量仪下扫描的各个部位影像图片如图 14 所示。

键合环节采用室温等离子体活化辅助工艺,将 PC 板与 PMMA 胶层精准对位后,施加 0.3 MPa 压力恒温压合 30 min,静置 24 h 使界面充分稳定。该工艺可规避高温导致的微结构变形,同时保障键合界面的高气密性,成品芯片实物如图 15 所示。

3.3 碟式微流控芯片工艺误差分析

碟式微流控芯片的沟道结构精度直接决定流体驱动稳定性、反应效率及检测结果可靠性,而实际加工过程中,受材料特性、设备精度、操作参数等多因素影响,加工成品与理论设计方案不可避免存在偏差,这类误差若超

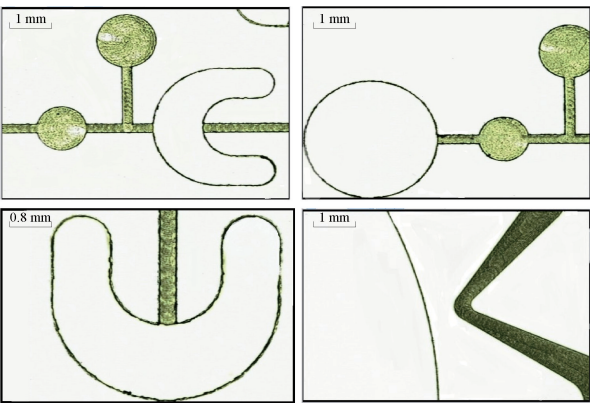


图 14 碟式微流控芯片电镜扫描图

Fig. 14 Scanning electron microscopy image of disc-shaped microfluidic chip

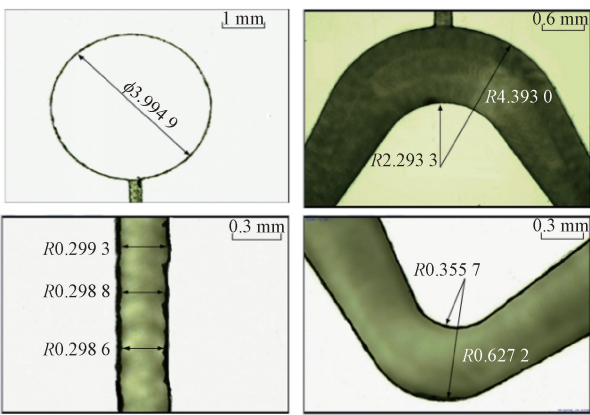


图 17 影像测量仪标定图

Fig. 17 Calibration diagram of the image measuring instrument

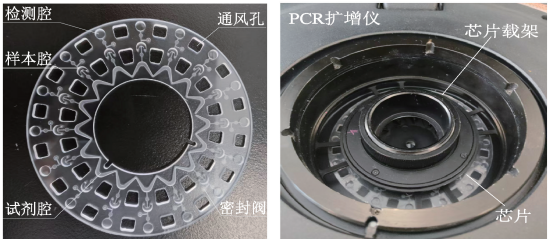
还运用白光干涉仪对各条沟道的高度值进行精准测量,以此量化评估沟道表面的平整度。白光干涉仪具备非接触式测量优势,可在不损伤芯片沟道表面的前提下,实现纳米级精度的高度采样,能精准捕捉沟道表面微小的凹凸起伏。沟道平整度作为核心几何参数之一,直接影响流体在沟道内的流动稳定性及界面接触效果,若表面存在明显凹凸误差,易引发流体涡流、流速不均等问题,进而影响芯片的反应效率与检测准确性。测量了微流控芯片的 V 型沟道、圆型沟道以及直型沟道,通过多点采样、数据拟合获取各沟道高度分布特征,测量结果如图 18 所示,为全面评估芯片加工质量、优化后续工艺参数提供补充数据支撑。

通过 TZTEK 影像测量仪获取的微流控芯片各关键结构直线度与圆度误差数据整理如表 2 所示。

表 2 微流控芯片直线度与圆度误差表

Table 2 Table of straightness and roundness errors of microfluidic chips

名称	理论值/mm	误差/ μm	误差类型
样品室直线度 1	0	4.3	直线度误差
样品室直线度 2	0	5.5	直线度误差
样品室圆度 1	4.4	7.0	圆度误差
样品室圆度 2	2.3	6.7	圆度误差
试剂室圆度 1	2.0	5.8	圆度误差
试剂室圆度 2	4.0	7.2	圆度误差
试剂室圆度 3	1.0	6.2	圆度误差
检测室圆度	4.0	5.1	圆度误差
阀 1 直线度	0	4.4	直线度误差
阀 2 直线度	0	5.8	直线度误差
V 型沟道	0	3.3	平整度误差
圆型沟道	0	5.0	平整度误差
直型沟道	0	5.6	平整度误差



(a) 芯片实物图

(a) Physical image of the chip

(b) 芯片实验图

(b) Chip experimental image

图 15 碟式微流控芯片实物图

Fig. 15 Physical Image of the disc-shaped microfluidic

出允许范围,会导致芯片功能失效。为精准评估芯片加工精度,明确误差来源及分布规律,采用了 TZTEK 影像测量仪对加工后的碟式微流控芯片沟道进行精密检测,检测工装如图 16 所示。

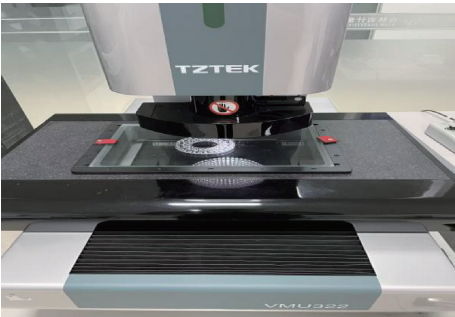


图 16 检测工装图

Fig. 16 Testing fixture drawing

检测过程中,重点针对微流控芯片沟道核心几何参数展开,分别对沟道的直线性及圆周性进行专项检测,通过多组采样数据与理论设计值对比。检测标定结构如图 17 所示。

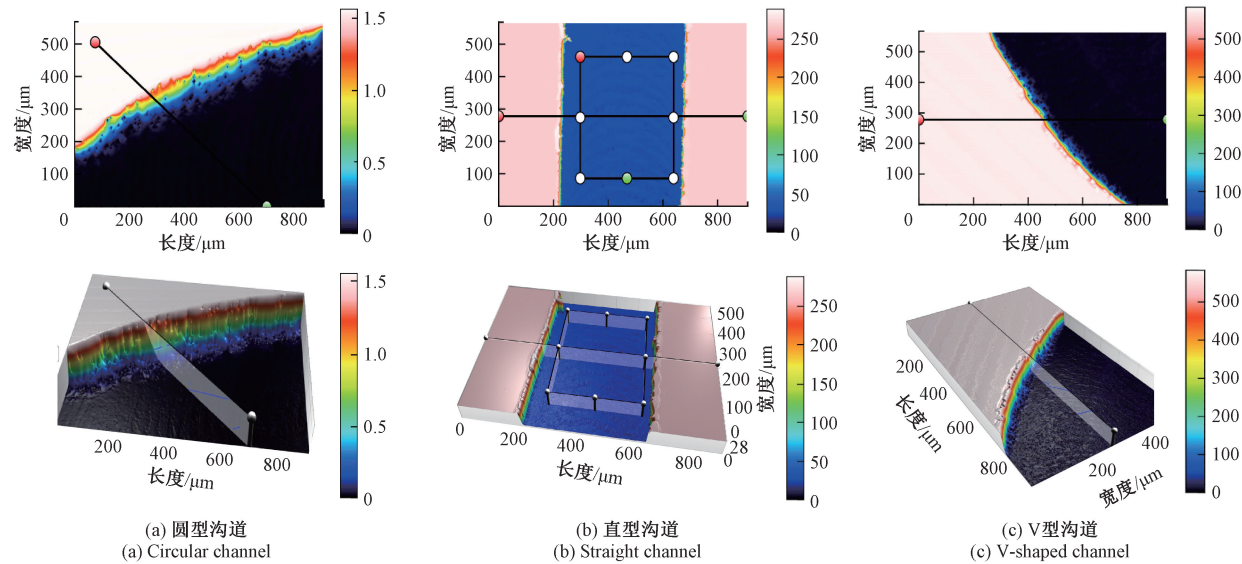


图 18 白光干涉仪检测结果

Fig. 18 Detection results of the white-light interferometer

表 2 涵盖样品室、试剂室、检测室、阀及各类沟道等核心功能结构,清晰呈现了不同部位的误差数值,为后续性能影响分析及工艺优化提供直接数据支撑。

结合表格数据及芯片工作原理,经系统分析与计算,直线度、圆度及平整度误差对碟式微流控芯片性能的影响结论如下,整体而言,各结构实验误差均处于可接受阈值内,对实验结果及芯片核心功能影响微乎其微。直线度方面,阀及样品室误差范围为 4.3~5.8 μm,经性能验证,可保障流体传输稳定及阀芯密封性能,满足通断控制精度要求。圆度方面,样品室、试剂室误差范围为 5.8~7.2 μm,检测室仅 5.1 μm,经模型计算,不会显著影响腔室容积与流体混合效率,确保检测信号稳定。平整度方面,3 类沟道误差范围为 3.3~5.6 μm,仅产生微弱流阻,不破坏层流状态。综上,加工误差控制良好,现有工艺无需调整,可微调直型沟道平整度及样品室圆度以优化性能。

3.4 碟式微流控芯片迁移与混合性能

为精准验证碟式微流控芯片内部液体的迁移路径准确性与混合均匀性,实验选取添加色素的纯水分别模拟实际检测场景中的样本与试剂。该模拟方案因纯水物性与生物样本、试剂体系相近,且色素可直观区分两相流体,能清晰追踪混合过程。实验过程示意图如图 19 所示。

实验操作流程如下:首先向试剂腔中注入色素水,将芯片转速调节至 50 rad/s,此时试剂腔内的液体顺利流入检测腔;随后向样本腔中注入色素水,将芯片转速进一步提升至 50 rad/s,液体随之进入检测腔。为实现两种液体的均匀混合,后续将芯片转速调整为 30 rad/s,采用正转 45°反转 45°的交替旋转方式,持续运行 10 s,最终达成腔

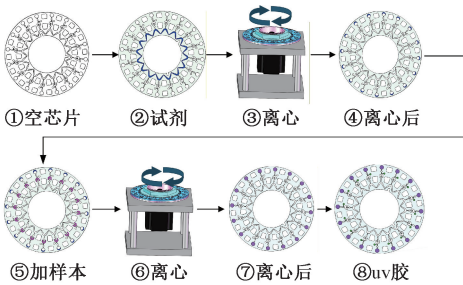


图 19 样品和试剂的转移和混匀过程

Fig. 19 Diagram of sample and reagent transfer and mixing process

室内液体的充分混合。然后向密封阀注入色素水,实验过程中,借助相机采集液体在芯片内的影像,其典型实验现象如图 20 所示。

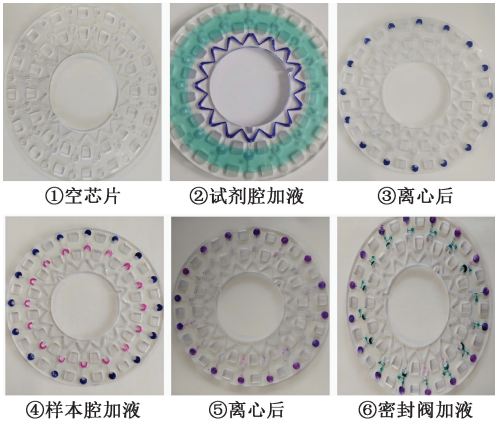


图 20 样品和试剂的转移和混匀

Fig. 20 The transport and mixing of the sample and reagent

为验证碟式微流控芯片的流体操控性能与结构可靠性,以色素纯水分别模拟核酸检测的样本与试剂,借助高分辨率相机实时记录芯片内流体动态过程,为后续 qPCR 检测的可靠性提供直观支撑。实验结果表明,所制备芯片的加工精度符合实验要求,各功能腔室均未出现溢液渗漏问题,微流道内壁也无明显液体挂壁残留现象,证实该芯片的结构设计与加工工艺具备良好实用性。

4 微流控芯片密封性实验测试

4.1 建实验装置

实验旨在验证碟式微流控芯片经光敏胶密封后,在核酸扩增等高温场景下的密封有效性。实验向各反应腔加入 5 μL 去离子水,以 3 μL 耐高温光敏胶密封并紫外固化,随后将芯片置于荧光定量 PCR 仪中模拟高温实验;通过精密天平测定芯片实验前后的重量差,判断水分是否挥发,密封完好则重量差极小,密封失效则水分挥发导致重量差显著增大,为芯片高温应用提供密封性能依据。实验系统工装如图 21 所示。



图 21 实验测试工装
Fig. 21 Experimental test fixture

实验需在超净工作台防滑垫上精准操作,步骤示意图如图 22 所示,移液器吸取去离子水加样,离心确保液体完全进入检测室无溢出挂壁;吸取 3 μL 光敏胶加入密封阀,保证胶层与基底无缝隙气泡;开启紫外固化灯固化

40 s,重复操作完成 16 个检测腔的加水密封。实验组完成全部步骤,对照组不进行密封操作。将加样后的芯片置于天平称量盘,每片称重 3 次取均值记为 $m_{s1} \sim m_{s10}$ 。将密封芯片放入荧光定量 PCR 仪开展实验,芯片冷却后 10 s 内称重,每片同样称重 3 次取均值记为 $m_{f1} \sim m_{f10}$ 。

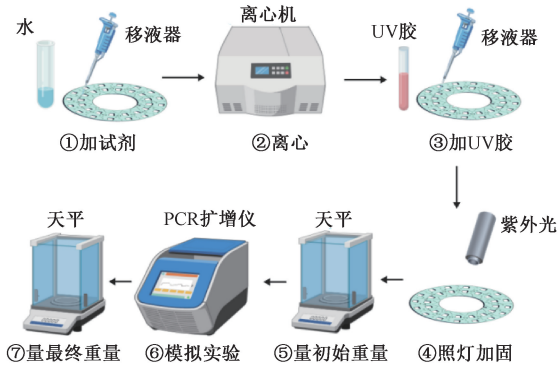


图 22 实验步骤
Fig. 22 Diagram of experimental procedures

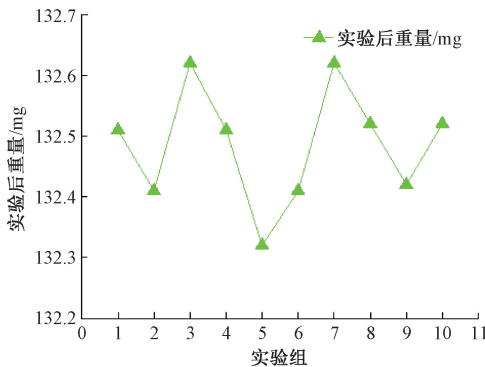
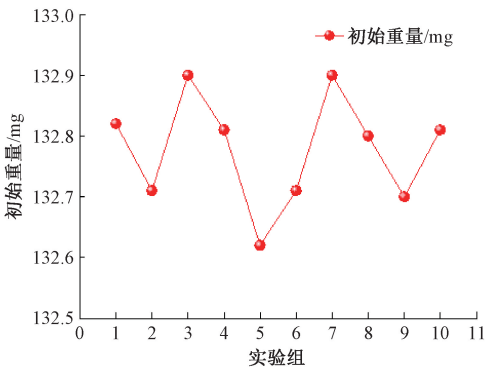
实验中各组样本的初始重量与实验后重量变化趋势的折线图如图 23 所示。该图包含 4 个子图,分别展示了实验组和对照组的初始重量与实验后重量随样本序号的动态变化。通过对比不同组别在实验前后的重量变化,可直观反映出实验处理对样本重量的影响差异。

4.2 重复性及可靠性分析

通过对实验数据的处理,得到实验组和对照据实验前后的重量差值,分别记作 Δm_{si} 和 Δm_{ci} ,重量差绘制折线图如图 24 所示。

经计算得出绝对重量差和相对重量差等数据如表 3 所示。

实验组芯片高温实验后平均重量差仅 0.296 mg,远低于对照组的 78.964 mg,表明紫外固化的光敏胶可与 PC 芯片基底形成紧密密封层,阻断反应腔与外界连通,满足高温密封需求。重复性方面,实验组与对照组变异系数 (coefficient of variation, CV) 分别为 4.73% 和 0.27%,均远低于 10% 的可接受范围,说明实验操作具



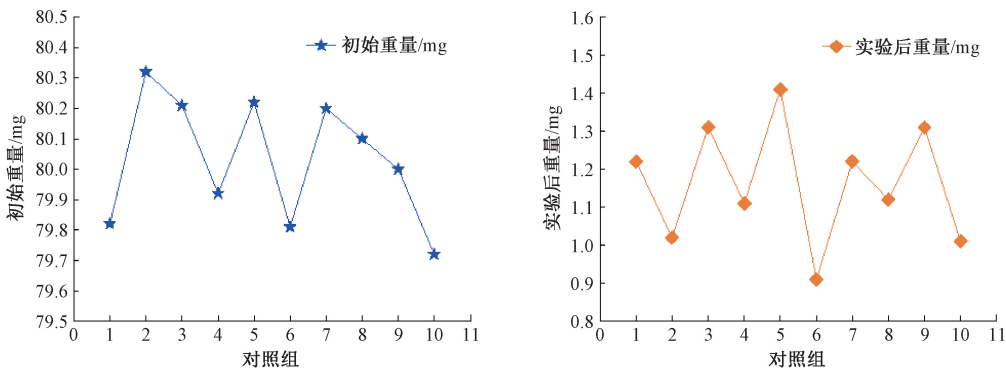


图 23 实验组与对照组实验数据折线对比

Fig. 23 Line chart comparison of experimental data between the experimental group and the control group

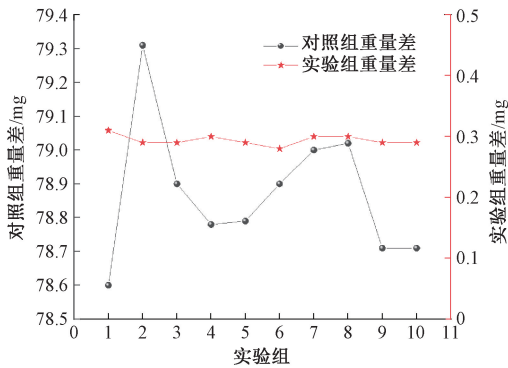


图 24 实验组与对照组重量差折线对比

Fig. 24 Line chart comparison of weight difference between experimental group and control group

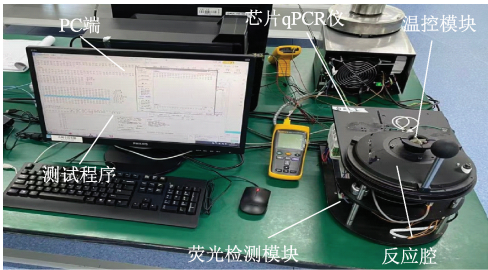


图 25 实验测试工装

Fig. 25 Experimental test fixture

实验基于 SYBR Green 荧光定量 PCR 技术开展核酸检测,将配置好的反应体系分别加入碟式微流控芯片检测单元与 96 孔板,利用荧光定量 PCR 仪全程实时监测 40 个扩增循环的荧光信号变化,以荧光强度达到预设阈值时对应的循环数作为判定样本阴阳性的核心指标。芯片与传统 96 孔板的检测原理完全一致,核心差异集中于反应体系体积与传热效率两个维度,实验通过分析两者 C_t 值的相关性及阴阳性符合率,系统验证芯片的检测准确性与可靠性。实验操作示意图如图 26 所示。

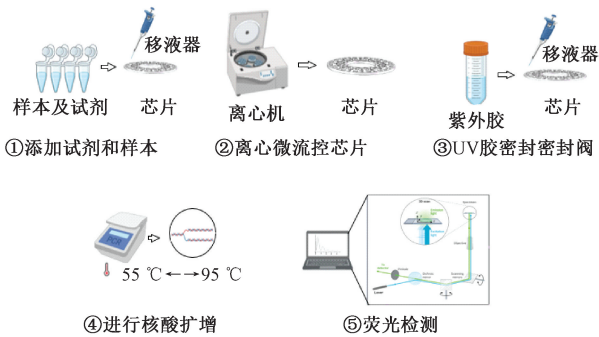


图 26 实验操作过程

Fig. 26 Diagram of the experimental operation process

表 3 实验组及对照组重量标准差值表

Table 3 Table of weight standard deviation values for experimental group and control group

组别	绝对重量差 (Δm)/mg	相对重量差 (Δm)/%	标准差 (SD)/mg	变异系数 (CV)/%
实验组	0.29	0.379	0.014	4.730
对照组	78.96	98.588	0.213	0.275

有高度可重复性。可靠性方面,两组重量差数据无重叠区间,能有效区分密封有效与失效状态,且关键环节的严格把控排除了干扰因素,确保实验数据可靠。

5 微流控芯片可靠性实验测试

5.1 搭建实验装置

实验旨在验证 16 通道碟式微流控芯片用于新冠病毒核酸检测的生物性能合理性:同步检测 14 份咽拭子样本、1 份阳性及 1 份阴性对照,对比芯片与传统 96 孔板荧光定量 PCR 仪的循环阈值(cycle threshold, C_t)、阴阳性

采用 14 份临床新冠咽拭子样本、1 份阳性对照和 1 份阴性对照。先预处理样本,配制芯片反应体系并分注至 16 个通道,密封后放入芯片 qPCR 仪;PC 端设定程序,最后进行熔解曲线分析。实验重复 15 次,记录各样本 ORF1ab 基因荧光值。

5.2 重复性分析

随机选取 4 个实验样本,通过荧光采集值的变化分析仪器性能。如图 27 所示,分别为阳性样本、01 号样本、04 号样本和 09 号样本的 15 次重复扩增实验荧光检测值曲线图。

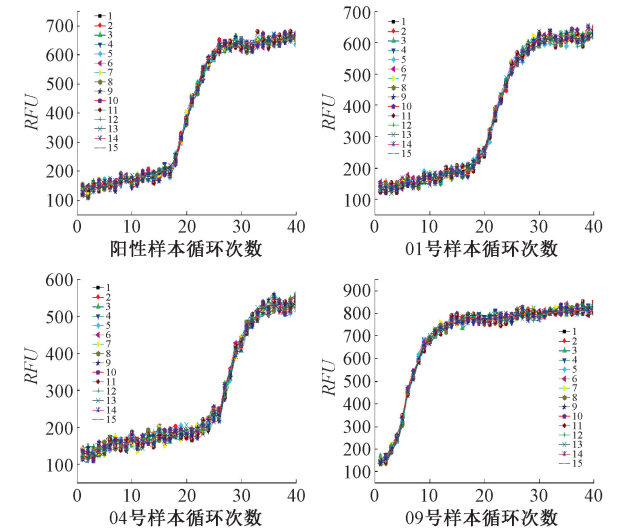


图 27 重复扩增曲线
Fig. 27 Replication curve

扩增曲线显示,4 个样本 15 次重复扩增曲线呈高度重叠的 S 型,关键阶段特征完全重合。本批次芯片重复性优异,关键参数变异系数低于 5%,既体现单枚芯片各检测单元的加工精度、材料性能与密封稳定性的高度统一,也验证了批量制备工艺的精准可控性,可保障多样本并行检测的同步性与结果可靠性,满足 qPCR 实验对芯片重复性的严苛要求。

5.3 可靠性分析

碟式微流控芯片展现出可靠性的显著优势,如图 28 所示。

在循环数 ≥ 10 后,其荧光强度的中位数及平均数均超其他仪器,荧光强度明显提升,这意味着碟式微流控芯片反应腔室内的温度变化速度更好,达到核酸扩增所需要的温度速度更快;在碟式微流控芯片内反应后的荧光强度随循环数增长速率更快,且在后期循环仍保持稳定的高荧光平台,无明显信号衰减,与传统 96 孔板仪器最后进行对比可以看出荧光强度更高。

绘制两组 C_t 值散点图,随后以 96 孔板 ORF1ab 基因 C_t 值为横坐标,芯片对应 C_t 值为纵坐标,绘制折线图,如图 29 所示。

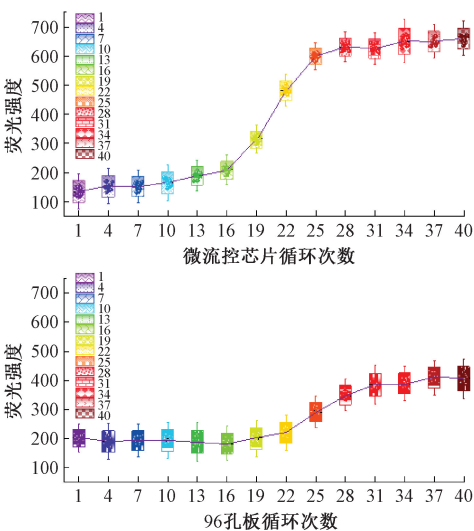


图 28 实验荧光检测曲线
Fig. 28 Fluorescence detection curve of the experiment

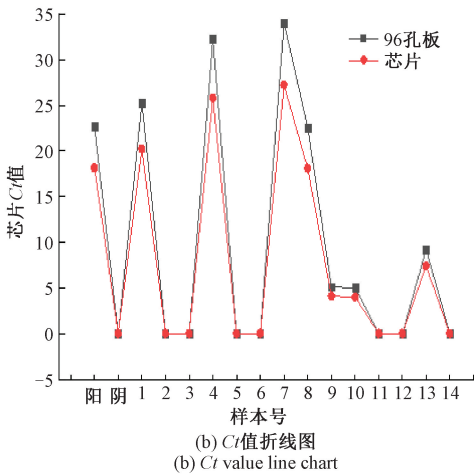
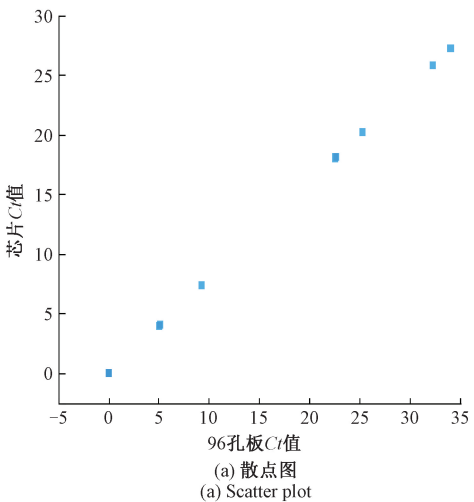


图 29 实验的 C_t 值折线图及散点图
Fig. 29 Line chart and scatter plot of experimental C_t values

质控筛选后,对 96 孔板与芯片的 Ct 值进行一致性分析,折线图显示两组 Ct 值波动趋势高度同步;经计算得 Pearson 相关系数 $r=0.99$,表明双平台 Ct 值高度线性相关,证实芯片检测结果与标准平台可靠性相当,可作为核酸检测有效替代方案。

依据 Ct 值判定标准统计阴阳性符合率,芯片与 96 孔板一致样本数占比达 100%(如表 4 所示),验证芯片检测特异性与 96 孔板一致。

表 4 实验检测结果对照表

Table 4 Comparison table of experimental detection results

组别	96 孔板		芯片	
	Ct 值	结果	Ct 值	结果
阳性对照组	22.660	阳	18.160	阳
阴性对照组	-	阴	-	阴
01 号样本	25.293	阳	20.234	阳
02 号样本	-	阴	-	阴
03 号样本	-	阴	-	阴
04 号样本	32.270	阳	25.816	阳
05 号样本	-	阴	-	阴
06 号样本	-	阴	-	阴
07 号样本	34.059	阳	27.247	阳
08 号样本	22.559	阳	18.100	阳
09 号样本	5.098	阳	4.078	阳
10 号样本	5.012	阳	3.980	阳
11 号样本	-	阴	-	阴
12 号样本	-	阴	-	阴
13 号样本	9.238	阳	7.420	阳
14 号样本	-	阴	-	阴

实验结果显示,芯片与 96 孔板的 Ct 值相关系数 >0.95 ,14 份待测样本的阴阳性符合率 100%,说明芯片检测结果与标准 96 孔板高度一致,生物检测结果合理。尽管芯片与 96 孔板的反应体系体积、传热效率存在差异,但两者基于 SYBR Green 的检测原理一致,且实验中通过统一反应程序,样本预处理及试剂批次,排除了非芯片因素的干扰,最终双平台结果的高度吻合,证明该 16 通道碟式微流控芯片在新冠病毒核酸检测中,兼具结果准确性、重复稳定性与临床符合性,其生物性能满足核酸检测的实际应用需求

6 结 论

构建了一种离心力驱动的碟式微流控荧光定量 PCR

检测芯片,系统阐述了芯片的整体结构设计与精密制备工艺,并创新性地设计了密封阀式一体化密封结构。该结构依托光敏胶的紫外光固化反应,形成了与芯片基底紧密结合的稳定密封层,有效消除了密封性能不足对检测结果的干扰,成功解决了传统微流控芯片因密封缺陷引发的样本交叉污染、检测结果偏差等技术痛点。该芯片兼具便携性强、操作流程简便、样本与试剂消耗量低、检测效率高等突出优势,可满足多种应用场景下的现场快速检测需求。

为验证芯片的密封可靠性与核酸检测精准度,选取新冠病毒核酸样本与去离子水作为验证对象,开展了系列性能测试实验。实验结果表明:以密封性能为核心验证指标时,芯片密封后的相对重量差仅为 0.379%,与密封前 98.588%的相对重量差呈现显著差异;实验组与对照组的变异系数分别为 4.73%和 0.27%,均远低于 10%的实验可接受阈值,证实该芯片的密封性能具备高度的重复稳定性;同时,两组重量差数据无重叠区间,可实现密封有效与密封失效状态的精准判别,结合实验全流程的严格质控措施,进一步保障了检测结果的可靠性。在核酸检测性能验证中,该芯片与传统 96 孔板检测系统对同批次样本的检测数据线性相关系数 R^2 达 0.995,表明其检测结果与标准方法高度吻合。

综上所述,充分验证了所设计碟式微流控芯片在全封闭全自动实时荧光定量 PCR 检测系统中应用的可行性与实用价值。尽管该芯片的临床转化进程仍需依托更多系统性实验予以深入验证,但搭建的检测系统及配套技术方案,为离心力驱动微流控芯片在核酸检测、化学发光免疫分析等领域的拓展应用奠定了扎实的理论与实践基础。

参考文献

[1] 王哲,于源华,于占江,等. 电磁振动式凝血过程动态测试传感器[J]. 仪器仪表学报,2018,39(1):127-135.
WANG ZH, YU Y H, YU ZH J, et al. Dynamic testing sensor for blood coagulation process based on electromagnetic vibration[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2018, 39(1):127-135.
[2] YANG X, LIN X, LI J B, et al. Vitamin C encapsulated biomimetic nanogels with macrophage membrane decoration for chronic wound healing [J]. Chemical Engineering Journal,2025,505: 159080.
[3] ZHANG J Y, WANG X Y, ZHANG Y X T, et al. Centrifugal force boosts self-assembly of gradient lattice photonic crystals [J]. Advanced Photonics Research, 2024,6(4): 2400129.

- [4] 赵缘, 陈志鹏, 李豪杰, 等. 基于气压传感器与伯努利方程的巡飞弹引信空速测量方法[J]. 仪器仪表学报, 2025, 46(4): 77-87.
- ZHAO Y, CHEN ZH P, LI H J, et al. Airspeed measurement method of loitering munition fuze based on air pressure sensor and Bernoulli equation[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2025, 46(4): 77-87.
- [5] ZHANG X L, ZHAO Y J, ZENG Y, et al. Evolution of the probe-based loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays in pathogen detection[J]. Diagnostics, 2023, 13(9): 1530.
- [6] 杨明鹏, 刘佳, 李言杰, 等. 基于爆破阀的微流体引流控制芯片研究[J]. 仪器仪表学报, 2022, 43(1): 54-61.
- YANG M P, LIU J, LI Y J, et al. Research on microfluidic drainage control chip based on rupture valve[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2022, 43(1): 54-61.
- [7] 于灵芝, 冯丽萍, 孔志豪, 等. 木糖葡萄糖球菌实时荧光定量PCR检测方法的建立及其应用[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(1): 73-79.
- YU L ZH, FENG L P, KONG ZH H, et al. Establishment of a qPCR method to detect *Staphylococcus xylosus* and its application[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2024, 32(1): 73-79.
- [8] 拓卫晓, 蒋颖娇, 李醒飞, 等. 磁流体动力学角速度传感器研究综述[J]. 仪器仪表学报, 2024, 45(9): 290-307.
- TUO W X, JIANG H J, LI X F, et al. Research review on magnetohydrodynamic angular velocity sensor[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2024, 45(9): 290-307.
- [9] 王哲, 陈启梦, 孟祥凯, 等. 基于弹性支撑式体外凝血检测传感器疲劳极限寿命评估方法[J]. 仪器仪表学报, 2021, 42(5): 121-130.
- WANG ZH, CHEN Q M, MENG X K, et al. Fatigue limit life evaluation method for in vitro blood coagulation detection sensor based on elastic support[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2021, 42(5): 121-130.
- [10] GIMALTDINOV I K, RODIONOV A S, VALIAKHMETOVA O Y, et al. Numerical solution of the initial boundary value problem of the impact of a shock pulse on a layer of a Bulk medium[J]. Lobachevskii Journal of Mathematics, 2025, 45(11): 5508-5516.
- [11] JOOYOUNG H, KAROL M, PETER F, et al. Second-order accurate finite volume method for G-equation on polyhedral meshes[J]. Japan Journal of Industrial and Applied Mathematics, 2023, 40(2): 1053-1082.
- [12] KOUBA O, BERNSTEIN D S. On the dynamics of a bead sliding on a freely rotating slanted wire[J]. Journal of Nonlinear Science, 2024, 34(3): 57.
- [13] RAJPUT S K, PANDA M K. Phototaxis-driven bioconvection in a rotating isotropic porous medium saturated with an algal suspension[J]. Physica Scripta, 2025, 100(6): 065225.
- [14] LU Y, SHEN H, CHEN G Y, et al. Euler force-driven siphon valve control for precise sequential release in centrifugal microfluidic chips[J]. Micromachines, 2024, 15(10): 1200.
- [15] ABDEL-WAHED M S, MEKHEIMER K S, SAYED A Y, et al. Exploring the implications of ternary Jeffrey nanofluid on pulsating flow and heat transfer through unsymmetrical corrugated micro conduit[J]. Results in Physics, 2025, 68: 1-16.
- [16] XIE M ZH, ZHAN Z H, LI Y F, et al. Functional microfluidics: Theory, microfabrication, and applications[J]. International Journal of Extreme Manufacturing, 2024, 6(3): 2005.

作者简介



王哲, 2011年、2014年、2020年于长春理工大学分别获得学士学位、硕士学位、博士学位, 现为长春理工大学副教授、博士生导师, 主要研究方向为生物医学工程与生物传感技术。

E-mail: wz@cust.edu.cn

Wang Zhe received his B. Sc., M. Sc., and Ph. D. degrees all from Changchun University of Science and Technology in 2011, 2014, and 2020, respectively. He is currently an associate professor and a doctoral supervisor at Changchun University of Science and Technology. His main research interests include biomedical engineering and biosensing technology.



王岩 (通信作者), 2017年于长春理工大学获得学士学位, 现为长春理工大学硕士研究生, 主要研究方向为医用生物工程领域的医疗器械开发技术。

E-mail: 1428124710@qq.com

Wang Yan (Corresponding author) received her B. Sc. degree from Changchun University of Science and Technology in 2017. She is currently a master' s student at Changchun University of Science and Technology. Her main research interests include medical device development technology in the field of medical biomedical engineering.



赵梓朝,2011 年、2015 年于长春理工大学分别获得学士、硕士学位,现为吉林省计量科学研究院工程师,主要研究方向为精密仪器测量,光学测量等技术。

E-mail: xie2123@ qq. com

Zhao Zichao received his B. Sc. and M. Sc. degrees both from Changchun University of Science and Technology in 2011 and 2015, respectively. He is currently an engineer at Jilin Institute of Metrology. His main research interests include precision instrument measurement, optical

measurement and other related technologies.



张书豪,2013 年于长春工程学院获得学士学位,现任长春卓谊生物股份有限公司设备工程部总监,主要研究方向为公司生产设备全生命周期管理,全厂厂房设施、公用系统及相关工程的全生命周期管理。

E-mail: 18104413337@ 163. com

Zhang Shuhao received his B. Sc. degree from Changchun Institute of Technology in 2013. He is currently a director of the equipment engineering department at Changchun Zhuoyi Biological Co. , Ltd. His main research interests include the full life cycle management of the company' s production equipment , as well as the full life cycle management of the entire plant' s facilities, utility systems and related projects.