



基于光度法快速检测余氯的微流控系统

穆莉莉¹, 岳少奇¹, 叶嘉明^{2,3*}

(1.安徽理工大学, 淮南 232001; 2.浙江清华长三角研究院, 嘉兴 314006;
3.国家食品安全风险评估中心应用技术合作中心, 嘉兴 314006)

摘要: 基于微流控技术和分光光度法的原理, 研制1种用于余氯快速检测的微流控芯片。设计制作的一次性微流控芯片内部预存储二乙基对苯二胺试剂, 在搭建的实验平台上可以完成自动进样、反应和显色的过程。余氯的快速检测在2 min内即可完成。余氯检测的线性范围为(0.02~6)mg/L, 加标回收率为92.1%~107.0%, 可以满足余氯快速检测的需要。采用余氯快速检测的微流控芯片系统, 有利于实现余氯检测流程的全自动化和检测设备的微型化, 特别适合非专业人员进行余氯的快检。

关键词: 微流控芯片; 分光光度法; 余氯; 快检

中图分类号: O 657.3 文献标志码: A 文章编号: 1005-9989(2018)10-0336-04

DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2018.10.058

Microfluidic system for residual chlorine detection based on spectrophotometry

MU Li-li¹, YUE Shao-qi¹, YE Jia-ming^{2,3*}

(1.Anhui University of Science & Technology, Huainan 232001; 2.Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiaying 314006; 3.China National Center for Food Safety Risk Assessment, Cooperation Center for Application Technology, Jiaying 314006)

Abstract: A novel disposable microfluidic chip was developed for rapid detection of residual chlorine based on the microfluidic technology and spectrophotometry. N,N- diethyl-p-phenylenediamine was prestored in the chip which could complete the progress of sample, reaction and color development on an experimental platform. The detection could be achieved within 2 min. The linear detection range of sample concentration was between 0.02 mg/L and 6.00 mg/L, the recoveries of residual chlorine were in the range of 92.1% to 107.0%. The chip could meet the requirement of the rapid detection of residual chlorine. The microfluidic chip was expected to achieve an automatic detection progress and the miniaturization of equipment, which was particularly suitable for on-site, rapid detection of residual chlorine by non-professionals.

Key words: microfluidic chip; spectrophotometry; residual chlorine; rapid detection

收稿日期: 2018-05-29

*通讯作者

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(1308085ME75); 安徽省教育厅自然科学基金项目(KJ2013A086)。

作者简介: 穆莉莉(1973—), 女, 博士, 教授, 研究方向为微流体系统及微化学反应。



生活饮用水普遍采用氯化消毒^[1]，在消毒之后，常导致水中存在的余氯过量，引起水的口感和气味会发生变化，过量的余氯还可以与水中的某些有机物发生化学反应生成具有致畸、致癌和致突变的氯代烃类有害物质^[2]。因而余氯的测定是水质常规检测项目之一，《生活饮用水卫生标准》^[3](GB 5749—2006)中规定，饮用水中消毒剂在与水接触30 min后，出厂水中氯气及游离氯制剂(游离氯)≥4 mg/L，出厂水中余量≥0.3 mg/L，管网末梢水≥0.05 mg/L。

测定水中余氯含量的方法可以分为两大类，一类是精密设备检测法，如光度法、离子色谱法、碘量法、电化学法等，另一类是现场快速检测法，包括目视比色法和国内外公司研制的余氯快速检测仪。精密设备精准分析法设备较贵、操作步骤繁琐、化学试剂种类多，且含有有毒有害试剂，化学试剂容易受到样品中酸度、亚硝酸盐浓度等影响^[4-6]，必须由专业的实验人员进行操作，对使用人员要求非常高。快速分析法检测速度较快，但快速分析法检出限较高、灵敏度较低，特制试剂和配套余氯快速检测仪的价格也较贵。

微流控分析系统可以在几平方厘米芯片上加工出微米级通道或其他微结构，内部高度集成了生物化学反应的过程，如样品的制备和分离、生化反应、结果检测等，提高了效率，简化和操作过程，缩短检测时间，降低了试剂与样品消耗，有利于设备的微型化，随着微流控技术的迅猛发展和成果的不断积累，微流控技术将为食品安全快速检测领域提供新的强大技术支持^[7-11]。

本文基于微流控技术，制作成本低、反应时间短、试剂消耗量少、自动化程度高且与外界环境无接触等特点的余氯快速检测芯片，结合美国HACH公司生产的DPD试剂，设计1种基于光度法快速检测余氯的微流控系统，实现对余氯的低成本、快速、准确的检测。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

光学级聚甲基丙烯酸甲酯(Polymethylmethacrylate, PMMA)板材、聚苯乙烯(Polystyrene, PS)板材、双面胶：上海佰芯生物科技有限公司；N, N-二乙基对苯二胺(DPD)试剂：美国HACH公司；高锰酸钾标准溶液：中国计量

科学研究所。

1.2 仪器与设备

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；U-2900型分光光度计：日立公司；JA 1203B型电子天平：上海精科实业有限公司；Milli-Q超纯水系统(18 MΩ)：美国Millipore公司。

1.3 方法

1.3.1 检测原理 采用DPD分光光度法作为微流控系统检测余氯的基本方法，因为用含氯水配制标准溶液的步骤繁琐，且不稳定，根据《生活饮用水卫生标准》采用相应的高锰酸钾标准溶液替代余氯标准溶液。基本过程为：先将所需DPD试剂预先存储在微流控芯片中，微流控芯片上的微泵接口与微泵连接，从余氯样品溶液中泵送定量的待测溶液到反应检测池中^[12]，振荡摇匀后，使用分光光度计检测反应检测池中溶液的吸光度值。吸光度值随余氯的浓度变化而变化，与标准曲线进行比较得出余氯浓度。

1.3.2 芯片的设计制作与试剂存储 如图1所示，余氯快检芯片由3层PMMA材料的基片构成，顶层和底层的空白基片厚度均为0.5 mm，中间层是厚度为4 mm的通道层，通道层包括进样通道、反应检测池、连接通道和微泵接口，如图2所示。其中反应检测池容积为220 μL，深度为4 mm；进样通道位于中间层的上部，连接通道位于中间层的底部，进样通道的横截面是矩形，宽度和深度分别是0.3 mm和1.0 mm；连接通道的横截面是矩形，宽度和深度分别是0.6 mm和3 mm。芯片的制作过程如下：首先，使用AutoCad绘制芯片各层的结构形状，使用二氧化碳激光雕刻机在相应厚度的板

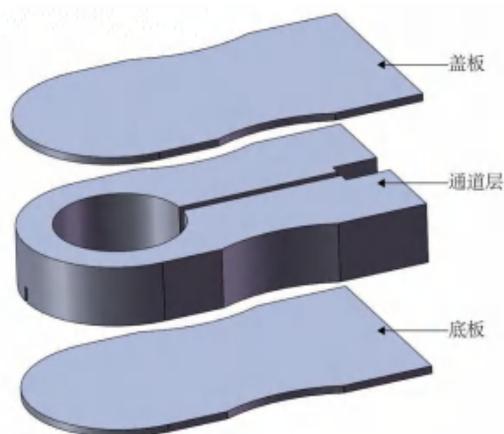


图1 微流控芯片三维模型

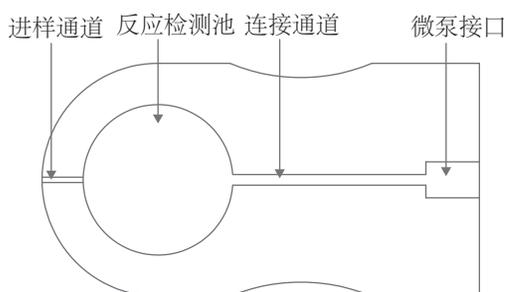


图2 微流控芯片结构示意图



图3 微流控芯片实物图

材上加工；然后，用光学级双面胶将底层和通道层完成键合，在反应检测池中加入DPD试剂，之后再与顶层键合，即制作得到一次性的余氯快检芯片，如图3所示。

1.3.3 实验平台搭建 为了便于试验余氯的快检，构建了基于微流控技术的恒温实验平台，主要包括微流控快速检测芯片、恒温控制模块、流体控制模块以及控制系统等^[13]，如图4所示。

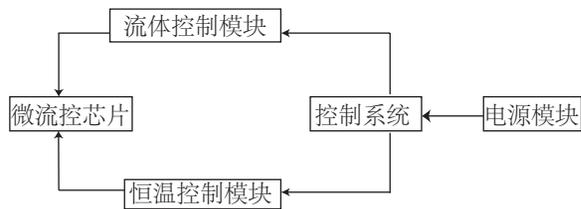


图4 模块组成示意图

2 结果与分析

2.1 芯片的结构设计及封装

根据DPD试剂检测余氯的原理，芯片上的反应检测池、连接通道用于连接反应检测池与微泵。因为光程对光学检测结果的精确性存在较大的影响^[14]，按照朗伯比尔定律，在一定范围内，检测灵敏度会随着光程的增加而提高，检出限也会降低。综合考虑试剂的消耗量、检测的精度以及芯片的材料成本，选择圆形的反应检测池，其深度为4 mm、半径为4.2 mm。基于双面胶室温贴合法^[15]，在室温的条件下快速完成芯片的键合。

2.2 吸光度标准曲线测定

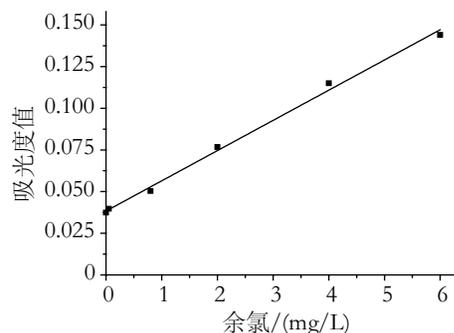


图5 余氯检测的吸光度测试曲线

配制出0、0.05、0.8、2、4、6 mg/L的余氯标准溶液，分别对这些不同浓度的溶液进行实验检测(6次重复)。吸光度检测结果的测试曲线如图5所示，横坐标为余氯浓度，纵坐标为吸光度值。余氯标准溶液检测范围为(0.02~6)mg/L，拟合方程为 $y=0.0181x+0.0383(R^2=0.9960)$ 。

2.3 加标回收率测定

为了验证方法的可靠性，做了加标回收率的测试。在空白纯水中每份添加一定量的余氯标准品溶液，使得最终质量浓度分别为0.4、1、3、5 mg/L。每个质量浓度重复6组实验，测得余氯的加标回收率为92.1%~107.0%，相对标准偏差为1.2%~6.0%，结果见表1。

表1 余氯加标回收率

添加浓度/(mg/L)	测定浓度/(mg/L)	回收率/%	相对标准偏差/%
0.4	0.407	101.7	6.0
1	1.070	107.0	2.3
3	2.764	92.1	2.2
5	5.250	105.0	1.2

2.4 方法对比

本文提出的用于余氯快速检测的微流控芯片系统，把DPD试剂预存储在芯片内部，无需现场配制试剂，检测时间缩短为2 min，试剂消耗量仅为1.9 mg，是国标实验室检测方法和美国HACH公司检测仪一次检测试剂用量的1/50甚至更少，并且微流控芯片成本低、制作简单、自动化程度高、操作简便，特别适合非专业人员操作。

3 结论

本实验提出了一种基于光度法快速检测余氯的微流控系统，结果表明，该检测系统的最低



检测限可以达到0.02 mg/L, 样品加标回收率为92.1%~107.0%, 在成本低、准确度高的情况下完成对水中余氯的快速检测。该检测方法的主要优势在于: (1)试剂、样品消耗量小; (2)所用试剂预先存储在芯片内部, 避免现场配制带来的误差; (3)提高实验过程的自动化程度, 减少人工误差; (4)采用低成本的高聚物材料生产芯片, 一次性使用, 降低成本; (5)结合微流控技术, 有利于实现余氯检测设备的微型化。因此, 本文提出的基于光度法快速检测余氯的微流控系统, 特别适合于非专业人员使用, 可以满足余氯快速检测的需求。

参考文献:

- [1] 黎莉, 杨蕾, 马丽. N,N-二乙基对苯二胺分光光度法测定饮用水中的游离余氯[J]. 污染防治技术, 2011, 24(3): 76-78
- [2] 马红娜, 李梦耀, 刘建. 对氨基二甲苯胺分光光度法测定水中余氯[J]. 建筑科学与工程, 2004, 21(4): 68-70
- [3] GB 5750.11—2006, 生活饮用水卫生标准检验法[S]
- [4] 陈静文, 丁敏. 余氯检测方法与余氯标准溶液的情况[J]. 化工管理, 2013, (2): 80-82
- [5] 曹蕾, 徐霞君, 张琼尹. 生活饮用水中游离余氯3种检测方法的比较[J]. 广东水利水电, 2012, (s1): 50-52
- [6] 王舒婷, 田渭花, 杏艳, 等. 余氯离子浓度比色计测定余氯及换算系数确立[J]. 广州化工, 2013, 41(21): 122-124
- [7] XU J. Microfluidics “lab-on-a-chip” system for food chemical hazard detection[M]. Food chemical hazard detection: development and application of new technologies[C]. John Wiley & Sons, Ltd, 2014: 263-289
- [8] SCOGNAMIGLIO V, ARDUINI F, PALLESCHI G, et al. Biosensing technology for sustainable food safety[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2014, 62: 1-10
- [9] 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
- [10] 徐溢, 吕君江, 范伟, 等. 微流控分析芯片上生化反应技术研究进展[J]. 化学进展, 2007, 19(5): 820-831
- [11] 蔡思林. 微流控芯片检测仪[D]. 杭州: 浙江大学, 2006
- [12] 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
- [13] 叶嘉明, 邵佳美, 杨平, 等. 用于农残快速检测的离心式微流控芯片研制[J]. 食品科学, 2017, 38(12): 292-297
- [14] 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
- [15] 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
- (上接第335页)
- floral origin and beebread collected in Lithuania[J]. Food Chemistry, 2008, 111(4): 988-997
- [9] 况小玲, 徐俐, 张红梅. 不同加工工艺对油茶籽油风味物质的影响[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(6): 89-93
- [10] 粟有志, 谢丽琼, 王强, 等. 4种新疆单花蜜挥发性成分SPME-GC-MS分析[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 293-299
- [11] 党亚丽, 王璋, 许时婴. 同时蒸馏萃取和固相微萃取与气相色谱/质谱法结合分析巴马火腿的风味成分[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(8): 132-137
- [12] 吴昊, 许时婴. 牛肉风味料的香气成分[J]. 无锡轻工大学学报, 2000, 20(2): 158-163
- [13] 孙雨安, 孙敏青, 王国庆, 等. 基于顶空固相微萃取GC-MS分析不同蜂蜜的挥发性成分[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2013, 41(5): 75-80
- [14] 郭月红, 李洪军, 韩叙. 腊肉加工过程中脂肪氧化分解及其与风味形成的研究进展[J]. 肉类研究, 2005, 19(3): 33-36
- [15] 陈海涛, 张宁, 孙宝国. SPME或SDE结合GC-MS分析贾永信十香酱牛肉的挥发性风味成分[J]. 食品科学, 2012, 33(18): 171-175
- [16] 吴海波, 方黎明, 薛兵, 等. 肉牛宰后成熟阶段与食用品质相关指标的分析[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2002, 14(2): 77-81
- [17] 王宇, 宋永清, 乔晓玲. 传统酱牛肉加热过程中挥发性风味化合物研究[J]. 肉类研究, 2009, 23(12): 54-57
- [18] 李建军, 文杰, 陈继兰, 等. 烘烤肌肉挥发性风味的微捕集GC-MS分析[J]. 分析测试学报, 2003, 22(1): 58-61
- [19] Stetzer A J, Cadwallader K, Singn T K, et al. Effect of enhancement and ageing on flavor and volatile compounds in various beef muscles[J]. Meat Science, 2008, 79(1): 13-19