林业工程学报, 2024,9(4):1-11
Journal of Forestry Engineering
DOI:10.13360/j.issn.2096-1359.202307030

荧光纸基微流控芯片在食品检测领域中的应用

王小英,王玄△,蔡济海*

(华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室,广州 510640)

摘　要:食品安全事故频发,引发全球对食品安全的广泛关注。为了保障食品的质量和安全,研究人员已经开发了各种快速和灵敏的检测方法,用于分析各种食品成分和污染物。纸基微流控芯片(μPADs)是以纸张为主要基版,使生化反应小型化的微实验室分析系统。近年来,μPADs 在芯片设计和功能集成方面发展迅速,因其成本低、样品体积小和携带方便等优点,在快速检测中具有独特的应用潜力,已广泛用于保障食品安全。与其他检测方法相比,基于荧光法的 μPADs 具有选择性好和灵敏度高等优点,能够快速准确地测定目标物,满足现场检测的需求,为食品检测提供理想的解决方案。其在不同的实际应用中显示出广阔的前景,能测定食品中的各种污染物,包括病原微生物(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特菌和副溶血性弧菌)、有害化学物质(农药、苏丹红染料、亚硝酸盐、甲醛和抗生素)和重金属离子(铅、镉、汞、砷、铬)等。笔者介绍了 μPADs 的基本概念,包括纸作为基材的优点以及二维和三维芯片的特点,重点介绍了荧光检测原理以及在食品检测领域中的应用。研究结果将有助于开发和应用更多新型基于荧光分析方法的 μPADs,并为开发准确、灵敏、便捷的食品污染物检测方法提供参考。

关键词:纸基微流控芯片;荧光;食品检测;食品污染物

中图分类号:TS207.3　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:2096-1359(2024)04-0001-11

Application of fluorescent paper-based microfluidic chips in food detection

WANG Xiaoying, WANG Xuan△, CAI Jihai*

(*State Key Laboratory of Pulp & Paper Engineering*, *South China University of Technology*, *Guangzhou* 510640, *China*)

Abstract: Food safety issues have frequently occurred worldwide, which are mainly resulted from all kinds of food contaminants. Up till now, during the practical applications, the quantitative detection of food contaminants has traditionally relied on sophisticated instruments such as liquid chromatography, gas chromatography, ion chromatography, mass spectrometry or combinations of these techniques. They can achieve high detection accuracy and stability. However, these methods are costly and time-consuming, have complicated operation, and use large equipment, making the on-site and rapid screening of a large number of samples difficult. Thus, to ensure the foods in a safe level, researchers are dedicated to develope sensitive and rapid analytical methods for the detection of food contaminants. Paper-based microfluidic chips (μPADs) is a micro-laboratory analytical system that miniaturize biochemical reactions using paper as the main substrate. In recent years, the technology of μPADs has undergone rapid development and provides a feasible, low-cost alternative to traditional rapid tests for detecting harmful compounds. In fact, μPADs were developed rapidly in chip design and functional integration, and widely used to ensure food safety due to the advantages of low cost, small sample size and portability, which have unique potential in rapid detection. Using paper as an inert analytical support, the capillary action of paper allows the solution to flow without external tools, eliminating the need for external pumping for paper sensors and thus limiting the cost of more sophisticated microfluidic devices. Compared to other detection methods, fluorescence-based μPADs have the advantages of good selectivity and high sensitivity, which can quickly and accurately determine the target and meet the needs of on-site detection, providing an ideal solution for food detection. They show great promise in different practical applications and are capable of determining various contaminants in food, including pathogenic microorganisms (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus*), harmful chemicals (pesticides, Sudan red dye, nitrites, formaldehyde and antibiotics) and heavy metal ions (Pb, Cd, Hg, As and Cr). This study introduces

收稿日期:2023-07-31　　**修回日期**:2023-11-08

基金项目:国家自然科学基金(22208114);广州市科技计划基础与应用基础研究项目(202201010178);中国博士后科学基金(2022M721195)。

作者简介:王小英,女,教授,研究方向为生物质基传感材料。王玄为共同第一作者。**通信作者**:蔡济海,男,助理研究员。E-mail:xyw@scut.edu.cn

the basic concepts of μPADs, including the advantages of paper as a substrate as well as the characteristics of two-dimensional and three-dimensional chips, and focuses on the fluorescence detection principle and its application in the field of food detection. The results of this study will contribute to the development and application of more novel μPADs based on fluorescence analytical methods and provide a reference for the development of accurate and sensitive on-site detection methods for food contaminants.

Keywords: paper-based microfluidic chip; fluorescence; food detection; food contaminant

微流控是一种在人工制造的微尺度结构中控制少量流体的技术,利用该技术在微米尺度的芯片上通过微加工集成多个组件以实现加样、分离、反应和检测等功能,被称为“芯片上的实验室”(LOC)[1-2]。微流控系统根据样品流动的动力可以分为主动和被动设备,主动微流体设备需要外加泵使流体通过通道,而被动微流体装置借助通道的物理特性来实现自驱动。在被动微流体系统中,基于纸张的微流控芯片(μPADs)是最有前途的系统之一[3]。利用纸来取代硅、石英、玻璃和高分子聚合物等传统的微流控系统基板,使 μPADs 具有成本低、体积轻巧、设备简单易加工、生物相容性好等特点。对纸进行疏水性图案化以及叠加、折叠等操作,可制备出二维(2D)或三维(3D)结构的μPADs[4],不仅可实现简单的横向流动测试,还可以消耗少量的生化样品进行含多段反应的复杂分析[5-6]。目前在 μPADs 中使用的主要检测方法有比色法、荧光法、电化学法等,其中荧光检测具有高特异性和高准确度的特点,可以对样品进行定性或定量分析。如今已有如有机荧光团、量子点、金属纳米簇和上转化纳米颗粒等多种类型的荧光探针,这些探针具有极好的光学性质且可负载到纸芯片上,已经被开发构建成纸基荧光传感器,并逐渐应用于食品检测领域,推动了食品安全检测技术的发展[7]。

笔者总结了纸基微流控芯片的概念及分类,并以纸基微流控芯片为检测平台,分析相应荧光检测方法的原理,归纳和分析荧光纸芯片在食品安全检测中的应用。

1 纸基微流控芯片简介

2007 年,Martinez 等[8]首次提出基于纸张的微流控芯片,在纸上制备封闭的疏水边界形成微流体通道,通过毛细作用定向输送样品至检测区与底物反应。随后又制备了首个 3D 纸芯片,用于快速检测目标分析物。以纸为基材具有以下优点[4,9-10]:①原料丰富易得、成本低;②材质轻且薄,易于存储和运输;③易加工改性,易于印刷、涂布、改性和切割处理;④可生物降解;⑤具有一定的机械强度,可通过重塑和堆叠构建含多层通道的支撑平台;⑥具有毛细作用,液体可以自发流动,无须外部泵送,避免了传统微流控通道面临的气泡问题。因此,基于 μPADs 的食品检测研究也逐渐兴起,有望成为传统微流控芯片在食品质量控制等领域的替代品。

μPADs 分为 2D 和 3D 芯片。2D-μPADs 是具有多通道的二维平面分析系统[11-12],主要采用光刻、蜡印、等离子处理、喷墨打印、丝网印刷、冲压、湿式蚀刻等方法制备[13]。流体控制通过对芯片加工实现,如改变通道的宽度和长度调节通道内的流体速度[14],在纸上涂覆可极化转变为亲水的疏水电介质或可膨胀聚合物,制作控制通道内流量开关的阀门,以连接或断开流体路径[14-15]。目前,简单的 2D-μPADs 通常只能满足单重检测,需要开发可以实现多重和平行检测的 3D-μPADs,以满足不同条件的检测需求。3D-μPADs 通常是在 2D-μPADs 的基础上沿着垂直方向叠加或折叠制得,兼具水平通道和垂直通道[16],允许纸基板不同层之间的微流体通道连接,从而形成多层流体网络[17],扩展了微流控对流体的处理能力,包括:①容易集成分离和富集等预处理模块;②多流路满足高通量测试需求;③可在不同层中添加多种试剂,以联用独立甚至不相容反应;④具有避光、密封的内部空间,满足内部存储试剂的需要[18]。此外,垂直流动检测速度快、检测灵敏度更高,还消除了沟状效应,避免了横向流动分析结果不准确等问题。

2 荧光纸基微流控芯片的检测原理

使用 μPADs 检测致病微生物、农药残留等食品污染物的应用,这些 μPADs 基于样品滴加后引起的颜色、电化学和荧光等信号变化,实现定量分析。由于荧光信号的灵敏度高,可使用便携的单反相机或手机进行量化,其中基于荧光信号的 μPADs 极具发展潜力[19]。不同的检测方法各自具有优缺点,结果总结于表 1[20-22]。

荧光 μPADs 主要由纸基板、检测探针和读取设备组成,在纸上不仅易构建亲水通道,更重要的是,滴入的样品可以通过毛细作用自发流动到检测区域,无须外部泵送,简化了检测设备和流程。对

目标物的检测方法主要是先将样品滴加到进样区,经过微流控通道进入检测区域并与检测区域的荧光探针进行反应,通过紫外光照以及手持智能设备读出荧光信号,并输出结果。μPADs 的荧光信号来自目标物或附加的荧光功能单体,测量荧光波长和强度,可对样品进行定性或定量分析[12]。大部分目标物本身不发射荧光或荧光很弱,需要标记强荧光的材料,常用的荧光染料有罗丹明和荧光素等,它们通过静电、氢键、亲疏水和共价连接等相互作用与目标物结合。此外,为了提高检测的特异性和灵敏度,荧光染料常与抗体、适配体等结合构建响应性探针。Kapil 等[23]通过原子转移自由基聚合制备了一种生物素化染料共聚物并与抗体或细胞壁结合域偶联,形成强荧光聚合物染料,在金黄色葡萄球菌的生物成像过程中表现出荧光增强和靶向性,具有检测目标 DNA、蛋白质、细菌以及进行生物成像的潜力。负载荧光探针的 μPADs 根据荧光中心的数量可分为单荧光纸芯片和比例荧光纸芯片。单荧光纸芯片将单个发射峰作为检测信号,根据荧光强度的变化对其进行分析和检测[4]。其检测策略可分为 2 种:一种是探针的荧光直接受目标物影响,当其与目标物结合时,引起荧光信号变化,以此来检测目标物[24],与目标物结合的相互作用力包括非共价结合、静电或疏水相互作用、嵌入和共价连接;另一种方法是探针由荧光团和猝灭剂构成,目标物控制两者之间的结合和解离。当靶标不存在时,荧光探针与荧光猝灭材料复合,由于荧光团和猝灭体间的荧光能量转移导致荧光猝灭[25]。相反,当靶标存在时,由于荧光探针的构象变化,荧光探针倾向于形成荧光探针-靶标复合物,从而引发复合材料的解离和荧光探针荧光的恢复[26]。

表 1　不同检测方法的原理及其优缺点

Table 1　Detection principles of different testing methods and their advantages and disadvantages

检测方法	原理	优点	缺点	参考文献
比色法	通过显色底物的催化反应或酶转化,分析颜色产生或颜色变化来检测目标分析物是否存在及其浓度	操作简便,信号读取简单	灵敏度和选择性低	[20]
荧光法	基于抗原和抗体之间或特异性适配体和靶标之间的免疫反应,将目标信号转换为荧光强度,根据产生的荧光强度对样品进行定性或定量测定	反应迅速,准确度好,灵敏度高	容易产生背景干扰	[21]
电化学法	借助电极将溶液中分析物的化学信号转换为电信号,并通过收集和处理电信号来检测待测分析物的成分	灵敏度高,不受环境光影响,受纸张干扰小	检测复杂,成本昂贵	[22]

大多数荧光探针只拥有单一荧光中心,常常存在激发源功率变化或光漂白导致的测量误差问题。为了提高检测的准确性、减少误差,研究者制备了比例型荧光纸芯片(图 1),通过引入 2 种荧光,根据荧光变化的比值实现对目标物的精确定量[27]。

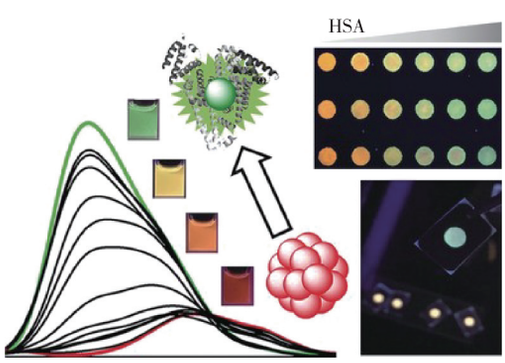


图 1　结合双态发射查尔酮探针的纸质分析装置[27]

Fig. 1　A paper-based analytical device integrated with a dual-state emissive chalcone probe

3　荧光纸基微流控芯片的应用现状

传统的方法如高效液相色谱法、荧光光谱法、紫外可见分光光度法、酶联免疫吸附测定法和化学发光法已被用于食品检测的定量分析中[28]。虽然这些方法高效准确,但往往需要复杂的预处理、较长的准备时间、昂贵的设备和耗时的分离程序,不适合用于现场测量和分析[14]。而荧光 μPAD 不需要昂贵的仪器设备,操作简单,结果可以通过肉眼观察,或者通过图像软件进行分析,可应用于现场即时检测、生产过程监测,有效降低食品安全风险,因而受到越来越广泛的重视[29]。

3.1　检测致病微生物

我国常见的食源性致病菌主要有大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌和副溶血性弧菌等[30]。食源性生物污染物被人体摄入时会影响人体健康,造成恶心、呕吐、腹泻、发热和食物中毒,严重时甚至可导致死亡[31]。食品极易被微生物污染,可以发生在生产、储存、加工或配送的任何食品加工阶段[32]。荧光 μPAD 已应用于致病菌的检测,但相关的研究较少,目前而言构建合适的荧光探针是关键技术,常用的纳米材料

虽然稳定性好,但与致病菌相互作用较弱难以特异性识别,往往不能达到理想的检测限,因此需要复合一些识别元件。抗体、适配体等具有特异性强、识别效果好等特点,是目前荧光 μPAD 识别致病菌的主要识别元件。荧光 μPAD 已用于各种致病菌的检测,开发出更多致病菌对应的抗体和适配体是 μPAD 实现其他致病菌检测的一个方向。

3.1.1 大肠杆菌

大肠杆菌是肠杆菌科中的革兰氏阴性、杆状和兼性厌氧细菌,可引起出血性直肠炎、溶血性尿毒综合征和急性肾功能不全等严重疾病[33-34]。Funes-Huacca 等[35]设计出的 μPADs 可进行细菌富集,对大肠杆菌进行荧光蛋白 mCherry 标记,使得表达 mCherry 的大肠杆菌可被紫外激发并发出荧光,震荡培养后表达 mCherry 的细菌数量在纸上增多,通过测量其荧光强度对标记的大肠杆菌进行定量,在 100 μL 中可测出 1~10 CFU。此外,大肠杆菌的测量也可使用 PrestoBlue 染色完成。除了对细菌进行荧光标记,还可以使用荧光探针直接进行检测。Song 等[36]采用异硫氰酸荧光素(FITC)标记抗原和抗体,制备了一种信号放大横向流动免疫分析(LFIA)的荧光检测试纸,用于检测大肠杆菌 O157:H7。大肠杆菌 O157:H7 与 FITC 孵育结合后形成荧光抗原,其与 FITC-抗体偶联物共同在含大肠杆菌 O157:H7 单克隆抗体的测试线处形成三明治夹心结构,使测试线发出明亮荧光,成功检测出面包、牛奶和果冻食品样品中的大肠杆菌 O157:H7,检测限(LOD)相比 Funes-Huacca 的工作降低到 1 CFU/mL。

除了标记大肠杆菌表达荧光蛋白和使用荧光探针捕获识别,还可以通过酶催化细菌内底物产生荧光信号。Ali 等[37]提出了一种用于大肠杆菌检测的多合一纸基传感器,并开发了高选择性 RNA 切割 DNA 酶(RFDs),RFDs 的无活性形式在与特定细菌的细胞内基质(CIM)中的目标分子相互作用后变构转化为活性形式,以催化荧光底物的裂解,从而产生荧光信号。在各种样品基质中,制备好的 μPAD 能够在接触大肠杆菌后 5 min 内产生荧光信号作为读数,检测限为 100 CFU/mL。由于这些 RFDs 完全由合成 DNA 组成,因此他们比蛋白质和 RNA 对应物更稳定,该 μPAD 储存时可以保持稳定至少 6 个月。

3.1.2 金黄色葡萄球菌

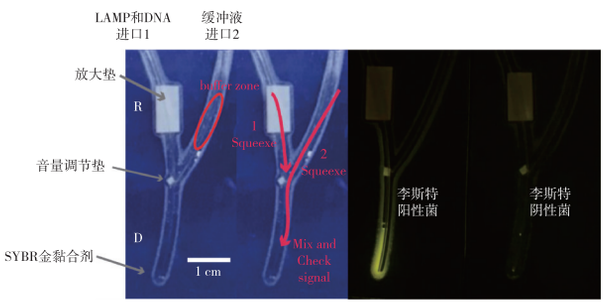
金黄色葡萄球菌是一种常见于人体皮肤和鼻咽部的革兰氏阳性球状细菌,感染后可能会导致多种临床疾病[38]。通常,人体摄入被金黄色葡萄球菌污染的食品后会引起严重的胃肠炎[39]。Pang 等[40]利用环介导等温扩增(LAMP)技术开发了一种自吸聚二甲基硅氧烷(PDMS)/纸混合微流控芯片(SPH 芯片),具有同时检测 8 个样品的能力,弥补了传统 LAMP 不能进行多重检测的不足。金黄色葡萄球菌质粒模板的 LOD 为 21.5 拷贝数/μL,在未进行细菌预富集的情况下,食品污染样品的 LOD 为 1 000 CFU/mL。

3.1.3 沙门氏菌

沙门氏菌极易污染食品和水源,感染后会对人类健康造成损害,在我国细菌性食物中毒的案例中常位于首位[41]。Zuo 等[42]开发了一种用于病原体检测的一步多功能荧光检测方法,该方法组合 PDMS 和纸并搭载“开启型”荧光探针构建 μPAD,荧光适配体功能化的氧化石墨烯生物传感器集成在微流控的纸衬底上,当适配体吸附在氧化石墨烯(GO)表面时,适配体的荧光被猝灭。在目标病原体存在的情况下,病原体诱导适配体从 GO 表面释放,从而恢复适配体的荧光以供检测。该 μPAD 可同时检测金黄色葡萄球菌和肠道沙门氏菌,LOD 分别为 800 和 61 CFU/mL。

3.1.4 单核细胞增生李斯特菌

单核细胞增生李斯特菌是一种引起李斯特菌病的食源性细菌,在生食和加工食品样品中均有发现,包括乳制品、肉类、蔬菜、未经消毒的牛奶和海鲜等[43]。Pisamayarom 等[44]开发了一种层压纸芯片,可用于即食海鲜中单核细胞增生李斯特菌的检测。芯片上的测定基于单核细胞增生李斯特菌 hly 基因的 LAMP 和通过核酸凝胶染料 SYBR Gold™ 的荧光信号检测。单核细胞增生李斯特菌检测芯片的设计及其结构如图 2 所示,LAMP 试剂和 DNA 样品通过进样口 1 导入 R 区进行 DNA 扩增,蓝色 AgNPLs/探针通过进样口 2 导入 D 区用于检测。



注:R为反应部位,D为检测部位。

图 2 单核细胞增生李斯特菌检测芯片的设计及其结构[42]

Fig. 2 Design and structure of a detection chip for *Listeria monocytogenes*

DNA 检测时,首先挤压扩增产物以接触体积调节垫(箭头 1);随后,挤压缓冲溶液以从体积调节垫收集 DNA(箭头 2),并放置在紫外光源上。只有阳性样品在用紫外线(λ = 460 nm)照射时才会产生荧光信号。该方法的检测极限为每 50 g 样品检测 100 拷贝数的 *hly* 基因,使用该芯片进行现场检测的结果与 PCR 一致。

3.1.5　副溶血性弧菌

副溶血性弧菌是海鲜中常见的食源性病原体,常引起海鲜传播的细菌性胃肠炎或食物中毒。除海鲜外,咸菜、咸蛋、淡水鱼等食品中也有检出[45]。因此,μPAD 对预防和控制副溶血性弧菌在食品(特别是海产品)中的污染和传播具有重要意义。Ren 等[46]将碳点(CDs)与氨基修饰的单链 DNA 耦联制备一种捕获探针,由一段连接金纳米粒子(AuNPs)的抗副溶血性弧菌适配体杂交形成双链 DNA,由于 CDs 与 AuNPs 之间的荧光共振能量转移(FRET)作用,CDs 的荧光被淬灭从亮蓝变为无色。副溶血性弧菌存在时,双链 DNA 中的适配体就会解离并与其特异性结合,使得 CDs 与 AuNPs 之间的 FRET 因距离增大而消失,从而恢复 CDs 荧光。该荧光 μPAD 检测的线性范围为 10 ~ 10^6 CFU/mL,对培养液中副溶血性弧菌的检测限为8.9 CFU/mL,对人工污染的鳕鱼样本的检测限为 67 CFU/mL。

3.2　检测食品原料中有害化学物质

3.2.1　农药

作为农业生产的重要组成部分,农药可以保护农作物免受病虫害的侵害。但同时,农药残留会对人体健康产生有害影响。荧光 μPAD 检测农药的机理通常是通过荧光探针与目标物发生能量转移或电子转移导致荧光猝灭,Su 等[47]构建了一种基于荧光法检测除草剂百草枯有效成分甲基紫精的 μPADs,CdTe 量子点作为一种猝灭型荧光探针集成在纸芯片上。当含有甲基紫精离子(MV^{2+})时,μPAD 上检测区域荧光强度变弱,检测限为 0.16 μmol/L。Zhang 等[48]设计了一种压印荧光纸芯片,将 CdTe 量子点接枝在纤维素纸上,并合成分子印迹层,以特异性捕获目标农药 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)。该传感器在 0.12 ~ 2.00 μmol/L 的线性范围内表现出快速识别速率、13.00 μmol/L 的低检测限和 83.1 的印迹因子。在此基础上,Hao 等[49]利用 CdTe 量子点和罗丹明 B 制作出一种比例荧光探针,开发了一种多功能快速比率荧光传感 μPAD 用于检测 2,4-D。结果表明,该 μPAD 对黄瓜样品中 2,4-D 的检测范围为 0.51 ~ 80.00 μmol/L,检出限为 0.17 μmol/L,响应时间仅 10 min。

马昕等[50]构建了一种新型比例荧光印迹 μPAD,以 4-氯-7-硝基-1,2,3-苯并二唑和 3-氨基丙基三乙氧基硅烷的偶联物(NBD-APTES)为对照荧光、半胱氨酸修饰的碳量子点(CDs-Cys)为响应荧光。随着苯醚甲环唑浓度的增加,只有蓝色的 CDs-Cys 荧光强度发生下降,而绿色的 NBD-APTES 荧光值几乎不变,通过猝灭的比值实现抑菌剂苯醚甲环唑的定量检测,LOD 为 75 nmol/L。相较于目前的单一荧光传感器,比率荧光的结合极大地提高了纸基传感器的可视化检测性能。Guo 等[51]开发了红色发光碳点(R-CDs)和智能手机集成的荧光纸基传感器,其检测原理是 R-CDs 通过 π-π 相互作用和光诱导电子转移效应猝灭红色荧光,可用于高选择性和高灵敏度的多菌灵快速检测,检测限为 3.5 ng/mL。

3.2.2　苏丹红染料

在食品和饮料工业中,为使食品色泽鲜艳而添加化学染色剂[52]导致过许多食品安全事件,其中苏丹染料影响广泛,如今许多国家和地区已经禁止将苏丹染料添加到食品中[53]。Chen 等[54]基于羧基甲基壳聚糖接枝聚对二氧环己酮(CMCs-g-PPDO)共聚物纳米荧光胶束,以疏水共轭聚 9,9-二辛基芴(PFO)为包覆层,开发了一种新型胶体纳米探针并负载于指示纸上,用于快速、灵敏测定禁用食品色素苏丹 I,当苏丹 I 加载到检测区时,发生荧光猝灭。其机理可能是由于 CMCs-g-PPDO 强大的电子接受能力,苏丹 I 芳环上的吸电子偶氮基团降低了空 π * 轨道的能量,从而使该化合物成为良好的电子受体,可以通过光致电子转移有效地猝灭荧光。PFO/CMCs-g-PPDO 探针对苏丹 Ⅰ 具有出色的选择性,不被颜色相近的天然色素(β-胡萝卜素和红曲霉素等)所干扰。

3.2.3　亚硝酸盐

亚硝酸盐是食品添加剂,用于防止微生物生长以及抑制脂质氧化。亚硝酸盐能够与仲胺和叔胺发生反应,产生致癌的亚硝胺化合物[55]。除此之外,亚硝酸盐还可将血红蛋白转化为高铁血红蛋白,从而干扰体内的氧转运系统,导致组织缺氧和血压降低[56]。因此,食品和水中的亚硝酸盐监测至关重要。Zheng 等[57]通过简单的一锅和无稳定剂的化学还原方法合成了水溶性、高强度荧光 Cu 纳米簇(Cu NCs)。Cu NCs 选择性地与亚硝酸盐

离子结合,发生荧光猝灭,检测限低至 3.6 nmol/L;并且构建了用于亚硝酸盐检测的便携式纸基传感器,实现水溶液中痕量亚硝酸盐的可视化检测。

3.2.4 甲 醛

甲醛被国际癌症机构正式列为人类致癌物,我国也明令禁止其用作食品添加剂。但由于其防腐和漂白作用,甲醛常被非法商贩用于食品加工。利用 Hantzsch 反应检测甲醛已被用于荧光 μPAD,Guzman 等[58]测量 12 种商业食品样品中的甲醛浓度,与使用传统分光光度法的测量偏差不超过 6.2%。Liu 等[59]也提出了一种由 μPADs 和微型盒检测系统组成的甲醛浓度检测集成平台,使用蜡打印机在商用滤纸上进行图案化从而构建 μPADs。在纸基芯片的反应区域加入乙酰苯胺指示剂,然后将含甲醛的样品滴入反应区,在室温下反应 2 min 生成甲醛-乙酰苯胺配合物(二氢吡啶),通过测量紫外光照射产生的荧光强度得出甲醛浓度。此外,还使用该 μPADs 测量了生姜丝、干木耳、虾干和干蘑菇中甲醛的浓度,结果与使用传统分光光度法获得测量值的偏差不超过 4.7%,证明了所设计的纸质平台的实际适用性。研究者们还开发出许多新型荧光 μPADs 用于实际食品样品中的甲醛检测,如基于 1,8-萘二甲酰亚胺的 NFD 探针[60]、Cu NCs[61]等。

3.2.5 抗生素

过度使用或滥用抗生素会导致其在动物肉和副产品(如奶、蛋等)中蓄积,食用被抗生素污染的食物会导致人体产生耐药性或过敏反应,对人类的健康造成巨大影响[62]。Tong 等[63]开发了一种载有多色荧光纳米探针的激光打印纸基微流控芯片(mCD-μPAD),可在现场快速检测磺胺二甲嘧啶(SMZ)、土霉素(OTC)和氯霉素(CAP)。这些荧光探针由适配体、MoS_2 纳米片和碳点(CD)组成,添加目标抗生素后,可被适配体靶向识别,荧光恢复。使用 3D 打印的便携式检测盒通过智能手机灵敏地感知 μPAD 上恢复的荧光信号。在最佳条件下,该 μPAD 对 SMZ、OTC 和 CAP 快速响应,15 min 即可检测完成,灵敏度分别为0.47,0.48 和 0.34 ng/mL,成功实现水产品中抗生素的同时可视化检测,可广泛用于食品安全的快速检测。Wang 等[64]首次提出了一种双功能分子印迹聚合物(MIP)涂布纸(MIP-CP)传感器,该纸传感器对诺氟沙星(NOR)及其结构类似物具有良好的选择性和强富集能力,线性范围和检测限分别为 10~100 ng/mL 和 2.59 ng/L。此外,通过目视测定的检测限为 0.1 μg/mL。

金属-有机框架(MOFs)因其热稳定性、易表面改性和出色的荧光性能而受到广泛关注,已有多个基于 MOF 的荧光传感器被应用于检测抗生素。Zhang 等[65]采用微波合成了锌(Ⅱ)-三聚氰胺金属有机骨架(Zn-BTC),四环素(TC)类药物在与 Zn-BTC 结合时会产生荧光增强,利用这个性质可区分 TC 类与其他抗生素。将 Zn-BTC 负载到玻璃纤维滤纸上来制备测试纸芯片,可用于可视化检测,检测限为 24 nmol/L。类似地,Jia 等[66]报道了一种基于天然纳米黏土和碳点复合的多色荧光猝灭型纳米传感器用于检测牛奶和蜂蜜中的 TC 含量,铕离子络合物具有较强的红色荧光发射峰,TC 可通过自身的 β-二酮结构与铕离子形成稳定的配合物(Eu-TC),TC 从紫外辐射激发中吸收的能量可通过“天线效应(AE)”有效传递给 Eu^{3+},从而增强 Eu^{3+} 的特征荧光。该传感器可在 0.025~20.000 μmol/L(11.1~8 880.0 μg/L)范围内实现牛奶和蜂蜜样品的线性检测,LOD 为 23.84~27.07 nmol/L,检测范围优于高效液相色谱-质谱法。Yue 等[67]以含 Al(Ⅲ)金属有机骨架(Al-MOF)纳米片为荧光探针,纳米片是一种猝灭型荧光探针,通过内滤效应检测硝基呋喃。并构建了半定量检测硝基呋喃的荧光试纸,成功用于牛奶中硝基呋喃的灵敏目视检测,加标回收率为 88.14%~126.21%,相对标准偏差为 2.85%~8.13%。

3.3 检测重金属离子

重金属污染地区的一些生产作物以及水产养殖会受到一定的污染,在食品的生产加工过程中,生产设备直接与食品原料接触,也有被污染的风险。在各种重金属中,铅(Pb)、镉(Cd)、汞(Hg)[68]、砷(As)[69-70]和铬(Cr)[71-72]等对人体具有高度毒性,重金属在人体中累积达到一定程度,会造成慢性中毒,可导致肌肉抽搐、肾脏疾病、心血管疾病和其他健康问题[73]。即使在微量的浓度下,也很容易通过摄入食物和饮用水在人体内蓄积[74]。根据同时检测重金属离子的种类数量,荧光 μPADs 可分为单重检测和多重检测。

3.3.1 单重检测

单重检测主要依靠荧光探针对重金属离子进行单一特异性识别,设计出的荧光纸芯片一般是 2D 的,也有 3D 纸芯片实现单重多次平行检测。目前大部分研究的荧光探针为猝灭型,即探针荧光在目标物重金属离子存在下会迅速猝灭,形成没有荧光的物质。Guo 等[75]构建了一种搭载硼酸官能

化 MoS_2量子点(B-MoS_2)的荧光纸传感器,B-MoS_2荧光在 Hg^{2+}存在下会迅速猝灭。这是由于 Hg^{2+}促进了芳基硼酸的金属化转移反应,形成没有荧光的有机汞物质。当饮用水中含有低至 10 nmol/L 的 Hg^{2+}时,依然能清楚地观察到纸芯片上的淬灭点。

Thepmanee 等[76]开发了一种巯基丁二酸封端 CdTe(MSA-CdTe)量子点搭载在简单纸基设备用于检测水样中的砷,当有砷存在时,Cd 以砷氢化物的形式与 As 结合,电子从量子点转移到 As,并导致荧光淬灭。系统的检测限为 0.016 mg/L,但是需要将另一个涂有饱和乙酸铅溶液(可以与 S^{2-}、Hg^{2+}和 Pb^{2+}反应)的试纸条 b 放置在检测试纸条的前面,避免涂在纸条 a 上的 MSA-CdTe 量子点受到这些离子的干扰。Liu 等[77]制备出的 Cu 纳米簇(量子产率为 14.6%)比 MSA-CdTe 量子点检测限更低(92.96 nmol/L),可实现地下水中 As(III)的可视化检测。Yang 等[78]通过乙二胺四乙酸(EDTA)盐的一步水热碳化法合成了具有较强的黄色光致发光 CDs,在加入 Cr(Ⅵ)后 CDs 发生荧光淬灭,检测限为 10 μmol/L。将浓缩的 CDs 水溶液滴入滤纸中并自然干燥制备出纸传感器实现可视化检测。但对于实际检测而言,该 μPADs 的检测限会比其黄色 CDs 探针的检测限更高而达不到实际需求。Bezuneh 等[79]制备了相对量子产率为 22%的 N 和 S 共掺杂蓝色荧光石墨烯量子点(N/S-GQDs),Cr(Ⅵ)的检测是基于其对 N/S-GQDs 荧光发光强度的猝灭效应,这种效应是由内滤效应引起的。将其搭载在纸基材上进行 Cr(Ⅵ)检测,检测限为 0.4 μmol/L,这种荧光纸传感器可用于 Cr(Ⅵ)的经济、高效现场检测。此外,还有研究者利用离子印迹技术制备旋转 μPADs,该旋转 μPADs 由基于 CdTe 量子点的离子印迹荧光传感布和 3 层纸组成,可以对 Cr(Ⅵ)进行 4 组检测,每组提供 3 个平行测量,实现 Cr(Ⅵ)的定量测定,LOD 低至 0.26 μg/L[80]。此外,利用荧光猝灭的原理,还有基于荧光距离的 μPADs,利用猝灭荧光的距离反映重金属离子的浓度[81]。

“开启”型荧光纸传感器是当加入可识别重金属离子后,探针荧光被恢复或增强,Patil 等[82]设计了一种基于乙烯基醚化罗丹明(RDV)探针的“开启”型荧光纸传感器。RDV 探针的 LOD 值低至 136 nmol/L,制备出的纸传感器可用于实际水样中 10×10^{-6}水平 Hg^{2+}的检测。

3.3.2　多重检测

除了检测单种重金属离子,多重检测可实现高通量快速检测的特点受到广泛关注。有研究者从设计和调控荧光探针出发实现多种重金属离子同时检测。Liu 等[83]成功制备了一种新型功能金属有机凝胶(MOG)荧光试纸,通过荧光团和分析物之间的共振能量转移和电子转移导致荧光猝灭,从而对 Cr(Ⅵ)和 Fe(Ⅲ)进行分析,检测限分别为 24 nmol/L 和 1.2 μmol/L。Qin 等[84]发现纸质基底上木质素磺酸盐是强荧光背景的主要来源。他们利用纤维素纸“不好”的自发荧光,结合 Mn 掺杂的 ZnS(Mn:ZnS)量子点进行修饰,构建比例荧光纸片,解决了纸基材自身荧光背景对实际检测的干扰,对 Cd^{2+}、Hg^{2+}和 Pb^{2+}的检测限分别达到 1.61,0.01 和 0.02 nmol/L。Patir 等[85]以尿素和 EDTA 为前驱体合成具有蓝色荧光的氮掺杂碳点(NCDs),量子产率为 11.26%。通过荧光“ON-OFF-ON”过程实现 Hg^{2+}和 Cu^{2+}的多重检测,在 Hg^{2+}和/或 Cu^{2+}的存在下,NCD 的荧光被猝灭,有抗坏血酸存在时,Hg^{2+}淬灭的荧光被恢复,而在有柠檬酸三钠的情况下,Cu^{2+}淬灭的荧光被恢复,从而区分 Hg^{2+}和 Cu^{2+},利用该原理成功开发了一种装载 NCDs、抗坏血酸和柠檬酸三钠的 μPADs,Hg^{2+}和 Cu^{2+}的检测限都为 50 μmol/L。适配体也可以用于检测重金属离子,通过其与重金属离子的特异性结合能力,Yuan 等[86]开发了一种简单的多通道荧光纸基传感器,用于同时检测 Pb(Ⅱ)、Hg(Ⅱ)、Cd(Ⅱ)和 As(Ⅲ)4 种重金属。

由于纸张的模型可以很容易地叠加或折叠以形成多路或多层微流体通道,因此,还可通过设计纸芯片结构实现重金属离子的多重检测。近几年有人利用流体横向和垂直流动将纸基材设计成 3D 旋转型,这样可以使内部检测区暴露在激发光下,实现多重检测。Zhou 等[87]首次在 3D 旋转 μPADs 平台上设计了一种新型的离子印迹荧光 ZnSe 量子点(ZnSe QDs),这种旋转设计在样品进入反应区后与底层的 ZnSe QDs 发生反应,导致荧光猝灭,其机理是目标离子(Pb^{2+}或 Cd^{2+})存在时,QDs 表面的伯氨基与目标离子之间会形成 Meisenheimer 复合物,然后 QDs 的光致发光能量会转移到该复合物上,可用于 Cd^{2+}和 Pb^{2+}的特异性和多路检测。他们选用安全无毒的 ZnSe 量子点代替传统 CdTe 量子点,不会对环境造成污染并损害人体健康。该 μPADs 对 Cd^{2+}的线性响应范围为 1~70 μg/L,LOD 为 0.245 μg/L,Pb^{2+}的线性响应范围为 1~60 μg/L,LOD 为 0.335 μg/L。Wang 等[18]也设计了一种风车形 3D-μPAD,通过设计静压平衡入口和

均匀受力的可逆密封,实现了更均匀的流体渗透。样品流入由量子点接枝玻璃纤维纸制成的检测区完成孵育后,依靠风车旋转,内部检测区可以暴露在激发光下,实现 Cu^{2+}、Cd^{2+}、Pb^{2+}和 Hg^{2+}的多重检测。通过荧光猝灭程度反应重金属离子的浓度,检测限分别为 0.25,0.17,0.23 和 0.36 μg/L。

4 结 语

经过十多年的发展,人们对用于食品分析的 μPADs 进行了广泛研究,设计出了多种经济高效的 μPADs。这些以纸张为基板制成的 μPADs,具有许多优点,并且随着 μPADs 的制造方法不断发展,由 2D 图案化、叠加、折叠等技术构建的 3D-μPADs,能够进行多个复杂的生化反应,还可与灵敏度高、选择性好的荧光检测等其他技术结合,将荧光探针搭载在纸基材上,实现快速、现场食品检测,具体结论如下:

1)荧光 μPADs 对目标物的检测方法主要是先将样品滴加到进样区,经过微流控通道进入检测区域并与检测区域的荧光探针进行反应,通过紫外光照以及手持智能设备读出荧光信号,输出结果。其中,致病性微生物、有害化学物质和重金属离子是危害食品安全的主要因素。在检测一种致病微生物时,有必要避免其他微生物的干扰,以获得更准确的结果,具有成本低、易于制备、便携等优势,以纸为基底构建亲水通道还具有毛细作用,使得 μPADs 无须外部泵送,可使样液直达检测区域。

2)μPADs 对致病微生物检测的应用较少,主要是由于难以找到与致病菌结合力强的荧光探针,进而导致特异性和灵敏度较低,目前主要是通过抗体和适配体修饰荧光探针达到高特异性识别,但抗体和适配体价格昂贵且易失活,可能会导致结果不稳定,设计和开发具有相应致病菌识别位点的荧光纳米材料是重要的发展方向。农药和抗生素残留、非法添加工业染色剂等有害化学物质污染食品的情况屡屡发生,使用荧光 μPADs 可对有害物进行监测,保障食品安全,但能够检测的有害化学物质有限,还需要根据结构和性质的不同开发出更多的荧光探针。重金属离子污染也是食品安全面临的严峻挑战,在食品生产经营的过程中都有污染的风险,各种荧光探针和响应策略被开发用于检测一种或多种重金属离子,很多荧光探针对于重金属离子的检测限已经达到 nmol/L 水平,但一种荧光探针容易对多种重金属离子产生响应,需要提高对目标重金属离子的特异性,有利于实际样品的分析。因此,针对不同的样品和检测目标物,需要合理设计荧光探针以及微流控通道,开发出更多便携、快速、灵敏的新型荧光 μPADs。

3)在实际检测过程中,纸芯片的检测限通常比搭载的荧光探针低,如何提高搭载荧光探针后纸传感器的特异性和灵敏度值得关注。此外,对于食品样品尤其是固体食品而言,前处理步骤较为烦琐,将前处理一体化也是未来提高 μPADs 检测效率的一个方向。总的来说,基于 μPADs 的荧光检测方法在食品安全分析中具有广阔的发展前景。

参考文献(References):

[1] KHAN H, AL-GAYEM Q, RICHARDSON A M. A housekeeping prognostic health management framework for microfluidic systems [J]. IEEE Transactions on Device and Materials Reliability, 2017, 17(2): 438-449. DOI: 10.1109/tdmr.2017.2694227.

[2] SANJAY S T, ZHOU W, DOU M W, et al. Recent advances of controlled drug delivery using microfluidic platforms [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2018, 128: 3-28. DOI: 10.1016/j.addr.2017.09.013.

[3] ESPINOSA A, DIAZ J, VAZQUEZ E, et al. Fabrication of paper-based microfluidic devices using a 3D printer and a commercially-available wax filament [J]. Talanta Open, 2022, 6: 100142. DOI: 10.1016/j.talo.2022.100142.

[4] QIN X X, LIU J J, ZHANG Z, et al. Microfluidic paper-based chips in rapid detection: current status, challenges, and perspectives [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2021, 143: 116371. DOI: 10.1016/j.trac.2021.116371.

[5] CATE D M, ADKINS J A, METTAKOONPITAK J, et al. Recent developments in paper-based microfluidic devices [J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(1): 19-41. DOI: 10.1021/ac503968p.

[6] YAKOH A, CHAIYO S, SIANGPROH W, et al. 3D capillary-driven paper-based sequential microfluidic device for electrochemical sensing applications [J]. ACS Sensors, 2019, 4(5): 1211-1221. DOI: 10.1021/acssensors.8b01574.s004.

[7] SONG Y L, LIN B Q, TIAN T, et al. Recent progress in microfluidics-based biosensing [J]. Analytical Chemistry, 2019, 91(1): 388-404. DOI: 10.1021/acs.analchem.8b05007.

[8] 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 Ed in English), 2007, 46(8): 1318-1320. DOI: 10.1002/anie.200603817.

[9] DE OLIVEIRA R A G, CAMARGO F, PESQUERO N C, et al. A simple method to produce 2D and 3D microfluidic paper-based analytical devices for clinical analysis [J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 957: 40-46. DOI: 10.1016/j.aca.2017.01.002.

[10] PARK M, KANG B H, JEONG K H. Paper-based biochip assays and recent developments: a review [J]. BioChip Journal, 2018, 12(1): 1-10. DOI: doi.org/10.1007/s13206-017-2101-3.

[11] CHAPLAN C A, MITCHELL H T, MARTINEZ A W. Paper-based standard addition assays [J]. Analytical Methods, 2014, 6(5): 1296-1300. DOI: 10.1039/c4ay00205a.

[12] LIM H, JAFRY A T, LEE J. Fabrication, flow control, and applications of microfluidic paper-based analytical devices [J]. Molecules, 2019, 24(16): 2869. DOI: 10.3390/mole-

cules24162869.

[13] XIA Y Y, SI J, LI Z Y. Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing: a review[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2016, 77: 774-789. DOI: 10.1016/j.bios.2015.10.032.

[14] RAY R, PRABHU A, PRASAD D, et al. Paper-based microfluidic devices for food adulterants: cost-effective technological monitoring systems[J]. Food Chemistry, 2022, 390: 133173. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.133173.

[15] FU E, DOWNS C. Progress in the development and integration of fluid flow control tools in paper microfluidics[J]. Lab on a Chip, 2017, 17(4): 614-628. DOI: 10.1039/c6lc01451h.

[16] FU X, XIA B, JI B C, et al. Flow controllable three-dimensional paper-based microfluidic analytical devices fabricated by 3D printing technology[J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1065: 64-70. DOI: 10.1016/j.aca.2019.02.046.

[17] WANG K F, WANG M L, MA T, et al. Review on the selection of aptamers and application in paper-based sensors[J]. Biosensors, 2022, 13(1): 39. DOI: 10.3390/bios13010039.

[18] WANG M L, SONG Z H, JIANG Y W, et al. A three-dimensional pinwheel-shaped paper-based microfluidic analytical device for fluorescence detection of multiple heavy metals in coastal waters by rational device design[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 413(12): 3299-3313. DOI: 10.1007/s00216-021-03269-9.

[19] SINGH A T, LANTIGUA D, MEKA A, et al. Paper-based sensors: emerging themes and applications[J]. Sensors, 2018, 18(9): 2838. DOI: 10.3390/s18092838.

[20] MAN Y, BAN M J, LI A, et al. A microfluidic colorimetric biosensor for in-field detection of *Salmonella* in fresh-cut vegetables using thiolated polystyrene microspheres, hose-based microvalve and smartphone imaging APP[J]. Food Chemistry, 2021, 354: 129578. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129578.

[21] WANG B B, WANG Q, JIN Y G, et al. Two-color quantum dots-based fluorescence resonance energy transfer for rapid and sensitive detection of *Salmonella* on eggshells[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2015, 299: 131-137. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2014.10.020.

[22] JIANG H, YANG J, WAN K, et al. Miniaturized paper-supported 3D cell-based electrochemical sensor for bacterial lipopolysaccharide detection[J]. ACS Sensors, 2020, 5(5): 1325-1335. DOI: 10.1021/acssensors.9b02508.

[23] KAPIL K, XU S, LEE I, et al. Highly sensitive detection of bacteria by binder-coupled multifunctional polymeric dyes[J]. Polymers, 2023, 15(12): 2723. DOI: 10.3390/polym15122723.

[24] LIU J W, CAO Z H, LU Y. Functional nucleic acid sensors[J]. Chemical Reviews, 2009, 109(5): 1948-1998. DOI: 10.1021/cr030183i.

[25] MAO T, SHI X T, LIN L Y, et al. Research progress on up-conversion fluorescence probe for detection of perfluorooctanoic acid in water treatment[J]. Polymers, 2023, 15(3): 605. DOI: 10.3390/polym15030605.

[26] CHOI C A, MAZRAD Z A I, LEE G, et al. Boronate-based fluorescent carbon dot for rapid and selectively bacterial sensing by luminescence off/on system[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 159: 1-10. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.06.043.

[27] LUO Z J, LV T, ZHU K N, et al. Paper-based ratiometric fluorescence analytical devices towards point-of-care testing of human serum albumin[J]. Angewandte Chemie (International Ed in English), 2020, 59(8): 3131-3136. DOI: 10.1002/anie.201915046.

[28] GAO N, HUANG P C, WU F Y. Colorimetric detection of melamine in milk based on Triton X-100 modified gold nanoparticles and its paper-based application[J]. Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 192: 174-180. DOI: 10.1016/j.saa.2017.11.022.

[29] BUSA L S A, MOHAMMADI S, MAEKI M, et al. Advances in microfluidic paper-based analytical devices for food and water analysis[J]. Micromachines, 2016, 7(5): 86. DOI: 10.3390/mi7050086.

[30] 费韵洁, 刘元建, 熊晓辉. 食源性致病菌检测技术的发展及研究现状[J]. 生物加工过程, 2023, 21(3): 308-325. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3678.2023.03.010.
FEI Y J, LIU Y J, XIONG X H. Development and present situation of detection techniques for foodborne pathogens[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2023, 21(3): 308-325.

[31] NGUYEN Q H, KIM M I. Nanomaterial-mediated paper-based biosensors for colorimetric pathogen detection[J]. Trends in Analytical Chemistry: TRAC, 2020, 132: 116038. DOI: 10.1016/j.trac.2020.116038.

[32] BANSAL S, SINGH A, MANGAL M, et al. Food adulteration: sources, health risks, and detection methods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(6): 1174-1189. DOI: 10.1080/10408398.2014.967834.

[33] ZHOU F, WANG D H, HU J M, et al. Control measurements of-*Escherichia coli* biofilm: a review[J]. Foods, 2022, 11(16): 2469. DOI: 10.3390/foods11162469.

[34] GELALCHA B D, BROWN S M, CROCKER H E, et al. Regulation mechanisms of virulence genes in enterohemorrhagic *Escherichia coli*[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2022, 19(9): 598-612. DOI: 10.1089/fpd.2021.0103.

[35] FUNES-HUACCA M, WU A, SZEPESVARI E, et al. Portable self-contained cultures for phage and bacteria made of paper and tape[J]. Lab on a Chip, 2012, 12(21): 4269-4278. DOI: 10.1039/c2lc40391a.

[36] SONG C M, LIU J X, LI J W, et al. Dual FITC lateral flow immunoassay for sensitive detection of *Escherichia coli* O157: H7 in food samples[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2016, 85: 734-739. DOI: 10.1016/j.bios.2016.05.057.

[37] ALI M M, BROWN C L, JAHANSHAHI-ANBUHI S, et al. A printed multicomponent paper sensor for bacterial detection[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 12335. DOI: 10.1038/s41598-017-12549-3.

[38] SANCHINI A. Recent developments in phenotypic and molecular diagnostic methods for antimicrobial resistance detection in *Staphylococcus aureus*: a narrative review[J]. Diagnostics, 2022, 12(1): 208. DOI: 10.3390/diagnostics12010208.

[39] RAINERI E J M, ALTULEA D, VAN DIJL J M. Staphylococcal trafficking and infection—From 'nose to gut' and back[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2022, 46(1): fuab041. DOI: 10.1093/femsre/fuab041.

[40] PANG B, FU K Y, LIU Y S, et al. Development of a self-priming PDMS/paper hybrid microfluidic chip using mixed-dye-loaded loop-mediated isothermal amplification assay for multiplex foodborne pathogens detection[J]. Analytica Chimica Acta,

2018, 1040: 81-89. DOI: 10.1016/j.aca.2018.07.024.

[41] 祁迪亚, 孔佳仪, 钱志浩, 等. 食品中不同环境条件对沙门氏菌持留菌形成的影响[J]. 生物加工过程, 2023, 21(1): 91-97. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3678.2023.01.011.
QI D Y, KONG J Y, QIAN Z H, et al. Influence of different food environmental conditions on the formation of *Salmonella* persisters[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2023, 21(1): 91-97.

[42] ZUO P, LI X J, DOMINGUEZ D C, et al. A PDMS/paper/glass hybrid microfluidic biochip integrated with aptamer-functionalized graphene oxide nano-biosensors for one-step multiplexed pathogen detection[J]. Lab on a Chip, 2013, 13(19): 3921-3928. DOI: 10.1039/c3lc50654a.

[43] THOMASEN R S S, DOS SANTOS P T, STERNKOPF L E M, et al. Absence of N-acetylglucosamine glycosylation on *Listeria monocytogenes* wall teichoic acids promotes fatty acid tolerance by repulsion from the bacterial surface [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 897682. DOI: 10.3389/fmicb.2022.897682.

[44] PISAMAYAROM K, SURIYASOMBOON A, CHAUMPLUK P. Simple screening of *Listeria monocytogenes* based on a fluorescence assay via a laminated lab-on-paper chip[J]. Biosensors, 2017, 7(4): 56. DOI: 10.3390/bios7040056.

[45] BAI X X, HU C Y, WANG J, et al. A lanthanide-based high-sensitivity fluorescence method for the on-site rapid detection of thermostable direct hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Journal of Food Protection, 2023, 86(1): 100005. DOI: 10.1016/j.jfp.2022.10.004.

[46] REN Y W, CAO L W, ZHANG X Y, et al. A novel fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based paper sensor with smartphone for quantitative detection of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Food Control, 2023, 145: 109412. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.109412.

[47] SU Y C, MA S H, JIANG K P, et al. CdTe-paper-based visual sensor for detecting methyl viologen [J]. Chinese Journal of Chemistry, 2015, 33(4): 446-450. DOI: 10.1002/cjoc.201400715.

[48] ZHANG Z, MA X, JIA M F, et al. Deposition of CdTe quantum dots on microfluidic paper chips for rapid fluorescence detection of pesticide 2, 4-D[J]. The Analyst, 2019, 144(4): 1282-1291. DOI: 10.1039/c8an02051e.

[49] HAO G Y, ZHANG Z, MA X, et al. A versatile microfluidic paper chip platform based on MIPs for rapid ratiometric sensing of dual fluorescence signals [J]. Microchemical Journal, 2020, 157: 105050. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105050.

[50] 马昕, 郝帼英, 张忠, 等. 环境友好型比率荧光微流控纸芯片快速检测苯醚甲环唑[J]. 中国科学: 化学, 2020, 50(3): 393-405. DOI: 10.1360/ssc-2019-0140.
MA X, HAO G Y, ZHANG Z, et al. Rapid detection of difenoconazole by environmentally friendly ratio fluorescence microfluidic paper chip[J]. Scientia Sinica Chimica, 2020, 50: 393-405.

[51] GUO H P, YANG R Q, LEI D D, et al. Red-emissive carbon dots based fluorescent and smartphone-integrated paper sensors for sensitive detection of carbendazim [J]. Microchemical Journal, 2023, 190: 108586. DOI: 10.1016/j.microc.2023.108586.

[52] SHEN Y, MAO S D, CHEN F, et al. Electrochemical detection of Sudan red series azo dyes: bibliometrics based analysis[J]. Food and Chemical Toxicology, 2022, 163: 112960. DOI: 10.1016/j.fct.2022.112960.

[53] ULLAH A, CHAN M W H, ASLAM S, et al. Banned Sudan dyes in spices available at markets in Karachi, Pakistan[J]. Food Additives & Contaminants Part B, Surveillance, 2023, 16(1): 69-76. DOI: 10.1080/19393210.2022.2100489.

[54] CHEN H, CHEN M W, WANG X H, et al. Self-assembled conjugated polymer/carboxymethyl chitosan grafted poly (p-dioxanone) nanomicelles and their use in functionalized indicator paper for fast and visual detection of a banned food dye[J]. Polymer Chemistry, 2014, 5(14): 4251-4258. DOI: 10.1039/c4py00120f.

[55] WU S S, YIN Z Z, CHEN X H, et al. Electropolymerized melamine for simultaneous determination of nitrite and tartrazine[J]. Food Chemistry, 2020, 333: 127532. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127532.

[56] TROFIMCHUK E, HU Y X, NILGHAZ A, et al. Development of paper-based microfluidic device for the determination of nitrite in meat[J]. Food Chemistry, 2020, 316: 126396. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126396.

[57] ZHENG X J, LIANG R P, LI Z J, et al. One-step, stabilizer-free and green synthesis of Cu nanoclusters as fluorescent probes for sensitive and selective detection of nitrite ions[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 230: 314-319. DOI: 10.1016/j.snb.2016.02.063.

[58] GUZMAN J M C C, TAYO L L, LIU C C, et al. Rapid microfluidic paper-based platform for low concentration formaldehyde detection [J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2018, 255: 3623-3629. DOI: 10.1016/j.snb.2017.09.080.

[59] LIU C C, WANG Y N, FU L M, et al. Microfluidic paper-based chip platform for formaldehyde concentration detection[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 332: 695-701. DOI: 10.1016/j.cej.2017.09.128.

[60] DU H T, ZHANG H Y, FAN Y B, et al. A novel fluorescent probe for the detection of formaldehyde in real food samples, animal serum samples and gaseous formaldehyde [J]. Food Chemistry, 2023, 411: 135483. DOI: 10.1016/j.foodchem.2023.135483.

[61] LIANG M N, SHAO C Y, ZHANG Q, et al. High-performance formaldehyde sensing using paper-based fluorescent copper nanoclusters[J]. IEEE Sensors Journal, 2023, 23(3): 2076-2084. DOI: 10.1109/JSEN.2022.3232695.

[62] EVTUGYN G, PORFIREVA A, TSEKENIS G, et al. Electrochemical aptasensors for antibiotics detection: recent achievements and applications for monitoring food safety[J]. Sensors, 2022, 22(10): 3684. DOI: 10.3390/s22103684.

[63] TONG X Y, LIN X F, DUAN N, et al. Laser-printed paper-based microfluidic chip based on a multicolor fluorescence carbon dot biosensor for visual determination of multiantibiotics in aquatic products[J]. ACS Sensors, 2022, 7(12): 3947-3955. DOI: 10.1021/acssensors.2c02008.

[64] WANG W J, GONG Z J, YANG S W, et al. Fluorescent and visual detection of norfloxacin in aqueous solutions with a molecularly imprinted polymer coated paper sensor[J]. Talanta, 2020, 208: 120435. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120435.

[65] ZHANG S L, YU L, SU P C, et al. Microwave synthesis of zinc-trimesic acid metal-organic framework for visual fluorescence detection of tetracyclines [J]. Chemical Papers, 2022, 76(8):

4777-4786. DOI: 10.1007/s11696-022-02205-0.

[66] JIA L, CHEN R J, XU J, et al. A stick-like intelligent multicolor nano-sensor for the detection of tetracycline: the integration of nano-clay and carbon dots[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 413: 125296. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.125296.

[67] YUE X Y, ZHOU Z J, LI M, et al. Inner-filter effect induced fluorescent sensor based on fusiform Al-MOF nanosheets for sensitive and visual detection of nitrofuran in milk [J]. Food Chemistry, 2022, 367: 130763. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130763.

[68] ORTONE V, MATINO L, SANTORO F, et al. Merging office/filter paper-based tools for pre-concentring and detecting heavy metals in drinking water[J]. Chemical Communications, 2021, 57(58): 7100-7103. DOI: 10.1039/d1cc02481g.

[69] RAVULA R, BHABAK K P, MANDAL T K. User-friendly point of care test device for detection of arsenic in potable water: prototype, design, and artifact[J]. Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering, 2022, 17(5): e2815. DOI: 10.1002/apj.2815.

[70] SULLIVAN C, LU D N, SENECAL A, et al. Voltammetric detection of arsenic (III) using gold nanoparticles modified carbon screen printed electrodes: application for facile and rapid analysis in commercial apple juice[J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129327. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129327.

[71] MUHAMMED A, HUSSEN A, KANETA T. Speciation of chromium in water samples using microfluidic paper-based analytical devices with online oxidation of trivalent chromium[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 413(12): 3339-3347. DOI: 10.1007/s00216-021-03274-y.

[72] SUJATHA S, SIVARETHINAMOHAN R. A critical review of Cr (Ⅵ) ion effect on mankind and its amputation through adsorption by activated carbon[J]. Materials Today: Proceedings, 2021, 37: 1158-1162. DOI: 10.1016/j.matpr.2020.06.351.

[73] MUHAMMAD-AREE S, TEEPOO S. On-site detection of heavy metals in wastewater using a single paper strip integrated with a smartphone[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(6): 1395-1405. DOI: 10.1007/s00216-019-02369-x.

[74] BENDICHO C, LAVILLA I, PENA-PEREIRA F, et al. Paper-based analytical devices for colorimetric and luminescent detection of mercury in waters: an overview[J]. Sensors, 2021, 21(22): 7571. DOI: 10.3390/s21227571.

[75] GUO X R, HUANG J Z, WEI Y B, et al. Fast and selective detection of mercury ions in environmental water by paper-based fluorescent sensor using boronic acid functionalized MoS_2 quantum dots[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 381: 120969. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120969.

[76] THEPMANEE O, PRAPAINOP K, NOPPHA O, et al. A simple paper-based approach for arsenic determination in water using hydride generation coupled with mercaptosuccinic-acid capped CdTe quantum dots[J]. Analytical Methods, 2020, 12(21): 2718-2726. DOI: 10.1039/d0ay00273a.

[77] LIU S, LI Y, YANG C, et al. Portable smartphone-integrated paper sensors for fluorescence detection of As(Ⅲ) in groundwater [J]. Royal Society Open Science, 2020, 7(12): 201500. DOI: 10.1098/rsos.201500.

[78] YANG Y Z, CHEN X M, WANG Y Y, et al. A novel fluorescent test papers based on carbon dots for selective and sensitive detection of Cr (Ⅵ)[J]. Frontiers in Chemistry, 2020, 8: 595628. DOI: 10.3389/fchem.2020.595628.

[79] BEZUNEH T T, FEREJA T H, LI H J, et al. Solid-phase pyrolysis synthesis of highly fluorescent nitrogen/sulfur codoped graphene quantum dots for selective and sensitive diversity detection of Cr(Ⅵ)[J]. Langmuir, 2023, 39(4): 1538-1547. DOI: 10.1021/acs.langmuir.2c02966.

[80] WANG L Y, LI B W, LI J H, et al. An ion imprinting technology-assisted rotational microfluidic hybrid chip for the fluorescence detection of hexavalent chromium ions[J]. The Analyst, 2022, 147(16): 3756-3763. DOI: 10.1039/d2an00896c.

[81] NINWONG B, SANGKAEW P, HAPA P, et al. Sensitive distance-based paper-based quantification of mercury ions using carbon nanodots and heating-based preconcentration[J]. RSC Advances, 2020, 10(17): 9884-9893. DOI: 10.1039/d0ra00791a.

[82] PATIL S K, DAS D. A nanomolar detection of mercury(Ⅱ) ion by a chemodosimetric rhodamine-based sensor in an aqueous medium: potential applications in real water samples and as paper strips[J]. Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 210: 44-51. DOI: 10.1016/j.saa.2018.11.005.

[83] LIU Y, SUN C H, YUAN D, et al. A fluorescent test paper fabricated by *in situ* growth of a functional Zn-MOG for fast and effective detection of Cr(Ⅵ) and Fe(Ⅲ)[J]. Inorganic Chemistry Communications, 2022, 146: 110211. DOI: 10.1016/j.inoche.2022.110211.

[84] QIN X X, ZHANG Z, YANG T, et al. Auto-fluorescence of cellulose paper with spatial solid phrase dispersion-induced fluorescence enhancement behavior for three heavy metal ions detection [J]. Food Chemistry, 2022, 389: 133093. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.133093.

[85] PATIR K, GOGOI S K. Nitrogen-doped carbon dots as fluorescence ON-OFF-ON sensor for parallel detection of copper(Ⅱ) and mercury(Ⅱ) ions in solutions as well as in filter paper-based microfluidic device[J]. Nanoscale Advances, 2019, 1(2): 592-601. DOI: 10.1039/c8na00080h.

[86] YUAN M, LI C, ZHENG Y Z, 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(Pt 2): 125112. DOI: 10.1016/j.talanta.2023.125112.

[87] ZHOU J R, LI B W, QI A J, et al. ZnSe quantum dot based ion imprinting technology for fluorescence detecting cadmium and lead ions on a three-dimensional rotary paper-based microfluidic chip [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 305: 127462. DOI: 10.1016/j.snb.2019.127462.

(责任编辑　李琦)