DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250731004
引用格式: 卿婷, 张薇薇, 张青, 等. 纸基芯片法快速检测自来水和食品中的铁含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(1): 35–44.
QING T, ZHANG WW, ZHANG Q, *et al*. Rapid detection of iron content in tap water and food by paper-based microfluidic chip [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(1): 35–44. (in Chinese with English abstract).

纸基芯片法快速检测自来水和食品中的铁含量

卿 婷[1], 张薇薇[1], 张 青[2], 窦义佳[1], 黄思雨[1], 苏会岚[1*], 阮 佳[1*]

(1. 成都医学院公共卫生学院, 成都 610500; 2. 四川国际旅行卫生保健中心成都海关口岸门诊部, 成都 610000)

摘 要: 目的 建立纸基芯片快速检测自来水和食品中铁含量的方法。**方法** 使用压花器裁剪出纸基芯片的形状, 通过浸泡的方式制备芯片。使用时直接向制备好的芯片滴加试样, 基于邻二氮菲显色法显色后将芯片置于实验室自制平台拍照, 读取照片灰度值完成铁的检测。研究筛选了滤纸种类, 优化了芯片制备 1,10-菲啰啉和盐酸羟胺的浓度、浸泡时间及显色时间。**结果** 选用 Whatman 3#滤纸, 在含有 8.00 g/L 的 1,10-菲啰啉, 50.00 g/L 盐酸羟胺的醋酸盐缓冲液(pH=4.50)中浸泡 3 min, 加样后显色 15 min 即可拍照检测。Fe^{3+} 浓度为 5.00×10^{-3}~7.00 mmol/L 时, 灰度值与浓度呈良好的线性关系; 检出限为 0.004 mmol/L; 试样中共存 1 mg/L 的 Cd^{2+}、Cu^{2+}等 13 种金属离子时, 不影响铁的检测; 方法加标回收率为 86.0%~114.7%; 同 1 d 内连续测定 6 次相对标准偏差为 1.7%~7.5%, 连续 6 d 测定相对标准偏差为 3.4%~7.9%, 制备好的纸基芯片在 4 ℃避光条件下至少可保存 3 个月。方法对实际样品检测的结果与火焰原子吸收检测结果相对偏差小于等于 2.404%。**结论** 所建立的铁含量纸基芯片检测方法操作简便、准确可靠, 能够为食品领域铁含量的现场快速检测提供一定参考。

关键词: 纸基芯片; Fe^{3+}; 灰度值; 可视化检测

Rapid detection of iron content in tap water and food by paper-based microfluidic chip

QING Ting[1], ZHANG Wei-Wei[1], ZHANG Qing[2], DOU Yi-Jia[1], HUANG Si-Yu[1], SU Hui-Lan[1*], RUAN Jia[1*]

(1. *School of Public Health*, *Chengdu Medical College*, *Chengdu* 610500, *China*;
2. *Sichuan International Travel Health Care Center Port Clinic of Chengdu Customs*, *Chengdu* 610000, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid detection of iron content in tap water and food samples by paper-based microfluidic chip. **Methods** The paper-based chips were cut out using an embossing gadget. And the paper chip was prepared by soaking. Samples to be tested could be dropped onto the prepared chips directly. When the chip showed a stable color based on O-dinitrogen colorimetric method, the chip could be placed on a self-made

收稿日期: 2025-07-31
基金项目: 四川省自然科学基金项目(2024NSFSC0738); 口岸疫病疫情监测四川省重点实验室开放项目(SZKA2023001)
第一作者: 卿婷(2000—), 女, 硕士, 主要研究方向为卫生检验。E-mail: 2308962849@qq.com
***通信作者:** 苏会岚(1986—), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为卫生检验与检疫。E-mail: suhuilan@vip.163.com
阮佳(1990—), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为卫生检验与检疫。E-mail: 1041819360@qq.com

platform for taking photo. Then the gray value of the picture could be read and the iron concentration could be acquired. The study selected the type of filter paper, and optimized the concentrations of 1,10-phenanthroline and hydroxylamine hydrochloride during soaking, as well as the soaking time and coloring time. **Results** Whatman 3# filter paper was selected to prepare the paper chip. And the cut paper chip was soaked in acetate buffer solution containing 8.00 g/L of 1,10-phenoroline and 50.00 g/L of hydroxylamine hydrochloride (pH=4.50) for 3 minutes. After the sample was dropped onto the paper chip for 15 minutes, photos could be taken for detection. When the concentration of Fe^{3+} in sample solution was 5.00×10^{-3} mmol/L to 7.00 mmol/L, it had a good linear relationship between the gray value and the concentration. The limit of detection the paper chip method was 0.004 mmol/L. When the 13 kinds of interfering metal ions, including 1 mg/L Cd^{2+}, Cu^{2+} and the like, were coexisting in the sample solution, they did not affect the detection of Fe^{3+}. The adding standard recoveries were 86.0% to 114.7%. The relative standard deviations of the same sample 6 test results within the same day were 1.7% to 7.5%. And the relative standard deviations of 6 consecutive days detection results were 3.4% to 7.9%. The prepared paper chip could be stored for at least for 3 months under the condition of avoiding light at 4 ℃. When the actual samples were detected, the relative deviation between the paper chip method and the flame atomic absorption method was less than or equal to 2.404%. **Conclusion** The iron detection method based on paper-based chips established in this research is simple to operate, accurate and reliable, which can be a strong support for on-site rapid detection of iron content in food detection field.

KEY WORDS: paper based microfluidic chip; Fe^{3+}; gray value; visual detection

0 引 言

铁是维持人类和动植物生存必需的微量元素之一，铁的检测对于疾病诊断、食品营养评价、环境监测等都具有重要的意义。电感耦合等离子体质谱法[1–2]、原子吸收光谱法[3–4]、分光光度法[5]已成为食品、水样、生物样品(如: 血液)中铁含量最常用的检测方法。近年来为满足现场实时快速检测的需求，研究人员也构建了荧光探针分析法[6–7]、光纤传感法[8–10]、化学传感法[11]、电化学发光法[12]、光致化学发光法[13]和能量色散 X 射线荧光光谱法[14–15]等快速检测方法。这些方法能够实现铁的高灵敏快速检测，但由于需要专门的实验装置，用于现场实时检测仍具有一定局限性。

2007 年 WHITESIZES 团队首次提出纸基微流控芯片的概念，用纸基来取代微流控传统材料(硅、玻璃和聚合物等)，将其作为微流体通道及反应平台，实现目标物质的分析和检测[16]。相较于传统基于纸张的检测平台(如: pH 试纸、甲醛试纸等)，研究人员可利用纸张表面化学改性、疏水试剂物理沉降或物理切割等手段，在纸上构建疏水屏障及图案化的亲水通道，需要的样品量更少，能检测对象的种类更多[17]。在信号识别方面，比色法[18]、荧光法[19–20]、发光法[21]、电化学分析[22–23]、拉曼散射[24]等均已用于纸基芯片的信号识别与分析，以上信号识别方法有助于提高检测的灵敏度。纸基芯片具有生物相容性好、方便快捷、直观可视等优点，是实现目标物现场实时检测的最佳选择之一，已被用于医学诊断、环境监测和食品分析[25–26]等领域。

利用纸基芯片检测金属离子也是研究人员重点关注的方向之一[27–28]。在铁的检测中，SABAH 等[29]与 HU 等[30]的研究团队分别合成了金属有机框架(metal organic framework, MOF)和量子点(quantum dot, QD)，并将其固载于纸基芯片，用于 Fe^{3+}的检测。为进一步简化芯片制备过程，本研究将利用邻二氮菲显色法建立铁的纸基芯片快速检测方法。邻二氮菲显色法是测定样品中总铁量的一个经典实验，方法选择性好，多种共存的金属阳离子及酸根阴离子均不影响铁的测定[31]，反应完成后可在白色的纸基芯片上显示出明显的橙红色。多种商品化试剂盒都采用该方法，借助标准比色卡目视检测，完成铁的半定量检测。为实现铁的定量检测，并提高其检测灵敏度，实验室自制了显色芯片的检测平台，统一拍照条件用智能手机对芯片拍照，最后用 Image J 软件读取照片的灰度值，以期实现试样中铁含量的定量检测。此外，为使测定条件达到最佳，研究还对影响实验结果的主要条件(纸基的种类、显色条件等)进行优化，考察所建立方法的性能，并将所建立的方法用于实际水样和食品样品的检测，为总铁含量的现场快速检测提供一定技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

补铁液(保健食品)、食用木耳(去除水分)均购买自新

都区某超市。

六水合三氯化铁(纯度 98%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 盐酸羟胺、1,10-菲啰啉、冰乙酸、氯化钠、硫酸锰、硝酸铅、硝酸镉、硝酸铜、硝酸锌、重铬酸钾、铬酸钾、七水硫酸镁、变色硅胶(分析纯, 成都市科隆化学品有限公司); 乙酸钠、氯化钾、碳酸钡、二水氯化亚锡(分析纯, 成都金山化学试剂有限公司); 聚丙烯酸(纯度 30%, 平均分子量 M.W~3000, 上海源叶生物科技有限公司); Hg 标准溶液(GSB 04-1729-2004, 质量浓度 1000 μg/mL, 国家有色金属及电子材料分析测试中心); 氯化钙(分析纯, 天津市津北精细化工厂); 十八水硫酸铝(分析纯, 金山县兴塔化工厂); 硝酸(电子级 G2, 国药集团化学试剂有限公司)。

Whatman 1#、3#和 4#滤纸(英国沃特曼公司); 定性滤纸(抚顺市民政滤纸厂); 定量滤纸(杭州沃华滤纸有限公司); 滤膜(0.22 μm, 无锡耐思生命科技股份有限公司)。

1.2　仪器与设备

MAS6 微波消解仪(美国 Chemistry Electronic Microwave 公司); FA224 分析天平(感量 0.1 mg, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司); WGLL-125B 型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业世纪仪器有限公司); PHS-320pH 计(成都世纪方舟科技有限公司); UPH-1V-10TNP 纯水仪(四川优普超纯科技有限公司); PinAAcle900T 火焰原子吸收光谱仪(美国 PerkinElmer 公司); TG-16 高速离心机(四川蜀科仪器有限公司); T5 型发光二极管(light-emitting diode, LED)灯管(长 0.6 m, 白光, 9 W, 蓝鲨照明有限公司); OPPO R11plus 智能手机(广东欧珀移动通信有限公司); 圆形压花器(浙江卡美文具有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　纸基芯片检测铁离子

如图 1 所示, 本研究将利用邻二氮菲显色实验建立铁的纸基芯片准确、快速检测方法。首先采用浸泡法制备纸基芯片, 制备好纸基芯片后, 取少量待测试样滴加在制备好的纸基芯片中心, 待显色完全后, 将纸基芯片置于实验室自制检测平台, 完成铁的定量检测。

(1)纸基芯片的制备

采用压花器将 Whatman 3#滤纸裁剪成直径为 1.6 cm 的圆形纸基芯片。以 pH 4.50 的醋酸盐缓冲液(6.3 mol/L)为溶剂, 配制 1,10-菲啰啉溶液和盐酸羟胺溶液。将质量浓度为 32 g/L 的 1,10-菲啰啉、200 g/L 盐酸羟胺、醋酸缓冲溶液(6.3 mol/L, pH 4.50)以 1:1:2 (*V*:*V*:*V*)的比例配成混合溶液。将裁剪好的纸基芯片浸泡于该混合溶液 3 min 后放入 50 ℃烘箱干燥, 再将干燥后的芯片浸泡于质量浓度为 1.4 g/L 聚丙烯酸溶液 3 min, 再次放入烘箱至干燥, 取出干燥后的纸基芯片置于装有变色硅胶的密闭容器中, 保存于 4 ℃备用。

(2)纸基芯片拍照平台

为控制纸基芯片每次拍照时所处的环境一致, 减小光强度或波长不一致等对灰度值测定的干扰, 实验室自制了如图 2 所示的拍照平台: 密闭纸箱内部贴满白纸, 箱子顶部固定 2 根 LED 灯管(9 W)作为光源, 纸基芯片置于具有黑色背景的平台, 固定纸芯片放置的位置, 手机镜头通过垂直于芯片正上方的小孔对纸基芯片拍照, 手机镜头与纸基芯片的垂直距离为 5 cm。

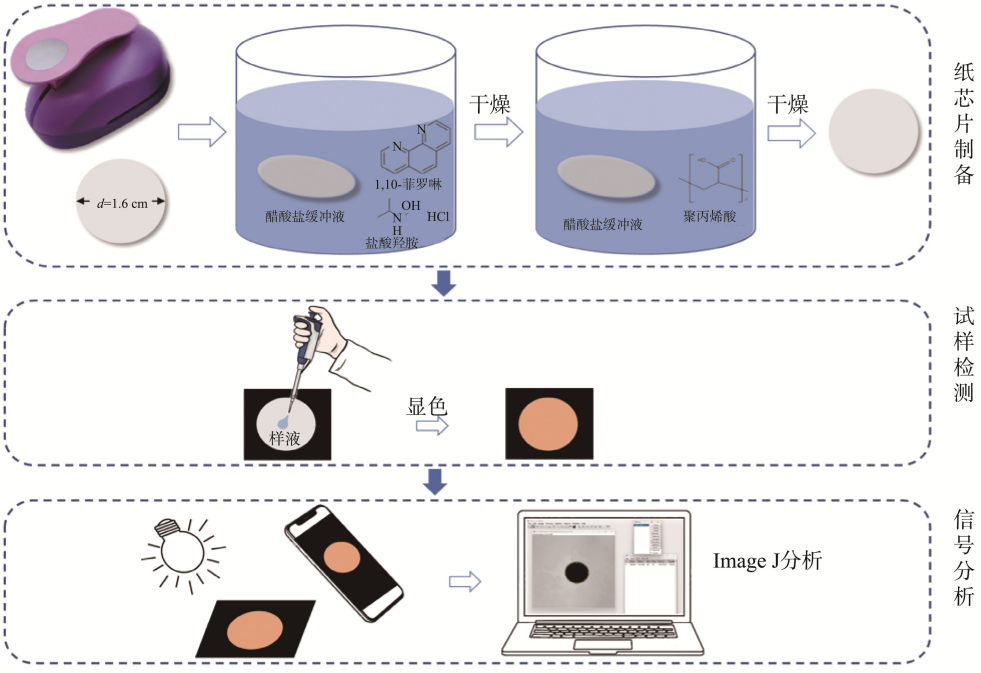


图 1　纸基芯片检测 Fe^{3+}流程图

Fig.1　Flowchart of the detection of Fe^{3+} by paper-based microfluidic chip

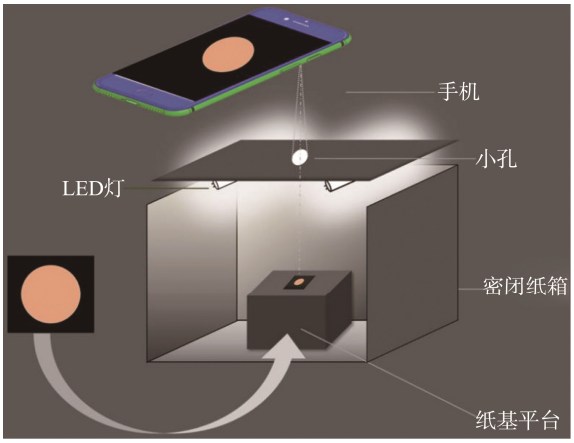


图 2 纸基芯片拍照平台
Fig.2 Paper-based chip photography platform

(3)铁的测定

向制备好的纸基芯片上滴加 20 μL 待测样液，静置 15 min 后，将芯片置于自制的拍照平台拍照，再利用 Image J 软件(1.54f)读取照片的灰度值，平行测定 3 次求平均值，实现对待测样液中铁的定量检测。

1.3.2 纸基芯片种类优化

纸的性质(如吸水性能、颜色本底值等)可能会影响显色反应和结果的判定，因此研究首先对制备芯片纸的性质进行考察，选出吸水量大，且反应前、后灰度值差值较大的滤纸，作为铁检测的媒介。

(1)吸水性能考察

研究考察了 Whatman 1#、3#和 4#滤纸、普通定性和定量滤纸的吸水性能。取不同滤纸，按照 1.3.1 中的方法制备纸基芯片，用移液器从圆心处分别向 5 种不同的纸基芯片一次性滴加 2、3、4、6、7、8、9 和 10 μL 的蒸馏水，不同实验条件平行测定 3 次，观察是否出现液体扩出纸基芯片的情况，判断不同纸基芯片的吸水性能。

(2)显色性能考察

研究还比较了制备好的 5 种不同滤纸(Whatman 1#、3#和 4#滤纸、普通定性和定量滤纸)分别与蒸馏水和 Fe^{3+} 溶液反应后灰度值的差值，选择差值最大的滤纸作为反应媒介。

不同滤纸均按照 1.3.1 中的方法进行处理，向制备好的 5 种不同纸基芯片上分别滴加 20 μL 蒸馏水或 20 μL Fe^{3+} 标准溶液(1 mmol/L)。显色 15 min 后置于自制拍照平台对纸基芯片拍照，并用 Image J 软件读取其灰度值。实验重复 3 次，计算平均灰度值，比较不同种类滤纸分别滴加蒸馏水和 Fe^{3+} 溶液灰度值的差异。

1.3.3 纸基芯片显色条件优化

(1) 1,10-菲啰啉浓度优化

分别将不同质量浓度的 1,10-菲啰啉溶液、200 g/L 盐酸羟胺、pH 4.50 的醋酸盐缓冲液(6.3 mol/L)按照 2:1:1 (*V*:*V*:*V*)的比例配制成混合溶液(混合溶液中 1,10-菲啰啉的质量浓度分别为 6.25×10^{-2}、5.00×10^{-1}、4.00、8.00、12.00 g/L)，按照 1.3.1 中的方法浸泡和处理纸基芯片。取制备好的纸基芯片，分别滴加 20 μL Fe^{3+}(1 mmol/L)溶液，显色 15 min，拍照并记录不同 1,10-菲啰啉浓度下纸基芯片的灰度值。不同实验条件重复测定 3 次，计算平均灰度值。

(2)盐酸羟胺浓度优化

将质量浓度为 32 g/L 的 1,10-菲啰啉、不同浓度的盐酸羟胺溶液以及 pH 4.50 的醋酸盐缓冲液(6.3 mol/L)按照 1:2:1 (*V*:*V*:*V*)的比例混合配制成混合溶液(混合溶液中盐酸羟胺的质量浓度分别为 0.50、5.00、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00、60.00、70.00、80.00 g/L)，按照 1.3.1 中的方法浸泡和处理纸基芯片。取制备好的纸基芯片，分别滴加 20 μL Fe^{3+} (1 mmol/L)溶液，显色 15 min，拍照并记录不同盐酸羟胺浓度下纸基芯片的灰度值。不同实验条件重复测定 3 次，计算平均灰度值。

(3)纸基芯片浸泡时间优化

将质量浓度为 32 g/L 的 1,10-菲啰啉溶液、200 g/L 盐酸羟胺、pH 4.50 的醋酸盐缓冲液(6.3 mol/L)按照 1:1:2 (*V*:*V*:*V*)的比例配制成混合溶液，取裁剪好的 Waterman 3#滤纸分别在混合溶液中浸泡 1、3、5、10、15、20、25 和 30 min，干燥后，纸基芯片再置于 1.4 g/L 聚丙烯酸溶液中浸泡 3 min，干燥后向纸基芯片分别滴加 20 μL Fe^{3+} (1 mmol/L)溶液，显色 15 min，拍照并记录不同浸泡时间下纸基芯片的灰度值。不同实验条件重复测定 3 次，计算平均灰度值。

1.3.4 显色时间优化

取按照 1.3.1 中的方法制备好的纸基芯片，向芯片滴加 20 μL Fe^{3+} (1 mmol/L)溶液，分别显色 1、5、10、15、20、25、30 min，显色后拍照并记录不同显色时间下纸基芯片的灰度值。不同实验条件重复测定 3 次，计算平均灰度值。

1.3.5 方法性能考察

(1)线性范围

取制备好的纸基芯片，分别向芯片滴加 20 μL 浓度范围在 5.00×10^{-3}~7.00 mmol/L 的 Fe^{3+}标准溶液，显色 15 min 后拍照，利用 Image J 软件读取纸基芯片的灰度值。以 Fe^{3+}浓度为横坐标，对应的灰度值为纵坐标绘制标准曲线。

(2)检出限

取制备好的纸基芯片，分别向每张芯片滴加 20 μL 纯水，重复测定 10 次，显色 15 min 后拍照，利用 Image J 软件读取纸基芯片的灰度值。检出限(limit of detection, LOD) (mmol/L)计算见式(1):

$$LOD=K\cdot S_b/M \quad (1)$$

式中: K 取 3, S_b 为纯水重复测定 10 次结果的标准偏差, M 为标准曲线在低浓度范围内的斜率。

(3)抗干扰性能

为探究待测样液中其他常见金属离子是否干扰铁的测定，分别配制了 3 种不同浓度的 Cd^{2+}、Pb^{2+}、Mn^{2+}、Na^{+}、

Mg^{2+}、K^{+}、Ba^{2+}、Al^{3+}、Hg^{2+}、Ca^{2+}、Sn^{2+}、Cu^{2+}和 Cr^{6+}的单个标准溶液(质量浓度分别为 100、10 和 1 mg/L), 以及与以上各单标准溶液浓度相同的同时含有 Fe^{3+} (1 mmol/L)的溶液。取 20 μL 上述各溶液分别滴加于制备好的纸基芯片上, 显色 15 min 后观察并拍照, 记录灰度值, 判断方法的抗干扰性能。

(4)准确度

通过计算样品加标回收率确定方法准确度。采集自来水样和天然湖水样, 天然湖水采样后通过离心或过滤去除水样中的悬浮物。用纸基芯片分别测定水样中铁浓度, 而后向自来水和湖水中分别加入不同浓度的 Fe^{3+}标准溶液, 利用所建立的方法测定样品中铁含量, 根据公式(2)计算纸基芯片检测方法的加标回收率。

加标回收率/%=(加标后测定值–样品本底值)/加标量　(2)

(5)稳定性

制备好足够量的纸基芯片, 将制备好的纸基芯片存放于装有变色硅胶的密闭容器中, 4 ℃避光保存。每次实验前取出芯片, 不同浓度 Fe^{3+}标准溶液(0.1、0.5、1.0 mmol/L)分别在同一日内连续测定 6 次, 连续测定 6 d, 以及连续测定 7 个月(每月测定 1 次), 计算测定结果的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 考察检测方法的稳定性。

1.3.6　实际样品检测

将所建立的方法分别用于自来水、市售补铁液和木耳中铁含量的测定, 并将测定结果与火焰原子吸收光谱法的测定结果进行比较。

自来水采样后可直接测定。天然湖水采样后, 在 8000 r/min 的转速下离心 5 min, 收集上清液, 再将上清液用 0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液待测。补铁液和木耳采用微波消解法进行样品前处理: 分别取 1.00 mL 补铁液或 1.489 g 木耳(粉碎后)放入消解罐中, 加入 5.00 mL 硝酸, 按照表 1 中的步骤对样品进行消解。补铁液和木耳消解后分别定容至 50.0 mL 和 25.0 mL, 混匀备用, 同时做平行双样和消化空白。

表 1　食品样品消解程序

Table 1　Food sample digestion procedure

步骤	升温时间/min	恒温时间/min	设定温度/℃
1	5	5	120
2	5	10	160
3	5	10	180

取 20 μL 待测液滴加在处理好的纸基芯片上, 显色 15 min 后拍照并记录灰度值, 计算样品中铁的含量。此外, 上述待测液同时用火焰原子吸收光谱法进行检测, 比较 2 种方法的检测结果。

1.3.7　火焰原子吸收测定条件

火焰原子吸收采用空气-乙炔火焰原子化系统。仪器条件: 灯电流 15 mA, 检测波长 248.33 nm, 狭缝宽度 0.2 nm。空气流量 10.0 L/min, 乙炔流量 2.5 L/min, 燃烧头高度 3 mm, 重复测定 3 次。

1.4　数据处理

条件优化实验重复测定 3 次, 采用 Microsoft Excel 2019 整理和处理实验数据(计算均值和标准偏差), 使用 Origin 2024 和 Microsoft Power Point 2019 制表和绘图。

2　结果与分析

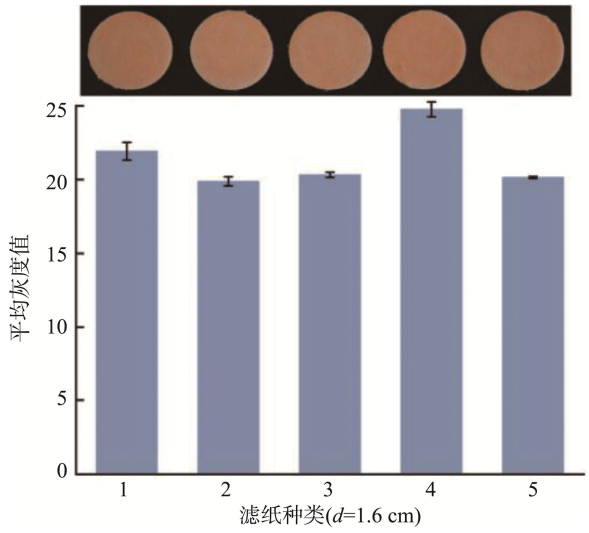
2.1　纸基芯片种类优化

2.1.1　吸水性能考察

向制备好的不同种类的纸基芯片一次性滴加 2、3、4、6、7、8、9 和 10 μL 的蒸馏水。结果发现, 当滴加的蒸馏水分别为 3、7、7 和 10 μL 时, 定量滤纸、定性滤纸、Whatman 1#滤纸、Whatman 4#滤纸观察到有液体扩出的现象。向 Whatman 3#滤纸一次性滴加 10 μL 蒸馏水没有发现蒸馏水扩出, 继续向 Whatman 3#滤纸滴加蒸馏水, 直至滴加蒸馏水的总量超过 20 μL 时, 发现有蒸馏水扩出现象。从以上结果可知, 相同面积的纸基芯片, Whatman 3#滤纸的吸水量最大。

2.1.2　显色性能考察

向制备好的不同种类滤纸(Whatman 1#、3#和 4#滤纸、定性和定量滤纸)分别滴加蒸馏水和 Fe^{3+}标准溶液, 反应后测定其灰度值, 并计算每种滤纸滴加蒸馏水和 Fe^{3+}标准溶液后纸基芯片灰度值的差值。定性滤纸、定量滤纸、Whatman 1#、Whatman 3#和 Whatman 4#滤纸灰度值的差值分别为: 21.933、19.883、20.326、24.769、20.152, Whatman 3#滤纸反应后蒸馏水与 Fe^{3+}标准溶液的灰度值差值最大(图 3)。综合考虑滤纸的吸水和显色性能, 本研究最终选择 Whatman 3#滤纸制备纸基芯片。



注: 1. 定性滤纸; 2. 定量滤纸; 3. Whatman 1#滤纸; 4. Whatman 3#滤纸; 5. Whatman 4#滤纸。

图 3　不同滤纸的平均灰度差值(n=3)

Fig.3　Difference in the average gray value for different filter papers (n=3)

2.2 纸基芯片显色条件优化

2.2.1 1,10-菲啰啉浓度优化

固定其他实验条件不变，用含有不同质量浓度1,10-菲啰啉的混合溶液浸泡纸基芯片，制备好的纸基芯片与 1 mmol/L 的 Fe^{3+}溶液反应。结果发现，混合浸泡液中 1,10-菲啰啉的质量浓度分别为 6.25×10^{-2}、5.00×10^{-1}、4.00、8.00、12.00 g/L 时，反应后纸基芯片的灰度值分别为18.016、19.334、22.063、24.347、21.867，当混合浸泡液中1,10-菲啰啉的质量浓度为 8.00 g/L 时，灰度值最大(图 4)。因此制备纸基芯片时，浸泡混合液中 1,10-菲啰啉的质量浓度为 8.00 g/L。

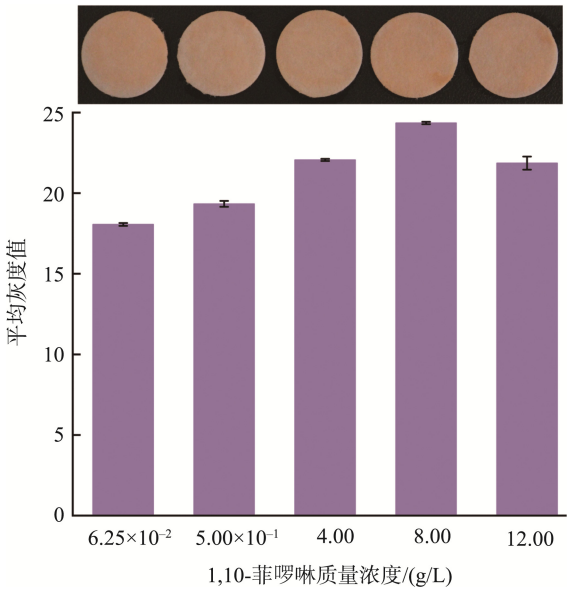


图 4 1,10-菲啰啉质量浓度优化结果(n=3)

Fig.4 Optimization results of 1,10-phenanthroline mass concentration (n=3)

2.2.2 盐酸羟胺浓度优化

制备纸基芯片时，固定其他条件，改变盐酸羟胺的浓度。当混合浸泡液中盐酸羟胺的质量浓度为 0.50、5.00、10.00、20.00、30.00、40.00、50.00、60.00、70.00、80.00 g/L 时，滴加 20 μL Fe^{3+} (1 mmol/L)溶液显色后，纸基芯片的灰度值分别为 18.994、20.037、20.986、21.473、21.123、21.663、23.087、21.290、21.032 和 21.421，从结果可以看出，当混合浸泡液中盐酸羟胺的质量浓度为 50.00 g/L 时，纸基芯片的灰度值最大(图 5)。因此制备纸基芯片时，浸泡混合液中盐酸羟胺的质量浓度为 50.00 g/L。

2.2.3 纸基芯片浸泡时间优化

纸基芯片制备时，不同浸泡时间(1、3、5、10、15、20、25、30 min)对应的灰度值分别为 21.378、23.299、23.176、23.386、23.973、23.623、23.233 和 23.987，浸泡时间为 1 min 时，灰度值最小；浸泡时间为 3~30 min 时，不同浸泡时间纸基芯片的灰度值相差不大(图 6)。因此，本研究最终采用的浸泡时间为 3 min。

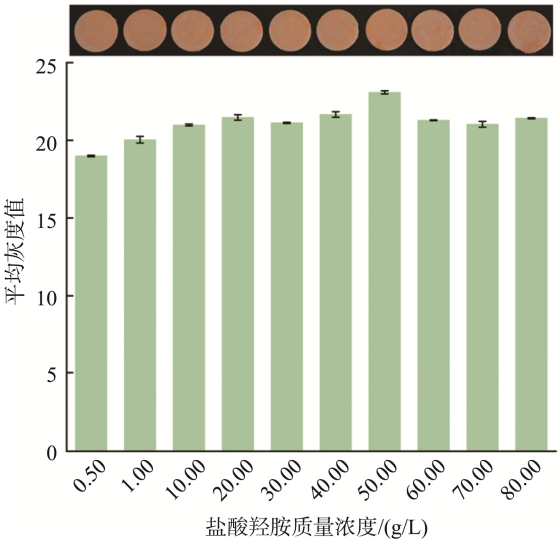


图 5 盐酸羟胺质量浓度优化结果(n=3)

Fig.5 Optimization results of hydroxylamine hydrochloride mass concentration (n=3)

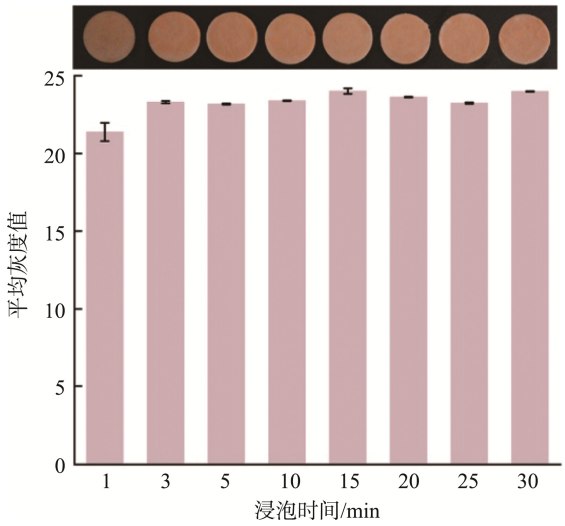


图 6 浸泡时间优化结果(n=3)

Fig.6 Optimization results of soaking time (n=3)

2.2.4 显色时间优化

研究还考察了不同的显色时间对灰度值的影响。从图 7 可以看出，随着显色时间的延长，灰度值也逐渐增加，但当显色时间为 15 min 时，随着显色时间的延长，灰度值没有明显增大。因此，本研究最终选择的显色时间为 15 min。

2.3 方法性能考察

2.3.1 线性范围

如图 8 所示，当铁浓度为 5.00×10^{-3}~5.00×10^{-2} mmol/L 时，裸眼较难观察出颜色变化；当铁浓度超过 0.05 mmol/L

时, 可以看出随着铁浓度的增加, 纸基芯片橙色逐渐加深。不同浓度范围, 铁浓度与灰度值呈良好的线性关系(表 2)。

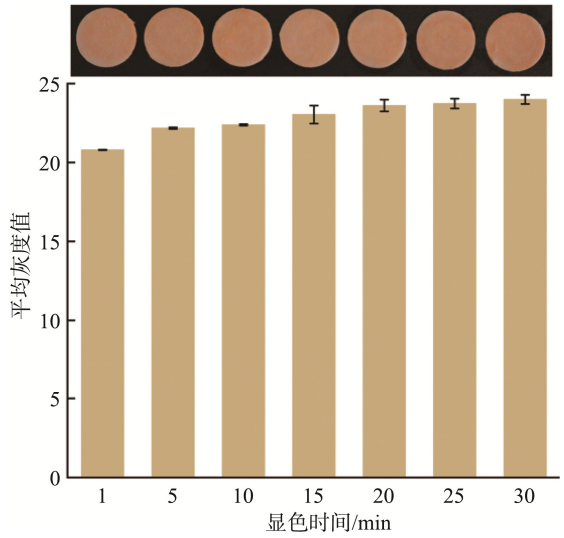


图 7　显色时间优化结果(n=3)

Fig.7　Optimization results of color development time (n=3)

2.3.2　检出限

用所建立的纸基芯片检测方法重复测定纯水 10 次, 根据公式(1)求出方法检出限为 0.004 mmol/L。

2.3.3　抗干扰性能

分别考察了纸基芯片对 13 种金属离子的抗干扰能力, 结果如图 9 所示。裸眼观察检测结果, 待测试样中若只存

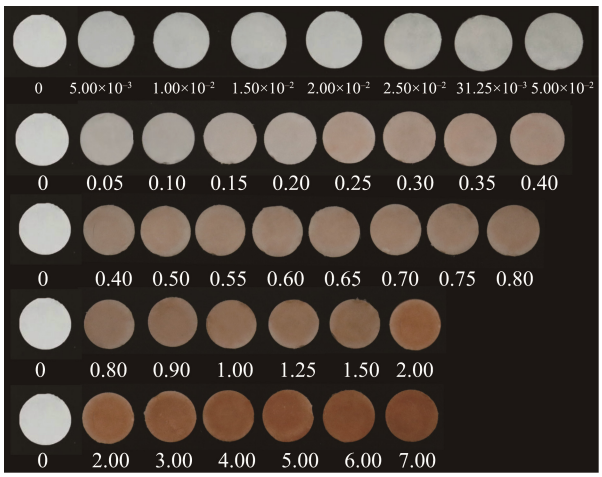


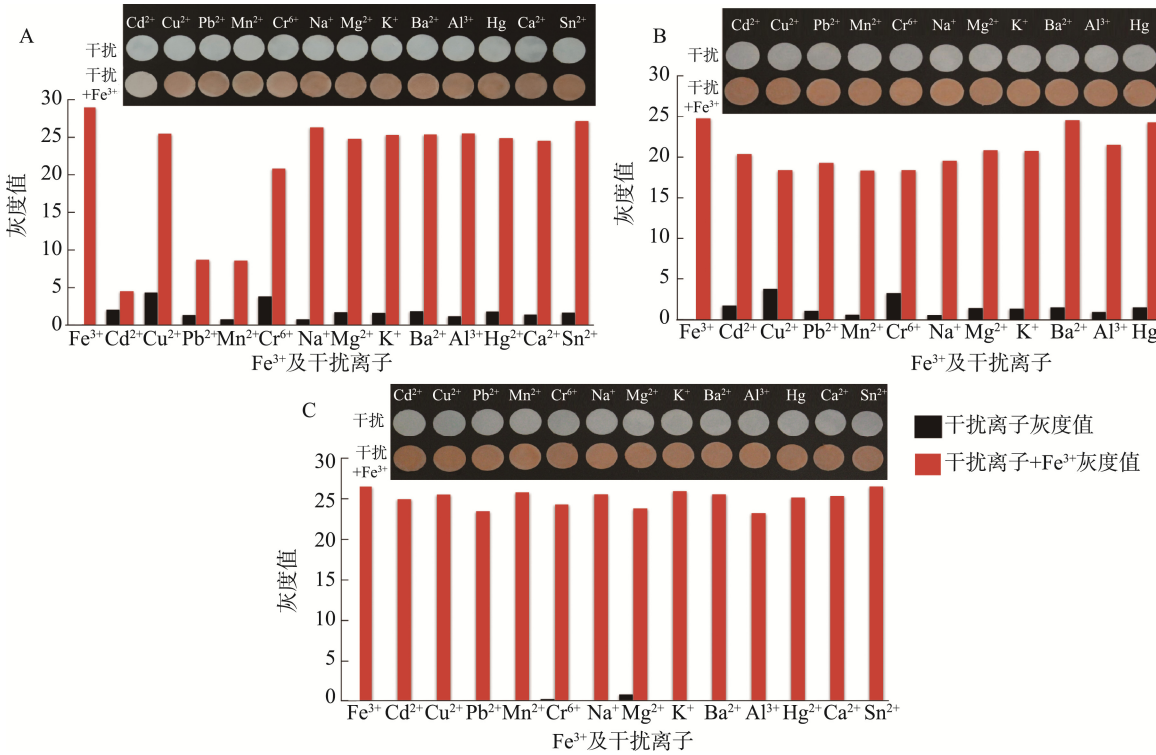
图 8　不同浓度铁纸基芯片显色结果(mmol/L)

Fig.8　Paper-based microfluidic chip test results of different iron concentrations (mmol/L)

表 2　纸基芯片检测铁含量标准曲线

Table 2　Standard curves for iron detection on paper-based microfluidic chip

浓度范围/(mmol/L)	线性方程	相关系数(r^2)
5.00×10^{-3}~5.00×10^{-2}	Y=34.575X+0.5401	0.9922
0.05~0.40	Y=26.107X+0.3227	0.9848
0.40~0.80	Y=15.637X+3.7983	0.9653
0.80~2.00	Y=24.175X–1.4234	0.9914
2.00~7.00	Y=5.3190X+37.557	0.9927



注:　A、B、C 干扰离子的质量浓度分别为 100、10 和 1 mg/L。

图 9　抗干扰实验结果

Fig.9　Anti-interference experiment results

在干扰离子，不论干扰离子浓度高低，纸基芯片仍不变色；如果待测样液中既存在干扰离子又存在 Fe^{3+}，高质量浓度(100 mg/L)的 Cd^{2+}、Cu^{2+}、Pb^{2+}、Mn^{2+}和 Cr^{6+}会明显减弱铁的显色程度。测定反应后纸基芯片的灰度值，当待测试样中只有干扰离子时，其质量浓度超过 10 mg/L，能够读取较小的灰度值，Cu^{2+}和 Cr^{6+}由于自身分别为蓝色和橙红色溶液灰度值较大，当试样中干扰离子的质量浓度超过 10 mg/L 时可能产生假阳性结果；当干扰离子的质量浓度为 1 mg/L 时，除 Mg^{2+}会产生较小的灰度值之外，其他金属离子几乎不产生灰度值。当待测样液中既存在干扰离子又存在 Fe^{3+}时，较高质量浓度(超过 10 mg/L)的干扰离子可能影响测定结果，尤其是高浓度的 Cd^{2+}、Cu^{2+}、Pb^{2+}、Mn^{2+}和 Cr^{6+}；当各干扰离子的质量浓度小于 1 mg/L 时，不会影响 Fe^{3+}的检测，方法抗干扰能力较强。

2.3.4 准确度

分别向自来水样和天然湖水样中加入不同浓度 Fe^{3+}标准溶液，根据检测结果计算加标回收率，如表 3 所示，方法加标回收率在 86.0%~114.7%之间。准确度满足要求。

2.3.5 稳定性

不同质量浓度 Fe^{3+}标准溶液(0.1、0.5、1.0 mmol/L)分别在同 1 d 内连续测定 6 次，连续测定 6 d，以及连续测定 7 个月的结果如图 10 所示。同 1 d 内连续测定 6 次的 RSD 在 1.7%~7.5%，连续 6 d 测定结果的 RSDs 在 3.4%~7.9%，连续测定 7 个月的 RSDs 在 4.3%~13.5%之间。从图 10C 可以看出，当纸基芯片存放超过 3 个月，会使测定结果增大，前 3 个月测定结果的 RSDs 范围在 2.4%~6.7%，建议制备好的芯片在 3 个月内使用。

表 3 加标回收率

Table 3 Adding standard recoveries

水样	本底值/(mmol/L)	加标量/(mmol/L)	加标后测定值/(mmol/L)	加标回收率/%
自来水 1	未检出	0.050	0.043	86.0
自来水 2	未检出	0.500	0.508	101.6
自来水 3	未检出	1.000	0.941	94.1
自来水 4	未检出	5.000	5.733	114.7
湖水 1	未检出	0.050	0.056	112.0
湖水 2	未检出	0.500	0.558	111.6
湖水 3	未检出	1.000	1.013	101.3
湖水 4	未检出	5.000	5.312	106.2

2.4 实际样品检测

实际样品检测结果如表 4 所示。所建立的纸基芯片检测方法与火焰原子吸收法对同一样品检测，结果的相对标准偏差小于等于 2.404%，说明本方法结果可靠。

本研究建立了能够现场快速检测试样中铁含量的纸基芯片检测方法。与现有能够用于现场快速检测的方法进行比较(表 5)，本研究所建立的方法成本较低，需样量少，能够实现试样中铁的定量检测。但由于本方法取样量较少(20 μL)，检出限(0.004 mmol/L)高于其他快速检测方法，在今后的研究中需要解决更低浓度铁现场定量检测的问题。

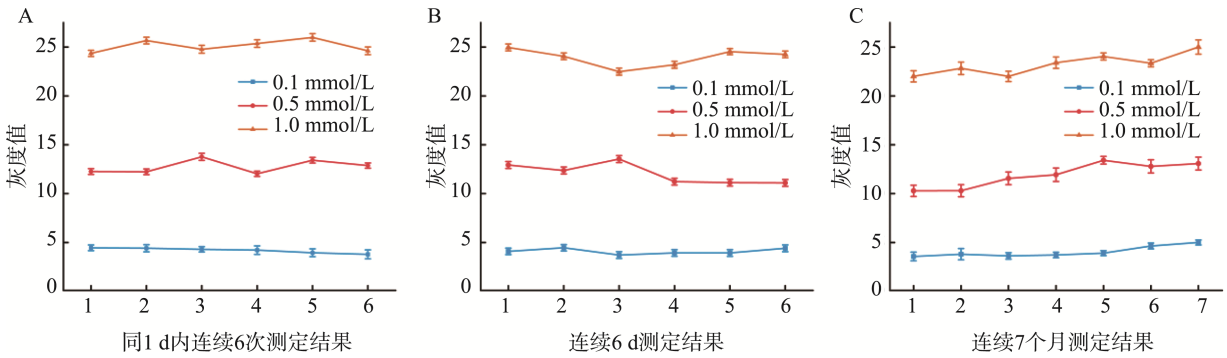


图 10 铁含量纸基芯片检测方法稳定性

Fig.10 Stability of the iron paper-based microfluidic chip detection method

表 4 纸基芯片与火焰原子吸收光度法检测实际样品的结果

Table 4 Results of detecting the actual samples by paper-based microfluidic chip and flame atomic absorption spectrophotometry

样品	纸基芯片检测结果			火焰原子吸收检测结果		均值/(μmol/L)	RSDs/%
	灰度值	标准曲线方程	试样铁浓度/(μmol/L)	标准曲线方程	试样铁浓度/(μmol/L)		
补铁液	3.3120	Y=26.107X+0.3227	114.9	Y=0.0528X+0.00618	117.5	116.2	1.874
木耳	5.5030	Y=26.107X+0.3227	199.1	Y=0.0506X+0.0064	202.5	200.8	2.404
自来水	0.3140	—	未检出	Y=0.0528X+0.00618	未检出	—	—
湖水	0.2190	—	未检出	Y=0.0528X+0.00618	未检出	—	—

注: —表示无法计算。

表 5　纸基芯片法与其他现场铁快检方法的对比

Table 5　Comparison between paper-based chip method and other on-site iron rapid detection methods

编号	试样体积	检测方法	测定范围	价格	来源
1	<10 mL	便携式分光光度计(定量检测)	0.1~3.0 mg/L	—	参考文献[32]
2	15 mL	与标准比色卡比色(半定量)	0.05~1.00 mg/L	150 元/50 次	环凯总铁测定试剂盒
3	10 mL	与标准比色卡比色(半定量)	0.06~0.36 mg/L	—	参考文献[33]
4	25 μL	测定纸基芯片 RGB(定量检测)	0.019~160 μmol/L	—	参考文献[29]
5	20 μL	测定灰度值(定量检测)	5.00×10^{-3}~7.00 mmol/L	—	本研究所建立方法

注: —表示暂未找到相关数据。

3　结　论

本研究基于邻二氮菲显色反应, 制备了能够与铁发生特异性反应并显色的纸基芯片。使用时只需将 20 μL 试样滴加至芯片, 反应后的芯片置于实验室自制平台拍照, 最后利用 Image J 软件读取照片灰度值, 从而实现铁含量准确、快速、低成本的定量检测。本研究筛选了滤纸的种类, 优化了纸基芯片的制备条件和显色时间。选用 Whatman 3#滤纸, 在含有质量浓度为 8.00 g/L 的 1,10-菲啰啉, 50.00 g/L 盐酸羟胺的 pH 为 4.50 的醋酸盐缓冲液(6.3 mmol/L)中浸泡 3 min 制备纸基芯片。在制备好的芯片上滴加 20 μL 试样后显色 15 min 即可拍照检测。当 Fe^{3+}浓度超过 5.00×10^{-2} mmol/L 时, 裸眼可以看出较为明显的橙色; 当 Fe^{3+}浓度为 5.00×10^{-3}~7.00 mmol/L 时, 浓度与灰度值线性关系良好, 检出限为 0.004 mmol/L, 试样中共存小于 1 mg/L 的 Cd^{2+}, Pb^{2+}等 13 种金属离子时, 不影响 Fe^{3+}的测定。方法加标回收率为 86.0%~114.7%, 同 1 d 内连续测定 6 次结果 RSDs 在 1.7%~7.5%, 连续 6 d 测定结果 RSDs 为 3.4%~7.9%, 制备好的纸基芯片在 4 ℃避光条件下至少可保存 3 个月。方法用于实际样品(自来水、湖水、补铁液及木耳)的检测, 其结果与火焰原子吸收光谱法检测结果相对偏差不超过 2.404%。基于纸基芯片检测铁含量方法准确可靠、操作简便、成本低廉, 无需复杂仪器, 为总铁含量现场快速测定提供了一定参考, 在环境监测, 食品检测和疾病诊断等领域具有一定应用潜力。

参考文献

[1] 高少鹏, 安红梅, 王春慧. 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定雪冰中的痕量铁[J]. 中国无机分析化学, 2025, 15(5): 652–658.
GAO SP, AN HM, WANG CH. Determination of trace iron in snow ice by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2025, 15(5): 652–658.

[2] 薛庆海, 董刘敏, 王成军, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定婴幼儿谷类辅助食品中铁含量[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(9): 155–158.
XUE QH, DONG LM, WANG CJ, *et al*. Determination of iron in cereal supplements for infants and young children by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Cereals and Oils, 2023, 36(9): 155–158.

[3] SANTOS NED, FRANCISCO RR, KOLLING L, *et al*. Sequential and simultaneous determination of Pb, Ni, and Fe in dog and cat snacks using direct solids analysis by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. Talanta, 2025, 128436. DOI: 10.1016/j.talanta.2025.128436

[4] 党翠红, 燕群. 火焰原子吸收光谱法测定食品中铁的方法学验证[J]. 食品工业, 2022, 43(2): 312–315.
DANG CH, YAN Q. Methodological validation of flame atomic absorption spectrometry for the determination of iron in foods [J]. The Food Industry, 2022, 43(2): 312–315.

[5] 覃金萍, 唐珍, 张艳芩, 等. 邻二氮菲分光光度法测定补铁剂中的铁含量[J]. 广州化工, 2025, 53(7): 112–115.
QIN JP, TANG Z, ZHANG YL, *et al*. Determination of iron in iron supplements by spectrophotometric method of O-diazophene [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2025, 53(7): 112–115.

[6] LI R, ZHANG H, LENG W, *et al*. Highly-fluorescent extracts from Pterocarpus wood for Fe^{3+} ion detection [J]. Talanta, 2024(277): 126384.

[7] CHEN Y, SUN X, PAN W, *et al*. Fe^{3+}-sensitive carbon dots for detection of Fe^{3+} in aqueous solution and intracellular imaging of Fe^{3+} inside fungal cells [J]. Frontiers in Chemistry, 2020(7): 9–11.

[8] 孙康. 用于重金属离子铁和铬浓度检测的微纳光纤传感器的研究[D]. 太原: 山西大学, 2024.
SUN K. Research on micro-nano fiber optic sensors for heavy metal ions iron and chromium concentration detection [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2024.

[9] CAI Y, ZHANG J, JIANG T, *et al*. Ratiometric fluorescence optical fiber sensing for *on-site* ferric ions detection using single-emission carbon quantum dots [J]. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 2023(72): 1–8.

[10] YAP SHK, CHAN KK, ZHANG G, *et al*. Carbon dot-functionalized interferometric optical fiber sensor for detection of ferric ions in biological samples [J]. ACS Applied Materials & nterfaces, 2019, 11(31): 28546–28553.

[11] LI Z, LI H, SHI C, *et al*. Nanomolar colorimetric quantitative detection of Fe^{3+} and PPi with high selectivity [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2016(159): 249–253.

[12] HOU P, ZHANG X, LU Q, *et al*. Poly (carbazole-co-1, 4-dimethoxybenzene): Synthesis, electrochemiluminescence performance, and application in detection of Fe^{3+} [J]. Polymers, 2022, 14(15): 30–45.

[13] QIU C, LIU H, WANG X, *et al*. Cellulose-based fluorescent chemosensor with controllable sensitivity for Fe^{3+} detection [J]. Carbohydrate Polymers,

2024(346): 122620.

[14] 赵泽宇, 张欣然, 王宗义, 等. 能量色散X射线荧光光谱快速检测干木耳中的铁[J]. 食品工业, 2023, 44(9): 290–293.
ZHAO ZY, ZHANG XR, WANG ZY, *et al*. Rapid determination of iron in dried fungus by energy dispersive X-ray fluorescence spectroscopy [J]. The Food Industry, 2023, 44(9): 290–293.

[15] 潘红蕊, 左玥华, 张闯, 等. 单波长激发能量色散X射线荧光光谱法检测饲料及饲料原料中的铁锰铜锌[J]. 饲料研究, 2024, 47(21): 120–125.
PAN HR, ZUO YH, ZHANG C, *et al*. Determination of iron, manganese, copper and zinc in feed and feed ingredients by single wavelength excitation energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry [J]. Feed Research, 2024, 47(21): 120–125.

[16] MARTINEZ AW, PHILLIPS ST, BUTTE MJ, *et al*. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays [J]. Angewandte Chemie, 2007, 119(8): 1340–1342.

[17] 袁嘉康. 基于核酸等温扩增技术建立猪流行性腹泻病毒和猪 δ 冠状病毒快速检测方法[D]. 新乡: 河南科技学院, 2024.
YUAN JK. Establishment of a rapid detection method for porcine epidemic diarrhea virus and porcine delta coronavirus based on nucleic acid isothermal amplification [D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2024.

[18] WU H, CHEN J, YANG Y, *et al*. Smartphone-coupled three-layered paper-based microfluidic chips demonstrating stereoscopic capillary-driven fluid transport towards colorimetric detection of pesticides [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2022, 414(5): 1759–1772.

[19] YUAN M, LI C, ZHENG Y, *et al*. A portable multi-channel fluorescent paper-based microfluidic chip based on smartphone imaging for simultaneous detection of four heavy metals [J]. Talanta, 2024(266): 125112.

[20] 申浩爽, 李晨, 李欣培, 等. 高灵敏检测生菜中Cd^{2+}的荧光适配体纸基芯片传感器[J]. 食品科学, 2025, 46(11): 327–332.
SHEN HS, LI C, LI XB, *et al*. A fluorescent aptamer paper-based chip sensor for highly sensitive detection of Cd^{2+} in lettuce [J]. Food Science, 2025, 46(11): 327–332.

[21] ZHOU B, HU S, CHEN W, *et al*. Visualized chemiluminescence immunoassay for simultaneous detection of multiple lung cancer markers based on spatially resolved microfluidic paper chip device [J]. Talanta, 2025(295): 128360.

[22] 刘欣星, 郑梦悦, 杨胜, 等. 基于微流控的痕量重金属离子电化学检测系统[J]. 微纳电子技术, 2024, 61(10): 159–165.
LIU XX, ZHENG MY, YANG S, *et al*. Microfluidic-based electrochemical detection system for trace heavy metal ions [J]. Micronanoelectronic Technology, 2024, 61(10): 159–165.

[23] YUAN M, ZHENG CJ, QIAN SQ, *et al*. An ultrasensitive, high throughput paper-based electrochemical chip for real-time detection of multiple heavy metal ions [J]. Microchemical Journal, 2024(204): 111119.

[24] SHARIPOV M, JU TJ, AZIZOV S, *et al*. Novel molecularly imprinted nanogel modified microfluidic paper-based SERS substrate for simultaneous detection of bisphenol A and bisphenol S traces in plastics [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024(461): 132561.

[25] ZHANG T, TANG M, YANG SY, *et al*. Development of a novel ternary MOF nanozyme-based smartphone-integrated colorimetric and microfluidic paper-based analytical device for trace glyphosate detection [J]. Food Chemistry, 2025(464): 141780.

[26] POVES-RUIZ I, AZUAJE-HUALDE E, CORCHADO-GONZALEZ I, *et al*. Autonomous microfluidic device for the naked-eye detection of benzodiazepines in adulterated beverages [J]. Analytica Chimica Acta, 2025(1368): 344309.

[27] 李任杰, 许沁, 蒋军. 荧光探针用于水环境铁离子检测研究进展[J]. 化学通报, 2024, 87(12): 1394–1405.
LI RJ, XU Q, JIANG J. Progress of fluorescent probes for the detection of iron ions in aqueous environments [J]. Chemistry, 2024, 87(12): 1394–1405.

[28] 赵甜甜, 牟冬, 姜薇, 等. 基于纸基微流控芯片快速检测饮用水中铬(VI)含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(1): 308–313.
ZHAO TT, MOU D, JIANG W, *et al*. Rapid determination of chromium(VI) in drinking water based on paper-based microfluidic chip [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(1): 308–313.

[29] SABAH HAJ, SAMEERA SMA, KHALID MO. A novel ratiometric design of microfluidic paper-based analytical device for the simultaneous detection of Cu^{2+} and Fe^{3+} in drinking water using a fluorescent MOF@ tetracycline nanocomposite [J]. Lab on a Chip, 2024, 24(8): 2306–2316.

[30] HU SW, QIAO S, XU BY, *et al*. Dual-functional carbon dots pattern on paper chips for Fe^{3+} and ferritin analysis in whole blood [J]. Analytical Chemistry, 2017, 89(3): 2131–2137.

[31] 刘江, 洪俊华, 王丽娇, 等. 基于智能手机传感器的铁元素含量检测系统研究[J]. 广州化工, 2024, 52(11): 70–72, 89.
LIU J, HONG JH, WANG LJ, *et al*. Research on iron content detection system based on smartphone sensor [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2024, 52(11): 70–72, 89.

[32] 田佩瑶, 于惠芳, 张永, 等. 生活饮用水中铁的现场检测方法研究[J]. 首都公共卫生, 2017, 11(2): 69–73.
TIAN PY, YU HF, ZHANG Y, *et al*. Study on field test method of Fe in drinking water [J]. Capital Journal of Public Health, 2017, 11(2): 69–73.

[33] 温州医科大学. 水中铁离子现场快速检测试剂盒及制备方法: 中国, CN 105987907A[P]. 2016-10-05.
Wenzhou Medical University. On-site rapid detection kit for iron in water and preparation method: China, CN 105987907A [P]. 2016-10-05.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)