

小样本微量移液压力控制区间预测方法研究

王海军 郭阳宽 祝连庆 孟晓辰

(北京信息科技大学, 光电测试技术北京市重点实验室, 生物医学检测技术及仪器北京实验室, 北京 100192)

摘要: 为了实现对生物医学仪器中移液过程的精确检测, 提高仪器的测试精度, 提出了一种在小样本下利用灰自助法获取微量移液过程压力控制区间的方法。首先, 针对小样本问题, 将灰色预测模型和自助再抽样方法相结合建立微量吸液灰自助法模型(GBM(1,1)); 然后, 利用模型在小样本信息下获取压力控制区间; 最后, 通过搭建微量移液系统对该方法进行验证。实验结果表明, 灰自助法用 10 条压力曲线能准确获取正常压力控制区间, 并对正常吸液过程以及气泡、堵针、样本量不足等异常吸液过程进行准确检测及报警。

关键词: 压力检测; 小样本; 微量吸液; 灰自助法; 压力控制区间

中图分类号: TH773 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1841(2016)06-0077-04

Prediction Method to Get Micropipette Pressure Control Range on Small Sample

WANG Hai-jun, GUO Yang-kuan, ZHU Lian-qing, MENG Xiao-chen

(Beijing Information Science & Technology University, Beijing Key Laboratory for Optoelectronic Measurement Technology, Beijing Laboratory for Biomedical Detection Technology and Instrument, Beijing 100192, China)

Abstract: In order to achieve accurate detection of biomedical instruments pipetting process, improve the instrument's measurement accuracy, a new acquisition method micropipette process pressure control range in a small sample of the use of Gray Bootstrap was put forward. Firstly, for small sample problem, combining with gray prediction model and bootstrap method, a micropipette gray Bootstrap model (GBM(1,1)) was established. Secondly, pressure control range in a small sample of information by gray Bootstrap was gotten. Finally, the method was verified by building a micropipette system. The results of the experiments show that the pressure with 10 gray bootstrap pressure curve obtained can be a good assessment of the range of normal pipetting and bubbles, blocking needle, inadequate sample size and other abnormal shift fluid process.

Key words: pressure detection; small sample; micropipetting; Grey Bootstrap method; pressure control range

0 引言

微量吸液在生命科学、医疗仪器、分析化学等领域有着广泛的应用^[1]。吸液过程中可能遇到各种问题(如:样本液不足、样本表面有气泡、血液凝块或样本本身杂质造成的堵针等),而造成吸液精度降低甚至导致检测结果的错误^[2-3]。因此对微量吸液过程进行实时检测,快速、准确地判断吸液过程中遇到问题,并及时报警和处理具有重要意义。

国内外学者针对吸液过程的检测问题进行了大量研究,提出了很多方法。现代最常用的方法是压力监控法,是指对加样尖内部的气压进行监控并与正常吸液压力控制区间进行比较,从而实现对吸液过程的检测^[4]。Michael Kaplit^[5]利用实际压力曲线背离理想压力曲线的程度判断吸液是否正常,这种方法可对某一类吸液问题进行判定,但对吸液过程的问题判别不够全面。J. L. Camenisch^[6]使用了压力控制区间的概念对吸液过程进行检测。这个方法较 Michael Kaplit 的方法有了重大改进,实现了对吸液过程的全面检测。

但 J. L. Camenisch 在获取压力控制区间时采用的是统计方

法,需要进行大量的实验才能获取可信的压力控制区间。这对于不同实验(样本液的密度、吸液量、种类等略有不同时)都必须分别进行大量实验,对价格昂贵的生物试剂也造成了浪费。基于此,本文提出了利用较少的实验次数(即小样本),获取压力控制区间的方法。该方法在不降低吸液检测准确性的情况下,既减少了实验的劳动强度,又降低了实验费用。

1 利用小样本获取压力控制区间的原理

小样本最大的问题是会带来认知的不确定性,降低压力控制区间的准确性^[7]。灰色预报理论模型 GM(1,1) 预报机制很完善,利用预报扩展数据,可以解决认知不确定性问题^[8-9]。但该模型的缺点是难以有效预报压力区间。自助法(Bootstrap Method)提供了一种抽样方法,可以为灰色预报理论模型的预报提供再抽样,用于估计压力区间。但自助法因缺乏有效的预报机制而使压力区间变小,准确性降低和误差增大。因此利用两者的优点构建灰自助法,可以在小样本下建立微量吸液灰自助模型(GBM(1,1)),获取准确的压力控制区间,实现对微量吸液过程进行检测。

1.1 微量吸液压力控制区间分析

如图 1 所示(纵坐标的电压值正比于加样尖内压力值)曲线 A、B 及其之间的区域构成压力控制区间,正常的吸液压力曲线落在该区间内。它分成 4 个部分:0 ~ t₁ 为加样尖还未接触

基金项目:北京市自然科学基金项目(KZ201010772032);教育部“长江学者与创新团队”发展计划项目(IRT1212);北京市教委科研计划项目(KM201511232006)

收稿日期:2015-10-18

液面时,属于吸液过程的液面探测阶段; $t_1 \sim t_2$ 为开始吸液,但由于液体的黏附作用并未立即流入到加样尖内,压力变化较大阶段; $t_2 \sim t_3$ 为液体逐渐吸入加样尖,气压变化趋于平稳阶段; $t_3 \sim t_4$ 为气压急速下降阶段,由于内外压差及惯性作用吸液逐渐停止; t_4 之后压力稳定。

图1中曲线C表示在 $[t_2, t_3]$ Tip头吸入气泡,导致压力曲线振荡;曲线D表示样本液不足,在 $[t_2, t_4]$ 时已无样本液,无法保持加样尖内压力,致使压力迅速趋于平衡直到吸液结束;曲线E表示堵针,在 $[t_1, t_4]$ 时间Tip头遇到小凝块时吸液枪内压力突然增大并且超出上限A。

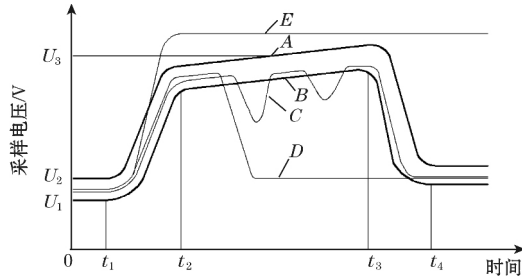


图1 吸液过程曲线(示意图)

1.2 微量吸液 GBM(1,1) 建模与压力控制区间获取

设 X_i 为第 i 条正常微量吸液过程的压力曲线 $i=1, 2, \dots, n$ 。将 X_i 视为时间序列 $X_i(t)$ 将每条曲线相同时间点 t 对应的数据作为灰自助法的原始数据,即

$$Y_b^{(0)} = \{y_0^{(0)}(1), y_0^{(0)}(2), \dots, y_0^{(0)}(N)\} \quad (1)$$

式中: $N \leq n$; $y_0^{(0)}(N) = X_N(t)$ $t=1, 2, \dots$ 。

并将 $Y_b^{(0)}$ 中向量从小到大的顺序排列,构建压力曲线的GM(1,1)模型。对数列 $Y_b^{(0)}$ 进行一次累加得到生成序列为

$$y_b^{(1)} = \{y_0^{(1)}(1), y_0^{(1)}(2), \dots, y_0^{(1)}(n)\} \quad (2)$$

式中 $y_0^{(1)}(k) = \sum_{i=1}^k y_0^{(0)}(i)$ $k=1, 2, \dots, n$ 。

设 $Z^{(1)}(k) = \frac{y_0^{(1)}(k) + y_0^{(1)}(k-1)}{2}$ $k=2, 3, \dots, n$ 。则微量

吸液的灰色微分方程为

$$y_0^{(0)}(k) + aZ^{(1)}(k) = b \quad (3)$$

式中: a, b 为GM(1,1)的参数,设 $\hat{a} = [a, b]^T$,则灰色微分方程(3)用矩阵形式表示为

$$Y_0 = B\hat{a} \quad (4)$$

$$\text{式中: } B = \begin{bmatrix} -Z^{(1)}(2) & 1 \\ -Z^{(1)}(3) & 1 \\ \vdots & \vdots \\ -Z^{(1)}(n) & 1 \end{bmatrix} \quad Y_0 = \begin{bmatrix} y_0^{(1)}(2) \\ y_0^{(1)}(3) \\ \vdots \\ y_0^{(1)}(n) \end{bmatrix}$$

利用最小二乘法求解式(4)可得:

$$\hat{a} = (B^T B)^{-1} B^T Y_0 \quad (5)$$

以式(5)中求得的 \hat{a} 为参数,建立灰色微分方程(3)的白化微分方程:

$$\frac{dy_0^{(1)}}{dt} + ay_0^{(1)} = b \quad (6)$$

通过求解方程(6)得到灰色微分式(4)的解为

$$\hat{y}_0^{(1)}(k) = [y_0^{(1)}(1) - \frac{b}{a}]e^{-a(k-1)} + \frac{b}{a} \quad (7)$$

式中 $k=1, 2, 3, \dots, n$ 。

再通过累减生成,得到灰色模型序列:

$$\hat{y}_0(k+1) = \hat{y}_0^{(1)}(k+1) - \hat{y}_0^{(1)}(k) \quad (8)$$

式中 $k=1, 2, 3, \dots, n$ 。

$\hat{y}_0(k+1)$ 为每组自助样本的一个估计值,将其作为统计量,利用Bootstrap法中的修正偏差后的百分位数Bootstrap法,可得到压力样本量的上界 X_U 的区间 $[X_{UX}, X_{US}]$ 。若将 Y_b 降序排列,则可得到压力样本量的下界 X_L 的区间 $[X_{LX}, X_{LS}]$ 。最终获得的压力区间为 $[X_{LX}, X_{US}]$ 。

2 微量吸液系统搭建及检测流程

图2(a)为系统原理设计,图2(b)为压力监控系统实物照片,由压力传感器、处理电路、微处理器和上位机等组成。压力传感器将吸液枪内的压力数据转换成电压信号,通过滤波和放大等处理电路,由微处理器A/D采集模块,将模拟信号转换成数字信号,通过USB传输到上位机,最后由上位机软件对吸液过程获得数据进行处理和分析,检测微量吸液过程。

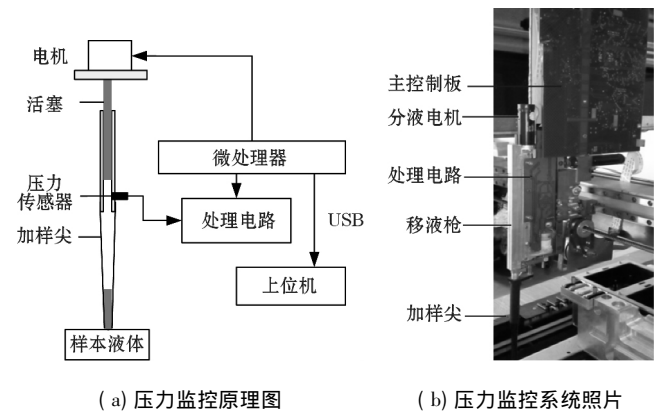


图2 微量吸液实验平台

微量吸液检测流程如图3所示,首先设置液体的种类和吸液量,吸液时利用实验获得的压力控制区间实时检测、评估吸液过程,当吸液正常时继续下次吸液,当不正常时评估出问题类型,进行相应处理。

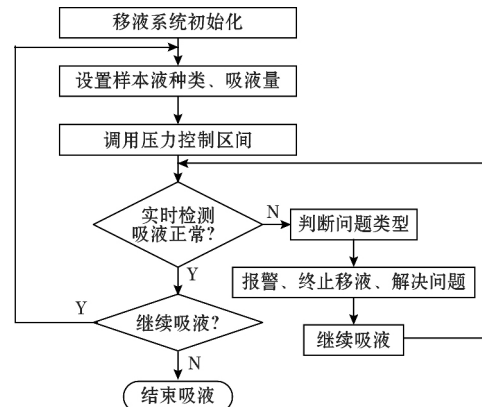


图3 微量吸液过程检测流程图

3 实验研究

为了证明本文方法的可行性和正确性,利用上述实验系统

获取 100 次正常压力曲线和 10 次未知“问题”压力曲线,然后,应用概率统计法用 100 次正常压力曲线获取压力控制区间,GBM 法任取 10 次正常压力曲线获取压力控制区间,对两种方法获得的压力区间进行比较,并利用未知“问题”压力曲线进行验证。

实验设计:样本液体采用质量浓度为 0.5 mg/mL 的食用色素胭脂红水溶液(国家标准物质中心提供);吸液量设置为 200 μ L;采用直径 0.8 mm 标准塑料微球模拟凝块堵针,利用手动微量吸液枪对样本液进行冲气搅拌模拟气泡现象。

3.1 概率统计法获取压力控制区间

用 t 分布计算 100 组数据的算术平均值的极限误差曲线 A 和曲线 B 作为压力区间的上下限,之间的区域即为压力控制区间,如图 4 所示。图中灰色区域为 100 次正常压力曲线。

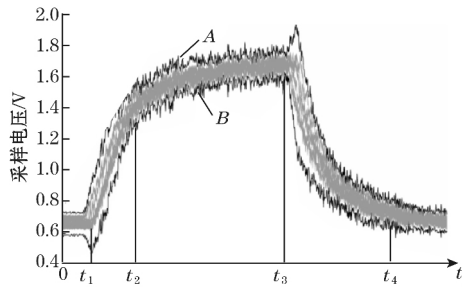


图 4 概率统计法压力区间

实验结果表明:概率统计法用 100 次正常压力曲线获取的压力控制区间能准确检测正常吸液过程。

3.2 GBM 法获取压力控制区间

利用 100 次正常吸液曲线(图 5 中灰色区域)对 GBM 法获取的压力控制区间对进行验证,并与概率统计法用 100 次正常吸液曲线获取的压力控制区间进行比较。记录超出上限或下限 11 个点(每条曲线 100 个点,置信度 99%)的曲线数目。

图 5(a)~图 5(c)分别表示 GM(1,1) 预报模型向后扩张 1 个点、2 个点、3 个点(即方程(8)中 $k=1, 2, 3$) 时获取的压力区间,曲线 A, B 为压力控制区间上限、下限。

图 5(a)、图 5(b)均有部分压力曲线超出了压力区间;图 5(c)中所有压力曲线都在压力区间内,能准确检测吸液过程。

表 1 为概率法与 GBM 法结果比较。由表 1 可以得出:GBM 模型法向后扩张 3 个点获得的压力控制区间能够准确检测正常吸液过程。

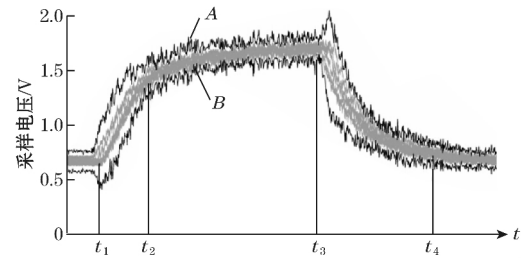
3.3 微量吸液过程检测分析

对 GBM 法获得的压力控制区间用未知 10 条“问题”曲线进行检测,结果如图 6 所示,分别记为 D_1, D_2, \dots, D_{10} 。 $D_7 \sim D_{10}$ 均落在压力区间内; $D_1 \sim D_3$ 在 $t_2 \sim t_4$ 区域内均超出压力区间的上限为问题曲线; $D_4 \sim D_6$ 在 $t_2 \sim t_4$ 区域内均超出压力区间的下限为问题曲线。

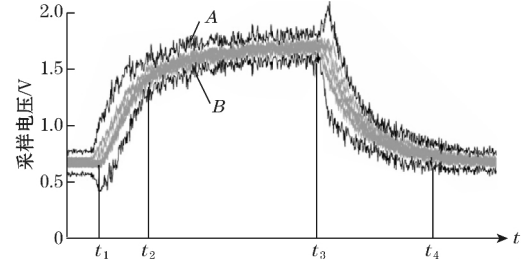
检测结果如表 2 所示。其中 $D_1 \sim D_3$ 为堵针, D_4 属于样本量不足, D_5, D_6 为气泡问题, $D_7 \sim D_{10}$ 正常。得出 GBM 法获取的压力控制区间能够区分正常和异常移液状态。

4 结论

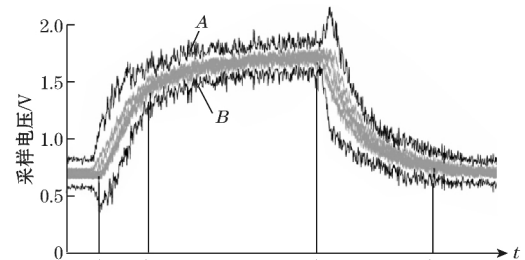
利用微量吸液灰自助法模型 GBM(1,1) 解决了在小样本信息下微量吸液压力控制区间的获取问题。其中,利用了灰色



(a) GBM $k=1$



(b) GBM $k=2$



(c) GBM $k=3$

图 5 GBM 法压力区间

表 1 概率法与 GBM 法结果比较

试验序号	概率法	GBM 法		
		$k=1$	$k=2$	$k=3$
1	0	27	13	0
2	0	0	0	0
3	0	1	0	0
4	0	0	0	0
5	0	8	3	0
6	0	15	8	0
7	0	0	0	0
8	0	34	11	0
9	0	7	0	0
10	0	0	0	0

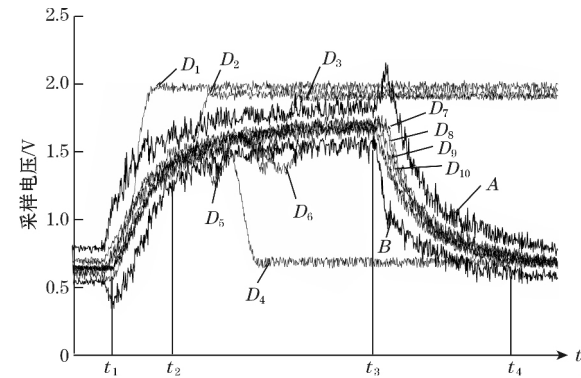


图 6 吸液过程检测曲线

表 2 吸液过程评估数据

观测对象	超出上限	超出下限			问题类型
		0 ~ t ₂	t ₂ ~ t ₃	t ₃ ~ t ₄	
D ₁	912	0	0	0	堵针
D ₂	773	0	0	0	堵针
D ₃	583	0	0	0	堵针
D ₄	0	0	153	325	不足
D ₅	0	0	75	0	气泡
D ₆	0	0	84	0	气泡
D ₇	0	0	0	0	正常
D ₈	0	0	0	0	正常
D ₉	0	0	0	0	正常
D ₁₀	0	0	0	0	正常

模型 GM(1,1) 对自助样本进行扩张,降低了认知不确定性影响,提高了压力区间的准确性。实验结果表明:仅利用 10 条压力曲线即可获取准确的压力控制区间,并实现了对气泡、堵针、样本量不足等异常的及时报警。

参考文献:

[1] 姚玉峰,路士州,刘亚欣,等. 微量液体自动分配技术研究综述[J]. 机械工程学报,2013,49(14): 140-153.

(上接第 76 页)属网格上时,容易使相邻 2 个或 3 个交叉点导通,同时产生信号,相当于大的液滴被等效成了几个小的液滴,导致复检的情况;而较小直径的液滴滴落到金属网格上时,很容易落到网格的中间而不是交叉点上,使得交叉点上电极导通时间小于液滴正中心接触网格时的导通时间,导致有液滴被漏检的情况。因此,表中数据的结果是符合实际情况的,而且经计算,不同液滴直径的检测准确率都在 85% 以上,验证了本系统的有效性。

表 1 直径 6.5 mm 的液滴检测结果

序号	液滴直径 /mm	下落液滴 /个	理论体积 /mL	检测体积 /mL
1	6.5	20	2.874	3.201
2	6.5	20	2.874	3.186
3	6.5	20	2.874	3.192
4	6.5	20	2.874	3.209
5	6.5	20	2.874	3.213

表 2 直径 5.5 mm 的液滴检测结果

序号	液滴直径 /mm	下落液滴 /个	理论体积 /mL	检测体积 /mL
1	5.5	20	1.742	1.499
2	5.5	20	1.742	1.494
3	5.5	20	1.742	1.589
4	5.5	20	1.742	1.572
5	6.5	20	1.742	1.581

5 结束语

本文设计了一种基于 LabVIEW 的液滴检测与分析系统,

[2] SUOMINEN I, KOIVISTO S. Increasing precision when pipetting protein samples: Assessing reliability of the reverse pipetting technique [J]. American Laboratory, 2011, 43: 50-52.

[3] 常海涛,祝连庆,姜小平,等. 一种全自动酶免分析仪移液过程评估新方法[J]. 仪器仪表学报, 2014, 35(7): 1622-1629.

[4] 祝连庆,张文昌,董明利,等. 一种提高全自动酶免分析微量移液精度的方法[J]. 仪器仪表学报, 2013, 34(5): 1008-1014.

[5] KAPLIT M. Detection of Insufficient Sample during Aspiration with a Pipette: United States; US7634378 B2 [P]. 2009-10-15.

[6] CAMENISCH J. Method and device for evaluating a liquid dosing process: US6938504 B2 [P]. 2005-09-06.

[7] 沈展鹏,肖世富,刘信恩,等. 基于小样本信息的区间边界估计方法研究[J]. 应用力学学报, 2012, 29(6): 692-698.

[8] 王恒,马海波,徐海黎,等. 基于 K-S 检验和动态灰色模型的机械设备剩余寿命预测方法[J]. 仪表技术与传感器, 2015(1): 97-100.

[9] 马友权,马凤伟,孙志春. 红外传感器动态目标定位灰色预测修正算法研究[J]. 仪表技术与传感器, 2012(8): 99-100.

作者简介:王海军(1991—),硕士研究生,主要从事生物医疗器械的研究。E-mail: 984879908@qq.com

郭阳宽(1964—),教授,研究生导师,博士,主要从事生物医疗器械的研究。E-mail: guoyk2004@163.com

实现了不同直径液滴的检测及定量测量,满足了科研、生产以及特定环境中对液滴检测的快速、高精度和高稳定性的要求。本方法采用金属网格检测装置,结合 FPGA 模块和 LabVIEW 软件提高了检测的速度和精度,减少了漏检及复检的概率,可以达到优于 85% 的液滴检测准确率,具有检测精度高、速度快、稳定性好、抗干扰能力强等特点。

参考文献:

[1] 刘强,刘东明,付天舒,等. 电容液滴传感器[J]. 仪表技术与传感器, 2007(11): 3-4.

[2] 陈海秀,裘祖荣,张国雄,等. 液光电式多波长传感器在液滴分析技术中的应用[J]. 仪表技术与传感器, 2005(9): 52-54.

[3] 裘祖荣,张国雄,王春海,等. 液滴分析技术的研究[J]. 天津大学学报, 2001, 34(5): 587-590.

[4] da SILVA M J, HAMPEL U. Capacitance wire-mesh sensor applied for the visualization of three-phase gas-liquid-liquid flows [J]. Flow Measurement and Instrumentation, 2013, 11(34): 113-117.

[5] GARY W, JOHNSON, JENNINGS R. LabVIEW graphical programming[Z]. McGraw-Hill Companies, 2001.

[6] 张丙才,刘琳,高广峰,等. 基于 LabVIEW 的数据采集与信号处理[J]. 仪表技术与传感器, 2007(12): 74-75.

[7] 王冰,唐胜武,刘慧. 基于 LabVIEW 的铂电阻器自动测试系统[J]. 传感器与微系统, 2012, 31(12): 124-129.

作者简介:刘志远(1978—),高级工程师,硕士,主要研究领域:传感器技术。E-mail: Liuzhy49@163.com

王冰(1984—),工程师,博士,主要研究领域为传感器技术。E-mail: 78841035@163.com