

基于微流控技术的压载水准确检测方法研究

贾宪章¹, 贾宝柱^{1,2}, 许媛媛^{1,2}

(1. 广东海洋大学 海运学院, 广东 湛江 524002; 2. 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江), 广东 湛江 524002)

摘要: 本文通过对现阶段船舶压载水检测方法进行探讨, 鉴于已有技术存在的缺陷, 提出一种压载水智能检测方法, 通过荧光法和感应法检测压载水中藻类、菌类浓度信息, 分析所得检测信息进而控制压载水的排放, 使得船舶压载水排放更加合理安全。

关键词: 压载水准确监测; 溶液电阻法; 叶绿素荧光法; 微流控技术

中图分类号: U664.9+2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006—7973 (2022) 08—0125—03

为了保证船舶安全航行, 通常使用海水作为压载物, 称为压载水, 压载水中包含大量的藻类等可生生物和大肠杆菌、肠球菌等微生物。在运到目的港口后, 需把压载水排放后装货。这样就会将其他海域的生物随着压载水排放进入新的海域, 造成生物入侵。船舶压载水已经被全球环境基金组织确定为世界海洋的四大威胁之一^[1]。

为应对由压载水排放所引起的外来生物入侵性问题, 在 2004 年 2 月 9 日 ~ 13 日外交大会上, 国际海事组织通过了《船压载水及沉积物控制和管理国际公约》, 以下简称《压载水公约》。其中规定“通过控制、管理船舶压载水及沉积物达到防止、减少并最终消除有害水生生物及病原体的传播”。我国既是港口大国, 又是造船大国, 随着压载水生效日期的确定, 压载水准确检测和排放控制的方法具有重要意义^[2]。

1 研究现状综述

压载水处理结果是否符合公约要求, 需要通过检测生物存活量来衡量。^[3] 传统的生物检测方法是培养计数法, 该方法广泛应用在水生生物数量、种群研究等方面, 但是耗时较长, 需要耗费大量资源。随着各种生物检测技术不断地发展, 出现了一些新型的检测方法^[4]。

流式细胞术法可以完成对单细胞或生物粒子在功能水平上的定量分析及分选, 监测成本高且设备初投入大, 不适合用于压载水的实际检测。而使用三磷酸腺苷激发荧光毒素的氧化反应进而生成 D-荧光素, 通过测定荧光强度也可推算出检测样品中活性生物的活体个数。但考虑到海水中成分复杂对荧光素发光的散射作用会导致光强度检测精度降低, 影响估算活体数量的准确性,

且荧光毒素与三磷酸腺苷反应的程度对该方法的检测精度影响也较大。荧光染色法是使用适合的荧光染色剂对所检测样品进行染色, 再通过显微镜检测。荧光素 FDA 和 CMFDA 均可作为荧光染色剂对压载水样品进行染色^[5]。利用荧光染色剂对活体浮游生物信号明显的特性, 可以有效地区分活细胞和死细胞。但是此方法会耗费大量的时间以及对相关检测人员的专业知识和经验要求较高。光学成像法是利用水下成像系统对水中浮游生物进行图像记录, 再通过图像处理算法以及浮游生物的体外特征, 进行生物的智能识别和分类。此类方法想要在压载水检测中发挥良好效用需要满足高分辨率和高智能化图像处理算法^[6], 硬件与技术成本过高。

2 一种压载水智能监测方法

针对现阶段已有技术存在的缺陷, 考虑到通过电检测微孔道的微生物会造成检测孔道中电阻变化, 本文利用溶液电阻法检测电阻抗的变化脉冲来实现菌类检测计数, 同时配合使用叶绿素荧光法来测定光激发的藻类细胞中的叶绿素所产生的荧光强度, 以此来计算待检测压载水中的藻类生物数量。通过微流控技术, 利用荧光法和感应法检测压载水中藻类、菌类浓度信息, 并基于所获得的检测信息控制压载水排放, 从而实现压载水的监测。

2.1 压载水智能监测方法概述

压载水智能监控系统如图 1 所示, 包括从压载水排出管路中提取适量样品的取样单元; 对样品进行取样检测并输出对应检测信号的检测单元; 接收检测信号并进行信号处理, 输出相应控制命令的分析单元; 基于接收到的控制命令控制压载水排出管路中压载水流向的执行单元和存储样品检测数据并进行显示的存储显示单元。

上述单元按照图 1 所示的连接形式组成了压载水智能排放系统的主体框架。

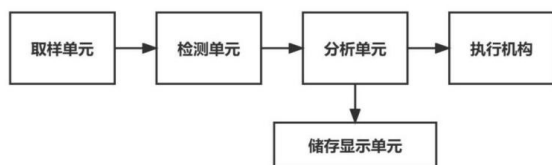


图 1 压载水智能监控系统图

2.2 压载水智能监测方法详述

2.2.1 取样单元设计

取样单元与压载水排出管路相连通，在压载水排出管路中提取适量样品并输送至检测单元，取样单元包括：与压载水排出管路或称为压载水总管相连通的旁通管路，且在所述旁通管路入口上设置有能够对流入旁通管路的样品进行过滤的滤器；以及与所述旁通管路相连通的微泵，该微泵能够提取过滤后的样品通过样品流道输送至检测单元。所述滤器的滤网的滤孔孔径应当小于所述检测单元样品流道横向尺寸，以滤除检测单元无法处理的大颗粒进而保证通过的样品中的藻类和菌类尺寸不会堵塞检测单元通道，且滤器内部安装有智能检测滤器是否脏堵的压差传感器，该压差传感器用于智能测量滤器两侧压差，当压差达到一定值后，说明滤器堵塞严重需更换滤器，优选的所述压差传感器信号可以传递给存储显示单元，以发出报警或显示警告标识，提醒使用人员更换滤器。

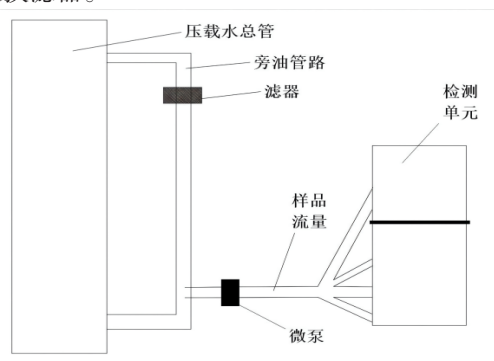


图 2 取样单元结构原理图

2.2.2 检测单元设计

检测单元与取样单元相连接，对取样单元送来的样品进行取样检测并输出对应的检测信号。依据相关标准，包括用于藻类检测的荧光检测传感器和用于菌类检测的感应式传感器，由于《2004 年控制和管理船舶压载水和沉积物国际公约》(以下简称《压载水公约》)要求藻类检测不需要区分种类，而菌类检测需要区分种类，

因此设置一个用于藻类检测的荧光检测传感器和三个用于菌类检测的感应式传感器，3 个感应式传感器分别用于检测大肠杆菌、肠球菌道、有毒霍乱弧菌数据即所述样品经样品流道进入检测单元的四个检测传感器。如图 3 所示，为保证检测效果。荧光检测传感器中的荧光检测光源、第一小孔光阑、第一滤光片、供样品流通的荧光检测微流控芯片、第二滤光片、第二小孔光阑以及光电接收器的中心位于同一条垂直线上。荧光检测光源(采用激光器)发射光信号照射样品。若样品中存在藻类，则藻类的荧光素激发出荧光即样品在流经第一样品流道上检测区时，藻类细胞中的荧光物质受激发会发出荧光照射到光电探测器或称为光电接收器上^[6]，使其产生相应电信号并传送给分析单元。

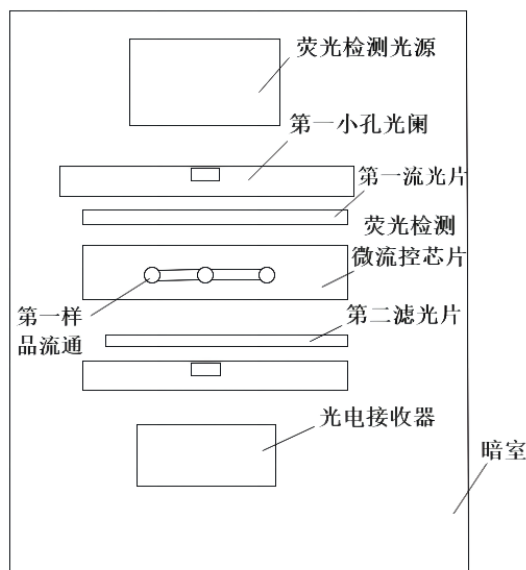


图 3 荧光检测传感器结构图

菌类检测感应式传感器基于微流控技术得以实现。该技术通过一张芯片实现现场快速自动检测压载水中的藻类，使其在压载水检测领域成为热点。微流控芯片技术可以把成千上万甚至几十万个生命信息集成到一个很小的芯片上^[7]，在微米级的结构通道中完成生物化学处理和结合，该技术可以认为是集成于一张芯片上的小型生物技术实验室^[8]。微流控基片包括凹刻有第二样品流道的 PDMS 芯片层、检测电极上方的 PDMS 涂层以及用于捕获样品中大肠杆菌、肠球菌或有毒霍乱弧菌等菌类抗原的抗体吸附层。当含有菌类抗原的船舶压载水水样流经抗体吸附层时，抗体会与抗原相结合，生成抗原-抗体复合体，从而会改变 PDMS 涂层表面的电势，在该过程中的这种电势变化所产生的电信号，由 PDMS 涂层下方的检测铜电极检测，由于检测铜电极探查到的电势

变化与水样中菌类抗原浓度成正比从而实现船舶压载水水样中菌类抗原浓度的检测。

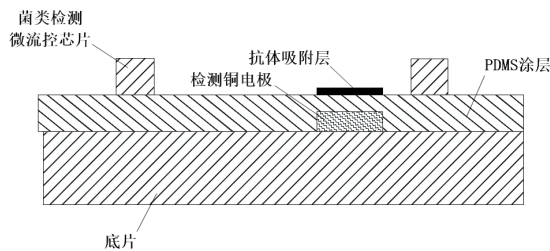


图4 菌类检测感应式传感器纵向截面图

2.2.3 分析单元设计

分析单元用于对接收到的检测信号进行信号处理并输出相应的控制命令。通过对电信号进行放大、滤波等处理，获得该信号相对应的藻类或菌类浓度数据，微处理器依据上述电信号获得相应的藻类和菌类的浓度信息，参考《压载水公约》所设定的排放标准，分别设置与藻类以及每一种待检菌类类型相匹配的浓度阈值，若所获藻类和菌类浓度满足《压载水公约》的排放标准，则输出控制执行机构使压载水排放入海的指令，否则输出控制执行机构使压载水回流至压载水舱指令。

2.3 压载水检测排放流程

压载水智能排放流程如图5所示，首先，通过取样单元与压载水排出管路相连通，自压载水排出管路中提取适量样品并输送至检测单元。其次，通过检测单元对样品进行取样检测并输出对成的检测信号，通过分析单元对接收到的检测信号进行信号处理并输出相应的控制命令（控制命令1：压载水检测结果不达标，关闭压载水排放管路；控制命令2：压载水检验结果达标，进行压载水排放和数据监控）。接收控制命令的执行机构控制压载水排出管路上的三通阀来改变压载水的流向，同时存储样品检测数据并进行显示。

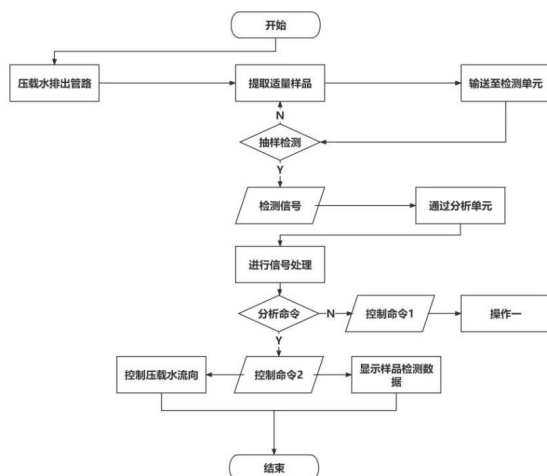


图5 压载水智能检测排放流程图

3 结论

压载水管理属于港口国控制的重要内容，但压载水的高效快速检测始终是行业难题。船舶压载水的智能监测，能实现船舶压载水现场高效快速的自动检测，从而使船舶压载水的排放更加安全合理。船舶压载水的智能检测技术将加快绿色船舶的建设，降低外来生物以压载水为媒介对我国海洋生态环境产生的恶劣影响，保护港口海域生态系统的安全。

参考文献：

- [1] 朱广峰 北极海洋环境法律规制的变迁与中国参与 [M]. 北京：海洋出版社，2019.05
- [2] IMO. International Convention for the Control and Management of Ships Ballast Water and Sediments[S]. 2004.
- [3] 曾东 一种基于紫外线和臭氧处理的船舶压载水处理系统 [J]. 青岛远洋船员职业学院学报，2017，第2期
- [4] 白梅冬，张芝涛，薛晓红 海洋外来有害生物和病原体防治新技术 [M]. 北京：海洋出版社，2010.08
- [5] 杨帆，李捷，于淑亭，张宇. 船舶压载水浮游生物检测方法研究进展 [J]. 环境科学与技术，2017,40(04):45-49+55.
- [6] 李超，张桑. 船舶压载水快速检测方法的研究进展 [J]. 青岛大学学报（自然科学版），2021,34(03):9-13+21.
- [7] 2014年中国水产学会学术年会论文摘要集 [C]. 长沙出版社，2014.10
- [8] 陈挺，钱仕杰，张乐，蔺扬洋，陈建武 上海港洋山深水港区船舶压载水应急处理方案 [J]. 集装箱化，2020，第12期
- [9] 徐永奕 基于微流控芯片的压载水微藻活性检测及分类 [J/OL].

资金来源：大学生创新创业项目、广东大学生科技创新培育专项资金。