



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106644900 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(21)申请号 201710108467.1

(22)申请日 2017.02.27

(71)申请人 大连海事大学

地址 116026 辽宁省大连市高新园区凌海路1号

申请人 大连医科大学附属第二医院

(72)发明人 宋永欣 周侗 王琪

(74)专利代理机构 大连东方专利代理有限责任公司 21212

代理人 王丹 李洪福

(51)Int.Cl.

G01N 15/10(2006.01)

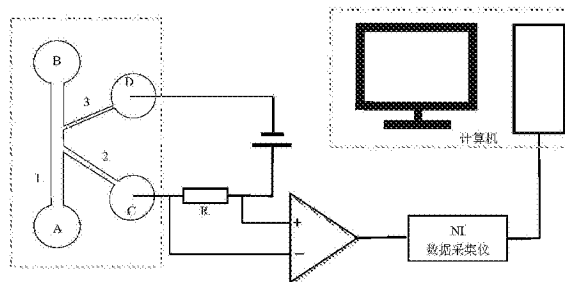
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置及其计数方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置及其计数方法。本装置包括玻璃底片、PDMS微流控芯片、信号放大元件以及信号采集控制系统，所述PDMS微流控芯片凹刻有微通道，所述微通道包括：两端分别设有进油储液孔和出油储液孔的主通道；自所述主通道中间位置，向远离所述主通道的方向延伸的进样通道，该进样通道末端设置有进样通道储液孔；自距离所述主通道与所述进样通道相交处一定距离的位置，向远离所述主通道的方向延伸的检测通道，该检测通道的宽度与主通道的宽度比值固定，且末端设置有检测通道储液孔。本发明结构简单，检测精度高，无需颗粒进出检测区即可实现检测与计数。



1. 一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置,其包括玻璃底片、PDMS微流控芯片、信号放大元件以及信号采集控制系统,所述PDMS微流控芯片凹刻有微通道的一侧与所述玻璃底片封装为一体,以形成供待测样品流通的微通道,其特征在于,所述微通道包括:

两端分别设有进油储液孔和出油储液孔的主通道;

自所述主通道中间位置,向远离所述主通道的方向延伸的进样通道,该进样通道的宽度与主通道的宽度比值固定,且末端设置有进样通道储液孔;

自距离所述主通道与所述进样通道相交处一定距离的位置,向远离所述主通道的方向延伸的检测通道,该检测通道的宽度与主通道的宽度比值固定,且末端设置有检测通道储液孔;

同时,所述进样通道储液孔和检测通道储液孔内均插有铂电极,所述进样通道储液孔内的铂电极通过一参考电阻与直流电源的正极连接,所述检测通道储液孔内的铂电极与上述直流电源的负极连接;所述参考电阻的两端均通过导线与所述信号放大元件的输入端连接,所述信号放大元件的输出端与所述信号采集控制系统连接。

2. 根据权利要求1所述的颗粒计数装置,其特征在于:

所述检测通道与主通道成一定角度,且其与主通道的宽度比值优选采用1/200。

3. 一种根据权利要求1所述的颗粒计数装置进行颗粒计数的方法,其特征在于,包括如下步骤:

1) 样品滴加:首先在所述进样通道储液孔和检测通道储液孔中滴加一定量的PBS缓冲液,在主通道进油储液孔中滴加一定量的十二烷,然后将一定量的待测样品滴加到所述进样通道储液孔中;

2) 样品输运:接通所述直流电源,使得所述进样通道储液孔中的待测样品在电渗流和压力作用下输运至所述主通道,然后在主通道压差驱动下流向主通道的出油储液孔,检测过程中待测颗粒从样品通道进入主通道,然后流经主通道与样品通道交界处,即颗粒不进入检测通道;

3) 信号放大采集分析:通过检测通道储液孔及进样通道储液孔内的铂电极采集参考电阻两端的电压脉冲信号,采集到的信号通过与参考电阻连接的信号放大元件放大后,由信号采集控制系统进行记录并显示相应的检测数据,即检测样品颗粒的个数;前述所述颗粒的个数检测值等于检测通道脉冲信号的个数。

4. 根据权利要求3所述的颗粒计数方法,其特征在于:

检测过程中使用十二烷将颗粒溶液聚焦流经主通道与检测通道交界处。

一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置及其计数方法

技术领域

[0001] 本发明涉及颗粒检测技术领域,具体说是涉及一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置及其计数方法。

背景技术

[0002] 准确地对样品中颗粒进行计数在多个领域具有重要的意义和需求;例如,在生物医学研究、公众健康检测和海洋环境监测等领域,对研究用于确定目标物(如细菌、病毒和海洋微生物等)的个数的便携式颗粒快速计数装置或方法,一直有着迫切的需求。

[0003] 目前现有常用的颗粒计数的方法包括下述几种:

[0004] 1) 光阻法(光学干涉原理):光阻法是目前应用最为广泛的颗粒计数方法,又称光障碍法或光遮挡法,是利用微粒对光的遮挡所发生的光强度变化进行微粒粒径检测的方法。此方法原理简单,但需要较为昂贵且结构复杂的光电转换系统,而且检测精度低;

[0005] 2) 电感法:电感法利用颗粒通过检测微孔时会改变微孔电感的现象,对检测微孔电感信号的变化加以监测,可以实现颗粒计数。此方法原理简单,可以对各种金属颗粒进行检测,但仅适用于金属颗粒,检测精度也受限;

[0006] 3) 电容法:电容法是一种非接触式检测方法,当颗粒经过检测微孔时,会改变微孔的电容,通过监测微孔电容信号的变化,可以实现颗粒计数。此方法可以用于低导电溶液(例如油液)中的颗粒计数,且电容检测对象主要为金属颗粒,但微小电容的检测依赖于高精度的检测仪器,因而限制了其便携化发展。

[0007] 4) 激光诱导荧光检测法:颗粒在激光照射后自带荧光,可以被光电传感器检测到并实现颗粒计数。此方法尤其适用于血液分析、免疫学和微生物学相关领域,计数准确,检测方便,但是检测前必须对样品进行处理,检测所用光学元件成本高且结构复杂,无法检测极微小的颗粒;

[0008] 5) 电阻脉冲法(RPS):电阻脉冲法是基于当颗粒流经存在电场的微孔,微孔处两端电压变化而产生检测信号,实现检测;此方法操作简便,是目前精度最高的颗粒计数方法。

[0009] 微流控芯片装置可以将生物、化学、医学分析过程的样品制备、反应、分离和检测等基本操作集成到一块微米尺度的芯片上,自动完成分析全过程。它具有液体流动可控、消耗试剂和试样极少、分析速度成十倍上百倍地提高等特点,可以在几分钟甚至更短的时间内进行上百个样品的同时分析,并且能在线实现样品的预处理及分析全过程。

[0010] 随着近年来微流控芯片加工技术的快速发展,目前已有许多在微流控芯片上利用RPS法对微纳颗粒、细胞、细菌和病毒等进行计数的研究报道。如,典型的微流控RPS计数芯片是在一条数百微米宽的主通道中部加工出一段线宽比待检测颗粒稍大的检测通道,然后在主通道两端施加一直流电场;当溶液中的绝缘颗粒经过检测通道时会使其两端分电压变化,通过采用合适的信号采集系统获得一个脉冲信号,脉冲信号的个数即为颗粒的个数。为方便的获取检测通道两边电压的变化,人们发明了不同的芯片结构。

[0011] 最初的检测芯片结构仅包括一条数百微米宽的主通道和设置于主通道中部的一

段线宽比待测颗粒稍大的检测通道,通过将插在主通道两端的铂电极串联电阻后与直流电源两端相连,并通过放大电阻两端电压信号的变化实现颗粒计数,但是此方法系统噪音大,信噪比低,所以检测精度低;后来的检测芯片在检测通道前后各设立了一条检测臂通道,用电极直接测量通道两端电压信号,再通过差分放大,使检测信噪比得以提高,进而使得检测精度升高;最新的计数芯片采用了公共进液孔多通道环形分布的结构,每条通道都包括主通道、检测通道和储液孔等,其进液孔连接电源正极,各储液孔串联电阻后连接电源负极,各通道相互作为参考,当前的计数芯片可以较好地消除系统噪音,通过控制各通道依次工作,实现高通量计数。但是需要说明的是,当前的计数芯片为了得到较高的检测信噪比,往往需要使得检测通道尺寸和颗粒的尺寸相近,则对应纳米颗粒的检测也相应的需要加工出纳米尺寸的检测通道,但是这就需要极为复杂的加工步骤和昂贵的加工设备。

[0012] 此外,由于检测通道的尺寸和颗粒较为接近,也容易造成颗粒阻塞检测通道;同时,溶液中的杂质也会造成检测通道的部分甚至完全堵塞,使得颗粒粒径检测结果出现误差或者检测中断,影响了系统的精度和稳定运行。

发明内容

[0013] 鉴于已有技术存在的不足,本发明的目的是要提供一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置,检测过程中,所述待测颗粒从样品通道进入主通道,然后流经主通道与样品通道交界处,即颗粒不进入检测通道,从而有效提高了检测精度及抗通道阻塞能力。

[0014] 为了实现上述目的,本发明技术方案如下:

[0015] 一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置,其包括玻璃底片、PDMS微流控芯片、信号放大元件以及信号采集控制系统,所述PDMS微流控芯片凹刻有微通道的一侧与所述玻璃底片封装为一体,以形成供待测样品流通的微通道,其特征在于,所述微通道包括:

[0016] 两端分别设有进油储液孔和出油储液孔的主通道;

[0017] 自所述主通道中间位置,向远离所述主通道的方向延伸的进样通道,该进样通道末端设置有进样通道储液孔;

[0018] 自距离所述主通道与所述进样通道相交处一定距离的位置,向远离所述主通道的方向延伸的检测通道,该检测通道的宽度与主通道的宽度比值固定且末端设置有检测通道储液孔;

[0019] 同时所述进样通道储液孔和检测通道储液孔内均插入铂电极,所述进样通道孔内的铂电极通过一参考电阻与直流电源的正极连接,所述检测通道储液孔内的铂电极与上述直流电源的负极连接;所述参考电阻的两端均通过导线与所述信号放大元件的输入端连接,所述信号放大元件的输出端与所述信号采集控制系统连接。

[0020] 进一步的,作为本发明的优选:

[0021] 所述检测通道与主通道成一定角度,且其与主通道的宽度比值优选采用1/200。

[0022] 进一步的,作为本发明的优选:

[0023] 所述信号放大元件采用差分放大器元件。

[0024] 进一步的,作为本发明的优选:

[0025] 所述信号采集控制系统包括NI采集卡和计算机。

[0026] 本发明另一目的是要提供一种基于上述颗粒计数装置进行颗粒计数的方法,其特

征在于,包括如下步骤:

[0027] 1) 样品滴加:首先在所述进样通道储液孔和检测通道储液孔中滴加一定量的PBS缓冲液,在主通道进油储液孔中滴加一定量的十二烷,然后将一定量的待测样品滴入到所述进样通道储液孔中;

[0028] 2) 样品输运:接通所述直流电源,使得所述进样通道储液孔中的待测样品在电渗流和压力作用下输运至所述主通道,然后在主通道压差驱动下流向主通道的出油储液孔;

[0029] 3) 信号放大采集分析:通过检测通道储液孔及进样通道储液孔内的铂电极采集参考电阻两端的电压脉冲信号,采集到的信号通过与参考电阻连接的差分放大器放大后,由信号采集控制系统进行记录并显示相应的检测数据,即检测样品颗粒的个数;前述所述颗粒的个数检测值等于检测通道脉冲信号的个数。

[0030] 检测过程中使用十二烷将颗粒溶液聚焦流经主通道与检测通道交界处。

[0031] 与现有技术相比,本发明的有益效果:

[0032] 1) 本发明在进行检测时,其待测样品颗粒不进入检测通道,从而不会造成通道堵塞的现象,检测稳定性高;

[0033] 2) 本发明通过增大主通道与检测通道的比值来不断提高检测信号的信噪比,从而提高检测精度。

附图说明

[0034] 图1为本发明计数装置的微流控芯片结构示意图;

[0035] 图2为本发明系统结构图。

[0036] 图中:M、微流控芯片,L、玻璃底片,A、主通道进油储液孔,B、主通道出油储液孔,C、进样通道储液孔,D、检测通道储液孔,1、主通道,2、进样通道,3、检测通道。

具体实施方式

[0037] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0038] 颗粒流经存在电场的微孔时,会对电场产生明显的扰动,相应的微孔处两端电压变化而产生电压脉冲信号。检测电压脉冲信号的个数,即可实现检测样品颗粒的个数。

[0039] 基于上述设计背景,本发明设计了一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置及其计数方法,下面结合附图以及具体实施例进一步说明本发明的技术方案:

[0040] 如图1所示,一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置,其包括玻璃底片L、PDMS微流控芯片M、信号放大元件以及信号采集控制系统。

[0041] 所述PDMS微流控芯片凹刻有微通道的一侧与所述玻璃底片封装为一体,以形成供待测样品流通的微通道,其特征在于,所述微通道包括:两端分别设有进油储液孔和出油储液孔的主通道;自所述主通道中间位置,向远离所述主通道的方向延伸的进样通道,该进样通道末端设置有进样通道储液孔,且该进样通道的宽度与主通道的宽度比值固定,优选为1/10;自距离所述主通道与所述进样通道相交处一定距离的位置,向与所述主通道成一定

角度的方向延伸的检测通道,优选地该检测通道的宽度与主通道的宽度比值为1/200,且末端设置有检测通道储液孔。

[0042] 所述进样通道储液孔和检测通道储液孔内均插入铂电极。所述进样通道储液孔内的铂电极通过一参考电阻与直流电源的正极连接,所述检测通道储液孔内的铂电极与上述直流电源的负极连接,用以实现待测样品自进样通道储液孔从进样通道流入主通道的电渗运输过程;样品流入主通道后,在压差驱动下流向主通道出油储液孔;

[0043] 所述参考电阻的两端均通过导线与所述信号放大元件的输入端连接。优选地,所述信号放大元件采用差分放大器元件。

[0044] 所述信号放大元件的输出端与所述信号采集控制系统连接,用以实现检测通道内待测样品颗粒个数信号的放大采集检测过程。优选地,所述信号采集控制系统包括NI采集卡和计算机。

[0045] 下面以聚苯乙烯样品颗粒为例进行检测,如图2所示:

[0046] 本实施案例的装置参数:本实施案例所用的芯片检测通道的尺寸 $1*5\mu\text{m}$ (宽 \times 高),各储液孔到芯片主通道中间的距离是5cm,主微通道尺寸是 $200*5\mu\text{m}$ (宽 \times 高),进样通道尺寸是 $20*5\mu\text{m}$ (宽 \times 高);待检测样品为 $3\mu\text{m}$ 聚苯乙烯颗粒溶液;缓冲液为PBS(1 \times)溶液;施加于进样通道储液孔与检测通道储液孔的电压为48V;

[0047] 该装置包括位于所述PDMS微流控芯片上的主通道进油储液孔A、主通道出油储液孔B、进样通道储液孔C和检测通道储液孔D以及主通道1、进样通道2和检测通道3。在进样通道储液孔C和检测通道储液孔D中插入铂电极,并通过电阻R连接至直流电源两端;在电阻R两端通过两根导线并联于一差分放大器的两个输入端;差分放大器的输出端连接至NI数据采集卡的输入端;NI输出信号可以直接在所连接的计算机显示并进行分析。

[0048] 基于上述颗粒计数装置进行颗粒计数的方法,包括如下步骤:

[0049] 1) 样品滴加:首先在进样通道储液孔和检测通道储液孔中滴加一定量的PBS缓冲液,在主通道进油孔中滴加一定量十二烷,保证油液压力一直大于溶液压力,然后将一定量的待测样品滴加入到样品通道进液孔中;

[0050] 2) 样品输运:接通直流电源,进样通道储液孔C中的样品由于电渗流和压力作用被输运至主通道中,然后在主通道压差驱动下流向主通道出油储液孔B,检测过程中待测颗粒从样品通道进入主通道,然后流经主通道与样品通道交界处,即颗粒不进入检测通道。由于油液不导电,通道中油液所在区域不会存在电场,因此,通过控制油水界面的位置能够限制电场的分布。实际中,需要保证主通道在与检测通道交界处的油水界面到检测通道的距离仅为待测颗粒粒径的2-3倍。

[0051] 由于仅在进样通道和检测通道施加电场,并且检测通道的宽度很窄,因此检测通道与主通道交界区域的电场强度很大(即电力线很密集)。当颗粒经过检测通道与主通道交界区域时,会很容易扰动电场线,使检测通道分电压发生变化,进一步导致电阻R两端的电压变化,产生检测信号,检测信号经过AD620差分放大器差分信号放大后输入至NI采集卡,NI采集卡输出信号可以直接在所连接的计算机上显示并进行分析。

[0052] 3) 信号放大采集分析:通过检测通道储液孔及进样通道储液孔内的铂电极采集参考电阻两端的电压脉冲信号,采集到的信号通过与参考电阻连接的差分放大器放大后,由信号采集系统进行记录并显示相应的检测数据,即检测样品颗粒的个数。

[0053] 检测结果:通过计算机可以直接获得实时检测结果,样品中颗粒的个数等于脉冲信号的个数。

[0054] 采用本发明所述一种基于非均匀电场的阻抗脉冲颗粒计数装置及其计数方法,检测过程中,使用十二烷将颗粒溶液聚焦流经主通道与检测通道交界处,且所述待测颗粒从样品通道进入主通道,然后流经主通道与样品通道交界处。由于检测通道与主通道交界区域的电场强度很大,且颗粒不进入检测通道,从而有效提高了检测精度及抗通道阻塞能力。

[0055] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,根据本发明的技术方案及其发明构思加以等同替换或改变,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

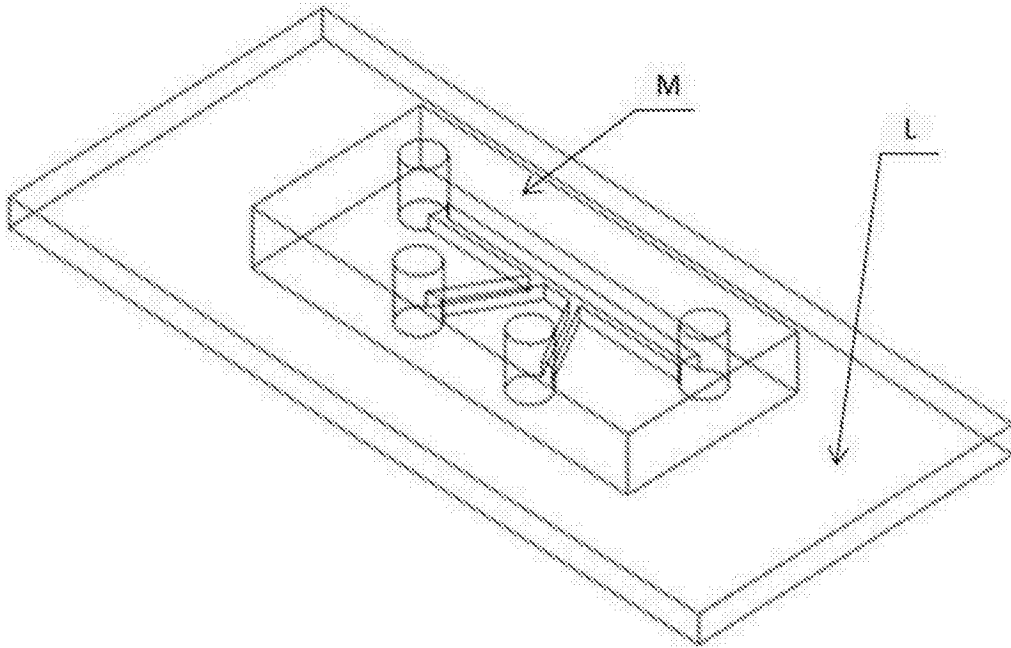


图1

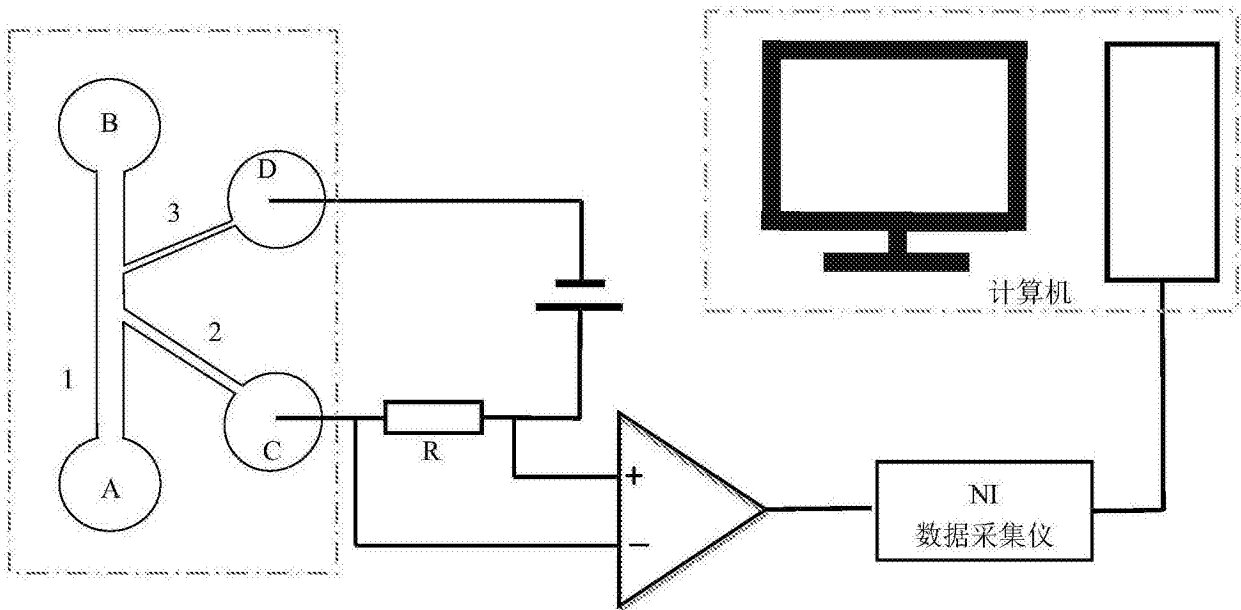


图2