

DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.S0.059

# 快速检测禽流感病毒的生物阻抗测试仪<sup>\*</sup>

莫嘉嗣 陈 钊 刘洪山

(华南农业大学工程学院, 广州 510642)

**【摘要】** 在生物芯片上通过测量微(纳)电极阻抗值以诊断溶液中禽流感病毒,是目前禽流感病毒快速检测的方向之一。以AD5933高精度阻抗转换芯片为核心测量芯片,以ATmega16单片机为控制器,通过外围电路设计和调试,研制激励频率范围1~100 kHz、测量阻抗范围1~1 000 k $\Omega$ 的阻抗测试仪,通过液晶实时显示扫频和定点测量结果。为保证测试仪的准确性,设计了带有35组不同阻抗组合的校正网络,用以实时校正。经精度为0.2%的商品化阻抗测试仪标定,所研制的原理性装置容抗测量精度达3%,通过进一步改进后可以满足使用要求。

**关键词:** 禽流感病毒 生物传感器 快速检测 阻抗测试 校正

**中图分类号:** TP212.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2012)S0-0289-06

## Development of Biological Impedance Testing Instrument for Rapid Detection of AIV

Mo Jiasi Chen Zhao Liu Hongshan

(College of Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

### Abstract

The avian influenza virus (AIV) was diagnosed by measuring the impedance of the biological chip's electrodes, which was a development direction of the AIV rapid detection. The high precision impedance conversion chip (AD5933) and the ATmega16 MCU were used. Through the circuit design and commissioning, an impedance testing instrument with the energizing frequency range of 1~100 kHz was developed. The impedance measurement range was 1~1 000 k $\Omega$ . This impedance testing instrument has capacity to measure one frequency point and sweep frequency testing. To ensure the accuracy of the instrument, a calibration network with 35 different combinations of impedance was used for providing real-time calibration. The BK866 (accuracy of 0.2%) impedance testing instrument for adjusting the system can make sure that the testing accuracy of capacitance was above 3%.

**Key words** Avian influenza virus, Biosensor, Rapid detection, Impedance test, Calibration

### 引言

生物传感器由于具有快速、简单、准确的特点,越来越受到重视,众多生物检测可以使用生物传感器代替复杂耗时的生物实验。生物传感器是将生物体的成分(酶、抗原、抗体、DNA、激素)或生物体本身(细胞、细胞器、组织)固化在器件上作为敏感元

件的传感器,其核心是生物芯片。生物芯片是生命科学领域中迅速发展起来的一项高新技术,主要是通过微加工技术和微电子技术在固格体芯片表面构建微型生物化学分析系统,实现对细胞、蛋白质、DNA以及其他生物组分准确、快速、大信息量的检测<sup>[1]</sup>。生物传感器的突出优点在于:快速、便携、高效,同时具有灵敏度高、测量可靠、易于集成和实现

收稿日期:2012-06-30 修回日期:2012-07-16

<sup>\*</sup> 中美国际科技合作专项资助项目(2010DFA31000)

作者简介:莫嘉嗣,硕士生,主要从事农业电气化与自动化、智能化控制与检测研究,E-mail: mojiasi@stu.scau.edu.cn

通讯作者:刘洪山,副研究员,主要从事传感器与微电子技术研究,E-mail: hugoliu@scau.edu.cn

测量自动化等优势。

李延斌等研究成果<sup>[2]</sup>表明:目前正在进行的“基于纳米磁珠微电极阻抗生物传感器禽流感病毒快速检测”的技术原理是通过纳米磁珠磁分离技术捕获和纯化样品中的禽流感病毒,通过抗体抗原在微电极上的特异性结合,使微电极阻抗发生变化,从而通过微电极阻抗阈值判读禽流感病毒存在与否。

禽流感病毒的检测过程主要是样品准备及阻抗测量两大步骤,其涉及的关键技术主要有:①纳米磁珠对病毒的捕获、分离技术。②含微电极、微通道的生物芯片研制。③微电极阻抗测量<sup>[3]</sup>。因此,有必要研发一种针对特定生物芯片在一定测试环境下的生物阻抗测试仪。

本文采用 ADI 公司的 AD5933 高精度阻抗测试方案,以 ATmega16 单片机作为控制器,配合 12864 点阵液晶屏作为显示器,实现单点测试和扫频记录;扫频过程配合上位机 VBA 窗体,实现数据实时记录的 Excel 表格,方便分析。测试仪还配备单片机控制的自动选择 RC 阻抗的校正网络,提供测试仪的实时校正。

## 1 生物阻抗测试仪的基本原理

传统的阻抗测试仪产品通常使用自平衡电桥法、谐振法、I-V 法、射频 I-V 法、网络分析法(反射系数法)、域传输反射法等<sup>[4]</sup>,因此其电路复杂,体积大,不便于携带,而且一般是测试固体物质;而测试生物传感器芯片是测试一定流量溶液的阻抗变化,需要针对液体进行测试。

本测试仪是基于美国 ADI 公司的 IDC (impedance to digital converter) 芯片 AD5933,该芯片结合了数字信号和模拟信号处理技术,为阻抗测量提供了一种小型集成解决方案。它采用直接数字频率合成器(direct digital synthesizer,简称 DDS)技术把 ADC 和复杂的数字信号处理功能结合在一起提供一种精细频率扫频能力,能处理用高约 100 kHz 已知频率激励的外部复数阻抗。被激励阻抗的响应信号直接被片内的 ADC 采样,然后用片内的 DSP 引擎处理离散傅里叶变换(discrete Fourier transform,简称 DFT)。DFT 算法返回每个频点(在扫频情况下)的实部和虚部数据字,从而可以根据初始校准数据很方便地计算出阻抗值<sup>[5]</sup>。已有文献证明该芯片能用于液体的阻抗测试,精度较高<sup>[6]</sup>。

系统针对生物阻抗模型进行设计,任何生物体都由细胞构成,细胞由细胞膜包裹,内部充满细胞质,细胞之间是细胞外液<sup>[7]</sup>。生理研究表明,当

直流或低频电流施加于生物组织时,电流将以任意一种可能的方式绕过细胞,主要流经细胞外液;当施加于生物组织电流的频率增加时,细胞膜电容的容抗减小,一部分电流将穿过细胞膜流经细胞内液,这使得生物组织阻抗对外界呈现一定的频散特性。根据 Cole-Cole 模型<sup>[8]</sup>,可以建立生物阻抗 RC 模型,所以本生物阻抗测试仪主要针对容抗测试进行设计。

## 2 带校正网络的生物阻抗测试仪设计

### 2.1 校正网络设计

阻抗测试对环境的要求比较高,环境的分布电容和分布电感会对测试结果带来影响,虽然阻抗测试仪已应用屏蔽技术把这方面的影响降低,但使用过程中为了保证精度,也为了将系统的零漂、时漂等带来的影响降到最低,仍需要有校正网络预先(或测后)对阻抗测试仪进行校正。校正可在实验之前(或对测量结果产生怀疑时)进行,以确保该次实验数据的准确。本生物阻抗测试仪带有单片机控制的校正网络,能方便地切换已经标定好的阻抗值,提供简单便捷的校正手段。

由于本阻抗测试仪量程较大,频段较宽,校正的阻抗如果选择过多、设置过细,数据量将很大,操作也繁琐。在研发过程中,通过比较所测数据和所绘曲线发现,系统在一定量程范围内是线性系统,可以通过量程的端点实现两点间的线性校正,这样不仅能保证精度,还能简化校正网络的设计。本阻抗测试仪校准网络共有 35 种组合,采用单片机配合多路选择电子开关进行阻抗的片选,配合液晶和按键的操作,能方便地实现校正阻抗的选择。

配合本阻抗测试仪的校正网络使用 RC 阻容并联模拟生物阻抗方法,提供 5 种频率(1、5、10、50、100 kHz)下,7 种阻抗(1、5、10、50、100、500、1 000 k $\Omega$ )共 35 种组合的阻抗模型,遍历阻抗仪的量程(1~10 k $\Omega$ ,10~100 k $\Omega$ ,100~1 000 k $\Omega$ )和频段(1~100 kHz),供每个量程端点线性校正使用。

本校正网络采用 Randles 等效电路,因为 Randles 等效电路能将电化学电池表现为一个由电学元件组成的电路网,每个电学元件都与构成生物阻抗的一个物理因素相关。当划分这些等效电学元件(每个元件都代表某项性能约束因素)后,整体就表现为单纯的电学元件,而这些在测试过程中可以消除<sup>[9]</sup>。

如图 1 所示,Randles 等效电路由下列 4 个元件组成:Re 为电解质溶液电阻,本文中代表 2 个金属界面之间的氧化物渣的电阻;Rct 是电荷传递电阻;



振有关,也就是说假设扫频过程跨越了 10 kHz,即使晶振切换了,但是由于控制寄存器没有按晶振频率重写,结果会出错,所以本测试仪在扫频过程中,当前频率到 10 kHz 时会自动停止,然后重新写寄存器后继续扫频。扫频有关寄存器公式为

$$C_{start} = \frac{F_{start}}{\frac{M_{clk}}{4}} \times 2^{27} \quad (1)$$

$$C_{inc} = \frac{F_{inc}}{\frac{M_{clk}}{4}} \times 2^{27} \quad (2)$$

式中  $C_{start}$  ——起始频率码

$F_{start}$  ——所需输出起始频率

$M_{clk}$  ——晶振频率

$C_{inc}$  ——频率增量码

$F_{inc}$  ——所需频率增量

在阻抗测试过程中不仅仅要知道模值,还要知道相角的大小,相角为  $\arctan \frac{I}{R}$ 。与模值一样,相角也要进行校准。首先对标定电阻进行测试,得到标定电阻的相角,由于电阻的相角是零,所以测出来的相角实际上是系统内部器件产生的相移,称为系统相角,系统相角是一个随着频率变化的值,通过实验测得系统相角曲线如图 5 所示,是关于频率的直线,可以通过程序写入函数,每个测得的相角减去该直线的值就是实际的相角值。

在进行扫频测量时,通过 VBA 窗体(图 6)能实时传输数据到 Excel 表格进行保存,然后绘制系统相位曲线(图 5),但是两段直线斜率不一样,所以需要分段减去系统相位。

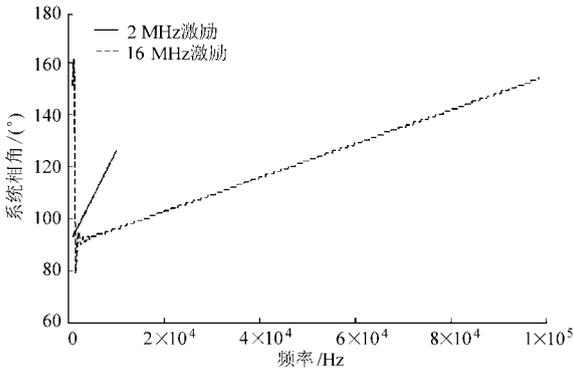


图 5 系统相位曲线(量程 1)

Fig. 5 Curve of system phase (range 1)

### 2.3 阻抗仪调试与误差分析

在 10 kHz 激励下使用精密电阻对每个量程进行单点测量,测试值和真值之间存在线性误差,可能是由单片机的数据截断误差引起的,如图 7 所示。

如表 1 所示,修正后量程 2 相对误差小于 1%,电阻测试的相角误差小于 1°。修正后对 3 个量程

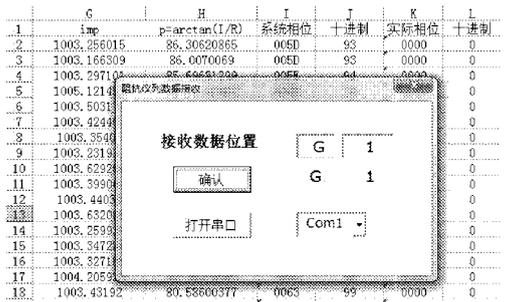


图 6 阻抗仪数据接收界面

Fig. 6 Data receiving via VBA

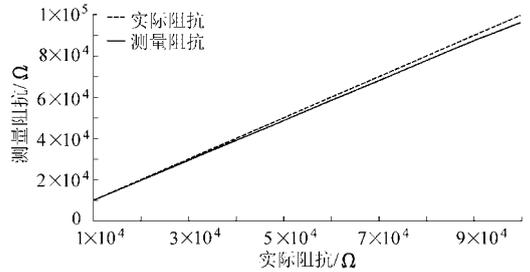


图 7 量程 2 线性误差

Fig. 7 Linear correction (range 2)

等距选取测试点,使用商品化的 BK886 阻抗测试仪(图 8)对本生物阻抗测试仪进行测试,测试结果与 BK886 型阻抗测量仪(精度 0.2%)的结果对比,10 kHz 激励下纯电阻测试结果相对误差小于 1% (表 2),相位误差 1°(不标出);使用 1、10、100 kHz 分别对电容进行激励,测试容抗的误差小于 3% (表 3)。

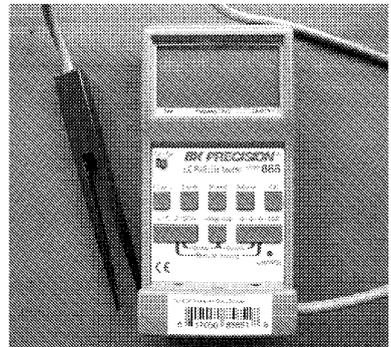


图 8 BK886 型阻抗测量仪

Fig. 8 BK886 impedance instrument

由于 BK886 型阻抗测量仪的频率不是连续可调的,所以不能用 BK886 型阻抗测量仪对本系统的扫频测试作对比。因此,使用理论计算值和本生物阻抗测试仪的测试结果作曲线对比。分别对 10 kΩ 电阻和 200 pF 电容进行扫频(30 ~ 50 kHz, 步进 500 Hz),绘制图 9、图 10。

通过图 9、图 10 能看出扫频测试的结果是围绕理论计算值上、下波动的,电阻测试的误差小于 1%,容抗测试的误差小于 3%,相位绝对误差小于 2°,说明本测试系统结果较精确。

表 1 线性修正 (量程 2)  
Tab.1 Linear correction (range 2)

序号	标准电阻/ $\Omega$	读取模值	修正前测量值/ $\Omega$	修正前相对误差/%	阻抗修正值/ $\Omega$	修正后相对误差/%
1	10 000	9 920	9 961.174 675	-0.388 253 246	10 013.954 66	0.139 546 624
2	20 000	5 035	19 625.591 42	-1.872 042 92	20 064.948 07	0.324 740 364
3	30 000	3 364	29 374.213 07	-2.085 956 421	30 203.514 6	0.678 381 989
4	40 000	2 538	38 934.142 15	-2.664 644 622	40 145.840 84	0.364 602 093
5	50 000	2 033	48 605.436 68	-2.789 126 631	50 203.987 15	0.407 974 304
6	60 000	1 693	58 366.717 53	-2.722 137 448	60 355.719 23	0.592 865 387
7	70 000	1 452	68 054.306 32	-2.779 562 397	70 430.811 58	0.615 445 107
8	80 000	1 271	77 745.753 56	-2.817 808 045	80 509.916 71	0.637 395 883
9	90 000	1 129	87 524.227 44	-2.750 858 4	90 679.529 54	0.755 032 82
10	100 000	1 024	96 498.879 67	-3.501 120 332	100 013.167 9	0.013 167 855

表 2 BK886 型和自制阻抗仪测试结果对比 (电阻)

Tab.2 Comparison results with BK886 and homemade impedance instrument (resistor)

序号	10 kHz 激励下测量纯电阻/ $\Omega$			相对误差/%
	标准电阻	BK886 型 阻抗仪	自制 阻抗仪	
1	1 000	1 001	999	-0.199 800 2
2	5 000	5 001	4 984	-0.339 932 014
3	10 000	10 002	9 965	-0.369 926 015
4	50 000	49 990	50 038	0.096 019 204
5	100 000	99 090	99 956	0.873 952 972
6	500 000	502 100	497 600.74	-0.896 088 429
7	1 000 000	983 200	985 494.37	0.233 357 404

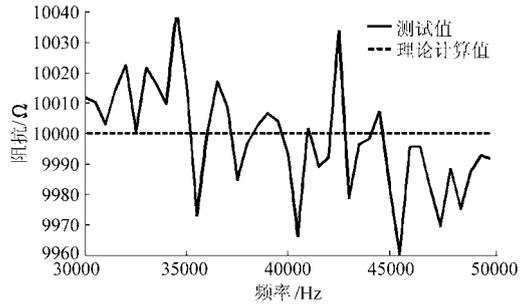


图 9 10 k $\Omega$  电阻扫频测试结果

Fig.9 Test results of resistor of 10 k $\Omega$

表 3 BK886 型和自制阻抗仪测试结果对比 (电容)

Tab.3 Comparison results with BK886 and homemade impedance instrument (capacitor)

序号	激励频率 /Hz	电容/ $\mu\text{F}$	BK886 型		自制阻抗仪		阻抗相对 误差/%	相位相对 误差/%
			阻抗/ $\Omega$	相位/ $^\circ$	阻抗/ $\Omega$	相位/ $^\circ$		
1	1 000	100 000	1 625	-88.35	1 609	-82	-0.98	-7.18
2	1 000	10 000	15 530	-88.38	15 341	-86.9	-1.21	-1.6
3	10 000	10 000	1 602	-88.48	1 621	-81.7	1.18	-7.6
4	10 000	1 500	10 720	-89.54	10 845	-88.4	1.16	-1.27
5	100 000	200	8 973	-89.24	9 108	-87.5	1.50	-1.94
6	100 000	22	64 800	-89.9	65 141	-88.5	0.52	-1.55

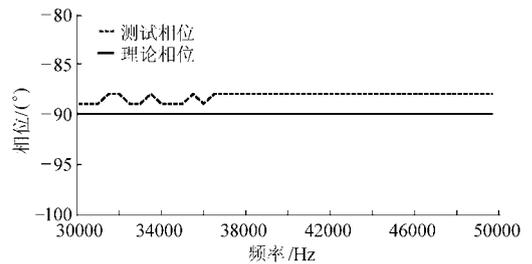
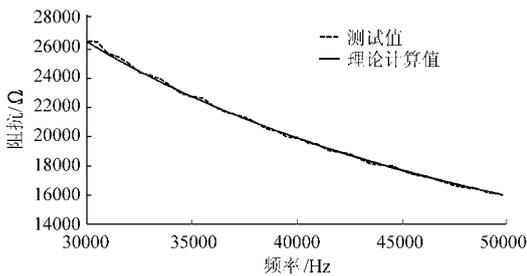


图 10 200 pF 电容扫频测试结果

Fig.10 Test results of 200 pF capacitor

### 3 结束语

阻抗测试仪是以禽流感快速检测平台为背景设计的,为确保测试仪在可能参数范围内的测量精度,系统采用了外加晶振分频、搭建 RC 校正网络等措施,在 500 k $\Omega$  以下较精确,在 500 ~ 1 000 k $\Omega$  之间的增益系数有非线性现象,需要复杂的修正才能准确

测量。从初步的实验结果看,测试仪能满足平台扫频和单点测量的要求。

由于采用通过生物芯片(纳)电极阻抗值判读禽流感病毒的方法所涉及的技术环节众多,电极阻抗值与溶液浓度、溶液流速等因素密切相关,尚需通过大量实验,结合阻抗谱分析,方能获得针对特定生物芯片在一定测试环境下的阻抗阈值。

### 参 考 文 献

- 1 鲁然. 生物传感器在医学领域中的应用[J]. 当代医学,2009,15(24):36~37.  
Lu Ran. Applications in medicine of biosensor[J]. Contemporary Medicine, 2009,15(24):36~37. (in Chinese)
- 2 Li Yanbin. Nanobead micro-nanoelectrode based impedance biosensor for rapid screening of AI virus[C] // International Symposium on Applications of Nanotechnology and Biosensors in Agriculture and Food, Hangzhou, China, 2011.
- 3 Lin Jianhang. A portable impedance biosensor instrument for rapid detection of avian influenza virus[C] // International Symposium on Applications of Nanotechnology and Biosensors in Agriculture and Food, Hangzhou, China, 2011.
- 4 孙伟. 生物阻抗的测量方法与实现[D]. 天津:天津师范大学,2006.  
Sun Wei. Biological impedance measurement and implementation[D]. Tianjin: Tianjin Normal University, 2006. (in Chinese)
- 5 李静,陈世利,靳世久. 基于 AD5933 的阻抗分析仪的设计和实现[J]. 现代科学仪器,2009,4(2):28~30.  
Li Jing, Chen Shili, Jin Shijiu. Design of impedance analyzer based on AD5933[J]. Modern Scientific Instruments, 2009, 4(2):28~30. (in Chinese)
- 6 傅元,吴然,韩吉声. AD5933 测量水电导率电路设计中的若干问题[J]. 仪表技术与传感器,2011(7):63~65.  
Fu Yuan, Wu Ran, Han Jisheng. Measurement of water conductivity based on AD5933[J]. Instrument Technique and Sensor, 2011(7):63~65. (in Chinese)
- 7 黄海滨,任超世. 生物电阻抗法测量人体成分[J]. 国外医学:生物医学工程分册,2000,23(3):151~155.  
Huang Haibin, Ren Chaoshi. Biological impedance measure human body composition[J]. Foreign Medical: Biomedical Engineering, 2000,23(3):151~155. (in Chinese)
- 8 侯海涛. Cole - Cole 模型等效模拟瞬变电磁响应[D]. 长沙:中南大学,2010.  
Hou Haitao. Transient electromagnetic simulation response of Cole - Cole model equivalent[D]. Changsha: Central South University, 2010. (in Chinese)
- 9 盛国俊,董永贵,张琦,等. 人体生物电阻抗的脉冲式检测方法及其应用[J]. 仪器仪表学报,2008,29(增刊):295~298.  
Sheng Guojun, Dong Yonggui, Zhang Qi, et al. A pulsed human bioelectrical impedance measurement method and its application[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2008,29(Supp.):295~298. (in Chinese)
- 10 姜艳波. CMOS 数字集成电路应用百例[M]. 北京:化学工业出版社,2009:21~22.