

# 用于亚硝酸盐快速检测的三维纸质微流控芯片的制作

肖良品<sup>1,2</sup>, 刘显明<sup>1,3</sup>, 刘启顺<sup>1</sup>, 钟润涛<sup>1,3</sup>, 周小棉<sup>4</sup>, 林炳承<sup>1,3</sup>, 杜昱光<sup>1,3,\*</sup>

(1.中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023; 2.中国科学院大学, 北京 100049;

3.芯片实验室研究中心(中国大连), 辽宁 大连 116023; 4.广州市第一人民医院, 广东 广州 510180)

**摘要:** 选用中速定性滤纸作为纸芯片制作材料, 采用装订法制作三维纸芯片, 以63.4g/L柠檬酸溶液、8.61g/L对氨基苯磺酰胺、2.59g/L *N*-(1-萘基)乙二胺盐酸盐作为显色剂, 结合实验室自制的比色检测装置用于亚硝酸盐的检测。结果表明: 设计制作的三维纸质微流控芯片结合自制的比色检测装置, 可以实现亚硝酸盐的快速定量检测, 在0~10mg/L的质量浓度范围内有良好的线性,  $R^2$ 为0.9920, 最低检测限为2mg/L, 加标回收率为91.4%~102.0%, 制作的亚硝酸盐检测纸芯片比较稳定, 在室温条件下放置7周, 得到的显色结果与新制作的纸芯片的显色结果基本一致。亚硝酸盐检测纸芯片简单易用、成本低、耗样量少、灵敏度较好, 能快速实现亚硝酸盐的检测。

**关键词:** 纸质微流控芯片; 三维; 亚硝酸盐; 快速检测

## Fabrication and Analytical Application of Three-Dimensional Paper-Based Microfluidics for Rapid Detection of Nitrite

XIAO Liang-pin<sup>1,2</sup>, LIU Xian-ming<sup>1,3</sup>, LIU Qi-shun<sup>1</sup>, ZHONG Run-tao<sup>1,3</sup>, ZHOU Xiao-mian<sup>4</sup>, LIN Bing-cheng<sup>1,3</sup>, DU Yu-guang<sup>1,3,\*</sup>

(1. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Research Centre of Laboratory on a Chip (Dalian China), Dalian 116023, China; 4. Guangzhou First Municipal People's Hospital, Guangzhou 510180, China)

**Abstract:** Medium-speed qualitative filter paper was employed to fabricate paper-based microfluidics and 3D paper-based microfluidics were integrated by wax printing-bookbinding method; a nitrite indicator containing 63.4 g/L citric Acid, 8.61 g/L sulfanilamide and 2.59 g/L *N*-(1-naphthyl) ethylenediamine coupled with a lab-prepared colorimetric detection device was used for nitrite determination. The 3D paper-based microfluidics could rapidly test nitrite, and the image acquired was analyzed using a gray model for gray intensity representing the concentration of nitrite. The linear range was 0–10 mg/L, with correlation coefficient of 0.9920. The detection limit of the method was 2 mg/L, and the recovery of nitrite from spiked samples was 91.4%–102.0%. After stored under normal conditions and 4 °C for 7 weeks, the color intensity of the paper-based microfluidics for nitrite detection were little change. The 3D paper-based microfluidics can provide a simple, easy to use, low-cost and sensitive approach for rapid detection of in foods with small sample consumption.

**Key words:** paper-based microfluidics; three-dimension; nitrite; rapid detection

中图分类号: TS207.3

文献标志码: B

文章编号: 1002-6630(2013)22-0341-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201322069

纸质微流控芯片(paper-based microfluidics), 简称纸芯片, 是以纸(如滤纸、色谱纸、硝酸纤维素膜等)作为芯片主要制作材料的一种微流控芯片。纸芯片系统内疏水材料把亲水性的纸材料分割成亲水和疏水相间的区域, 形成纸通道, 并集成了进样、分离、反应、检测等基本操作单元, 以可控流体贯穿整个系统, 实现常规实验室的分析功能。2007年初, 哈佛大学的Martinez等<sup>[1]</sup>首次

制作出纸芯片并提出此概念, 并在制成的纸芯片上完成了BSA和葡萄糖的同时检测。纸芯片具有诸多显著的优点, 如制作简便、成本低廉, 体积小、质量小、便于储存和运输、生物相容性好、样品与试剂消耗少、分析速度快、自身多孔结构可实现样品运输、无需外界驱动力等, 可用于医疗诊断<sup>[2-8]</sup>、环境监测<sup>[9-14]</sup>和食品安全及营养监测<sup>[15-18]</sup>等领域。

收稿日期: 2013-01-30

基金项目: 国家重大科技专项(2013ZX09507005-006-001)

作者简介: 肖良品(1987—), 男, 硕士, 主要从事微流控芯片以及食品安全检测研究。E-mail: lpxiaodicp@foxmail.com

\*通信作者: 杜昱光(1963—), 男, 研究员, 硕士, 主要从事微流控芯片、天然产物与糖工程研究。E-mail: duyug@dicp.ac.cn

三维纸质微流控芯片(three-dimensional paper-based microfluidics), 简称三维纸芯片, 由二维纸芯片在z轴上通过叠加而制成。到目前为止, 三维纸芯片的制作方法主要有3种, 分别是双面胶粘贴法<sup>[19]</sup>、折叠压紧法<sup>[20]</sup>和喷胶粘贴法<sup>[21]</sup>。由于三维纸芯片的制作方法较少, 制作过程较为繁琐耗时, 制作过程中所使用的双面胶或者喷胶都不耐有机溶剂等因素的影响, 三维纸芯片在应用方面的文献报道还比较少, 主要涉及蛋白质和葡萄糖的检测<sup>[19-21]</sup>、流体计时器的制作<sup>[22]</sup>、可控有序诊断设备的制作<sup>[23]</sup>、肿瘤标志物检测<sup>[24-28]</sup>、重金属 $Pb^{2+}$ 和 $Hg^{2+}$ 的检测<sup>[29]</sup>、水中活性磷的检测<sup>[30]</sup>。与二维纸芯片相比, 三维纸芯片具有如下优势: 可将多个实验操作单元集合在很小的1个芯片表面; 可进行多步有序化学反应和多个样品前处理步骤; 可以实现样品或检测试剂的更快扩散。因此, 三维纸芯片具有更广阔的应用前景。

亚硝酸盐是食品加工生产过程中的一种常用食品添加剂, 在肉制品中使用较多, 对肉制品有良好的成色和发色作用, 可抑制肉毒梭状芽孢杆菌的生长, 增强肉的风味<sup>[31]</sup>。亚硝酸盐本身不致癌, 但在烹饪或者其他条件下能与各种氨基化合物反应, 产生致癌的N-亚硝基化合物, 如亚硝胺等<sup>[32]</sup>。亚硝胺是国际上公认的一种强致癌物。另外, 亚硝酸盐在人体内可导致高铁血红蛋白血症<sup>[31]</sup>。因此, 国际上对食品中亚硝酸盐的含量具有严格限制。联合国粮农组织和世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会确定的亚硝酸盐每日膳食允许摄入量为0~0.07mg/kg。GB 18406.3—2001《农产品安全质量无公害畜禽肉安全要求》规定亚硝酸盐限量标准如下: 火腿、腊肠、香肠、广式腊肉中亚硝酸盐含量 $\leq 10\text{mg/kg}$ , 红肠、肉肠、香肠、卤肉和肴肉中亚硝酸盐含量 $\leq 30\text{mg/kg}$ , 酱腌菜中亚硝酸盐含量 $\leq 20\text{mg/kg}$ ; GB 5749—85《生活饮用水卫生标准》规定硝酸盐氮含量 $\leq 20\text{mg/L}$ , 而常用的分光光度法检测硝酸盐的时候也要将其还原为亚硝酸盐。

随着人民生活水平的提高和食品安全意识的增强, 以及国家对食品安全监控力度的加大, 亚硝酸盐已成为食品安全及饮用水检测的重要项目之一<sup>[33]</sup>, 同时也表现出对简单易用、快速、准确检测亚硝酸盐的低成本检测产品的巨大需求。而传统的亚硝酸盐检测方法如分光光度法、离子色谱法等要使用昂贵的检测仪器, 检测设备庞大, 成本高, 检测时间较长, 需要专业的技术人员才能操作。本实验根据化学显色的原理, 旨在制作一种简单易用、低成本、耗样量少和准确度较高的用于快速检测亚硝酸盐的三维纸芯片, 为食品及饮用水中亚硝酸盐的快速检测提供方法借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

慢速定性滤纸、中速定性滤纸(直径180mm)、快速定性滤纸 杭州沃华滤纸有限公司。

N-1-萘基乙二胺二盐酸(分析纯) 天津傲然精细化工研究所; 对氨基苯磺酰胺(分析纯) 北京化学试剂公司; 柠檬酸(分析纯) 天津科密欧化学试剂有限公司; 亚硝酸钠(分析纯) 天津大茂化学试剂厂。

亚硝酸钠标准溶液: 亚硝酸钠在115℃烘箱中干燥至质量恒定后, 称取10mg 溶解定容于100mL容量瓶中, 得到100mg/L亚硝酸钠标准溶液。使用时, 分别稀释至0、1、2.5、5、10、20、30mg/L; 柠檬酸溶液: 称取6.3406g柠檬酸溶解定容于100mL容量瓶中, 得到63.4g/L的柠檬酸溶液; 亚硝酸钠检测试剂<sup>[34]</sup>1#: 含有柠檬酸63.4g/L和对氨基苯磺酰胺8.61g/L。称取0.4306g对氨基苯磺酰胺, 加热溶解于63.4g/L的柠檬酸溶液中, 并用此柠檬酸溶液定容至50mL容量瓶中; 亚硝酸钠检测试剂<sup>[34]</sup>2#: 含N-1-萘基乙二胺二盐酸2.59g/L, 称取0.1296g溶解定容于50mL容量瓶中。

### 1.2 仪器与设备

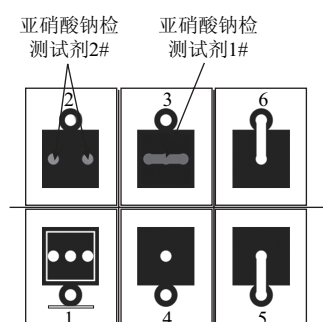
Milli-Q超纯水系统(18M $\Omega$ ) 美国Millipore公司; 8560DN彩色喷蜡打印机 富士施乐(中国)有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 用于检测亚硝酸盐的三维纸芯片的设计与制作

##### 1.3.1.1 三维纸芯片的设计及制作

本实验所用的三维纸芯片由6层纸芯片叠加装订而成。首先, 用CorelDRAW软件设计芯片的结构图案, 其各层面的展开图如图1所示; 然后将设计好的芯片结构图案用喷蜡打印机将固体蜡打印在中速定性滤纸表面; 最后将表面打印有芯片图案的滤纸放入150℃烘箱中烘烤3min, 取出后于室温冷却。



1.显色层; 2、3.试剂固定层; 4.样品传递层; 5、6.进样层。

图1 亚硝酸钠检测用滤纸芯片的结构及亚硝酸钠检测试剂在芯片上的固定位置示意图

Fig.1 The location of the nitrite indicator in the microfluidic device

### 1.3.1.2 亚硝酸钠检测试剂的固定

如图1所示,在芯片的第2层的试剂固定区分别加入5 $\mu$ L亚硝酸钠检测试剂2#,在第3层的试剂固定区加入10 $\mu$ L亚硝酸钠检测试剂1#,于室温晾干。

### 1.3.1.3 三维纸芯片的组装

固定好检测试剂的纸芯片经过折叠装订即得到用于亚硝酸钠检测的三维纸芯片成品,具体步骤如图2所示。

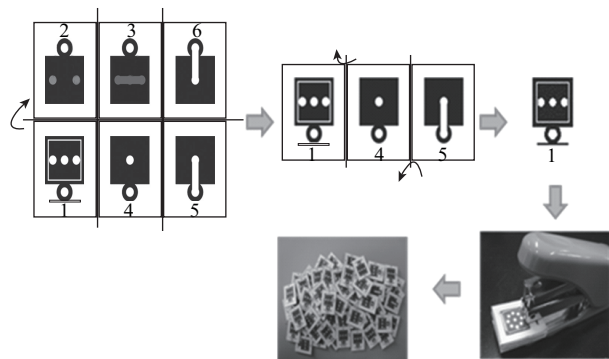


图2 亚硝酸钠检测芯片的组装过程示意图

Fig.2 Schematic of paper-based microfluidic devices fabrication process

### 1.3.1.4 比色检测装置的制备

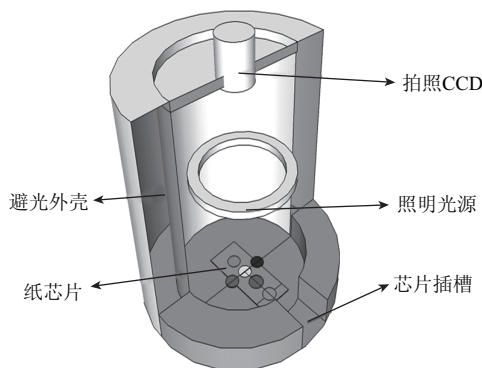


图3 比色检测仪结构示意图

Fig.3 Schematic of the lab-made colorimetric detection by printing-bookbinding method device

用于亚硝酸盐检测的比色检测装置如图3所示,其基本结构包括拍照用的CCD摄像头,内部照明光源及避光外壳。之后,用RGB 3种颜色卡片测试该装置的稳定性。

### 1.3.2 亚硝酸盐检测纸芯片的验证

将0、1、2.5、5、10、20、30mg/L各质量浓度的亚硝酸钠标准溶液30 $\mu$ L加入到制作好的亚硝酸盐检测芯片,然后将芯片放入比色检测装置中,4min时采集芯片图片。然后,用Photoshop CS2处理图片,将图片模式转换为灰度模式,将空白质量浓度的灰度值减去各个质量浓度采集得到的灰度值得到最终的各个检测质量浓度的灰度值,亚硝酸钠溶液的质量浓度与检测区的灰度值相

关。图片分析工作在规模化生产后可以通过分析软件集成完成,会更加简单高效。

## 2 结果与分析

### 2.1 纸芯片材料的选择

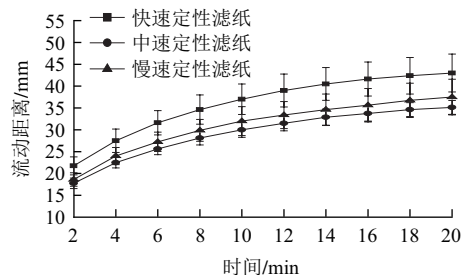


图4 流体在3种滤纸上的流动距离-时间图( $n=4$ )

Fig.4 The curve between the distances ( $L$ ) travelled along the paper channels and time ( $n=4$ )

考察流体在快速、中速、慢速定性滤纸上的流通情况,由图4可以看出,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,选择中速定性滤纸作为芯片的制作材料。

### 2.2 纸芯片烘烤时间的确定

纸芯片的制作过程是通过喷蜡打印机将疏水性的蜡材料打印在滤纸表面,再用加热的方法将滤纸表面的蜡融化,使其渗透到滤纸的背面,从而形成亲水与疏水相间的通道,以达到对流体的控制和分析。考察不同烘烤时间对蜡融化渗透的影响,在滤纸表面打印5mm直径的圆,将其放入150 $^{\circ}$ C烘箱中烘烤,烘烤时间分别为0、1、1.5、2、2.5、3min,并用比色检测装置分析了滤纸表面和背面的灰度值( $n=6$ ),如图5所示。

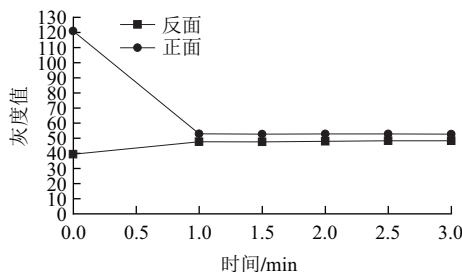


图5 纸芯片烘烤过程中纸表面和背面蜡层灰度随时间的变化图

Fig.5 Gray intensity of the wax on the surface and back of the versus time

由图5可知,随着烘烤时间的延长,滤纸正面的蜡融化向背面渗透,灰度值逐渐降低,而滤纸背面的灰度值逐渐增加,蜡在2min的时候已基本扩散达到平衡,为了使蜡充分融化和扩散,最终确定烘烤时间为3min。



2.3 比色检测装置的稳定性测试

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种颜色的卡片放入比色检测装置中,连续采集图片10次,用Photoshop CS2分别处理3种颜色的图片,同一位置10次的R、G、B值如图6所示。R、G、B值10次的相对标准偏差分别为0.2%、0.3%和0.3%,说明本实验组自制的比色检测装置能满足实验检测的要求。

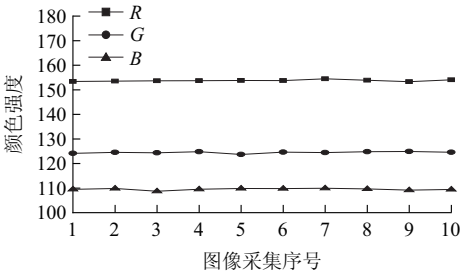


图6 比色检测装置稳定性测试

Fig.6 The stability of the lab-made colorimetric detection device

2.4 比色检测装置图像采集时间的确定

将30mg/L的亚硝酸钠标准溶液加入亚硝酸盐检测芯片中,图像采集时间:前5min为每0.5min采集1次,后10min为每1min采集1次,采集15min。采集得到的图片用Photoshop CS2处理,图像检测区的R值与采集时间的关系如图7所示。从图7可以看出,检测区的颜色值在3~5min之间比较稳定,最终确定加入样品后4min采集显色图像。

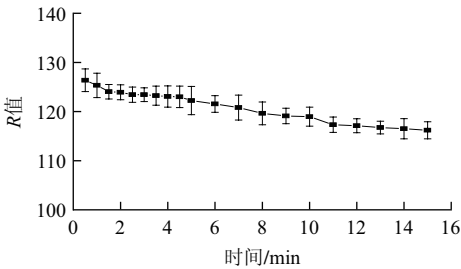


图7 比色检测装置图像采集时间的确定

Fig.7 Image capture time of the colorimetric detection device

2.5 亚硝酸盐检测纸芯片的标准曲线制作

将质量浓度分别为0、1、2.5、5、10、20、30mg/L的亚硝酸钠标准溶液加入芯片中,自加入溶液计时,4min时采集图像,并用Photoshop CS2处理图片。在亚硝酸钠标准溶液质量浓度为0~10mg/L范围内,可拟合得到线性方程 $y=1.745x+1.204$ ,  $R^2=0.9920$ ,最低检测限为2mg/L。

2.6 亚硝酸盐检测芯片的加标回收实验

在实验室的自来水中添加亚硝酸钠标准溶液,添加后的亚硝酸钠质量浓度分别为2.5、10、20mg/L。吸取上

述添加有亚硝酸钠标准溶液的自来水30 $\mu$ L,加入到纸芯片的进样区,4min时采集图片,得到的图片按照1.3.2节步骤处理,结果如表1所示。

表1 加标检测实验结果(n=5)  
Table 1 Recovery of nitrite from spiked samples (n=5)

标准加入量/(mg/L)	加标测得量/(mg/L)	回收率/%
2.5	2.55 $\pm$ 0.45	102.0
10	10.19 $\pm$ 1.54	101.9
20	18.28 $\pm$ 2.28	91.4

2.7 亚硝酸盐检测纸芯片的稳定性

将亚硝酸盐检测纸芯片分别密封放置在4℃冰箱和室温条件下储存7周,考察其添加亚硝酸钠溶液(10mg/L)后的显色强度。

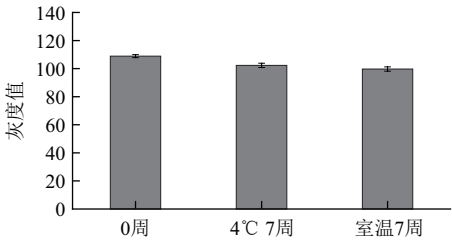


图8 亚硝酸盐检测纸芯片在储存前后的显色稳定性比较(n=6)

Fig.8 The colour stability of the paper-based microfluidics for nitrite detection stored under normal conditions and 4℃ for 7 weeks (n=6)

如图8所示,亚硝酸盐检测芯片在放置7周后,显色强度与新制作的亚硝酸盐检测芯片显色基本一致。在4℃冰箱中显色灰度值下降约6%,在室温条件下显色灰度值下降约8%。由此可以看出,本实验所制备的亚硝酸盐检测纸芯片比较稳定。

3 结论

本实验采用喷蜡打印法,结合装订法制备三维纸芯片,通过在纸芯片的不同层上固定了亚硝酸盐检测试剂,得到用于亚硝酸检测的三维纸芯片,并结合实验室自制的比色检测装置用于亚硝酸盐快速检测的研究。最终确定芯片的制作材料为中速定性滤纸、烘烤时间3min、亚硝酸盐检测时间4min。制作的亚硝酸盐检测纸芯片结合自制的比色检测装置可以实现亚硝酸盐的快速定量检测,具有简便易用、成本低、耗样量少、稳定性及灵敏度较好等优点。

参考文献:

[1] MARTINEZ A W, PHILLIPS S T, BUTTE M J, et al. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2007, 46(8): 1318-1320.  
[2] VELLA S J, BEATTIE P, CADEMARTIRI R, et al. Measuring

- markers of liver function using a micropatterned paper device designed for blood from a fingerstick[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(6): 2883-91.
- [3] LI Miaosi, TIAN Junfei, AI-TAMIMI M, et al. Paper-based blood typing device that reports patient's blood type "in writing"[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(22): 5497-5501.
- [4] SONGJAROEN T, DUNGCHAI W, CHAILAPAKUL O, et al. Blood separation on microfluidic paper-based analytical devices[J]. *Lab on A Chip*, 2012, 12(18): 3392-3398.
- [5] CHEN Xi, CHEN Jin, WANG Fubin, et al. Determination of glucose and uric acid with bienzyme colorimetry on microfluidic paper-based analysis devices[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2012, 35(1): 363-368.
- [6] KHAN M S, THOUAS G, SHEN W, et al. Paper diagnostic for instantaneous blood typing[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(10): 4158-4164.
- [7] MUKHOPADHYAY R. Cheap, handheld colorimeter to read paper-based diagnostic devices[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(21): 8659-8659.
- [8] VEIGAS B, JACOB J M, COSTA M N, et al. Gold on paper-paper platform for Au-nanoprobe TB detection[J]. *Lab on A Chip*, 2012, 12(22): 4802-4808.
- [9] SHI Jianjun, TANG Fan, XING Honglong, et al. Electrochemical detection of Pb and Cd in paper-based microfluidic devices[J]. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2012, 23(6): 1124-1130.
- [10] RATNARATHORN N, CHAILAPAKUL O, HENRY C S, et al. Simple silver nanoparticle colorimetric sensing for copper by paper-based devices[J]. *Talanta*, 2012, 99: 552-557.
- [11] MENTELE M M, CUNNINGHAM J, KOEHLER K, et al. Microfluidic paper-based analytical device for particulate metals[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(10): 4474-4480.
- [12] APILUX A, SIANGPROH W, PRAPHAIRAKSIT N, et al. Simple and rapid colorimetric detection of Hg(II) by a paper-based device using silver nanoplates[J]. *Talanta*, 2012, 97: 388-394.
- [13] HOSSAIN S M Z, BRENNAN J D. Beta-galactosidase-based colorimetric paper sensor for determination of heavy metals[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(22): 8772-8778.
- [14] APILUX A, DUNGCHAI W, SIANGPROH W, et al. Lab-on-paper with dual electrochemical/colorimetric detection for simultaneous determination of gold and iron[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(5): 1727-1732.
- [15] JAHANSAHI-ANBUHI S, CHAVAN P, SICARD C, et al. Creating fast flow channels in paper fluidic devices to control timing of sequential reactions[J]. *Lab on A Chip*, 2012, 12(23): 5079-5085.
- [16] JOKERST J C, ADKINS J A, BISHA B, et al. Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(6): 2900-2907.
- [17] VAHER M, KALJURAND M. The development of paper microzone-based green analytical chemistry methods for determining the quality of wines[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 404(3): 627-633.
- [18] CAI Longfei, WU Yunying, XU Chunxiu, et al. A simple paper-based microfluidic device for the determination of the total amino acid content in a tea leaf extract[J]. *Journal of Chemical Education*, 2012, 90(2): 232-234.
- [19] MARTINEZ A W, PHILLIPS S T, WHITESIDES G M. Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(50): 19606-19611.
- [20] LIU Hong, CROOKS R M. Three-dimensional paper microfluidic devices assembled using the principles of origami[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(44): 17564-17566.
- [21] LEWIS G G, DITUCCI M J, BAKER M S, et al. High throughput method for prototyping three-dimensional, paper-based microfluidic devices[J]. *Lab on A Chip*, 2012, 12(15): 2630-2633.
- [22] NOH H, PHILLIPS S T. Fluidic timers for time-dependent, point-of-care assays on paper[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(19): 8071-8078.
- [23] MARTINEZ A W, PHILLIPS S T, NIE Z, et al. Programmable diagnostic devices made from paper and tape[J]. *Lab on A Chip*, 2010, 10(19): 2499-2504.
- [24] GE Lei, WANG Shoumei, SONG Xianrang, et al. 3D origami-based multifunction-integrated immunodevice: low-cost and multiplexed sandwich chemiluminescence immunoassay on microfluidic paper-based analytical device[J]. *Lab on A Chip*, 2012, 12(17): 3150-3158.
- [25] GE Lei, YAN Jixian, SONG Xianrang, et al. Three-dimensional paper-based electrochemiluminescence immunodevice for multiplexed measurement of biomarkers and point-of-care testing[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(4): 1024-1031.
- [26] WANG Panpan, GE Lei, YAN Mei, et al. Paper-based three-dimensional electrochemical immunodevice based on multi-walled carbon nanotubes functionalized paper for sensitive point-of-care testing[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2012, 32(1): 238-243.
- [27] YAN Jixian, GE Lei, SONG Xianrang, et al. Paper-based electrochemiluminescent 3D immunodevice for lab-on-paper, specific, and sensitive point-of-care testing[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2012, 18(16): 4938-4945.
- [28] ZANG Dejin, GE Lei, YAN Mei, et al. Electrochemical immunoassay on a 3D microfluidic paper-based device[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(39): 4683-4685.
- [29] ZHANG Meng, GE Lei, GE Shenguang, et al. Three-dimensional paper-based electrochemiluminescence device for simultaneous detection of Pb(2+) and Hg(2+) based on potential-control technique[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 41: 544-550.
- [30] JAYAWARDANE B M, MCKELVIE I D, KOLEV S D. A paper-based device for measurement of reactive phosphate in water[J]. *Talanta*, 2012, 100: 454-460.
- [31] 王玲, 王文军, 郝晓宏, 等. 肉制品中亚硝酸盐含量的检测与分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2012(5): 1143-1144.
- [32] 周蓓莉, 肖进文, 刘生峰, 等. 传统腌腊制品中亚硝酸盐的危害及其替代物的研究进展[J]. *中国食品添加剂*, 2012(2): 166-171.
- [33] 张爱武, 范勋涛. 食品中亚硝酸盐半定量快速检测试纸的研制[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2008, 20(1): 71-73.
- [34] TIMOTHY M B, DAVID M R, MICHAELA B, et al. Use of colorimetric test strips for monitoring the effect of hemodialysis on salivary nitrite and uric acid in patients with end-stage renal disease: a proof of principle[J]. *Clinical Chemistry*, 2008, 54(9): 1473-1480.