

doi: 10.12452/j.fxcxb.26042601

可视化比色法结合智能手机成像技术快速检测小麦粉及其制品中的乙酰氧肟酸

黄霁琚^{1,2}, 黄伟璇³, 陈龙轩¹, 陈子健^{1,2*}

(1. 肇庆学院 食品与制药工程学院, 广东 肇庆 526061; 2. 农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(肇庆), 广东 肇庆 526061; 3. 香港城市大学 工学院 电机工程系, 香港 999077)

摘要: 基于乙酰氧肟酸(AHA)可与 Fe^{3+} 形成3:1五元螯合物的特异性络合显色反应(最大吸收波长495 nm), 进而实现AHA定量分析的颜色信号从黄色到红色的转变, 建立了小麦粉及其制品中AHA快速定量分析的吸光度法和智能手机成像法两种检测方法。优化后的最佳条件为pH 7.0、 Fe^{3+} 浓度6.25 mmol/L、反应体积250 μL 。吸光度法在0~4 mmol/L (0~300 mg/L)范围内线性良好($r^2=0.994$), 检出限为0.14 mmol/L (10.36 mg/L); 智能手机成像法通过在线网站读取微孔板RGB值, 经 $\lg(x+n)$ 对数转换优化后, G通道值与AHA质量浓度呈最佳线性关系($r^2=0.994$), 检出限为0.11 mmol/L (8.63 mg/L)。方法对7种常见非法增白剂具有优异抗干扰能力, 加标回收率为80.9%~114%, 相对标准偏差为0.65%~12%。12批次市售样品中仅1批次散装小麦粉检出AHA, 检测结果与液相色谱法一致。所构建的智能手机成像法无需固定化暗盒, 更适用于基层现场快速筛查。

关键词: 小麦粉; 乙酰氧肟酸; 即时检测; 智能手机成像; 比色法

中图分类号: O657.3; S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-10

Rapid Detection of Acetohydroxamic Acid in Wheat Flour and Its Products by Visual Colorimetric Method Coupled with Smartphone Imaging Technology

HUANG Ai-jun^{1,2}, HUANG Wei-xuan³, CHEN Long-xuan¹, CHEN Zi-jian^{1,2*}

(1. School of Food & Pharmaceutical Engineering, Zhaoqing University, Zhaoqing 526061, China; 2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-products (Zhaoqing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhaoqing 526061, China; 3. College of Engineering, Department of Electrical Engineering, City University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China)

Abstract: Based on the specific complexation chromogenic reaction between acetohydroxamic acid (AHA) and Fe^{3+} , which forms a 3:1 five-membered chelate with a maximum absorption wavelength of 495 nm, a color signal transition from yellow to red was achieved for the quantitative analysis of AHA. Two colorimetric detection methods (absorption spectrometry and smartphone imaging) were established for the rapid quantitative determination of AHA in wheat flour and its products. The optimal conditions were determined to be a pH of 7.0, Fe^{3+} concentration of 6.25 mmol/L, and reaction volume of 250 μL . The absorbance was measured at 495 nm, and the calibration curve showed good linearity in the range of 0–4 mmol/L (0–300 mg/L) with a coefficient of determination (r^2) of 0.994 and a limit of detection (LOD) of 0.14 mmol/L (10.36 mg/L). The smartphone imaging method acquires the RGB values of the microplate via a website. After optimization by $\lg(x+n)$ logarithmic transformation, the G channel value exhibited the best linear relationship with AHA mass concentration ($r^2=0.994$), with an LOD of 0.11 mmol/L (8.63 mg/L). The proposed method exhibited excellent anti-interference activity against seven common illegal whitening agents in wheat flour and wheat flour products. Spiked recovery experiments showed that the recoveries ranged from 80.9% to 114%, with relative standard deviations (RSDs) of 0.65% to

收稿日期: 2026-04-26; 修回日期: 2026-06-24

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(32402222); 肇庆市科技创新指导类项目(250729160097282)

* 通讯作者: 陈子健, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全快速检测, E-mail: chen zijian@zqu.edu.cn

12%. Among the 12 batches of commercially available samples, AHA was detected in only one batch of bulk wheat flour, and the results were in good agreement with those of high-performance liquid chromatography. The smartphone imaging method does not require a fixed dark-box device, making it more suitable for rapid on-site screening at the grassroots level.

Key words: wheat flour; acetohydroxamic acid; point-of-care testing; smartphone imaging; colorimetry

乙酰氧肟酸 (AHA) 是一种人工合成的异羟肟酸类化合物, 最初作为脲酶抑制剂用于医药领域治疗尿路感染和肾结石^[1-2], 其作用机制是通过其羟肟酸基团与脲酶活性中心的 Ni^{2+} 形成稳定的五元螯合环, 从而抑制脲酶催化活性^[3-4]。除 Ni^{2+} 外, AHA 也可螯合 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 等其他金属离子。因此, 不法分子将 AHA 非法添加至小麦粉及其制品中, 借助其金属离子螯合作用, 螯合多酚氧化酶活性中心的 Cu^{2+} 等金属离子, 从而抑制该酶的活性, 防止面粉氧化发黑。我国《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760-2024) 未将 AHA 列为允许使用的添加剂^[5], 且国家市场监督管理总局已明确 AHA 为食品非法添加物^[6]。因此, 建立快速、准确、低成本的 AHA 检测技术, 对于打击非法添加行为、保障公众饮食安全、维护食品市场秩序具有至关重要的意义。

目前, 食品中 AHA 的定量检测主要方法包括超高效液相色谱-串联质谱法 (UPLC-MS/MS)^[7]、气相色谱法 (GC)^[8]、拉曼光谱法^[9]、pH 滴定法^[10]、电化学传感法^[11]、分光光度法 (比色法) 等^[12]。仪器分析法具有准确度高、精密度高、重现性好等特点, 但均需将样品送回实验室进行检测, 从样品采集到获得检测结果通常需要数小时甚至数天, 严重滞后于食品安全监管的时效性要求, 无法实现对非法添加行为的现场快速筛查和及时处置。即时检测 (POCT) 技术作为一种新型检测手段, 突破了实验室检测的时空限制, 具有快速、便捷、低成本、易操作、无需专业人员等优势^[13], 能够在采样现场完成样品前处理、反应和检测全过程, 已在食品安全快速检测领域广泛使用^[14-17]。因此, 开发适用于 AHA 的 POCT 检测方法, 可实现现场快速检测并显著提升检测时效性, 扩大检测覆盖面, 实现对小麦粉及其制品中 AHA 非法添加行为的常态化、网格化监管。

食品中 AHA 的 POCT 技术包括拉曼光谱法、pH 滴定法, 电化学传感法、吸光度法等。拉曼光谱法快速无损, 却易受荧光干扰、定量灵敏度有限; pH 滴定法操作简单、成本低廉, 但专属性差, 无法区分结构类似物, 且不适用于复杂基质; 电化学传感法响应迅速、仪器便携, 然而电极重现性和抗干扰能力仍有待提升。相比之下, 比色法作为一种 POCT 技术, 基于乙酰氧肟酸与 Fe^{3+} 形成络合比为 3:1 的五元环螯合物所产生的特征显色反应^[11, 18] (图 1), 具有操作简便、结果直观、成本低廉、便携性好等特点, 且无需昂贵设备, 兼具经济性与实用性, 在批量快速检测中具有突出优势。

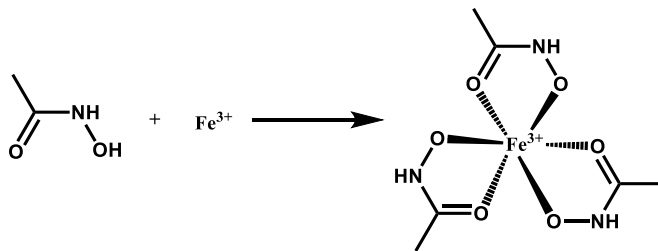


图 1 AHA 与 Fe^{3+} 形成络合比为 3:1 的五元环螯合物^[11, 18]

Fig. 1 Acetohydroxamic acid (AHA) forms a five-membered chelate with Fe^{3+} in a 3:1 ligand-to-metal stoichiometry

AHA 可与 Fe^{3+} 等金属离子产生络合显色反应, 且颜色深浅与浓度在一定范围内成正比。然而, 人眼对单一颜色深浅信号变化不敏感, 难以实现现场肉眼半定量检测。如果存在与目标浓度相关的颜色转变, 视觉检测的准确度可以显著提高^[19]。另一方面, 基于智能手机成像的 POCT 技术凭借其便携性强、普及率高、内置高清摄像头和强大计算能力等独特优势, 在食品安全小分子有害物可视化定量检测领域得到了广泛应用^[20-22]。智能手机摄像头可精准捕捉化学反应产生的颜色变化, 通过图像处理算法将 RGB 颜色信号转化为目标物浓度信息, 实现定量分析^[23-26]。然而, 目前大多数基于智能手机的比色检测系统都需要配备特制的暗盒装置来消除环境光干扰和拍摄角度偏差, 这些暗盒通常采用 3D 打印或定制模具制作^[27-29], 仅能适配特定型号的手机, 通用性差。此外, 部分检测系统还需要下载专用的

手机应用程序，不同操作系统（iOS/Android）之间的兼容性问题也进一步限制了其推广应用。

针对上述技术瓶颈，本研究以 AHA 与 Fe^{3+} 的特异性络合显色反应为基础，利用 Fe^{3+} 可分别与乙醇和 AHA 形成黄色和红色复合物，使 AHA 定量分析的颜色信号发生从黄色到红色的灵敏转变，实现肉眼现场快速半定量检测。本研究采用 96 孔微孔板作为标准化反应载体，结合便携式均光板提供均匀稳定的照明条件，无需专用暗盒即可通过任意型号智能手机在自然光环境下拍摄微孔板图像。同时，本研究开发了一款无需下载安装的在线分析网站，能够自动识别微孔板孔位并读取各孔的 RGB 颜色数值，从而建立小麦粉及其制品中 AHA 的快速定量检测方法，提高了检测时效性，加强了 AHA 监管力度。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

1.1.1 实验材料 AHA 标准品、偶氮二甲酰胺标准品、羟基亚磺酸单钠盐二水合物（吊白块标准品）、间苯二酚标准品、三聚硫氰酸三钠盐二水合物标准品、硫脲标准品、乙二胺四乙酸二钠标准品、亚硫酸钠标准品、色谱级甲醇、三氟乙酸购自上海安谱实验科技股份有限公司；4-羟乙基哌嗪乙磺酸（Hepes）、2-吗啉乙磺酸（MES）、氯化铁、氯化铜、氯化镍购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；冰乙酸、醋酸钠、盐酸、碳酸钠、乙醇购自天津市大茂化学试剂合伙企业；96 孔板购自厦门怡佳美实验器材有限公司。散装和预包装小麦粉及其制品在当地市场购买。

1.1.2 实验仪器 岛津 LC-16 液相色谱仪，岛津企业管理（中国）有限公司；HBS-ScanY 全波长酶标仪，南京德铁生物科技有限公司；ATY124 电子天平，岛津企业管理（中国）有限公司；TGL-15B 超高速离心机，上海安亭科学仪器厂；BL-ZDQ-OA 微量振荡器，北京燕东微电子股份有限公司；SK8200H 超声波发生器，上海科导超声仪器有限公司；Mini-S10V 实验级超纯水系统，南京妙之仪电子科技有限公司。

1.2 金属离子探针种类探究

探究不同金属离子对 AHA 的显色效应。采用 10 mmol/L pH 7.0 Hepes 分别配制氯化铁、氯化铜、氯化镍溶液，浓度均为 2 mmol/L。采用乙醇配制 AHA 标准溶液，浓度为 2 mmol/L。微孔板每孔分别加入 50 μL 上述金属离子溶液和 50 μL 2 mmol/L AHA 标准溶液，振荡均匀后，采用全波长酶标仪扫描其紫外-可见光吸收波长。

1.3 铁离子缓冲液 pH 值优化

分别配制 pH 4.0 和 pH 5.0 醋酸盐缓冲液、pH 6.0 MES 缓冲液、pH 7.0 Hepes 缓冲液、pH 8.0 和 pH 9.0 碳酸盐缓冲液，浓度均为 10 mmol/L。采用上述缓冲液分配配制 2 mmol/L 氯化铁，微孔板每孔分别加入 50 μL 上述不同 pH 值三价铁离子溶液和 50 μL 2 mmol/L AHA 标准溶液，振荡均匀后，采用酶标仪测定 495 nm 处的吸光度（ A_{495} ）。

1.4 铁离子浓度优化

采用 10 mmol/L pH 7.0 Hepes 缓冲液配制 0、1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、100 mmol/L 三价铁离子，分别加入微孔板（50 μL /孔），随后加入 1 mmol/L AHA（50 μL /孔），振荡均匀后，采用酶标仪测定 495 nm 处的吸光度。

1.5 反应体积优化

将 1 mmol/L AHA 和 6.25 mmol/L 三价铁离子等体积混合并加入微孔板，每孔溶液最终总体积分别为 50、100、150、200、250 μL 。振荡均匀后，采用酶标仪测定 495 nm 处的吸光度，以吸光度最高为最佳体积。

1.6 RGB 数值读取及优化

将等体积的 1 mmol/L AHA 溶液与 6.25 mmol/L Fe^{3+} 溶液混合均匀后，分别加入 96 孔微孔板的每个孔中，每孔溶液的最终总体积为 250 μL 。将含有反应液的微孔板分别置于室内灯光、室外日光、均光板 3 种光照环境并拍摄，同时将含有反应液的微孔板置于均光板上，采用不同品牌手机对微孔板进行拍摄。获得的图像均上传至本课题组开发的在线网站 <http://47.112.3.217/>，自动读取各孔 RGB 颜色

数值, 并进行比较。

1.7 方法特异性测定

为评估本方法对 AHA 的特异性识别能力, 选取 7 种常见非法添加的非食品原料增白剂(偶氮二甲酰胺、吊白块、间苯二酚、三聚硫氰酸三钠盐合物、硫脲、乙二胺四乙酸二钠、亚硫酸钠)作为干扰物进行特异性考察。分别用无水乙醇配制浓度为 50 mmol/L 的各干扰物标准溶液, 上述溶液经 10 000 r/min 离心 5 min 后取上清液备用。在 96 孔板中每孔依次加入 125 μ L AHA 标准溶液、空白溶剂(无水乙醇)或上述干扰物上清液, 再加入 125 μ L 6.25 mmol/L Fe^{3+} 溶液, 振荡混匀后, 分别采用智能手机成像法采集图像并读取 RGB 值, 同时用酶标仪测定 495 nm 处的吸光度。

1.8 标准曲线绘制

配制 0、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1、2、4 mmol/L 的 AHA 系列浓度标准溶液, 对应的质量浓度分别为 0、0.75、1.5、3.75、7.5、15、30、45、60、75、150、300 mg/L。每孔分别加入 125 μ L 系列浓度 AHA 标准溶液和 125 μ L 6.25 mmol/L 三价铁离子。振荡均匀后, 分别采用智能手机拍摄图像和酶标仪测定 495 nm 处吸光度, 并拟合标准曲线。以 3 倍信噪比($S/N=3$)对应的浓度作为检出限(LOD), 以 10 倍信噪比对应的浓度作为定量下限(LOQ)。

1.9 实际样品检测

1.9.1 加标回收实验 本研究选取小麦粉、馒头、面条、面皮, 添加量分别 50、150、250 mg/kg。小麦粉直接称量, 馒头、面条、面皮用搅拌器破碎。准确称取 10 g(精确至 0.01 g)样品, 加入 50 mL 离心管中, 随后加入色谱级无水乙醇 10 mL, 涡旋振荡 1 min, 超声提取 10 min 后混匀, 8 000 r/min 离心 5 min 得上清液, 分别采用吸光度法、智能手机成像法和液相色谱法测定 AHA 含量。

1.9.2 液相色谱条件 经“1.9.1”步骤获得的上清液经 0.22 μ m 有机系滤膜过滤, 加入液相色谱瓶备用。使用 C_{18} 色谱柱, 流动相条件为 90% 甲醇+10% 甲酸(0.1%)水溶液; 流速为 0.4 mL/min; 进样体积为 2 μ L; 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长为 191 nm。

1.9.3 盲样测定 从本地市场购买散装和预包装小麦粉及其制品, 分别采用吸光度法、智能手机成像法、液相色谱法测定, 以验证方法实用性和准确性。

2 结果与讨论

2.1 金属离子探针种类探究

AHA 可通过配位作用与金属离子形成稳定络合物并显色。其中, Ni^{2+} 为脲酶活性中心离子, AHA 可通过与 Ni^{2+} 形成配位键抑制脲酶活性, 因此, 本研究选取 Ni^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 为探针离子, 探究并比较其对 AHA 的显色作用, 结果如图 2 所示。除孔 1 和孔 2 外, 孔 3~孔 6 均无明显颜色变化。其中孔 1 的 Fe^{3+} 溶液呈现微弱黄色, 原因在于 AHA 溶剂为乙醇, Fe^{3+} 从八面体构型的水合/醇合离子 $[\text{Fe}(\text{EtOH})_6]^{3+}$ 直接转化为四面体构型的 $[\text{FeCl}_4]^{-}$, 该离子在 318 nm 和 360 nm 附近有特征吸收峰, 使溶液呈现黄色^[30]。此外, 孔 2 呈明显红色, 于 495 nm 处存在最大吸收峰, 其原因在于 AHA 与 Fe^{3+} 定量形成稳定的红褐色络合物。因此选用 Fe^{3+} 为显色探针, 可实现 AHA 颜色信号由黄色向红色的转变响应。

2.2 铁离子缓冲液 pH 值优化结果

铁离子缓冲液 pH 值优化结果如图 3 所示。随着缓冲液 pH 值升高，其吸光度呈现先上升后下降的趋势。文献报道中，AHA 与铁离子的显色反应通常在较强酸性条件下进行，以抑制 Fe^{3+} 水解并维持 AHA 的适宜配位形态。本研究中 AHA 采用乙醇配制，铁离子则由不同 pH 值的缓冲水溶液配制，形成水-乙醇混合溶剂体系。该混合体系中的乙醇分子可与 Fe^{3+} 配位生成稳定的醇合离子，有效阻止 Fe^{3+} 在中性条件下的水解沉淀。同时，乙醇的引入影响了 AHA 的酸解离平衡及配位过程，使得 AHA 在 pH 7.0 附近仍能高效与 Fe^{3+} 形成稳定的红色络合物。此外，在碱性条件下（pH 8.0 和 9.0），尽管乙醇溶剂对 Fe^{3+} 的水解有一定抑制作用，但随着 pH 值升高， OH^- 浓度大幅增加， Fe^{3+} 仍与 OH^- 优先发生反应，生成氢氧化铁（ $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ）胶体或沉淀，从而消耗参与显色的 Fe^{3+} 离子，使红色络合物的生成量减少。另一方面，强碱性环境可能促使 AHA 分子发生去质子化甚至降解，削弱其与 Fe^{3+} 的配位能力。因此，在本体系下最佳显色 pH 值为 7.0，这是溶剂效应对金属-配体配位平衡综合调控的结果。

2.3 铁离子浓度优化结果

铁离子浓度优化结果如图 4 所示。随着铁离子浓度升高，溶液在 495 nm 处的吸光度逐渐增强，溶液颜色由无色变为红色，进而转为黄色（图 4A）。当 Fe^{3+} 浓度过高时，溶液呈橙黄色。因此为实现 AHA 颜色信号从黄色向红色的转变响应，需控制 Fe^{3+} 浓度使溶液保持红色。然而，传统吸光度检测法无法直接表征溶液的颜色转变信号，本研究采用智能手机采集微孔板图像，并读取微孔溶液的 RGB 颜色信号值。如图 4B 所示，B 值随 Fe^{3+} 浓度升高呈逐渐下降趋势；而 R 值和 G 值则先显著下降，后略有上升，在 Fe^{3+} 浓度为 6.25 mmol/L 处出现拐点。此外，微孔板图像显示， Fe^{3+} 浓度为 6.25 mmol/L 时溶液仍保持红色，此后随浓度增加逐渐转变为黄色。因此，选用 6.25 mmol/L 作为最佳铁离子浓度。

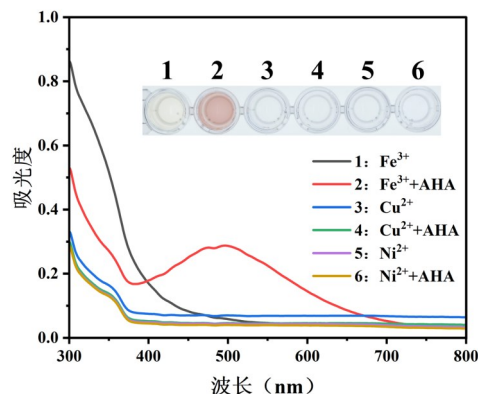


图2 AHA 与不同金属离子探针显色结果
Fig. 2 Color development results of AHA using different metal-ion probes

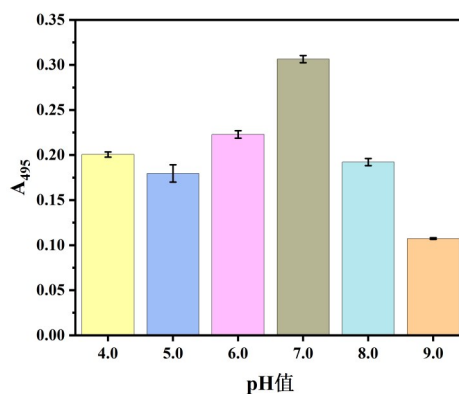


图3 pH 值条件优化
Fig. 3 Optimization of the pH value

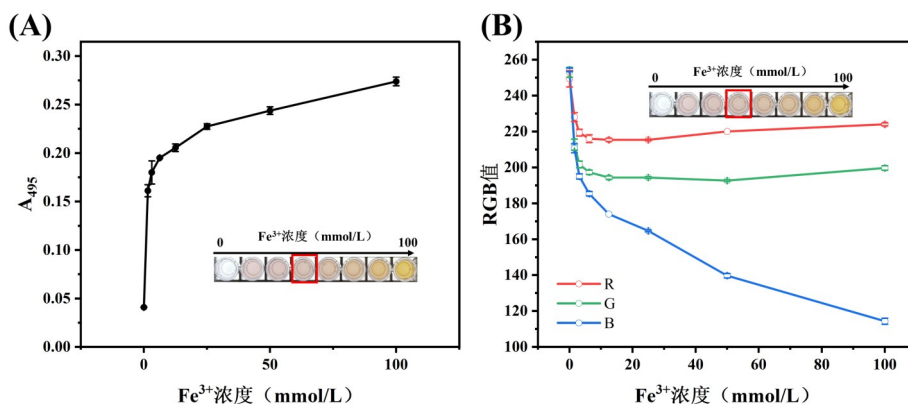


图4 溶液吸光度 (A) 及 RGB 值 (B) 随铁离子浓度的变化
Fig. 4 Variation in solution absorbance (A) and RGB value (B) with iron-ion concentration

2.4 溶液体积优化结果

溶液体积直接影响吸光度信号强度。研究结果显示，随着溶液体积增加，吸光度逐渐上升，并在 250 μL 时达到最大。根据比尔-朗伯定律，吸光度与光程长度（即溶液的液柱高度）成正比，体积增

大使液柱升高, 光程增加, 导致吸光度增强。考虑到微孔总体积为 350 μL , 继续增大溶液体积可导致溶液溢出且增加检测成本, 因此选用 250 μL 为最佳溶液体积。

2.5 光照环境优化及不同品牌手机结果对比

光照环境优化结果如图 5A 所示。将含有反应液的微孔板分别置于 3 种光照环境下读取 R、G、B 颜色值, 各组平均值无明显差异。但室内灯光组和室外日光组的误差明显大于均光板组。这可能是由于室内灯光和室外日光的光源位于微孔板上方, 容易因阴影等因素造成光照不均匀。而均光板置于微孔板下方, 能提供较强且均匀的背光, 减少了上方光源的干扰, 使各孔均匀透光, 因此误差较小。故选择均光板作为最佳光照环境。

不同品牌手机的摄像头参数存在差异, 可能导致拍摄结果不同。不同品牌手机拍摄结果的比较如图 5B 所示。使用不同品牌手机对含有反应液的微孔板进行拍摄并读取 R、G、B 颜色值, 除 vivo 和 OPPO 手机测得数值偏高外, 其余手机的平均值无明显差异, 表明该方法可适用于大部分手机品牌。此外, 由于本检测方法采用外标法进行定量, 可进一步降低不同手机摄像头参数差异带来的影响。

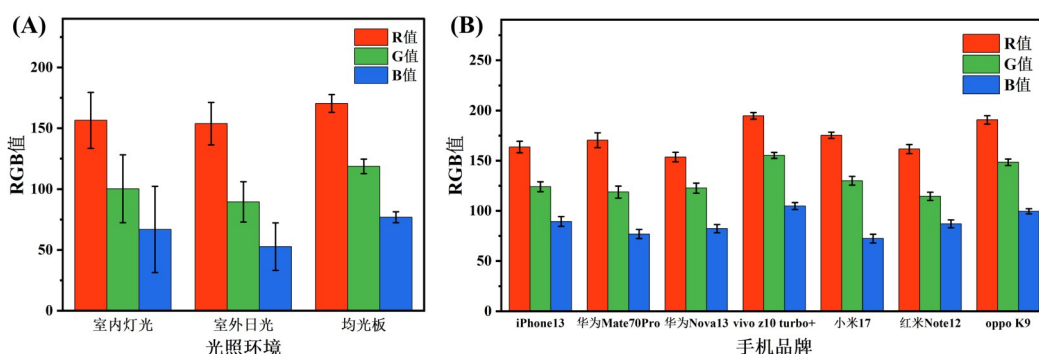


图 5 光照环境优化 (A) 及不同品牌手机拍摄结果对比 (B)

Fig. 5 Optimization of lighting environment (A) and comparison of images captured by different smartphone brands (B)

2.6 方法特异性测定

本研究选取 7 种常见的非食品原料增白剂为干扰物, 检验方法特异性。吸光度法检测结果 (图 6A) 显示, 仅 Fe^{3+} 与 AHA 混合后呈现特征性红色, 与其余 7 种干扰物混合后均仅呈现黄色或无色透明状态。其中吊白块与 Fe^{3+} 混合后溶液呈无色透明, 其机制为吊白块具有强还原性, 可将体系中的 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} , 导致显色体系褪色。智能手机成像法的 RGB 通道检测结果 (图 6B) 表明, R、G、B 三个通道对 AHA 与干扰物的响应均存在显著差异, 其中 G 通道的区分度最为明显, AHA 对应的 G 值与所有干扰物的 G 值均无重叠。此外, 偶氮二甲酰胺、三聚硫氰酸三钠盐、EDTA 二钠及亚硫酸钠在无水乙醇中的溶解性极差, 本方法采用无水乙醇作为样品提取溶剂, 可在前处理阶段有效排除此类难溶性干扰物, 进一步提升方法的抗干扰能力。综上, 本方法对小麦粉及其制品中常见非法增白剂具有优异的特异性, 可有效避免基质中其他共存物质对 AHA 检测结果的干扰。

2.7 标准曲线绘制

基于上述优化条件, 绘制 AHA 标准曲线。采用吸光度法测定微孔板溶液 495 nm 处的吸光度。在 AHA 定量分析中, 从配位化学角度, 摩尔浓度 (mmol/L) 更利于理解 AHA 与 Fe^{3+} 的结合计量比及反应机理, 但国标方法通常采用质量浓度 (mg/L 或 $\mu\text{g/mL}$) 作为标准曲线横坐标。因此, 本研究分别绘制了以摩尔浓度 (图 7A) 和质量浓度 (图 7B) 为横坐标的标准曲线。从图可知, 吸光度法标准曲线的检出限和定量下限分别为 0.14 mmol/L (10.36 mg/L) 和 0.60 mmol/L (44.73 mg/L), r^2 均为 0.994。方法线性关系较好, 随着 AHA 浓度升高, 溶液由黄色逐渐转为红色, 可直接实现现场肉眼半定量检测。

为实现现场定量检测, 采用自研在线分析网站自动读取微孔板 RGB 值 (图 8A)。结果显示, 原始 RGB 值与 AHA 浓度因颜色饱和呈非线性关系: 常规 $\lg(x+1)$ 对数转换可使摩尔浓度对应的 R、G、B 通道 r^2 提升至 0.958、0.994、0.991 (G 通道最优)。采用相同拟合方式绘制质量浓度标准曲线, 发现线性拟合效果显著下降 (图 8D、E)。为此提出 $\lg(x+n)$ 改进对数转换策略, 经参数优化确定 $n=46.24$ 时, G 通道质量浓度标准曲线 r^2 达最大值 0.994 (图 9F), 检出限达 0.11 mmol/L (8.63 mg/L), 定量下

限达 0.32 mmol/L (22.15 mg/L)，最终选择 G 通道建立智能手机成像法定量标准曲线 (图 8G)。

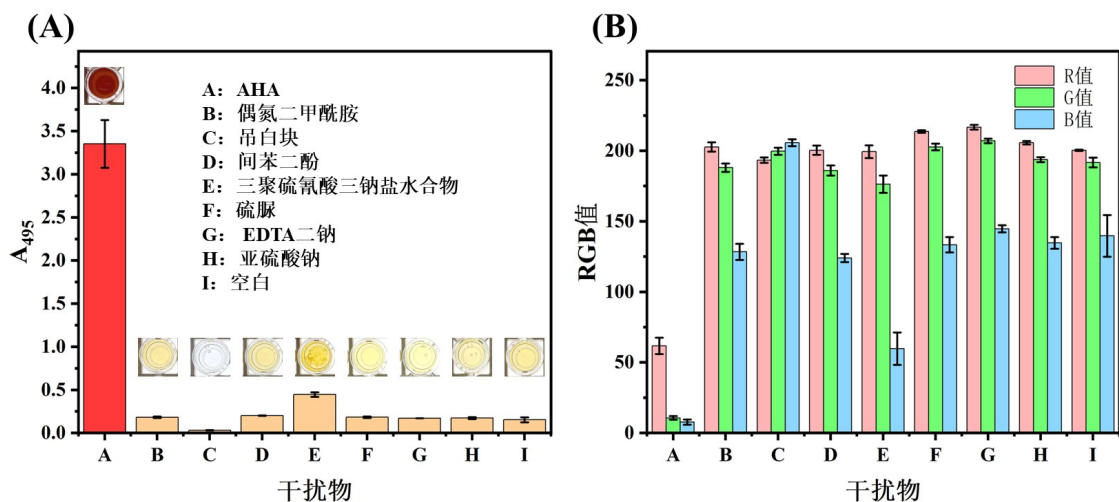


图6 吸光度法 (A) 及智能手机成像法 (B) 方法特异性

Fig. 6 Specificity of absorbance method (A) and smartphone imaging method (B)

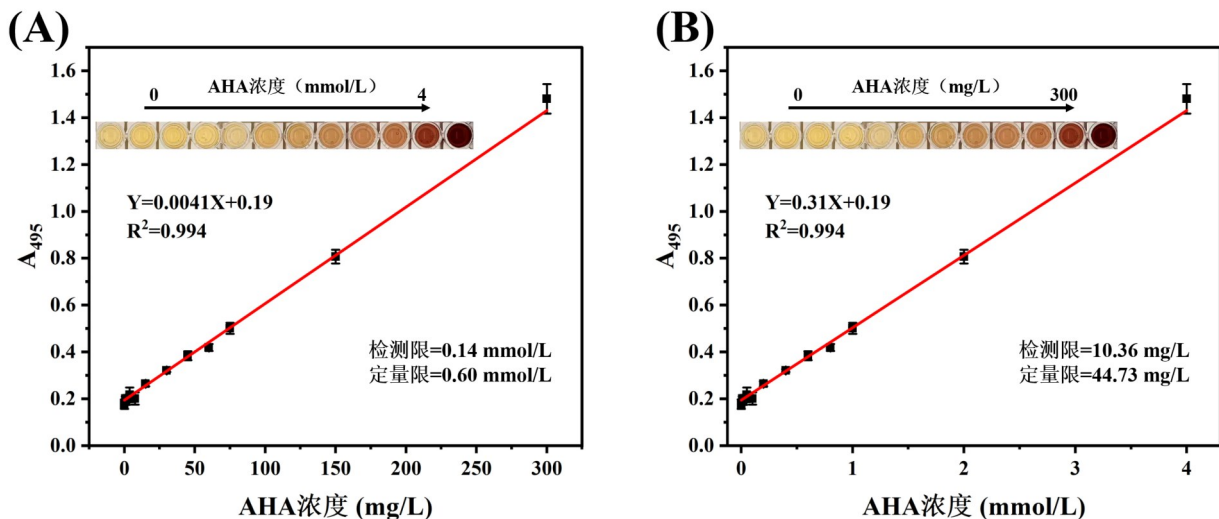


图7 AHA吸光度标准曲线

Fig. 7 AHA calibration curve of absorbance versus concentration

2.8 实际样品检测

2.8.1 加标回收实验 本研究选取面粉、馒头、面皮、面条4种典型面制品作为实际样品基质，设置 50、150、250 mg/kg 三个加标水平，每个水平平行测定3次，对比了吸光度法、智能手机成像法与液相色谱法的加标回收率等指标。结果表明，3种方法的加标回收率分别为81.2%~114%、80.9%~108%和82.0%~101%，相对标准偏差 (RSD) 分别为0.78%~12%、0.65%~8.4%和0.34%~8.2%。其中吸光度法的低浓度精密度稍差，液相色谱法在低、中浓度下的准确性和重现性最优但高浓度受基质效应影响明显，而智能手机成像法整体稳定性优于吸光度法，兼具良好的检测性能与便携性，更适用于小麦粉及其制品中目标物的基层现场快速筛查。

2.8.2 盲样检测 采用本方法对12批次市售样品进行测定，结果如表2所示。仅1批次散装小麦粉检出AHA，检测结果与液相色谱法一致，表明本方法可用于实际样品测定。

3 结论

本研究基于AHA与 Fe^{3+} 的特异性络合显色反应，建立了吸光度法和智能手机成像法两种比色检测方法，用于小麦粉及其制品中AHA的快速定量分析。在最优条件 (pH 7.0、 Fe^{3+} 6.25 mmol/L、反应体

积 250 μL) 下, AHA 使溶液由黄色变为红色, 可实现肉眼半定量现场筛查。采用智能手机成像法结合自主开发的在线网站自动读取微孔板 RGB 值, 经 $\lg(x+46.24)$ 对数转换后, G 通道值与 AHA 质量浓度线性良好 ($r^2=0.994$)。方法对 7 种常见非法增白剂具有优异特异性, 加标回收率 (80.9%~114%) 与液相色谱法一致性良好。12 批次实际样品中仅 1 份散装小麦粉检出 AHA。该方法无需酶标仪和专用暗盒, 仅需便携式均光板, 操作简便、成本低廉, 为基层食品安全现场筛查提供了实用新工具。

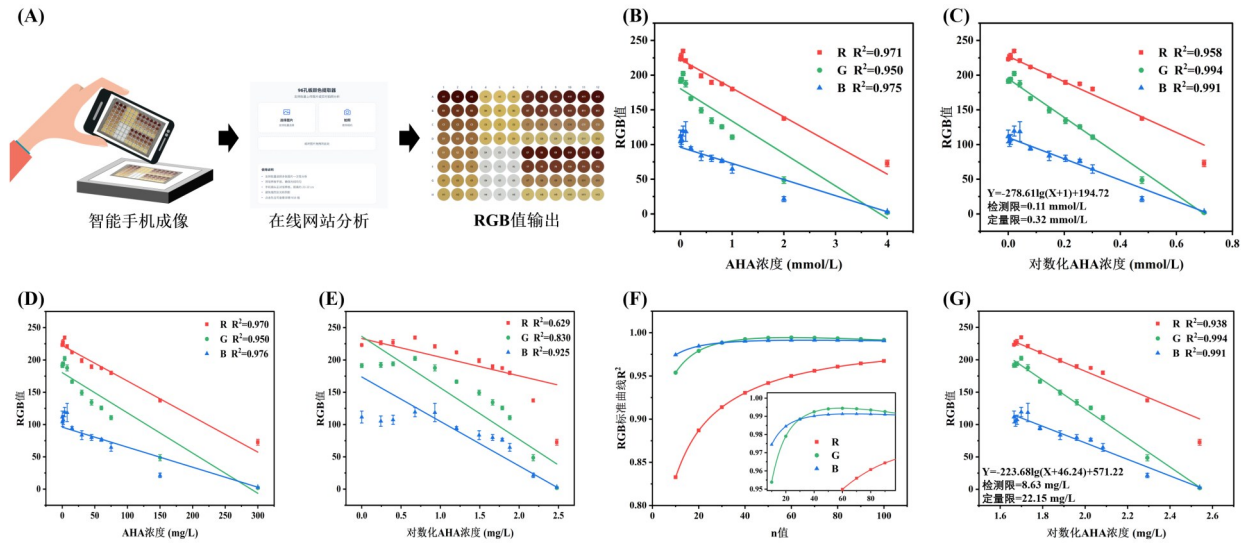


图8 AHA 即时检测策略 (A); AHA 摩尔浓度 RGB 颜色数值标准曲线 (B); $\lg(x+1)$ 对数化处理 AHA 摩尔浓度 RGB 颜色数值标准曲线 (C); AHA 质量浓度 RGB 颜色数值曲线 (D); $\lg(x+1)$ 对数化处理 AHA 质量浓度 RGB 颜色数值曲线 (E); RGB 标准曲线 n 值优化 (F); $\lg(x+46.24)$ 对数化处理 AHA 质量浓度 RGB 颜色数值曲线 (G)

Fig. 8 AHA point-of-care concentration (D), AHA molar concentration (B), AHA molar concentration after $\lg(x+1)$ logarithmic transformation (C), AHA mass concentration (D), AHA molar concentration after $\lg(x+1)$ logarithmic transformation (E), and optimization of the n-value for RGB standard curves (F); RGB calibration curves against AHA mass concentration after $\lg(x+46.24)$ logarithmic transformation (G)

表1 加标回收实验结果 (n=3)
Table 1 Results of spiked recoveries (n = 3)

Sample	Added/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Absorbance method			Smartphone imaging method			Liquid chromatography		
		Found/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%	Found/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%	Found/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%
小麦粉	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	41.85±5.21	83.7	12.45	41.93±3.50	83.9	8.35	41.00±0.94	82.0	2.29
	150	121.82±6.00	81.2	4.93	126.65±4.27	84.4	3.37	138.32±1.16	92.2	0.84
	250	253.16±27.95	101	11.04	235.20±16.38	94.1	6.96	240.18±3.59	96.1	1.49
馒头	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	56.96±1.40	114	2.46	40.44±1.71	80.9	4.23	50.72±1.31	101	2.58
	150	154.39±18.58	103	12.03	141.36±6.32	94.2	4.47	144.09±1.41	96.1	0.98
	250	233.49±13.21	93.4	5.66	203.17±5.99	81.3	2.95	240.17±0.81	96.1	0.34
面皮	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	49.72±2.61	99.4	5.25	46.86±3.62	93.7	7.73	47.23±2.67	94.5	5.65
	150	149.83±6.79	99.9	4.53	161.35±12.33	108	7.64	141.01±2.29	94.0	1.62
	250	269.48±2.10	108	0.78	255.70±12.78	102	5.00	251.61±0.97	101	0.39
面条	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	47.82±2.50	95.6	5.23	44.38±1.26	88.8	2.84	44.09±3.63	88.2	8.23
	150	144.56±4.60	96.4	3.18	147.14±5.19	98.1	3.53	130.48±3.07	87.0	2.35
	250	257.45±4.75	103	1.85	246.63±1.60	98.7	0.65	246.95±1.21	98.8	0.49

—: no detected

表2 盲样检测结果 (n=3)
Table 2 Results of blind sample analysis (n = 3)

No.	Sample	Measured/ (mg·kg ⁻¹)		
		Absorbance method	Smartphone imaging method	Liquid chromatography
1	散装小麦粉	-	-	-
2	散装小麦粉	23.33±0.16	23.49±2.91	23.29±0.43
3	预包装小麦粉	-	-	-
4	速冻馒头	-	-	-
5	散装馒头	-	-	-
6	散装馒头	-	-	-
7	预包装面条	-	-	-
8	预包装面条	-	-	-
9	散装面条	-	-	-
10	散装面皮	-	-	-
11	散装面皮	-	-	-
12	散装面皮	-	-	-

-: no detected

参考文献:

[1] Griffith D P, Musher D M. *Urology*, **1975**, 5 (3): 299-302.

[2] Song W, Liu M, Li S, Xiao Z. *Curr. Top. Med. Chem.*, **2022**, 22 (2): 95-107.

[3] Arnold M, Brown D A, Deeg O, Errington W, Haase W, Herlihy K, Kemp T J, Nimir H, Werner R. *Inorg. Chem.*, **1998**, 37 (12): 2920-2925.

[4] Xiao Z, Peng Z, Dong J, Deng R, Wang X, Ouyang H, Yang P, He J, Wang Y, Zhu M, Peng X, Peng W, Zhu H. *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, 68: 212-221.

[5] GB 2760-2024. *National Food Safety Standard-Standard for the Use of Food Additives. National Standards of the People's Republic of China* (食品安全国家标准 食品添加剂使用标准. 中华人民共和国国家标准).

[6] State Administration for Market Regulation. The State Administration for Market Regulation has issued six inspection methods for the detection of illegally added substances in food (国家市场监督管理总局. 市场监管总局发布6项食品非法添加物质检验方法). [2025-10-21]. https://www.samr.gov.cn/xw/zj/art/2025/art_bc9d0958881748ea4fe43e592603db67.html?_f_link_type=f_linkinlinenote&flow_extra=eyJpbm9pbnVfZGlzcGxheV9wb3NpdGlwbil6MC-wiZG9jX3Bvc2l0aW9uIjowLCJkb2NfaWQiOiN2NlYWNkNDM1ZDQ2MTFkLTQ1ZDExMDgyNGExODNkYmEifQ%3D%3D.

[7] Yuan L J, Zhao G S, Zhang P Y, Yuan Y L, Chen X X, Mao J. *Mod. Food Sci. Technol.* (袁利杰, 赵光升, 张培毅, 袁阳蕾, 陈欣欣, 毛景. 现代食品科技), **2024**, 40 (1): 281-287.

[8] Ning Y P, Wu W K, Shi L, Liu L, Li T H, Gu R L. *Cereals Oils* (宁亚萍, 武文凯, 石璐, 刘璐, 李彤辉, 谷瑞丽. 粮食与油脂), **2024**, 37 (3): 148-153.

[9] Sánchez-García I, Bonales L J, Galán H, Perlado J M, Cobos J. *Spectrochim. Acta A*, **2020**, 229: 117877.

[10] Wu Y B, Liu Q, Cui J L. *Mod. Chem. Ind.* (吴雁斌, 刘蔷, 崔建兰. 现代化工), **2013**, 33 (12): 133-135.

[11] Caetano L G, Takeuchi R M, Santos A L, de Oliveira M F, Stradiotto N R. *Fuel*, **2013**, 106: 837-842.

[12] Huang S L. *Guangdong Pharm. J.* (黄淑玲. 广东药学), **2003**, (3): 13-14.

[13] Yang D, Geng S, Jing R, Zhang H. *Biosensors*, **2024**, 14 (9): 419.

[14] Han X, Fang R, Liang Y, Hu P, Pang J, Shen Y, Yang J, Wen P, Xu Z, Wang H. *Food Chem.*, **2025**, 493 (3): 145832.

[15] Shi L, Li Y, Jia C, Shan J, Wang S, Liu S, Sun J, Zhang D, Ji Y, Wang J. *Trends Food Sci. Technol.*, **2023**, 138: 100-115.

[16] Suo Z, Niu X, Wei M, Jin H, He B. *Anal. Chim. Acta*, **2023**, 1246: 340888.

[17] Li H, Meng M, Cao J, Hu X, Wang H, Pan M, Wang S. *Trends Food Sci. Technol.*, **2025**, 161: 105062.

[18] Wang M, Hu H, Chen Q, Ji G. *Chinese J. Chem. Phys.*, **2016**, 29 (3): 308-318.

[19] Si Z Z, Li Y S, Han S J, Liu Y Q, Hu P, Lu S Y, Ren H L, Zhao B L, Liang X Y, Yang Y Y, Wang F, Zhou Y. *Microchim. Acta*, **2020**, 187 (10): 556.

[20] Liang L, Jiang Y, Liu F, Wu J, Tian L, Zhao S, Ye F. *Sens. Actuators B*, **2023**, 381: 133422.

[21] Zhu H, Liu M, Liu C, Wang K, Yu M, Li X, Sheng W, Zhu B. *Chem. Eng. J.*, **2023**, 471: 144442.

[22] Xue B, Yue C, Tan H, Du F, Jiang L, Zeng L. *Food Control*, **2025**, 172: 111165.

[23] Arkin K, Zheng Y, Ma X, Xu Y, Jiang X, Shang Q. *Microchem. J.*, **2025**, 208: 112567.

[24] He J, Chen Y, Liu H, Sun B. *ACS Sens.*, **2024**, 9 (6): 3338-3345.

[25] Rong X, Liu C, Hou F, Zhao X, Wang Z, Zhu B. *Food Chem.*, **2025**, 474: 143045.

[26] Zhang Y, Zhai J L, Wei X J, Liu X H, Yang X C, Liu X, Wang L. *J. Instrum. Anal.* (张源, 翟江丽, 魏晓杰, 柳鑫华, 杨笑春, 刘欣, 王磊. 分析测试学报), **2026**, 45 (4): 786-794.

-
- [27] Lin X, Li C, Tong X, Duan N, Wang Z, Wu S. *Food Chem.*, **2023**, 404: 134750.
- [28] Feng J, Lu C, Lin X, Kang L, Duan N, Wang Z, Liu C, Wu S. *Biosens. Bioelectron.*, **2025**, 270: 116981.
- [29] Xu L, Abd El-Aty A M, Li P, Li J, Zhao J, Lei X, Gao S, Zhao Y, She Y, Jin F, Wang J, Wang S, Zheng L, Hammock B D, Jin M. *Crit. Rev. Food Sci.*, **2025**, 65 (25): 4846–4868.
- [30] Nomura Y, Inoue D, Moritomo Y. *RSC Adv.*, **2022**, 12 (28): 17932–17936.

(责任编辑: 盛文彦)