

用于农药残留现场快速检测的微流控芯片研制

苑宝龙^{1,2}, 王晓东², 杨平², 范真真², 黄昱俊², 陈炯^{1,*}, 叶嘉明^{2,3,*}

(1.宁波大学海洋学院生物与海洋科学系, 浙江 宁波 315211; 2.浙江清华长三角研究院, 浙江 嘉兴 314006;

3.国家食品安全风险评估中心应用技术合作中心, 浙江 嘉兴 314006)

摘要: 研制一种用于农药残留现场快速检测的微流控芯片。设计制作的一次性高聚物微流控芯片集成进样、酶抑制反应、显色反应及检测单元, 结合自制的手持式光度分析检测装置, 可以实现对有机磷、氨基甲酸酯类农药的现场、低成本、快速、准确的检测。结果表明: 通过在芯片内部固定存储生化试剂, 只需一次进样, 7 min内即可实现对克百威和乐果的快速检测, 最低检出限分别为0.02、0.6 mg/L, 对克百威加标回收率为95.0%~103.3%, 制作的芯片在1个月内的稳定性较好。使用微流控农药残留快速检测芯片系统, 有望实现全自动检测流程, 特别适合于基层非专业人员开展现场、快速、高通量的农药残留筛查。

关键词: 微流控芯片; 农药残留; 快速检测; 低成本

Fabrication and Analytical Application of Microfluidic Chip for Rapid On-Site Detection of Pesticide Residues

YUAN Baolong^{1,2}, WANG Xiaodong², YANG Ping², FANG Zhenzhen², HUANG Yujun², CHEN Jiong^{1,*}, YE Jiaming^{2,3,*}

(1. Department of Biology and Marine Science, School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaxing 314006, China;

3. China National Center for Food Safety Risk Assessment Cooperation Center for Application Technology, Jiaxing 314006, China)

Abstract: A novel disposable microfluidic chip was developed for rapid detection of pesticide residues in agricultural products, which integrated sampling, enzyme inhibition reaction, color development and detection chamber. By coupling with a laboratory-prepared colorimetric detection device, the chip could provide a simple, easy to use, low-cost and sensitive approach for rapid detection of organophosphate and carbamate pesticides on site. Due to pre-storage of biochemical reagents in the chip, the detection could be achieved within 7 min by just one injection. The limits of detection (LOD) of the method were 0.02 mg/L for carbofuran and 0.6 mg/L for dimethoate, the recoveries of carbofuran from spiked samples were in the range of 95.0% to 103.3%. Furthermore, this microfluidic chip had a long storage life of up to 30 days. The microfluidic chip coupled with laboratory-prepared detection device is expected to achieve an automatic detection process, and is particularly suitable for on-site, rapid, and high-throughput screening of pesticide residues by non-professionals.

Key words: microfluidic chip; pesticide residues; rapid detection; low cost

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201602035

中图分类号: TS207.3; S481.8

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)02-0198-06

引文格式:

苑宝龙, 王晓东, 杨平, 等. 用于农药残留现场快速检测的微流控芯片研制[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 198-203.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201602035. <http://www.spkx.net.cn>

YUAN Baolong, WANG Xiaodong, YANG Ping, et al. Fabrication and analytical application of microfluidic chip for rapid on-site detection of pesticide residues[J]. Food Science, 2016, 37(2): 198-203. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201602035. <http://www.spkx.net.cn>

农药在农业生产中发挥着重要作用, 它的使用可以有效保障或提高农作物的产量。当前我国的农药生产量

和使用量均排名世界前列, 其中有机磷和氨基甲酸酯类农药使用量占到了农药总量的70%^[1], 而且多使用于果蔬

收稿日期: 2015-03-11

基金项目: 嘉兴市公益性应用技术研究计划项目(2014AY21024)

作者简介: 苑宝龙(1976—), 男, 硕士, 主要从事微流控芯片以及食品安全检测研究。E-mail: yuanbaolong@hotmail.com

*通信作者: 陈炯(1975—), 男, 研究员, 博士, 主要从事动物细胞因子及细胞免疫调控研究。E-mail: jchen1975@163.com

叶嘉明(1979—), 男, 高级工程师, 博士, 主要从事微流控分析芯片研发及其在生物医学快速检测研究。

E-mail: yejiaming723@126.com

作物上。随着农药使用量的逐渐扩大及其降解处理的不完善,上述两类农药在蔬菜、水果等农产品中的残留超标现象严重^[2-4]。因此,为了确保广大人民群众的农产品食用安全,采取有效的检测手段对农产品质量安全进行快速监测显得尤为重要。

目前,用于农药残留的检测方法主要包括两大类:一类是以色谱-质谱联用法^[5-7]为代表的精密仪器分析方法;另一类是快速检测方法,主要包括活体生物检测法^[8-10]、免疫法^[11-13]、酶抑制法^[14-16]、生物传感器法^[17-19]等。其中,精密仪器分析方法具有高灵敏度、高选择性,可精确定量分析的优点,并可同时检测多种农药。但是该方法的仪器设备庞大,检测成本高,耗时长,前处理繁琐,需要专业人员操作,难以实现大批量样品的现场快速筛查需求。快速检测方法由于便携、快速、简单易用、低成本等显著优点成为近年来研究的热点。其中,酶抑制法基于比色法原理^[20],利用农药靶标酶——乙酰胆碱酯酶(AChE)活性受抑制的程度,对有机磷和氨基甲酸酯类农药进行半定量检测,操作简易,无需昂贵的仪器,尤其适用于保存时间相对较短的蔬菜、水果类鲜食农产品的农残现场、快速检测。因此该方法作为最常用的农残速测手段被广泛接受。现行的国家标准——蔬菜中有机磷与氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测^[21],主要包括农残速测仪法和比色速测卡法,方法学上已能满足大量农产品农残初筛的需求,但是仍存在诸多不足之处,例如配件繁多,携带不便;操作繁琐,过程冗长;准确率、灵敏度、重复性还有待提高;此外还需要专业人员操作。

微流控芯片又称为芯片实验室,是把生物、化学实验室分析过程的样品制备、反应、分离、检测等操作单元微缩、集成到一张几平方厘米的芯片上,通过对微通道网络内流体的操纵和控制,自动完成分析过程。与传统的分析方法比较,微流控芯片分析技术具有微型化、集成化、高通量、低成本的显著优点,因此在食品安全快速检测^[22-24]、环境监测^[25-27]、医疗诊断^[28-30]等领域,具有重大的基础研究和应用研究价值。

本实验提出了一种用于农药残留现场快速检测的微流控芯片,旨在使用一次性的高聚物芯片,配合自行研制的手持式检测仪,基于酶抑制原理结合光度分析方法,实现对有机磷、氨基甲酸酯类农药的现场、低成本、快速、准确的检测。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

小白菜 市购。

光学级聚甲基丙烯酸甲酯 (poly methyl

methacrylate, PMMA) 板材, 0.3 mm、2.0 mm两种厚度规格; 光学级双面胶, 0.1 mm厚度; 以上材料购自上海佰芯生物科技有限公司。

乙酰胆碱酯酶 (EC 3.1.1.7, 来自电鳗, 217 U/mg)、碘化硫代乙酰胆碱、5,5-二硫二硝基苯甲酸 美国Sigma公司; 克百威、乐果标准物 上海市农药研究所; 磷酸氢二钾、磷酸二氢钾和碳酸氢钠均为分析纯。

pH 8.0磷酸盐缓冲溶液: 分别称取11.9 g无水磷酸氢二钾与3.2 g磷酸二氢钾, 去离子水定溶于1 000 mL容量瓶。显色剂: 分别称取160.0 mg二硫代二硝基苯甲酸和15.6 mg碳酸氢钠, 用20 mL缓冲溶液溶解。底物: 称取25.0 mg硫代乙酰胆碱, 加3.0 mL蒸馏水溶解。乙酰胆碱酯酶液: 根据酶的活性情况, 用缓冲溶液溶解, ΔA_{410} 值应控制在0.3以上^[21]; 农药标准液: 准确称量0.1 mg农药标准品, 加入10 mL丙酮(分析纯, 99.5%)溶解配制成质量浓度为10 mg/L的母液。使用时, 根据需要用磷酸盐缓冲溶液稀释成不同质量浓度的标准液体。

1.2 仪器与设备

YoungLaser-V12型二氧化碳激光芯片雕刻机(激光波长10.6 μm , 连续激光输出功率12 W, 最细刻蚀宽度60 μm) 苏州扬清芯片科技有限公司; DW系列超低温保存箱(-86 $^{\circ}\text{C}$) 海尔生物医疗公司; Scientz-系列N型真空冷冻干燥机 宁波新芝生物技术股份有限公司; HH-4数显恒温水浴锅 常州智博瑞仪器制造有限公司; FA1604电子天平 上海精科实业有限公司; Milli-Q超纯水系统(18 M Ω) 美国Millipore公司。

1.3 方法

1.3.1 芯片的设计与制作

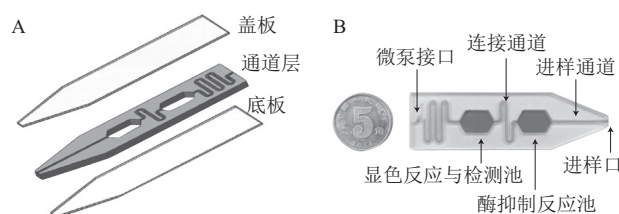


图1 农残检测微流控芯片结构示意图(A)和实物照片(B)
Fig.1 Schematic presentation of the microfluidic chip for detection of pesticides (A) and photograph (B)

如图1所示, 本实验所设计的微流控芯片由三层PMMA基片组成, 顶层和底层为厚度0.3 mm的空白基片, 中间层为厚度2 mm的通道层。其中2个反应池的体积均为115 μL , 流体通道横截面为矩形, 其宽度和深度分别为1 mm和0.5 mm, 进样通道和连接通道的长度和体积分别均为20 mm和10 μL 。芯片的制作过程如下: 首先, 用Corel DRAW软件设计芯片各层的结构图案; 其次, 通过二氧化碳激光雕刻机直接在PMMA基材上雕刻

反应池和微通道，同时切割获得空白盖板和底板；最后，用双面胶将空白盖板、刻有通道图案的基片、空白底板逐层键合，制得一次性的农残快速检测芯片。

1.3.2 试剂的预存储

芯片键合前，在图1所示芯片的酶抑制反应池中加入5 μL 酶溶液，在显色反应与检测池中依次加入5 μL 显色剂和5 μL 底物溶液，超低温冰箱 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冻20 min后，置于真空冷冻干燥机内冷冻干燥。

1.3.3 流体的操控

为了精确进样，需要制作了用于芯片内部微流体操控的微柱塞泵，其基本结构包括微型步进电机和与之匹配的微型气缸。如图2所示，使用时将气缸导管与芯片的微泵接口连接，步进电机控制气缸内活塞保证从芯片外部提取定量的待测液体至酶抑制反应池（步骤1）；并且，也能够进一步精密操控液体转移至显色反应与检测池（步骤2）。

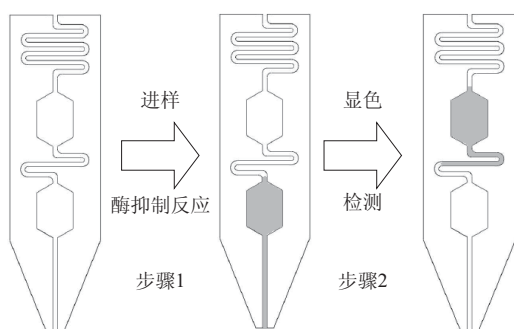


图2 进样及液体在芯片内各反应池之间的转移

Fig.2 Solution aspiration and transportation in microchip

1.3.4 实验室自制手持式检测装置

为配合集成生化反应的微流控芯片进行农药残留的现场快速检测，本实验搭建了一套手持式便携检测装置（图3），其基本组成包括光电检测、流体控制、温度控制和数据处理等模块。

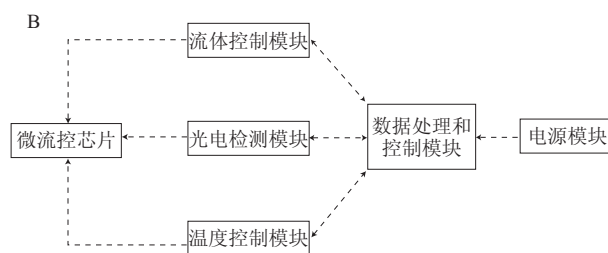
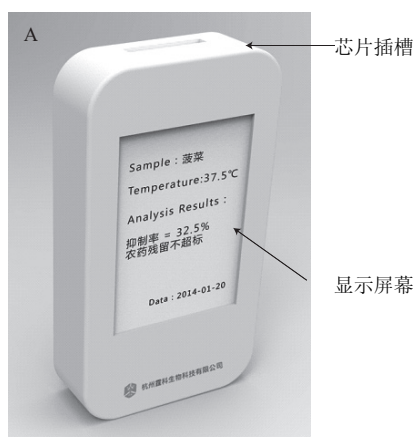


图3 手持式便携检测装置外观 (A) 及模块组成示意图 (B)

Fig.3 Schematic illustration of portable detection device appearance (A) and composition diagram (B)

1.3.5 酶活性的检测

参考Ellman等^[31]的方法。吸取125 μL 磷酸缓冲液至芯片酶抑制反应池，与预存储酶混合溶解，37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温一段时间后进入显色反应与检测池进行显色反应，记录反应初始时与反应3 min时溶液在410 nm波长处吸光度的差值 ΔA ，作为酶活性。以最佳条件下的酶活力为100%，其余条件下同样蛋白量的预存储酶与最佳条件下的酶活力之比，记为相对酶活力。

1.3.6 农残速测芯片的验证

取农业生产中较常用到的有机磷类农药乐果与氨基甲酸酯类农药克百威，分别配制一系列质量浓度梯度标准液，吸取125 μL 上述标准液加入芯片，在37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下，农药标准液在酶抑制反应池中与预存储酶试剂发生酶抑制反应适当时间，反应液随后进入显色反应与检测池进行显色反应，记录反应初始时与反应3 min时溶液在410 nm波长处吸光度的差值 ΔA ，按照酶抑制率公式计算各农药标液的酶抑制率^[21]。

2 结果与分析

2.1 芯片的结构设计及封装

根据酶抑制率法快速检测农残的原理，在芯片上设计了2级串联反应池，其中酶抑制反应池底部固定酶，显色反应与检测池底部固定底物和显色剂，反应池间用蛇形通道连接。检测时待测液首先进入酶抑制反应池，在37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下农药组分与酶发生酶抑制反应，随后混合液进入显色反应与检测池发生水解反应并显色。检测池的厚度，即光程对光学检测结果的精度有较大的影响^[32]，根据朗姆比尔定律，光程变长，灵敏度提高，检出限变低，但同时会增加芯片的厚度导致物料成本上升。综合考虑芯片物料成本、检测试剂消耗量及检测精度需求，本实验选择厚度为2 mm的PMMA板材制作微结构，2个反应池的体积均为115 μL 。

目前PMMA微流控芯片的封装技术多采用热压键合法^[33]，考虑到高温条件下芯片内部固定化的酶试剂极易失活，本实验采用双面胶贴合法，在室温条件下实现芯片的快速键合。

2.2 酶试剂存储条件的确定

真空冷冻干燥目的是将生物材料制品冻干后保持其活性, 适合长期保存, 方便运输, 而且能快速复活利用^[34], 该技术可以很好地满足酶在芯片内部存储的两个条件: 预存储的酶在水溶液中能够迅速溶解释放, 具有较高的反应活性; 酶与芯片基材具有足够的结合强度, 以免芯片在使用过程中试剂脱落。在反应池加入5 μL酶液, -80 °C预冻20 min后, 在冷阱温度-80 °C、真空度3 Pa的条件下制备获得固定于芯片的酶粉, 着重考察冷冻干燥时间对酶活的影响。分别将预冻后的酶试剂真空冷冻干燥0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0 h, 按照1.3.4节步骤测酶活性。如图4所示, 冷冻干燥2 h的相对酶活力最高, 随后酶活逐渐降低, 其原因可能是随着冷冻时间的延长, 蛋白质分子表面的单层水分子被冻结, 蛋白质表面的氢键以及极性基团暴露在周围环境中导致蛋白质的变性失活^[35]。因此本实验选择2 h作为最佳真空冷冻干燥时间, 在此条件下酶试剂与芯片基材的结合强度完全能够满足实验要求。

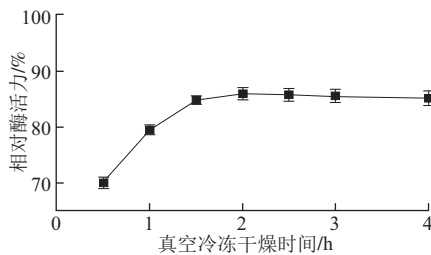


图4 真空冷冻干燥时间对酶活性的影响

Fig.4 Effect of vacuum freeze-drying time on enzymatic activity

2.3 微泵的稳定性的测试

精确、稳定的流体控制是微流控分析重复性的前提保证。为了精确进样, 本实验制作了基于步进电机耦合微型气缸的微柱塞泵, 进样体积为0~200 μL, 流速为0~20 μL/s。考虑到过快的液体流速会在反应腔室引入气泡, 实验选取微泵的流速为10 μL/s, 在该流速条件下往复抽取125 μL磷酸缓冲液, 用天平称量每次泵取液体的质量, 重复6次的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为3.9%, 说明自制的微型计量泵能够满足微流控农残检测的要求。

2.4 光学检测器的稳定性

配制0.04 g/L铬酸钾溶液, 加入芯片检测池后放入光学检测装置中^[36], 每30 min测量波长410 nm处铬酸钾溶液吸光度, RSD (n=6) 为0.8%, 说明自制的光学检测装置能基本满足实验检测的要求。

2.5 芯片中酶抑制反应时间的确定

常规条件下, 酶抑制反应溶液需在37 °C水浴锅中恒温反应10~15 min。针对本实验芯片中的微反应体系,

将质量浓度为0.1 mg/L的克百威标准液加入预恒温37 °C的芯片中, 考察反应时间对农残抑制率的影响。如图5所示, 当反应时间超过4 min后, 农残抑制率达到一稳定平台。考虑到快速检测需求, 本实验采用4 min作为芯片中酶抑制反应时间。

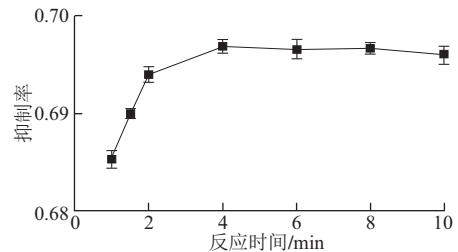


图5 芯片中酶抑制反应时间对农残抑制率的影响

Fig.5 Effect of reaction time in the chip on inhibition of enzymatic activity

2.6 农药标样检测及检出限

分别配制0.01、0.02、0.05、0.1、0.5、1、2.5、5 mg/L的克百威农药标准溶液, 0.2、0.5、1、2、5、10、20 mg/L的乐果农药标准溶液, 按1.3.5节步骤进行检测, 结果如图6所示。通过将抑制率与农药质量浓度的标准曲线用Origin软件拟合, 可以计算出每种农药抑制AChE活性50%所对应的质量浓度, 即为本方法对该农药的检出限。对于克百威和乐果, 国标速测仪方法检出限分别为0.05 mg/L和3 mg/L^[21], 本方法检出限分别为0.02 mg/L和0.6 mg/L, 因此本实验所制备农药残留检测芯片的检出限优于现有国标速测仪检出限标准, 具有很强的实用价值。

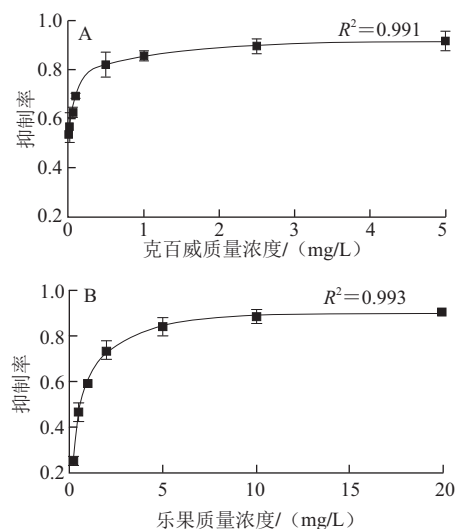


图6 克百威 (A) 和乐果 (B) 农药标样检测结果

Fig.6 Analytical results of carbofuran (A) and cygon (B)

2.7 回收率测定实验结果

为考察方法的可靠性, 进行了回收率实验。以未喷

洒农药的小白菜为例,按国标法操作提取待测液,向提取液中加入定量的0.02 mg/L克百威农药。回收率实验测定了5组样品,每组测定6次,测得农药的回收率在95.0%~103.3%之间,结果见表1。

表1 加标检测结果
Table 1 Recoveries from spiked sample

标准加入量/(mg/L)	加标测得量/(mg/L)	回收率/%
0.02	0.019	95.0
0.04	0.039	97.5
0.06	0.062	103.3
0.08	0.078	97.5
0.10	0.098	98.0

2.8 芯片的稳定性实验结果

将制备的农药残留检测芯片分别在4℃和25℃密封存放,30 d后测得相对酶活力分别为95.4%、81.5%。由此可以看出,本实验所制备的农残检测芯片比较稳定。

2.9 方法对比

为了验证方法的可靠性,取同一喷洒农药的小白菜样品(乐果、克百威为例),按国标提取待测液后,选用某知名国产农残速测仪与本实验的微流控芯片快速检测方法对比,二者综合特性比较见表2、3。

表2 本实验和农残速测仪方法对比
Table 2 Comparison of the developed method with rapid pesticide residue analyzer

检测方法	试剂	检测时间/min	样本体积/mL	试剂消耗量/ μ L	操作步骤
微流控芯片	预存储	7	0.125	5	进样后自动完成
农残速测仪(国标)	现配	15~20	2.5	100	繁琐

表3 本实验和农残速测仪检测结果对比
Table 3 Comparison of analytical results obtained for cabbage sample using the developed method and rapid pesticide residue analyzer

方法	乐果		克百威	
	抑制率/(n=6)	RSD/%	抑制率/(n=6)	RSD/%
微流控芯片	73.3	2.28	61.0	4.03
农残速测仪	76.6	3.92	64.7	8.84

从表3可以看出,对比传统的农残速测方法,本实验提出的微流控芯片直接将农药残留检测试剂预存储于芯片内部,无需现场配制溶液;检测时间由20 min缩短为7 min;样本及试剂消耗量降至常规检测的1/20;操作简便,检测精度、重复性与准确性能够满足农药残留的现场快速检测需求。

3 结论

本实验提出了一种用于农药残留现场快速检测的微流控芯片制备方法。旨在使用一次性的高聚物芯片,配

合自行研制的手持式检测仪,基于酶抑制原理结合光度分析方法,实现对有机磷、氨基甲酸酯类农药的现场、低成本、快速、准确的检测。相对于现有的农残速测仪和速测卡,本实验研制的微流控芯片检测方法优点包括:1)试剂、样品消耗量小;2)试剂存储于芯片中,降低人工配制及移取溶液试剂所带来的误差;3)可在芯片内部实现自动进样、生化反应及检测,最大程度地减少人工操作步骤;4)溶液反应体系封闭,进一步提高反应均一性和检测准确度;5)使用高聚物为芯片基材,芯片成本低、易批量化生产,适合一次性农药残留检测需求。此外,将本实验研制的微流控芯片进一步结合手持式检测仪,以及便携式农残快速提取仪,可实现全自动检测流程,特别适合于基层非专业人员开展现场、快速、高通量的农药残留筛查。

参考文献:

- [1] 朱松明, 晨楠, 劲松, 等. 基于酶抑制法的农药残留快速比色检测[J]. 农业工程学报, 2014, 30(6): 242-248.
- [2] 何良兴, 张璇文, 李燕. 2010年杭州市蔬菜有机磷和氨基甲酸酯农药残留状况分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1479-1481.
- [3] 王淑梅, 王江, 齐海鸥. 2006年陕西省六地市蔬菜水果农药残留状况[J]. 职业与健康, 2008, 24(16): 1619-1621.
- [4] 江国虹, 霍飞, 李静, 等. 天津地区果蔬农药施用与残留状况及控制对策[J]. 中华预防医学杂志, 2003, 37(5): 351-354.
- [5] 张洪兰. 用固相提取和高效液相色谱法分离检测生物体液中7种氨基甲酸酯类农药[J]. 色谱, 1997, 15(5): 442-444.
- [6] 杨大进, 张莹, 方从容. 大米中有机磷和氨基甲酸酯农药残留毛细管气相色谱测定法[J]. 卫生研究, 1994, 23(2): 97-100.
- [7] 杨大进, 方从容, 张莹. 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯农药多残留的测定[J]. 中国食品卫生杂志, 1997, 9(5): 9-11.
- [8] 王彦华. 农药残留速检技术研究进展[J]. 北京农学院学报, 2002, 15(3): 239-242.
- [9] 袁振华, 查捷, 蒋罗章. 大型水蚤生物测试技术在监测蔬菜中农药残留的应用研究[J]. 卫生研究, 1995, 24(特辑): 109-110.
- [10] 杨大进. 农药残留生物快速检验方法[J]. 中国食品卫生杂志, 1998, 10(2): 38-40.
- [11] ITAK J A, OLSON E G, FLECKER J R, et al. Validation of paramagnetic particle based ELISA for the quantitative determination of carbaryl in water[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1993, 51: 260-267. DOI:10.1007/BF00198890.
- [12] NAM K S, KING J W. Supercritical fluid extraction and enzyme immunoassay for pesticide detection in meat products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42: 1469-1474.
- [13] 刘曙照, 冯大和, 陈美娟, 等. 对克百威具高度特异性的免疫分析技术研究[J]. 分析科学学报, 2000, 16(5): 373-378.
- [14] 杨东鹏, 张春荣, 董民, 等. 酶抑制分光光度法检测蔬菜上的有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的方法的研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 58-61.
- [15] 高月明, 张水华, 冯笑军, 等. 酶抑制率法测定蔬菜中农药残留试验[J]. 广东农业科学, 2009(3): 159-160.
- [16] 宋茹, 纪淑娟, 李晶, 等. 蔬菜中有机磷及氨基甲酸酯类农药残留酶片快速检测法的评价[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(2): 119-121.
- [17] 干宁, 王峰, 杨欣, 等. 采用纳米修饰双酶电极生物传感器检测有机磷与氨基甲酸酯类农药[J]. 农药学报, 2008, 10(3): 329-334.

- [18] 张淑平, 单联刚, 经媛元. 检测有机磷农药电流型胆碱酯酶传感器的研究进展[J]. 化学传感器, 2006, 26(2): 8-13.
- [19] 魏福祥, 王振川, 王金梅. 乙酰胆碱酯酶生物传感器法测定蔬菜水果中有机磷农药残留[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 229-231. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2007.02.057.
- [20] 杜美红, 孙永军, 汪雨, 等. 酶抑制-比色法在农药残留快速检测中的研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 462-466.
- [21] 卫生部. GB/T 5009.199—2003 蔬菜中有机磷与氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [22] XU J. Microfluidics “lab-on-a-chip” system for food chemical hazard detection[M]//Food chemical hazard detection: development and application of new technologies. John Wiley & Sons, Ltd., 2014: 263-289.
- [23] SCOGNAMIGLIO V, ARDUINI F, PALLESCHI G, et al. Biosensing technology for sustainable food safety[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2014, 62: 1-10. DOI:10.1016/j.trac.2014.07.007.
- [24] 肖良品, 刘显明, 刘启顺, 等. 用于亚硝酸盐快速检测的三维纸质微流控芯片的制作[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 341-345. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201322069.
- [25] GAMMOUDI I, RAIMBAULT V, TARBAGUE H, et al. Enhanced bio-inspired microsensor based on microfluidic/bacteria/love wave hybrid structure for continuous control of heavy metals toxicity in liquid medium[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014, 198: 278-284. DOI:10.1016/j.snb.2014.01.104.
- [26] CUI S, HE Z Z, ZHU Z W, et al. Microfluidic analysis of PM2.5-induced epithelial-mesenchymal transition in human bronchial epithelial 16HBE cells[J]. Microfluidics and Nanofluidics, 2015, 19(2): 263-272. DOI:10.1007/s10404-014-1499-3.
- [27] RAMSHANI Z, REDDY A S, NARAKATHU B B, et al. SH-SAW sensor based microfluidic system for the detection of heavy metal compounds in liquid environments[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2014, 217: 72-77. DOI:10.1016/j.snb.2014.12.026.
- [28] YAGER P, EDWARDS T, FU E, et al. Microfluidic diagnostic technologies for global public health[J]. Nature, 2006, 442: 412-418.
- [29] EL-ALI J, SORGER P K, JENSEN K F. Cells on chips[J]. Nature, 2006, 442: 403-411.
- [30] SACKMANN E K, FULTON A L, BEEBE D J. The present and future role of microfluidics in biomedical research[J]. Nature, 2014, 507: 181-189. DOI:10.1038/nature13118.
- [31] ELLMAN G L, COURTNEY K D, ANDRES J R V, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity[J]. Biochemical Pharmacology, 1961, 7(2): 88-90. DOI:10.1016/0006-2952(61)90145-9.
- [32] 丁建刚, 黄桂荣, 徐波, 等. 分光光度法测定水中硝基苯类化合物检出限的优化[J]. 环境监测管理与技术, 2013, 25(4): 48-49.
- [33] 张凤莲, 朱静. 微流控芯片热压键合设备的结构设计[J]. 微细加工技术, 2006(3): 58-61.
- [34] 徐成海. 真空科学技术丛书: 真空干燥技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
- [35] 刘占杰, 华泽钊. 蛋白质药品冷冻干燥过程中变性机理的研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2000, 21(5): 263-265.
- [36] 李昌厚. 紫外可见分光光度计及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.