

# 基于纸基微流控芯片的手持式食品添加剂检测仪

王潇悦<sup>1</sup> 汪柯佳<sup>1</sup> 张豪哲<sup>1</sup> 汤莉莎<sup>1</sup> 梁培<sup>1\*</sup> 叶嘉明<sup>2\*</sup>

(1. 中国计量大学光学与电子科技学院, 杭州 310018; 2. 浙江清华长三角研究院;

国家食品安全风险评估中心应用技术合作中心, 杭州 311231)

**摘要:** 食品安全越来越成为人们关注的重点, 某些企业存在滥用或过量使用食品添加剂的行为。本研究以纸基微流控芯片为核心技术, 从纸基微流控芯片的设计及制作、材料的选择、检测性能及稳定性等方面进行研究, 在手持式检测仪上基于超低成本纸基微流控芯片完成食品添加剂现场即时检测。具有快速、便携、检测限低的优势, 具有较强竞争力、广阔的市场前景和良好的社会效应。

**关键词:** 食品添加剂 纸基微流控芯片 便携 快速检测

DOI:10.3969/j.issn.1001-232x.2019.01.026

**Handheld food additive detector based on paper-based microfluidic chip.** Wang Xiaoyue<sup>1</sup>, Wang Kejia<sup>1</sup>, Zhang Haozhe<sup>1</sup>, Tang Lisha<sup>1</sup>, Liang Pei<sup>1\*</sup>, Ye Jiaming<sup>2\*</sup> (1. College of Optical and Electronic Technology, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; 2. Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Biotechnology Center at Hangzhou, Hangzhou 311231, China)

**Abstract:** This paper studied the design and fabrication of paper-based microfluidic chips, material selection, detection performance and stability. The hand-held detector based on ultra-low cost paper-based microfluidic chip can be used for on-site inspection of food additives. It is fast, portable, with ultra-low detection limit, strong competitiveness, broad market prospects and good social effects.

**Key words:** Food additive; Paper-based microfluidic chip; Portability; Fast detection

## 1 前言

近年来,因食品添加剂滥用带来的食品安全问题受到人们的广泛关注。常规的实验室检测技术如质谱、色谱等,结果相对准确,但多数检测周期长、程序复杂,且仪器一般体积庞大、难以携带。

纸基微流控芯片<sup>[2]</sup>技术正好符合食品安全检测技术的发展方向。该技术采用纸(滤纸、层析纸及硝酸纤维素膜等广义上的纸材料)作为芯片制作材料以及生化分析平台。芯片系统内可集成样品制备、生物与化学反应、分离、检测等基本操作单元,由微通道形成网络,以可控流体贯穿整个系统,实现常规实验室的分析功能。本研究以纸基微流控芯片为核心技术,开发了基于超低成本纸基微流控芯片的手持式食品添加剂现场即时检测系统。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器

FUJI XEROX Phaser 8560DN 喷蜡彩色打印机(日本富士施乐公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); DZF-6050 型真空干燥仪(上海森信实验仪器有限公司); DZQ-400/2D 真空包装机(浙江江南实业有限公司); YoungLaser-V12 型二氧化碳激光芯片雕刻机(苏州扬清芯片科技有限公司); whatman<sup>®</sup> 双圈定性滤纸(杭州沃华滤纸有限公司)。

### 2.2 试剂

亚硝酸钠, GR, 山东西亚化学工业有限公司; 对氨基苯磺酰胺, AR, 北京化学试剂公司; N-1-萘基乙二胺盐酸盐, AR, 天津傲然精细化工研究所; 柠檬酸, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司; 间苯三酚(二水合物), 99%, 上海麦克林生化科技有限公司; 氢氧化钠, AR, 无锡市佳妮化工有限公司; 辣根过氧

化物酶(HRP)、四甲基联苯胺(TMB), sigma 公司; 聚乙烯吡咯烷酮(PVP), High Purity Grade, Fluka 进口分装; 双氧水、甲醛标准品, 国家标准物质中心。

柠檬酸溶液(330 mmol·L<sup>-1</sup>): 称取 6.34 g 柠檬酸溶于水并定容到 100 mL 容量瓶中。

亚硝酸钠<sup>[3]</sup>指示剂 1(330 mmol/L 柠檬酸钠和 50 mmol/L 对氨基苯磺酰胺): 称取 0.861 g 对氨基苯磺酰胺, 用 330 mmol/L 柠檬酸溶液将其溶解并定容于 100 mL 容量瓶中, 避光保存。亚硝酸钠指示剂 2(10 mmol/L N-1-萘基-乙二胺盐酸盐): 称取 0.13 g N-1-萘基-乙二胺盐酸盐溶解并, 4 °C 冰箱中保存备用。双氧水<sup>[4]</sup>指示剂 1(1g/L TMB): 准确称取 20 mg TMB, 用 2 mL 无水乙醇溶解后, 再用柠檬酸缓冲液定容到 20 mL, 4 °C 冰箱中避光保存备用。

双氧水指示剂 2(10mg/L HRP 和 0.5g/L PVP): 准确称取 10 mg HRP 和 0.5 g PVP, 用水溶解并定容至 1000 mL, 4 °C 冰箱中保存备用。甲醛<sup>[5]</sup>指示剂 1(0.1mol/L 间苯三酚): 称取 0.81g 间苯三酚(二水合物)用水溶解并定容于 50 mL 容量瓶中, 避光保存。甲醛指示剂 2(4mol/L 氢氧化钠): 称取 8g 氢氧化钠用水溶解并定容于 50 mL 容量瓶中。亚硝酸钠标准溶液(1g/L): 称取 100 mg 在 115 °C 烘箱中恒重的亚硝酸钠用水溶解并定容到 100

mL 容量瓶中。使用时, 将其逐级稀释得到 1、2、5、5、10、20、30 mg/L 一系列浓度梯度溶液。双氧水标准溶液(30%): 使用时将双氧水标准溶液逐级稀释制备得到 0.5、2、5、10、30mg/l 一系列浓度梯度溶液。甲醛标准溶液(100mg/L): 使用时将甲醛标准溶液逐级稀释得到 0.5、1.5、3、6、10、30mg/L 一系列浓度梯度溶液。

### 3 三维纸芯片的设计与制作

#### 3.1 纸芯片的制作

本研究所用的三维纸芯片由四层纸芯片叠加加工而成。用 CAD 设计芯片的结构图案, 其中, 第一层为加样、试剂固定及显色层, 此层分别为 5 μL 不同的食品添加剂检测试剂 2; 第二层为试剂固定层, 此层分别为 5 μL 不同的食品添加剂检测试剂 1; 第三层为进样层、第四层为输水层。将芯片的结构图案用喷蜡打印机打印在中速定性滤纸表面, 并将滤纸上的每一个纸芯片切割开来, 放入 150 °C 烘烤 3 min, 取出在室温冷却, 抽真空干燥。

固定好检测试剂的纸芯片经过如图 1(a) 所示折叠, 夹入两层透明塑料膜中间, 采用塑封机, 塑封封装, 并在加样口位置预先用激光雕刻机裁切出与加样口相同直径大小的圆孔, 即得到用于食品非法添加剂检测的三维纸芯片, 成品如图 1(b) 所示。

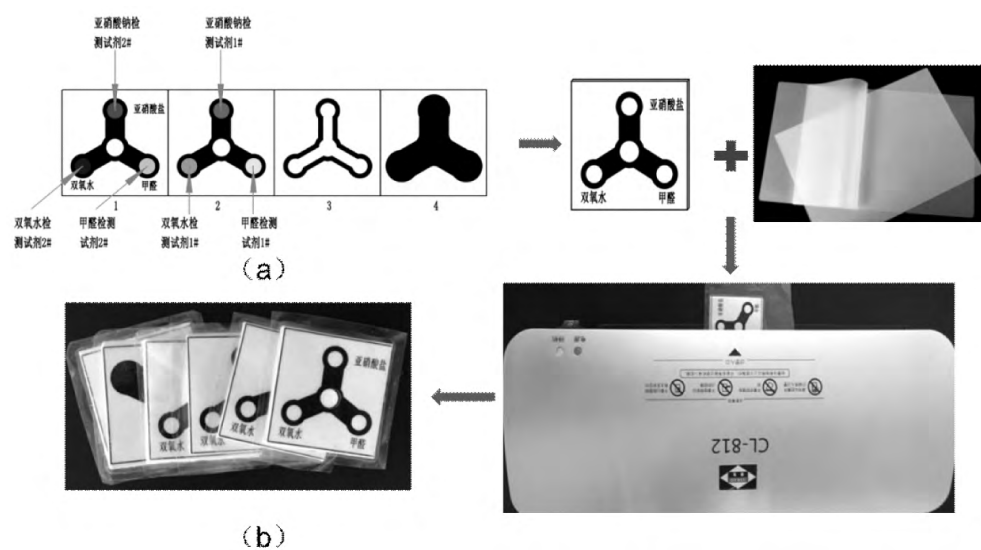


图 1 检测芯片的组装过程示意图

(a). 试剂在芯片上的固定位置; (b). 用于食品非法添加剂检测的三维纸芯片成品

### 3.2 样品预处理

准确称取有代表性的肉类样本 5g, 剪碎, 加入 10mL 纯净水, 振摇 50 次, 静置 2min 以上。

### 3.3 测试结果与分析

#### (1) 材料选择

考察了流体在快速、中速和慢速 whatman<sup>®</sup> 双圈定性滤纸<sup>[6,7]</sup> 上的流通情况, 记录不同时间流体流动达到的距离, 每个实验平行 4 次, 流动距离取平均值, 快速滤纸的流速最快, 中速滤纸和慢速滤纸的流速相当, 但是快速滤纸和慢速滤纸的标准偏差较大, 说明这两种滤纸的均一性较差。因此, 选择 whatman<sup>®</sup> 双圈中速定性滤纸作为芯片的制作材料。

#### (2) 芯片设计制作及稳定性测试

所设计的微流控芯片基材为滤纸, 包括喷蜡打印区、3 个检测显色区、加样口, 外面包有一层塑料

膜, 其中塑料膜对应加样口位置开口, 其余地方密封, 塑料膜加样口孔径 6mm。实物尺寸约为 45mm × 45mm, 厚度小于 1mm。质量约 0.8g。

3min 后观察各检测区里的颜色强度, 亚硝酸钠、双氧水、甲醛检测时批内和批间相对标准偏差 (RSD) 值均在 8% 以内, 稳定性较好。

#### (3) 标样测定

选用亚硝酸钠、双氧水、甲醛作为标准样液。将浓度分别为 1、2、5、10、15、20、30 mg/L 的亚硝酸钠标准溶液, 0.5、2、5、10、15、20、25mg/L 双氧水标准溶液, 1、2、5、10、15、20、25mg/L 甲醛标准溶液加入芯片中, 各浓度分别测 4 次, 自加入溶液时计时, 3min 后在自制检测暗室中用手机拍照, 得到的图片用 Adobe Photoshop CS6 处理, 芯片检测区的灰度值(4 次平均值)与食品添加剂质量浓度进行拟合, 得到如图 2 所示结果。

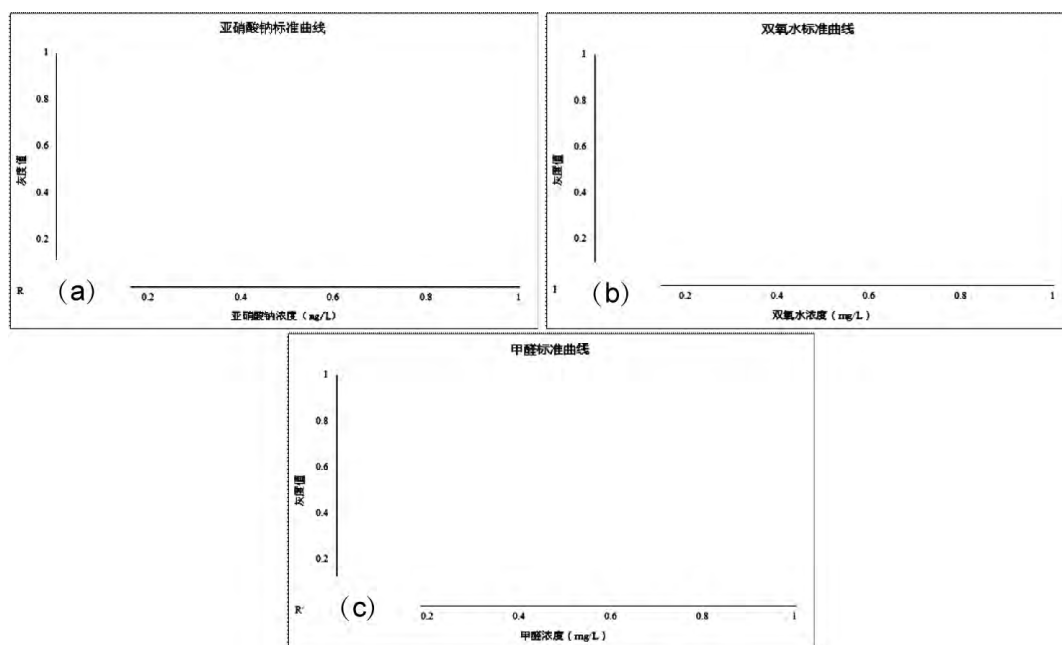


图 2 检测芯片的标准曲线图

(a). 亚硝酸钠标准溶液质量浓度之间的拟合曲线, 拟合方程为  $y_1 = -3.1852x + 202.87$ ; (b). 双氧水标准溶液质量浓度之间的拟合曲线, 拟合方程为  $y_2 = -3.276x + 207.61$ ; (c). 甲醛标准溶液质量浓度之间的拟合曲线, 拟合方程为  $y_3 = -3.9595x + 196.94$

### 3.4 基于智能手机的手持式比色法检测仪

基于智能手机的手持式比色法检测仪其基本结构包括内部照明光源及避光外壳。仪器外壳右侧设有电源开关, 用于控制光源; 仪器正面中上部含有盖子, 打开盖子, 正好放进手机; 仪器侧面设有芯片插槽, 供纸芯片插入并比色检测; 仪器下部右

上角装有一透镜, 与手机摄像头位置相对。根据手机牌子与型号, 透镜位置、仪器尺寸适当调准。仪器内部主要结构包括 LED 光源, 正对芯片放置位置, 提供内部照明; 还包括电池、控制芯片、电路等元件。智能手机搭载与手机兼容的检测软件, 自动通过软件显示、保存检测结果。

用喷蜡打印机打印红(R)、绿(G)和蓝(B)3种颜色卡片。分别将3种颜色的卡片放入手持式比色法检测仪中,配合手机连续采集图片10次,用Adobe Photoshop CS6分别处理3种颜色的图片,同一位置10次的R、G、B值如图4所示。R、G和B值10次的相对标准偏差分别为0.2%、0.3%和0.3%,说明自制的手持式比色法检测仪能满足实验检测的要求。

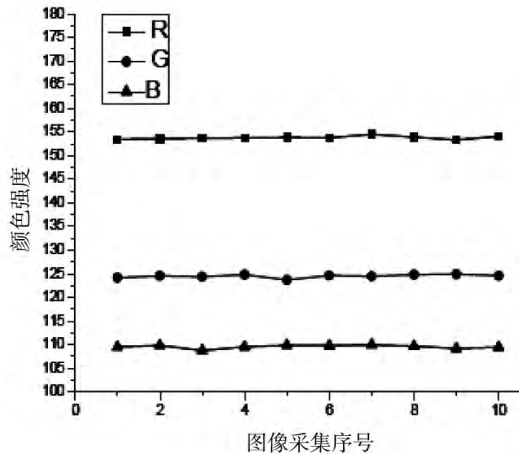


图4 手持式比色法检测仪的稳定性测试

#### 4 结论

完成了一次性食品添加剂检测纸基微流控芯片的设计加工与试剂固定,提出了将检测试剂固定于芯片内相应区域,互不干扰;固定试剂保持反应

显色性能;采用三维结构只需一次进样,即可完成多步分离、纯化及检测。最终基于微流控芯片在手持式检测仪上实现对亚硝酸盐、双氧水、甲醛的现场、低成本、快速、便携、准确的检测。

#### 参考文献

- [1]张雨,黄桂英,刘自杰.我国食品安全现状与对策[J].山西食品工业,2004,(4):39-42.
- [2]Nie Z, Deiss F, Liu X, Akbulut O, Whitesides G M. Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers [J]. Lab on a Chip, 2010, 10(22):3163-3169.
- [3]汪菊,付大友,徐晨曦.食品中亚硝酸盐快速检测方法的研究.食品工业科技 2015,(9):278-281.
- [4]程楠,董凯,何景,等.食品中过氧化氢残留快速检测试纸的研制与应用.农业生物技术学报 2013, 21(0), 1403-1412.
- [5]张清安,李建科,张宝善.食品中甲醛残留的检测方法研究进展[J].陕西师范大学继续教育学报.2006,23(4):111-114.
- [6]Yetisen A K, Akram M S, Lowe C R. Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices[J]. Lab on a Chip, 2013, 13(12), 2210-2251.
- [7]Whitesides G M. The origins and the future of microfluidics[J]. Nature, 2006, 442(7101):368-373.
- [8]张永忠,吴舒辞.基于嵌入式系统的多功能食品安全检测仪[J].现代仪器,2008,(2):54-56.

收稿日期:2018-11-19

作者简介:王潇悦,女,1998年出生,中国计量大学光学与电子科技学院2016级本科生,进入中国计量大学本硕创新研究课题,师从梁培副教授,主要从事光谱检测方面工作。

通讯作者:梁培,男,1982年出生,博士,E-mail:plianghust@gmail.com;叶嘉明,男,1979年出生,博士,E-mail:yejamng723@126.com。