

环形六孔纳米磁珠分离器设计与试验

刘洪山¹ 林杰斯¹ 罗锡文^{2,3} 莫嘉嗣⁴ 林建涵⁵ 焦培荣⁶

(1. 华南农业大学电子工程学院, 广州 510642;

2. 华南农业大学南方农业机械与装备关键技术教育部重点实验室, 广州 510642;

3. 华南农业大学工程学院, 广州 510642; 4. 华南理工大学机械与汽车工程学院, 广州 510642;

5. 中国农业大学教育部现代精细农业系统集成研究重点实验室, 北京 100083; 6. 华南农业大学兽医学院, 广州 510642)

摘要: 免疫磁珠分离技术在生物检测中的应用日益广泛,能提供高强度大梯度磁场环境的纳米磁珠分离器是免疫磁珠分离技术中的关键技术之一。设计了一种新颖的环形六孔纳米磁珠分离器,通过瓦状钕铁硼磁块的优化布局 and 斜壁坡莫合金导磁片设计,实现了在同一台纳米磁珠分离器上形成 6 个强磁场高梯度分离区域(分离孔),分离器最高磁场强度达 1.44 T,最高磁场梯度达 96.3 T/m(体积 865.5 cm³,质量 4.8 kg),同一分离器内 6 个分离孔内磁场分布相同,孔间平均相对偏差在 2.0% ~ 3.3% 之间。对磁分离孔磁场分布的测试和仿真结果表明:磁珠分离器体积、导磁片材料和导磁片形状等因素对磁珠分离器磁场强度和梯度有不同程度的影响,采用大体积磁块的磁珠分离器比采用小体积磁块的磁珠分离器、采用坡莫合金作为导磁片比采用软铁材料作为导磁片、采用斜壁形状的导磁片比采用直壁形状的导磁片均能实现较大的磁场强度和梯度。该纳米磁珠分离器已成功应用于大肠杆菌和禽流感病毒的免疫磁分离试验研究,并可以根据不同应用需求,组合相关要素以获得理想的免疫磁珠分离器。

关键词: 免疫磁分离; 磁珠分离器; 磁场; 分离效率

中图分类号: TQ028.9⁺2; TP212.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2016)05-0315-06

Design of Annular Magnetic Nanobead Separators with Six Separation Holes

Liu Hongshan¹ Lin Jiesi¹ Luo Xiwen^{2,3} Mo Jiasi⁴ Lin Jianhan⁵ Jiao Peirong⁶

(1. College of Electronic Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

2. Key Laboratory of Key Technology on Agricultural Machine and Equipment, Ministry of Education, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

3. College of Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

4. School of Mechanical and Automotive Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510642, China

5. Key Laboratory of Modern Precision Agriculture System Integration Research, Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100083, China

6. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Immunomagnetic beads separation (IMBS) technique plays more and more important roles in biological detection recently. One of the key technologies for immunomagnetic beads separation is the magnetic nanobead separator (MNS) which is capable of providing a magnetic field of high intensity and high gradient. The innovative MNS was constructed by NdFeB magnetic tile blocks and permalloy clinohedral magnetizers. There are six separation holes on this annular MNS providing with the magnetic field of high intensity and high gradient. The MNS was successfully applied in the field of nanobead magnetic separation on both *Escherichia coli* and *avian influenza virus*. The magnetic intensity measurement results show that the highest MNS magnetic field intensity of 1.44 T and the highest MNS

收稿日期: 2016-02-02 修回日期: 2016-03-03

基金项目: 科技部国家科技交流与合作专项(2010DFA31000)

作者简介: 刘洪山(1968—),男,博士生,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

通信作者: 罗锡文(1945—),男,教授,博士生导师,主要从事农业机械和农业工程技术研究,E-mail: xwluo@scau.edu.cn

magnetic field gradient of 96.3 T/m (865.5 cm³ volume, 4.8 kg weight) were achieved. The measurement average relative error among each hole of the four sets of MNS was between 2.0% to 3.3%. The study results also show that MNS volume, material and profile of magnetizer have different effects on the intensity and gradient of magnetic field. The larger MNS or the MNS with permalloy magnetizer or with sidleing-magnetizer can obtained higher intensity and gradient of the magnetic field compared to the smaller MNS or MNS with soft iron magnetizer or MNS with straight-shape magnetizer. Therefore, according to different IMBS application requirements, it can be obtained the ideal separator easily with different structure elements.

Key words: immunomagnetic beads separation; magnetic nanobead separator; magnetic field; separation efficiency

引言

磁分离技术最早应用于选矿领域,1792 年英国首次发明了用于精选铁矿的磁分离技术专利,1845 年美国发明了工业磁选机^[1],20 世纪 60 年代末,电磁铁磁分离器逐步被永磁铁分离器取代,20 世纪 80 年代初期逐步采用钕铁硼(NdFeB)永磁体,从而使磁分离器的应用领域更加广泛^[2]。20 世纪 70 年代初,美国发明了一种高梯度磁分离(High gradient magnetic separation, HGMS)技术,即在一个均匀的背景磁场中填充高饱和聚磁介质以产生高梯度磁场,从而对磁性不同的污染物系进行分离。HGMS 是现代磁分离技术的一个里程碑,因为它能大规模、快速地分离磁性微粒,并可解决普通磁分离技术难以解决的许多问题,如微细颗粒(粒度小至 1 μm)及弱磁性颗粒(磁化率低至 10⁻⁶)的分离等^[3]。

生物磁分离技术是在传统磁分离技术基础上发展起来的,是一种以细胞、细菌、核酸和蛋白质等生物体为应用对象的高效分离技术^[4],它利用磁性或磁性标记生物体在外磁场作用下定向运动的特性,对目标生物体进行提取、富集、分离和纯化^[5]。纳米材料是指在三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1 ~ 100 nm)或由其作为基本单元构成的材料^[6],纳米磁珠因其具有特殊的磁导向性、超顺磁性和其表面可连接生化活性功能基团等特点,使其在核酸分析、临床诊断、靶向药物、细胞分离和酶的固定化等领域得到了广泛的应用,将这些性质应用到生物传感器中,能显著提高生物传感器灵敏度,缩短生化反应的时间,提高检测通量,在生物传感器领域具有广阔的应用前景^[7]。在微生物检测领域,免疫磁珠分离技术(Immunomagnetic beads separation techniques, IMBS)将针对特定病原微生物的多抗或单抗偶联到磁珠微球体上,修饰后与待检标本混合,进行抗原抗体反应,若标本中存在靶物质,即可形成磁珠-目标微生物复合物,在外部磁力作用下,通过

该复合物在磁场中的运动,将目标微生物从标本中分离出来^[8]。

到目前为止,发展高效、快速、实用的磁性粒子分离方法仍然是一项具有挑战性和重大应用价值的课题^[9]。目前国内外用于禽流感病毒 H5N1 分离研究的磁珠粒径通常为 30 ~ 180 nm,禽流感病毒前处理的纳米磁珠分离器(Magnetic nanobead separator, MNS)要求能在 1.5 mL(直径 11.0 mm)尖底离心试管有效区域内,产生足够强的磁场强度和足够大的磁场梯度,在尽量短分离时间内实现病毒的快速分离;为了满足便携式检测装置的总体要求,所设计的磁珠分离器要求体积小、质量轻、使用效率高^[10-11]。本文通过特殊形状钕铁硼永磁块的优化布局 and 斜壁坡莫合金导磁片设计纳米磁珠分离器,并详细分析影响磁分离器磁场分布的几个结构要素。

1 纳米磁珠分离器设计

1.1 生物磁分离技术的理论依据

溶液中一个可磁化的磁珠进入磁场后,作用在磁珠上的力除磁力外,还有重力、流体拉力、摩擦力和惯性力等,实现磁珠分离的必要条件是磁力必须大于重力、流体拉力、惯性力等的合力作用^[12]。磁场施加在磁化磁珠上的磁场作用力 F_M 公式为

$$F_M = \chi V H \frac{dH}{dx} \tag{1}$$

式中 F_M ——磁场作用力
 χ ——磁珠的磁化率
 V ——磁珠体积 H ——磁场强度
 $\frac{dH}{dx}$ ——磁场梯度

因此,在大磁珠直径和磁化率、小流体介质粘度的体系中,磁珠比较容易分离,对磁珠分离器的磁场强度和梯度的要求较低;而对于小磁珠直径和磁化率、大流体介质粘度的体系中,磁珠较难分离,要求

磁珠分离器具有高的磁场强度和梯度^[13-14]。

1.2 环形六孔纳米磁珠分离器的基本结构

永磁体相对的磁极间隙中的磁力线密集,是强磁场区域,但如果磁力线平行,则意味着磁场梯度为零,高性能磁珠分离器通常需要有大的磁场梯度,即沿磁力线方向有大的磁场强度变化。稀土系永磁材料的永磁性能高于其他材料,其中又以 NdFeB 永磁体为最^[15],选用 NdFeB 材料作为磁源可提供最强的永磁磁场强度;采用特定形状的 NdFeB 磁块,通过合理布局可以汇聚磁力线和增强空腔磁场梯度^[16]。为能在同一磁珠分离器上实现多个分离区域,根据磁块磁场分布特征,本研究采用环形布局,以使首尾磁块得到充分利用,从而提高 NdFeB 磁块的使用率。

图1为选用瓦状 NdFeB 磁块同极性紧贴(中间采用金属导磁片聚集磁力线)的磁场分布,磁场仿真是在 Ansoft Maxwell 14^[17]上进行的,磁力线在同极性界面的锐角处最为密集,可以以此为极,与另一对瓦状 NdFeB 磁块形成的对称极形成强磁场分离区域, $n(n \geq 3)$ 对瓦状 NdFeB 磁块通过环形连接即可形成 n 个分离区域。该分离区域为 15 mL 的离心试管盛液空间提供分离磁场。试管分离孔直径越小,盛液空间和孔壁之间的气隙距离就越小,空气的磁阻对作用于试管分离孔内的磁场强度衰减就越小^[18],因此,小的试管孔能有效减少气隙对磁场强度的衰减。

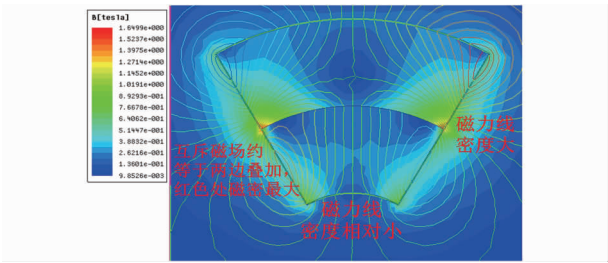


图1 磁瓦互斥磁场强度分布仿真示意图

Fig.1 Simulation results of magnetic intensity distribution for opposite magnetic tiles

磁瓦由采用弱顺磁金属铝合金制作的圆柱形外壳固定^[19],根据永磁体间的磁力公式^[20]

$$F = \left(\frac{B_g}{4\,965} \right)^2 A_g \tag{2}$$

假定永磁体表面磁场强度 B_g 为 0.6 T,磁极面积 A_g 为 7.72 cm²,可得极性相对的永磁体间的斥力约为 115 N。根据磁体斥力的大小即可选择外壳的厚度并使用 Pro/Engineer 进行有限元受力分析,对分离器进行强度考核,最终确定磁分离器结构尺寸以确保其有足够的机械强度并有效抑制磁场外泄。

如果以仿真结果中的最大磁场强度与磁场梯度

的乘积考核磁分离效果,环形三孔的效果最好,环形五孔和环形六孔的效果相当。但从同样体积的磁珠分离器可提供有效磁珠分离区域的数量看,采用环形六孔磁珠分离器的综合性能较好,图2为其中一个环形六孔磁珠分离器的实物照片和磁场仿真。

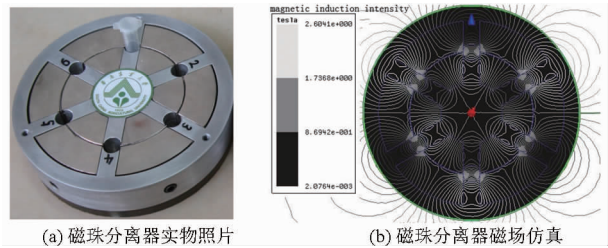


图2 环形六孔磁珠分离器示意图

Fig.2 Schematic diagram of annular MNS with six holes

2 环形六孔纳米磁珠分离器磁场测量分析

由1.2节的分析及磁场仿真结果可知,瓦状 NdFeB 磁块体积、导磁金属材料性质和导磁片形状将直接影响磁分离孔磁场强度和磁场梯度。为便于研究,采用不同尺寸的瓦状 NdFeB 磁块对分别设计了外形尺寸为 $\phi 210 \times 25$ mm (V1) 和 $\phi 143 \times 25$ mm (V2) 的环形六孔纳米磁珠分离器,并在此基础上进行不同组合,形成如表1所示的4套磁分离装置进行磁分离孔的磁场对比测量分析。

表1 纳米磁珠分离器装置影响参数测试方案
Tab.1 Test plan for MNS impact factors analysis

测试方案	影响参数			
	导磁材料	导磁片形状	磁块体积	装置基本型
A	铁芯	紧贴孔壁(直壁)	大	环形 V1
B	坡莫合金	紧贴孔壁(直壁)	小	环形 V2
C	坡莫合金	紧贴孔壁(直壁)	大	环形 V1
D	坡莫合金	紧贴试管壁(斜壁)	小	环形 V2

为全面了解分离孔内磁场的分布,测量中采用图3所示的测量点布局(中层和下层测试序号与上层相同;序号1~8测量方向指向圆周外,序号9(圆心处)方向由左到右),对每套装置的6个分离孔分别进行上、中、下3层磁场强度测量,每层在圆周面上均布8点和圆心位置1点共9点,每个测试点重复测量3次,取平均值作为该点磁场测量结果,磁场强度测量采用 HT201 型数字特斯拉计(量程为0~2 000 mT,分辨率 0.1 mT)。

测量结果表明:磁珠分离器磁场强度测量重复性误差在2%以内,4套磁珠分离器装置孔间平均相对误差在2.0%~3.0%之间,可认为每套磁珠分离器6个分离孔的分离效果相当。方案A、B、C和D磁场强度测量的分布规律相同,但磁场强度大小有所区别。图4为方案C的测量结果:上层、中层和

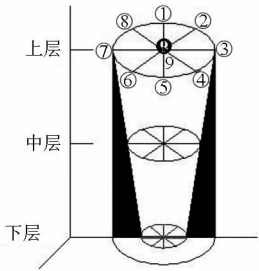


图 3 分离孔内测点布局示意图

Fig. 3 Measurement layout in a separation hole

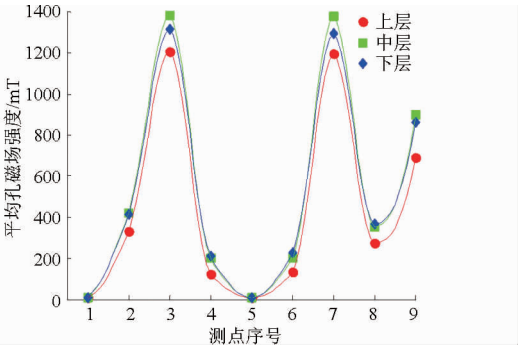


图 4 环形 V1 装置直壁铁芯分离孔磁场强度

Fig. 4 Magnetic intensity of separator V1 with straight steel magnetizer

下层中 1-9-5 为弱磁场截面,1 点和 5 点的磁场强度近似为零;3-9-7 为强磁场截面,3 点和 7 点的磁场强度最高;4-9-8 截面和 2-9-6 截面磁场分布规律相同,磁场强度处于强磁场截面和弱磁场截面之间,在位于大磁瓦一侧的 2 点和 8 点的磁场强度明显高于小磁瓦一侧的 4 点和 6 点,这是由于瓦状 NdFeB 内外磁块体积不同造成的。

2.1 磁珠分离器体积大小的影响 (方案 B 与方案 C 对比)

V1 装置和 V2 装置都具有以直壁坡莫合金材料作为导磁片的配置, V1 装置的体积和质量分别是 V2 装置的 2.75 倍和 2.19 倍。上、中、下 3 层强磁场特征点截面的磁场强度测量结果如图 5 所示,磁体小的 V2 装置比磁体大的 V1 装置的磁场强度下降 2% ~ 12% 不等,平均减小 5.67%;虽然 V2 装置的磁场强度与 V1 装置的磁场强度相比有所减小,但其 3 点和 7 点的磁场强度依然超过了 1.0 T,属于强磁场范围,能满足纳米磁珠分离的需求,由于其质量和体积都远小于 V1 装置,从综合性能看, V2 装置更具优势。

2.2 导磁材料的影响 (方案 A 与方案 C 对比)

在 V1 装置中设计了铁芯和坡莫合金 2 种导磁材料,坡莫合金的显著特点是初始磁导率和最大磁导率均很高。2 种导磁材料上、中、下 3 层强磁场特征点截面的磁场强度测量结果如图 6 所示,采用铁芯导磁片的磁珠分离器较坡莫合金为导磁片的磁珠

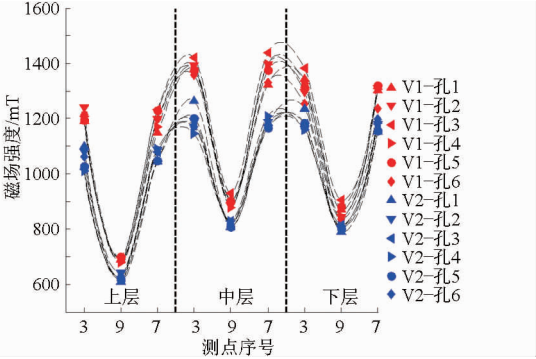


图 5 不同体积 MNS 3-9-7 点磁场强度对比

Fig. 5 Magnetic intensity comparison between MNSs with different volumes

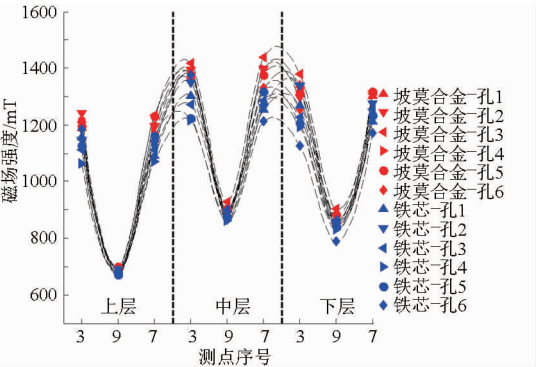


图 6 不同导磁片材料 3-9-7 点磁场强度对比

Fig. 6 Magnetic intensity comparison between different magnetizers

分离器产生的磁场强度有所下降,平均下降幅度在 5% 左右。因此,采用坡莫合金作为导磁片比采用铁芯作为导磁片对增大分离有效区域的磁场强度有明显效果。

2.3 导磁片形状的影响 (方案 B 与方案 D 对比)

在 V2 装置上,设计了 2 种不同形状的坡莫合金导磁片,一种是与试管分离孔壁相切、紧贴试管分离孔的导磁片,简称直壁,其产生的最强磁场在分离孔圆周上(3 点和 7 点),然后依靠空气导磁将磁场传递到试管磁珠溶液;另一种是依据试管圆锥形盛液段外形设计,紧贴试管外壁,简称斜壁,其产生的最强磁场依然是在分离孔圆周上,但是由导磁片而不是空气将磁场传递到试管磁珠溶液。根据 V2 装置试管孔导磁片的外形结构可知,直壁与斜壁的差别在中层和下层,所以无需对上层数据进行对比分析。2 种条件下,中层和下层强磁场特征点截面的磁场强度测量结果如图 7 所示,图中所谓直壁转换成斜壁位置和斜壁磁场强度总量的换算目的均为考虑直接作用到试管磁珠溶液的水平磁场强度。对于同一空间点,斜壁坡莫合金的磁场强度比直壁坡莫合金装置的磁感应强度有所增强,平均增长约 5.0%。

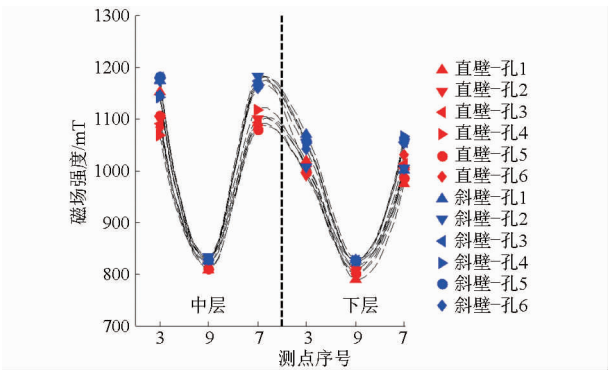


图 7 不同导磁片外形 3-9-7 点磁场强度对比
Fig.7 Magnetic intensity comparison between different profiles of magnetizers

2.4 分离区域磁场梯度分析

本文采用的直壁分离孔各层磁场梯度 G 的计算公式为

$$G = \frac{1}{2} \left(\frac{S_7 - S_9}{\frac{11.0}{2}} + \frac{S_3 - S_9}{\frac{11.0}{2}} \right) \quad (3)$$

式中 G ——各层直壁分离孔孔内平均磁场梯度
 S_3 、 S_7 、 S_9 ——对应各层第 3、7、9 点的磁场强度

各层斜壁分离孔磁场梯度的计算公式相同,但由于实际测量时特斯拉计探头是紧贴斜面的,所测量的磁场强度并不垂直于试管壁,需根据导磁片实际形状将该磁场分量转换成水平分量再进行磁场梯度的计算。各条件下的磁分离孔磁场梯度见图 8。

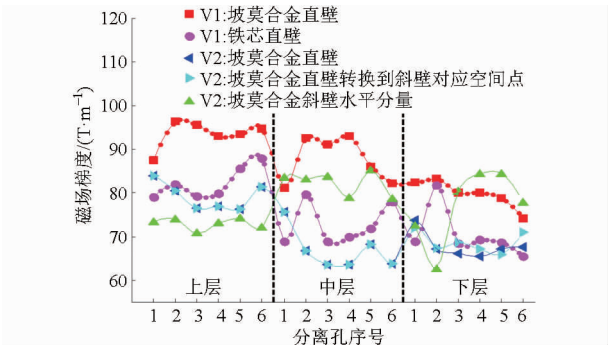


图 8 V1 和 V2 磁珠分离器在不同配置下的磁场梯度
Fig.8 Magnetic intensity grads for different MNS configurations

可见,对于 V1 装置,采用坡莫合金直壁结构和采用铁芯直壁结构,上层、中层和下层分离试管孔平均磁场梯度分别为 87.0 T/m 和 75.2 T/m,采用坡莫合金直壁的磁场梯度优于采用铁芯直壁结构(约提高 15.6%);而 V2 装置采用坡莫合金直壁结构的上层、中层和下层分离试管孔平均磁场梯度为 71.3 T/m,比相同结构的 V1 装置下降了 18%;对于 V2 装置,采用坡莫合金直壁结构(转换至斜壁对应空间点后)与采用坡莫合金斜壁结构(仅考虑垂直

于试管壁分量)上层、中层和下层分离试管孔平均磁场梯度分别为 71.3 T/m 和 77.4 T/m(约提高 8.4%),因此,对于直接作用于试管磁珠溶液的磁场梯度,采用斜壁结构比采用直壁结构有明显优势。

3 纳米磁珠分离器磁分离试验

本研究中设计的 4 套(在 V1 上通过不同材料的导磁片形成 2 套,在 V2 上通过不同形状的导磁片形成 2 套)纳米磁分离器实测综合性能指标见表 2。前期选用体积较小的 V2 装置进行了不同粒径免疫磁珠磁分离微生物的分离效率研究。

表 2 环形六孔纳米磁珠分离器性能		
Tab.2 Specifications of V1 and V2 in annular MNS		
参数	V1 装置	V2 装置
结构	环形 6 孔	环形 6 孔
尺寸/mm	φ210×25	φ143×25
体积/cm³	865.5	401.3
质量/kg	4.8	2.2
导磁片材料	铁芯/坡莫合金	坡莫合金
导磁片形状	直壁	直壁/斜壁
最高磁场强度/T	1.44	1.26
最大磁场梯度/(T·m ⁻¹)	96.3	85.2
孔间磁场强度偏差/%	3.3	2.0
	2.3	3.2
磁场强度测量精度/%	1.8	1.8
	1.1	1.4

从定性和定量角度分别采用灭活的禽流感 H5N1 病毒和大肠杆菌 E. coli O157:H7,结合 Dot-ELISA 和平板菌落计数方法进行了 30、100、180 nm 磁珠分离效率考核试验。试验结果表明:当磁珠用量(抗体浓度)和抗体抗原的亲性和性良好、磁珠粒径合适等试验条件下,对于 30、100、180 nm 磁珠,当分离时间分别大于等于 60 min、60 s 和 40 s 时,磁珠分离器对 3 种大肠杆菌磁珠捕获效率均在 96.5% 以上,分离上清液中均无残留磁珠,磁分离系统稳定可靠^[21]。

为考核磁珠分离器对禽流感 H5N1 活病毒的分离效率,本研究采用实时荧光定量 PCR (Real-time quantitative polymerase chain reaction, Real-time Q-PCR) 技术评估国产 180 nm 免疫磁珠对 H5N1 禽流感病毒的捕获效率。所谓 Real-time Q-PCR 技术是指在 PCR 反应体系中加入荧光基团,利用荧光信号累积实时监测 PCR 进程,通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法,是世界卫生组织 (WHO) 推荐的禽流感病毒快速检测方法^[22]。试验结果如表 3 所示,V2 装置对 10²~10⁴EID₅₀/mL 的 H5N1 禽流感活病毒的平均捕获效率(47.8±3.2)% (分离时间

表 3 免疫纳米磁珠分离 H5N1 病毒的捕获效率

Tab.3 Capture efficiency of H5N1 virus with IMB

试验 序号	病毒浓度 /(EID ₅₀ ·mL ⁻¹)	磁珠分离后病 毒样本循环数	磁珠分离后废 液样本循环数	病毒捕获 效率/%
1	10 ²	23.4	25.5	47.9
	10 ³	21.4	28.5	42.9
	10 ⁴	19.2	18.5	50.9
2	10 ²	25.7	26.0	49.7
	10 ³	23.3	25.0	48.3
	10 ⁴	21.3	22.0	49.2
3	10 ²	23.8	25.5	48.3
	10 ³	21.2	29.0	42.2
	10 ⁴	19.2	18.5	50.9

注:循环数是指每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数。

2 min)。禽流感活病毒捕获效率比大肠杆菌捕获效率^[21]低的原因之一是病毒尺寸相对较小,通常一个病毒上只能结合 1 个或 2 个磁珠,因此受磁场控制的能力降低。如果采用更小粒径的磁珠应能获得更

好的分离效果,但需要更长的分离时间。此外,流感病毒本身亚型较多且易变异,流感病毒抗体和抗原的匹配性和特异性也直接影响磁珠的分离效率,磁珠偶联参数需进一步优化。

4 结束语

根据免疫磁珠分离技术对纳米磁珠分离器的磁场特性要求,设计了一种环形六孔纳米磁珠分离器,通过特殊形状钕铁硼永磁块的优化布局和斜壁坡莫合金导磁片设计,实现了在一套永磁纳米磁珠分离器上产生 6 个强磁场高梯度分离区域,并成功应用于大肠杆菌和禽流感病毒的磁分离试验。所设计的纳米磁珠分离器最高磁场强度达 1.44 T,最高磁场梯度达 96.3 T/m(采用 V1 装置:体积 865.5 cm³,质量 4.8 kg);磁块体积、导磁材料和导磁片形状等结构要素对磁分离区域的磁场强度和磁场梯度有着不同程度的影响,可以根据不同微生物磁分离需求进行优化组合以提高纳米磁分离器的适应性。

参 考 文 献

1 颜廷燕. 磁场强化-高梯度磁分离处理废水的研究[D]. 天津: 天津大学, 2008.
YAN Tingyan. Treating waste water with magnetic enhanced-high gradient magnetic separation[D]. Tianjin: Tianjin University, 2008. (in Chinese)

2 NEDELCO S, WATSON J H P. Magnetic separator with transversally magnetised disk permanent magnets[J]. Minerals Engineering, 2002, 15(5): 355-359.

3 郑必胜, 郭祀远, 李琳, 等. 高梯度磁珠分离的特性及应用[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 1999, 27(3): 41-45.
ZHENG Bisheng, GUO Siyuan, LI Lin, et al. The properties and application of high gradient magnetic separation[J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science, 1999, 27(3): 41-45. (in Chinese)

4 ŠAFARÍK I, ŠAFARÍKOVÁ M. Use of magnetic techniques for the isolation of cells[J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1999, 722(1): 33-53.

5 LI Yanbin, HARGIS B, TUNG S. Nanobead-micro/nanoelectrode based impedance biosensor for rapid screening of avian influenza virus[C]//International Symposium on Applications of Nanotechnology and Biosensors in Agriculture and Food, 2011.

6 操迎梅. 磁性纳米材料的发展及应用[J]. 安庆师范学院学报: 自然科学版, 2009, 15(4): 52-55.
CAO Yingmei. Development and applications of magnetic nanomaterials[J]. Journal of Anqing Teachers College: Natural Science Edition, 2009, 15(4): 52-55. (in Chinese)

7 吴伟, 贺全国, 陈洪. 磁性纳米粒子在生物传感器中的应用研究进展[J]. 化学通报, 2007, 70(4): 277-285.
WU Wei, HE Quanguo, CHEN Hong. Advances of magnetic nanoparticle for biosensor applications[J]. Chemistry, 2007, 70(4): 277-285. (in Chinese)

8 闻一鸣, 徐金亭, 向军俭. 免疫磁珠富集技术进展[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(1): 88-92.

9 毕研平. 基于旋转磁场的粒子分离系统[D]. 天津: 天津大学, 2011.
BI Yanping. Particle separation systems based on rotating magnetic field [D]. Tianjin: Tianjin University, 2011. (in Chinese)

10 LIN J, LUM J, WANG R, et al. A portable impedance biosensor instrument for rapid detection of avian influenza virus[C]//Sensors, 2010 IEEE, 2010:1558-1563.

11 刘洪山, 莫嘉嗣, 袁润余, 等. 禽流感病毒快速检测中的纳米磁珠分离器设计及试验[J]. 农业工程学报, 2014, 30(1): 10-17.
LIU Hongshan, MO Jiasi, YUAN Runyu, et al. Design and experiment of magnetic nanobead separator for rapid detection of avian influenza virus[J]. Transactions of the CSAE, 2014, 30(1): 10-17. (in Chinese)

12 郑必胜. 高梯度磁珠分离机理及应用技术的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 1997.

13 王聿佶. 免疫磁珠微流控分析系统的构建和应用研究[D]. 上海: 中国科学院上海微系统与信息技术研究所, 2007.
WANG Yuji. Construction and application of immune magnetic bead microfluidic system[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Microsystem and Information Technology, Chinese Academy of Sciences, 2007. (in Chinese)

2007. (in Chinese)

14 ANSELIN L. Local indicators of spatial association— LISA[J]. Geographical Analysis, 1995, 27(2): 93 – 115.

15 TOBLER W R. A computer movie simulating urban growth in the Detroit Region[J]. Economic Geography, 1970, 46(2): 234 – 240.

16 王守坤. 空间计量模型中权重矩阵的类型与选择[J]. 经济数学, 2013, 30(3): 57 – 63.
WANG Shoukun. Several types of weights matrix and their extended logic[J]. Journal of Quantitative Economics, 2013, 30(3): 57 – 63. (in Chinese)

17 MA Sang Lee. Spatial association measures for an ESDA GIS framework: developments, significance tests, and applications to spatial-temporal income dynamics of U.S. Labor market areas[D]. Columbus, Ohio: The Ohio State University, 2001.

18 Esri Mapping Center. Arc GIS Resources[EB/OL]. [2015 – 11 – 15]. <http://resources.arcgis.com/zhCN/help/main/10.2/#/na/005p0000004z000000/>

19 MORAN P A P. Notes on continuous stochastic phenomena[J]. Biometrika, 1950, 37(1 – 2): 17 – 23.

20 石淑芹, 陈佑启, 姚艳敏, 等. 基于 3S 技术的区域性耕地资源变化影响评价模式研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(7): 91 – 96.
SHI Shuqin, CHEN Youqi, YAO Yanmin, et al. Methodology for impact assessment of regional cultivated land resources change based on 3S technology[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(7): 91 – 96. (in Chinese)

21 陈柏松, 游娟, 潘瑜春, 等. 农用地等级质量监测指标体系与方法[J]. 农业工程学报, 2009, 25(增刊 2): 272 – 276.
CHEN Baisong, YOU Juan, PAN Yuchun, et al. Indices system and methods of monitoring gradation of agricultural land quality [J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(Supp. 2): 272 – 276. (in Chinese)

22 Esri Mapping Center. Arc GIS Resources[EB/OL]. [2015 – 11 – 15]. <http://resources.arcgis.com/zhCN/help/main/10.2/#/na/005p00000005000000/>

23 孟斌, 张景秋, 王劲峰, 等. 空间分析方法在房地产市场研究中的应用——以北京市为例[J]. 地理研究, 2005, 24(6): 956 – 964,1004.
MENG Bin, ZHANG Jingqiu, WANG Jinfeng, et al. Application of spatial analysis to the research of real estate: taking Beijing as a case[J]. Geographical Research, 2005, 24(6): 956 – 964,1004. (in Chinese)

~~~~~

( 上接第 320 页)

14 王彬. 基于 MEMS 技术的磁珠微芯片的模拟及工艺研究[D]. 上海: 中国科学院上海微系统与信息技术研究所, 2006.  
WANG Bin. Study on simulation and fabrication of magnetic bead microchip based on MEMS technology[ D]. Shanghai: Shanghai Institute of Microsystem and Information Technology, Chinese Academy of Sciences, 2006. ( in Chinese)

15 严密, 彭晓领. 磁学基础与磁性材料[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2006.

16 刘洪山, 莫嘉嗣, 罗锡文. 用于生物传感器的磁珠分离器初步研究[C]// 中国农业工程学会 2011 年学术年会, 2011.  
LIU Hongshan, MO Jiasi, LUO Xiwen. Preliminary studies on magnetic separator used for biosensors[ C]// Chinese Society of Agricultural Engineering 2011 Academic Annual Conference, 2011. ( in Chinese)

17 赵博, 张洪亮. Ansoft 12 在工程电磁场中的应用[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2010.

18 秦增煌. 电工学:上册电工技术[M]. 6 版. 北京: 高等教育出版社, 2004.

19 华南农业大学. 环形多孔纳米磁珠分离器及其安装方法: CN 103185680A [P]. 2015 – 05 – 20.

20 田录林, 贾嵘, 杨国清, 等. 永磁铁磁贴合体的磁场及磁力[J]. 电工技术学报, 2008, 23(6): 7 – 13.  
TIAN Lulin, JIA Rong, YANG Guoqing, et al. The magnetic field and magnetic force of permanent magnetic affixed to a plane magnetizer[J]. Transactions of China Electro Technical Society,2008, 23(6): 7 – 13. ( in Chinese)

21 刘洪山, 陈奇, 莫嘉嗣, 等. 一种新型纳米磁珠分离装置用于大肠杆菌 O157:H7 分离效率评价研究[J]. 南昌大学学报:理科版, 2015, 39(3): 270 – 274.  
LIU Hongshan, CHEN Qi, MO Jiasi, et al. Evaluation study onseparation efficiency of E. coli O157:H7 using a new magnetic bioseparator with magnetic nanobeads[ J]. Journal of Nanchang University: Natural Science, 2015, 39(3): 270 – 274. ( in Chinese)

22 刘小荣, 张笠, 王勇平. 实时荧光定量 PCR 技术的理论研究及其医学应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(2): 329 – 332.  
LIU Xiaorong, ZHANG Li, WANG Yongping. Theory study and medical application of real-time quantitative polymerase chain reaction[ J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research,2010, 14(2): 329 – 332. ( in Chinese)