• 研究论文 •

纸基过氯乙烯树脂微流控亚硝酸根离子检测片的研制

赵联朝^{a,b} 闫宏涛^{*,a}

(^a 西北大学化学与材料科学学院 西安 710069)

(^b 洛阳理工学院环境工程与化学系 洛阳 471023)

摘要 基于滤纸上过氯乙烯树脂选择性通过亚硝酸根离子, 结合微流控分析装置设计, 研制成纸基过氯乙烯树脂微流控亚硝酸根离子检测芯片. 采用该微流控亚硝酸根离子检测芯片测定了亚硝酸盐样品, 线性范围和检测限分别为70~1500 $\mu\text{mol/L}$ 和 48 $\mu\text{mol/L}$. 该微流控亚硝酸根离子检测芯片已成功应用于水样和食品中亚硝酸盐测定, 结果满意.

关键词 过氯乙烯树脂栅栏; 检测芯片; 亚硝酸根离子; 滤纸; 检测

A Nitrite Microfluidic Detecting Chip by Fabricating Chlorinated Polyvinyl Chloride Barrier in Filter Paper

Zhao, Lianchao^{a,b} Yan, Hongtao^{*,a}

(^a College of Chemistry & Materials Science, Northwest University, Xian, 710069)

(^b Department of Environmental Engineering and Chemistry, Luoyang Institute of Science and Technology, Luoyang, 471023)

Abstract Based on the phenomenon that NO_2^- can be permeated through the hydrophobic chlorinated polyvinyl chloride (CPVC) barrier fabricated in filter paper and the microfluidic paper-based devices (μ -PADs), the nitrite microfluidic detection chip by fabricating CPVC barrier in filter paper was carried out. The detection limit of the method is 48 $\mu\text{mol/L}$ nitrite, and the linear range for nitrite is 70~1500 $\mu\text{mol/L}$. The method has been successfully applied to the determination of nitrite in Xi'an city moat water and sausage sample.

Keywords CPVC barrier; detection chip; nitrite; filter paper; measurement

在自然界, 含氮有机物经生物降解后生成亚硝酸盐, 其与胺反应可生成致癌的亚硝氨基化合物^[1]. 因此, 亚硝酸盐含量的测定, 对于食品卫生和水资源检测、控制具有十分重要的意义, 也是人体某些疾病诊断的重要指标内容. 亚硝酸盐的分析测定, 已报道的测定方法有分光光度法^[2,3]、液相色谱法^[4]、伏安法^[5]、流动注射分析法^[6,7]以及离子色谱法等^[8~10], 这些测定方法均需要繁杂的样品预处理和测定仪器装置, 难以适用于家庭保健、边远地区食品卫生、水在线分析检测. 因之, 研究发展成本低廉, 简便易行的亚硝酸盐测定方法尤为重要.

2007 年哈佛大学 Whitesides 研究小组^[11]提出了一种以滤纸为基质的微流控分析装置(Microfluidic pa-

per-based analytical devices, 简称 μ -PADs). 该装置是以照相平版印刷光致抗蚀剂在滤纸上构建疏水性围栏, 形成一定形状的微流通道, 并具有一定的固化检测试剂的检测区. 样品溶液在滤纸毛细现象作用下, 不需外力自动沿微流通道迁移, 到达检测区与检测试剂发生显色反应. 经简单数据处理后, 依据像素密度平均值与样品溶液浓度的关系获得定量分析结果. 此后相继有多篇类似的研究报道^[12~19]. 该分析方法操作简单、成本低廉、无需使用专门分析仪器设备进行测定, 引起了研究者极大重视, 并形成了一个新的研究方向.

过氯乙烯(CPVC)树脂是聚氯乙烯经氯化的产物, 具有抗燃烧, 抗腐蚀的特点^[20~22], 被用作水管制作材料^[23], 或将它与其它物质混合制成薄膜用于水和其它物

* E-mail: htyan@nwnu.edu.cn; Tel: 029-88363389

Received October 26, 2011; accepted February 7, 2012.

质的分离^[24,25]. 采用过氯乙烯制成微流控分析通道, 进行选择分析测定迄今未见报道. 本文报道纸基过氯乙烯树脂微流控亚硝酸根离子检测片的研制. 采用过氯乙烯树脂甲苯溶液在滤纸上制备成纸基微流控亚硝酸根离子检测片. 通过处理显色反应颜色强度得到测定样品亚硝酸盐含量. 该纸基微流控亚硝酸根离子检测片成本低廉、操作简便、抗干扰性强、且具有选择性和分离功能. 应用于亚硝酸根离子测定, 结果满意.

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

V350 型扫描仪(爱普生(中国)有限公司, 上海); UV-1700 型紫外-可见分光光度计(shimadzu 公司, 日本).

亚硝酸钠标准溶液: 准确称取 0.0690 g 亚硝酸钠, 溶解, 配制成 10.0 mmol/L 的亚硝酸钠标准溶液 100 mL. 实验中测定溶液依此标准溶液稀释而成.

亚硝酸根离子检测试剂溶液: 按常规方法, 分别配制 100 mmol/L 对氨基苯磺酰胺溶液和 40 mmol/L *N*-(1-萘基)乙二胺盐酸溶液 100 mL. 然后, 将两者按 1:1 (*V*:*V*)混合而成^[19]. 2%, 3%, 4%, 5%, 6%过氯乙烯树脂甲苯溶液, 330 mmol/L 柠檬酸溶液, 均按常规方法配制. 滤纸为中速定性滤纸(GB/T1914-2007, 杭州沃华滤纸有限公司). 实验中所用试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水.

1.2 纸基过氯乙烯树脂微流控亚硝酸根离子检测片的制备及测定

实验中按照自制塑料模板形状, 采用切割法将定性滤纸切割成所需检测片形状, 如图 1 所示. 然后, 以 3% 过氯乙烯树脂甲苯溶液在滤纸检测片上绘制成一定形状的疏水栅栏检测区(疏水栅栏宽为 1 mm). 在固定的疏

水栅栏检测区内固化一定浓度的检测试剂, 自然阴干后, 制备成纸基过氯乙烯树脂微流控亚硝酸根离子检测片. 测定中, 通过滤纸毛细作用, 将亚硝酸根离子样品溶液引入微流控亚硝酸根离子检测片, 亚硝酸根离子选择性通过过氯乙烯树脂栅栏, 到达检测试剂区内与检测试剂发生显色反应. 扫描记录纸基微流控亚硝酸根离子检测片显色强度, 经 Adobe Photoshop 和 Microsoft Excel 计算机软件处理后, 获得其显色像素密度平均值. 依据像素密度平均值与样品中亚硝酸根离子含量的关系, 从而得到测定样品的定量分析结果.

2 结果与讨论

2.1 过氯乙烯树脂溶液浓度的选择

实验考察了过氯乙烯树脂溶液浓度对于纸基微流控亚硝酸根离子检测片的制备的影响. 将过氯乙烯树脂溶解于甲苯中, 分别配制成不同浓度(2%, 3%, 4%, 5%, 6%)的过氯乙烯树脂甲苯溶液. 实验结果表明, 采用 2% 和 6%过氯乙烯树脂甲苯溶液绘制的纸基微流控亚硝酸根离子检测片疏水栅栏, 因滤纸毛细现象作用, 均有溶液渗透通过栅栏线现象. 其是由于 2%过氯乙烯树脂甲苯溶液, 过氯乙烯树脂浓度低, 疏水栅栏尚不能很好的起到隔离溶液渗透作用. 而 6%过氯乙烯树脂甲苯溶液浓度较高, 其粘度大, 绘制过程中不能很好的与纸基纤维结合, 导致存在一定毛细通道, 亦不能隔离溶液的渗透. 以 3%, 4%, 5%过氯乙烯树脂甲苯溶液绘制的纸基微流控亚硝酸根离子检测片栅栏具有良好的疏水作用, 但 4%和 5%过氯乙烯树脂甲苯溶液仅适合随时配制使用, 如经放置后, 溶液粘度增大, 造成绘制栅栏困难. 综合考虑, 实验中选择采用 3%过氯乙烯树脂甲苯溶液绘制纸基微流控亚硝酸根离子检测片疏水栅栏.

2.2 检测试剂用量选择

实验进行了亚硝酸根离子检测试剂溶液用量的选择. 取同批次制备的纸基微流控亚硝酸根离子检测片, 按上述 1.2 节制备方法, 依次分别在疏水栅栏检测试剂区固化 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4 μL 配制的亚硝酸根离子检测试剂, 加入一定量的亚硝酸根离子标准溶液进行测定. 经扫描、计算机处理后, 显色反应像素密度平均值与检测试剂用量关系曲线如图 2 所示. 从图中可以看出亚硝酸根离子检测试剂在 0.4~0.8 μL , 显色强度急剧增大, 至 1.2 μL 出现最大强度值. 其后随着检测试剂的增大, 显色强度呈减小趋势. 实验选择疏水栅栏检测试剂区固化 1.2 μL 亚硝酸根离子检测试剂.

图 1 纸基微流控亚硝酸根离子检测片示意图

Figure 1 Schematic of the nitrite microfluidic detecting chip

The grey area indicates the regions of determination reagents

图2 显色反应像素密度平均值与检测试剂用量关系曲线
Figure 2 The relationship between the mean grayscale intensity and the volumes of determination reagent

2.3 显色时间的选择

实验中进行了显色时间的影响研究. 将同一批制备的纸基微流控亚硝酸根离子检测片, 分别加入 250 $\mu\text{mol/L}$ 亚硝酸钠标准溶液, 显色反应 2, 4, 6, 8, 10 和 12 min 后进行测定(重复 5 次). 其显色反应强度像素密度平均值与显色时间的关系如图 3 所示. 结果表明, 随着显色反应时间增加, 显色强度像素密度随之增强, 8 min 达到最大, 其后, 显色反应时间增加, 显色强度像素密度波动, 空白信号增加, 信噪比增大. 实验中, 显色时间选择为 8 min.

图3 显色反应像素密度平均值随显色时间变化曲线
Figure 3 The relationship between the mean grayscale intensity and the color development times

2.4 溶液 pH 选择

实验进行了 pH 影响研究. 分别在溶液 pH 2~10 进行测定, 结果如图 4 所示.

结果表明在中性, 即 pH 7 溶液中, 显色反应强度像素密度平均值最大. 所以实验选用在中性溶液进行测定.

2.5 过氯乙烯树脂栅栏的选择通过离子现象

实验中发现采用 3%过氯乙烯树脂甲苯溶液在滤纸上制备的疏水栅栏检测区, 不仅可以阻挡固化检测试剂

图4 pH 的影响
Figure 4 The effect of pH

因滤纸毛细作用导致的试剂渗透扩散, 而且更重要的是可使亚硝酸根离子选择性的通过过氯乙烯树脂栅栏, 到达检测试剂区内与检测试剂发生显色反应. 实验中对此现象进行了考察. 结果表明, 阳离子(Na^+ , Fe^{3+} 等)、水中难电离分子(葡萄糖、抗坏血酸等)以及氢氧根离子均不能通过过氯乙烯树脂疏水栅栏, 而亚硝酸根离子, 硫离子以及醋酸根离子等则能够通过过氯乙烯树脂疏水栅栏. 产生这种现象可能是与过氯乙烯树脂甲苯溶液在滤纸上疏水栅栏形成的微空隙有关, 或可能与过氯乙烯树脂中存在的氯化氢分子电离后氯离子的交换有关. 实验中过氯乙烯树脂甲苯溶液在滤纸上形成疏水栅栏后, 仍存在有一定大小体积的微空隙, 使得具有适宜离子半径的亚硝酸根离子、硫离子以及醋酸根离子等可渗透通过这些微空隙, 而较大离子半径的离子, 如氢氧根离子等则难以通过. 亦可能是过氯乙烯树脂甲苯溶液在滤纸上形成疏水栅栏, 实质上是过氯乙烯树脂覆盖在滤纸纤维表面, 使其具有疏水性. 当过氯乙烯树脂栅栏遇到样品溶液, 树脂表面的氯化氢分子将发生电离而产生氯离子, 氯离子与溶液中阴离子发生交换反应, 交换的方向和趋势取决于离子与氢离子结合的难易程度. 如果阴离子与氢离子形成的化合物比氯化氢稳定且易电离, 如亚硝酸根离子等, 则与氯离子发生交换, 渗透通过过氯乙烯树脂栅栏与检测试剂发生显色反应. 但如果该化合物较难于电离, 则不能渗透通过过氯乙烯树脂栅栏. 从而使得形成过氯乙烯树脂栅栏具有选择性的离子渗透通过作用. 这方面的机理有待于进一步研究探讨.

2.6 校正曲线和检测限

实验配制一系列亚硝酸钠标准溶液(60, 125, 250, 500, 1000 和 1500 $\mu\text{mol/L}$), 以制备的纸基微流控亚硝酸根离子检测片, 按照上述实验方法进行测定. 纸基微流控亚硝酸根离子检测片显色反应和亚硝酸根离子检测校正曲线, 分别如图 5 和 6 所示. 结果表明在 70~1500

图 5 微流控亚硝酸根离子检测芯片检测亚硝酸盐溶液显色反应照片

Figure 5 The photograph of determination nitrite with nitrite microfluidic detecting chips

图 6 标准曲线($n=7$)

Figure 6 The calibration curve

$\mu\text{mol/L}$ 浓度范围, 显色反应像素密度平均值(y)与亚硝酸根离子浓度(x)呈线性关系. 检测限为 $48 \mu\text{mol/L}$. 线性方程为 $y=0.034x+8.5762$, 相关系数(R^2)为 0.9947.

2.7 干扰实验

实验进行了亚硝酸根离子测定干扰实验. 结果表明, 在 $250 \mu\text{mol/L}$ 亚硝酸钠溶液 $\pm 5\%$ 误差范围内, Na^+ (1000 倍)、 K^+ (1000 倍)、 Ca^{2+} (1000 倍)、 Cu^{2+} (1000

倍)、 Zn^{2+} (1000 倍)、糊精(1000 倍)、淀粉(1000 倍)、葡萄糖(500 倍)、抗坏血酸(500 倍)、苯酚(200 倍)、 PO_4^{2-} (20 倍)、 SO_3^{2-} (20 倍)、 CO_3^{2-} (10 倍)、 S^{2-} (10 倍)均无干扰. 大于 0.16 倍的蛋白质对测定有干扰.

2.8 样品测定

2.8.1 测定样品的预处理

市售腊肠样品的处理: 称取市售腊肠 20 g, 捣碎, 加入 80 mL 30°C 水匀浆后, 超声处理 30 min. 移取 30 mL 于离心管, 于 12000 r/min 离心 10 min, 取离心后上清液 20 mL, 再加入 2.5 mL 1 mol/L 硫酸锌溶液, 离心后, 取上清液, 按照上述方法进行测定.

水样的处理: 移取一定体积的西安市护城河水, 经沉淀、离心、过滤后, 按照上述方法进行测定.

2.8.2 样品测定

分别将经上述处理的腊肠和水样品, 以微流控亚硝酸根离子检测片分别进行测定和加标回收率实验. 并与紫外-可见分光光度法的测定结果进行比较, 两者测定结果基本一致. 实验结果如表 1 所示. 表明本研究建立的亚硝酸根离子检测方法简单易行, 可用于实际样品中亚硝酸根离子含量的测定.

3 结论

本文结合 $\mu\text{-PADs}$ 设计, 采用过氯乙烯树脂甲苯溶液制备成纸基微流控亚硝酸根离子检测片, 具有成本低廉、操作简便、且具有一定的选择性. 应用于实际样品中亚硝酸根离子含量的测定, 取得了满意结果. 该方法无需专门分析检测设备, 加以进一步改进, 将会用于家庭保健、边远地区食品卫生、水质等在线分析检测.

表 1 样品测定与回收实验结果($n=7$)

Table 1 Determination results of nitrite in samples and recovery tests

试样	亚硝酸盐量 $c/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$		标准加入量 $c/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	加标测得量 $c/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	回收率/%	RSD/%
	本方法	紫外-可见				
水样	76.3	77.3	30.0	29.0	96.7	2.4
腊肠试样	130.3	128.8	30.0	29.5	98.3	1.7

References

- Miura, Y.; Hamada, H. *J. Chromatogr. A* **1999**, 850, 153.
- Pham, V. V.; Stichtenoth, D. O.; Tsikas, D. *Nitric Oxide* **2009**, 21, 210.
- Zatar, N. A.; Abu-Eid, M. A.; Eid, A. F. *Talanta* **1999**, 50, 819.
- Liu, Z.; Xi, X. D.; Dong, S. J.; Wang, E. K. *Anal. Chim. Acta* **1997**, 345, 147.
- Miyazaki, K.; Matsumoto, G.; Yamada, M.; Yasui, S.; Kaneko, H. *Electrochim. Acta* **1999**, 44, 3809.
- Lane, R.; Chow, C. W. K.; Davey, D. E.; Mulcahy, D. E.; McLeod, S. *Anal. Chim. Acta* **1999**, 395, 225.
- Lu, C.; Qu, F.; Lin, J. M.; Yamada, M. *Anal. Chim. Acta* **2002**, 474, 107.
- Miura, Y.; Hamada, H. *J. Chromatogr. A* **1999**, 850, 153.

- 9 Iskandaranl, Z.; Pietrzyk, D. J. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 2601.
- 10 Kodamatani, H.; Yamazaki, S.; Saito, K.; Tomiyasu, T.; Komatsu, Y. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 3163.
- 11 Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Butte, M.; Whitesides, G. M. *Angew Chem. Int Ed.* **2007**, *46*, 1318.
- 12 Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Carrilbo, E.; Thomas, S. W. III.; Sindi, H.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3699.
- 13 Bruzewicz, D. A.; Reches, M.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3387.
- 14 Abe, K.; Suzuki, K.; Citterio, D. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 6928.
- 15 Li, X.; Tian, J.; Nguyen, T.; Shen, W. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 9131.
- 16 Fenton, E. M.; Mascarenas, M. R.; Lo'pez, G. P.; Sibbett, S. S. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 124.
- 17 Carrilho, E.; Martinez, A. W.; Whitesides, G. M. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7091.
- 18 Shen, W.; Tian, J.; Li, X.; Khan, M. S.; Garnier, G. *Method of Fabricating Microfluidic Systems*, **2009** [PCT/AU2009000889] [*Chem. Abstr.* **2010**, *152*, 148057.]
- 19 Li, X.; Tian, J.; Shen, W. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *396*, 495.
- 20 Elakesh, E. O.; Hull, T. R.; Price, D.; Carty, P. *Polym. Degrad. Stab.* **2005**, *88*(1), 41.
- 21 Janczak, J.; Kubiak, R. *J. Mol. Struct.* **2005**, *751*(1), 74.
- 22 Kim, H. S.; Mai, Y. M. *J. Mater. Sci.* **1993**, *28*, 5479.
- 23 Merah, N. *J. Mater. Proc. Technol.* **2007**, *191*, 198.
- 24 Kang, J. S.; Kim, K. Y.; Lee, Y. M. *J. Membr. Sci.* **2003**, *214*, 311.
- 25 Mahrous, S.; Hanfy, T. A.; Sobhy, M. S. *Curr. Appl. Phys.* **2007**, *7*, 629.

(A1110261 Lu, Y.)