DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260519005
引用格式: 张媛狄, 刘豪, 熊成义, 等. 电化学发光试纸条法快速检测黄曲霉毒素 B_1[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(13): 22–29.
Zhang Yuandi, Liu Hao, Xiong Chengyi, et al. Rapid detection of aflatoxin B_1 by electrochemiluminescence test strip method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(13): 22–29. (in Chinese with English abstract).

电化学发光试纸条法快速检测黄曲霉毒素 B_1

张媛狄, 刘 豪, 熊成义, 张修华, 陈苗苗*
(湖北大学化学化工学院, 食品安全研究院, 武汉 430062)

摘 要: 目的 开发一种电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)试纸条快速检测黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1, AFB_1)。**方法** 在聚氯乙烯衬底表面图案化碳油墨电极, 并与免疫层析试纸条组装, 制得 ECL 试纸条。采用循环伏安法考察了 ECL 试纸条的电化学性能。同时, 合成了 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料, 并与 AFB_1 单克隆抗体(AFB_1 monoclonal antibodies, Anti-AFB_1)偶联作为 ECL 信号探针。通过 ECL 试纸条检测线上 AFB_1 牛血清白蛋白偶联物与 ECL 信号探针之间的竞争免疫反应, 实现了 AFB_1 的比色和 ECL 双信号检测。**结果** ECL 试纸条具有良好的稳定性和特异性, 在最佳条件下, 比色信号与 AFB_1 浓度对数在 0.1~100.0 ng/mL 范围内呈现良好的线性关系, 检出限为 32 pg/mL。ECL 信号与 AFB_1 浓度对数在 1.0 pg/mL~100.0 ng/mL 范围内呈现良好的线性关系, 检出限为 319 fg/mL。ECL 试纸条适用于玉米样品中 AFB_1 检测, 加标回收率为 92.6%~110.3%, 相对标准偏差为 0.9%~6.2%。**结论** 制备的 ECL 试纸条可用于玉米样品中 AFB_1 高灵敏可视化快检, 为真菌毒素高灵敏快速检测提供了新方法。

关键词: 黄曲霉毒素 B_1; 电化学发光试纸条; 生物传感; 快速检测
中图分类号: O657.1 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)13–0022–08

Rapid detection of aflatoxin B_1 by electrochemiluminescence test strip method

ZHANG Yuan-Di, LIU Hao, XIONG Cheng-Yi, ZHANG Xiu-Hua, CHEN Miao-Miao*
(*College of Chemistry and Chemical Engineering*, *Food Safety Research Institute*, *Hubei University*, *Wuhan* 430062, *China*)

ABSTRACT: Objective To develop an electrochemiluminescence (ECL) test strip for the detection of aflatoxin B_1 (AFB_1). **Methods** The ECL test strip was fabricated by patterning carbon ink electrode onto the surface of a polyvinyl chloride substrate and then assembling them with a lateral flow immunoassay strip. The electrochemical performance of the ECL test strip was investigated using cyclic voltammetry. Meanwhile, Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au composites were synthesized and conjugated with AFB_1 monoclonal antibodies (Anti-AFB_1) to serve as ECL signal probes. Through the competitive immunoreaction between the AFB_1-bovine serum albumin conjugate immobilized on the test line of the ECL test strip and the ECL signal probes, colorimetric and ECL signals were obtained. **Results** The fabricated ECL test strips exhibited good stability and specificity. Under optimal conditions, the colorimetric signal showed a good

收稿日期: 2026-05-19
基金项目: 湖北省自然科学基金杰出青年科学基金项目(2023AFA100)
第一作者: 张媛狄(1999—), 女, 硕士, 主要研究方向为食品真菌毒素快速检测。E-mail: 1433029535@qq.com
***通信作者:** 陈苗苗(1988—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全传感检测。E-mail: chen_mm@hubu.edu.cn

linear relationship with the logarithm of AFB_1 concentration in the range from 0.1 ng/mL to 100.0 ng/mL, with a limit of detection of 32 pg/mL. In addition, the ECL signal showed a good linear relationship with the logarithm of AFB_1 concentration in the range from 1.0 pg/mL to 100.0 ng/mL, with a limit of detection of 319 fg/mL. Furthermore, satisfactory recovery rates ranging from 92.6% to 110.3% were achieved by the proposed ECL test strips, along with relative standard deviations of 0.9% to 6.2%. **Conclusion**　The developed ECL test strip enables highly sensitive and rapid detection of AFB_1 in corn samples, providing a new perspective for rapid mycotoxin detection.

KEY WORDS: aflatoxin B_1; electrochemiluminescence test strip; biosensing; rapid detection

0　引　言

真菌毒素是由丝状真菌产生的有毒次级代谢产物, 广泛污染食品、饲料及农产品[1–3]。其中, 黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1, AFB_1)被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)列为第 1 类人类致癌物, 在痕量水平仍具有极强的毒性和致癌性[4–6]。因此, 实现对 AFB_1 的高灵敏、快速检测对于保障食品安全和人类健康具有重要意义。目前, 用于 AFB_1 现场即时检测的主流方法是酶联免疫吸附测定法[7–8]和侧向流动免疫层析法(lateral flow immunoassay, LFIA)[9–10]。其中, 基于胶体金[11–12]和荧光探针[13–14]的 LFIA 是目前 AFB_1 可视化快检方法中的主流技术。这些方法通常依赖单一信号输出模式, 存在固有的局限性, 包括环境与复杂基质的干扰, 可能导致假阳性或者假阴性结果, 从而影响快速检测结果的准确性[15]。因此, 近年来, 双信号 LFIA 成为现场快速检测的研究热点[16–17]。目前已开发出多种双信号免疫层析试纸条, 包括比色-荧光[18]、比色-光热[19]、比色-拉曼[20]、比色-电化学[21]等, 通过双信号输出模式提高了检测信号的可靠性, 实现了现场可视化半定量检测以及定量分析。尽管取得了这些进展, 但背景光(自发荧光和散射光)或基质中电活性物质的干扰仍然制约着 AFB_1 的超痕量高灵敏快速检测。

电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)作为电化学的衍生技术, 通过电化学反应过程中产生的光发射, 实现电信号转换为光信号读出[22–24]。凭借响应速度快、灵敏度高、检测范围宽以及背景干扰低等优势, ECL 检测技术与 LFIA 方法相结合, 在快速检测领域引起了广泛关注[25–27]。传统的 ECL 试纸条主要是将硬质丝网印刷电极直接插入试纸条[28–29], 这种结构设计不利于电子传输和电解液的传质效率, 且其高昂的制造成本也限制了该技术的广泛应用。最近, 研究人员将图案化碳油墨电极与硝酸纤维素膜组装, 开发了一种智能手机辅助信号读出的 ECL 成像试纸条[30]。虽然实现了技术联用, 但受限于成像信号导致的灵敏度不足, 难以满足超痕量 AFB_1 精准检测。

基于此, 本研究通过在聚氯乙烯衬底表面图案化碳油墨电极, 优化电极形状, 并与免疫层析试纸条组装, 研制了 ECL 试纸条, 用于玉米样品中 AFB_1 的双信号快速检测。首先, 合成了 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料作为信号探针, 对其形貌和 ECL 性能进行了表征。然后, 将该信号探针与 AFB_1 单克隆抗体偶联, 与 ECL 试纸条检测线上的 AFB_1-BSA 抗原发生竞争免疫反应。结合胶体金显色可视化检测和便携式 ECL 读出装置, 实现了 AFB_1 的比色和 ECL 双信号输出。本研究为 AFB_1 的现场快速检测提供新方法, 并拓展了 ECL 试纸条在食品安全分析中的应用。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

聚乙烯亚胺(polyethyleneimine, PEI)、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、三羟甲基氨基甲烷盐酸盐[tris(hydroxymethyl)aminomethane hydrochloride, Tris-HCl]、磷酸盐吐温缓冲液(phosphate buffered saline with Tween 20, PBST)、氯金酸三水合物($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$)、硝酸锌、氟化锂、盐酸(分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 双(2,2'-联吡啶)(2,2'-联嘧啶)钌(II)六氟磷酸盐(分析纯, 郑州阿尔法化工有限公司); 钛碳化铝(Ti_3AlC_2, 纯度 99%, 北京福斯曼科技有限公司); 磷酸盐缓冲液(分析纯, 上海生工生物工程股份有限公司); AFB_1、赭曲霉毒素(ochratoxin A, OTA)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)、呕吐毒素(deoxynivalenol, DON)、AFB_1 牛血清白蛋白偶联物(AFB_1-bovine serum albumin, AFB_1-BSA)、AFB_1 单克隆抗体(AFB_1 monoclonal antibodies, Anti-AFB_1)、羊抗鼠免疫球蛋白(goat anti-mouse immunoglobulin, IgG)(分析纯, 美国 nnxcSigma 生物科技责任有限公司); 硝酸纤维素膜(nitrocellulose membrane, NC 膜)、吸收垫、聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)(中国上海杰一生物技术有限公司)。所有溶液均使用经 Milli-Q 系统纯化的去离子超纯水(电阻率 18.25 MΩ·cm)配制。

1.2　仪器与设备

UV-2700 型紫外分光光度计(日本岛津仪器有限公司); RPEL-B 便携式电化学发光检测仪(西安瑞迈仪器有限公司); HM3030 三维点膜喷金仪、ZQ2002 微电脑自动斩切机(上海金标科技有限公司); FEI Talos F200 透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)、ESCALAB 250Xi 型 X 射线光电子能谱仪(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)(美国赛默飞世尔科技公司); XPE205 分析天平(精度 0.001 g, 瑞士梅特勒-托利多公司); 4 ℃冷藏

箱、–20 °C BCD-508WTPZM 低温冷冻柜(中国美的集团股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 材料的制备

(1) Ru-PEI 的合成

将 1 mL 0.01 mol/L 双(2,2'-联吡啶)(2,2'-联嘧啶)钌(II)六氟磷酸盐溶液与 0.5 mL 0.1 mol/L 硝酸锌溶液混合搅拌 2 h 后加入 1 mL 20 mg/mL 的 PEI 水溶液得到 Ru-PEI 络合物溶液。

(2) $Ti_3C_2T_x$ 的合成

参考文献[31]的方法合成 $Ti_3C_2T_x$: 在 4 mL 9 mol/L 盐酸溶液中加入 0.2 g 氟化锂, 搅拌至完全溶解后, 加入 0.2 g Ti_3AlC_2 并在 35 ℃下搅拌反应 24 h。使用超纯水多次洗涤酸性混合溶液, 直至上清液 pH 约为 6。在 3500 r/min 转速下离心 5 min, 沉淀重新分散于 100 mL 超纯水中, 超声处理 2 h。接着, 在 5000 r/min 转速下离心 30 min, 收集上清液, 得到 $Ti_3C_2T_x$ 纳米片分散液, 并在氮气保护下置于 4 ℃冰箱中保存。

(3) Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的合成

将 1 mL Ru-PEI 溶液与 1 mL $Ti_3C_2T_x$ 纳米片分散液混合, 超声 30 min 后, 用超纯水洗涤沉淀数次并重新分散于 5 mL 超纯水中。随后, 准确称取 0.1 g $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$, 定容至 1 mL 超纯水中。移取 10 μL $HAuCl_4$ 溶液(10%, *w*:*V*)加至上述 Ru-PEI 与 $Ti_3C_2T_x$ 纳米片 5 mL 混合分散液中, 室温搅拌 10 min 后在 9000 r/min 转速下离心 10 min, 沉淀分散于 2 mL 超纯水中, 于 4 ℃冰箱中保存, 得到 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料分散液。

(4) Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au-Anti-AFB_1 信号探针的合成

将 100 μL Anti-AFB_1 溶液(质量浓度 0.1 mg/mL)加入 1 mL Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 分散液中, 25 ℃孵育 2 h, 得到 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au-Anti-AFB_1 生物偶联物。随后加入 100 μL BSA 溶液(10%, *w*:*V*), 孵育 30 min。以 9000 r/min 离心 10 min, 收集偶联物, 并用 10 mmol/L PBST 缓冲液洗涤。最后重新分散于 1 mL PBST 缓冲溶液中, 4 ℃保存备用。

1.3.2 ECL 试纸条的制备

图案化三电极的制备过程如下: 使用 CorelDRAW Graphics Suite 2021 软件设计电极图案, 并通过切割机在不干胶纸上进行切割。将图案化不干胶贴纸贴附在 PVC 表面, 在图案区域均匀涂覆导电碳油墨后于 50 ℃加热台干燥 20 min。剥离不干胶贴纸, 得到以 PVC 为基底的图案化碳油墨三电极, 室温干燥保存。

侧流免疫层析试纸条预处理步骤如下: 将样品垫浸泡于 Tris-HCl 缓冲溶液中 30 min, 于室温下自然干燥。随后, 将样品垫和吸收垫分别切割为 2.3 cm×0.5 cm 和 1.7 cm ×0.5 cm 的尺寸。此外, 将 60 μL AFB_1-BSA 溶液和 60 μL IgG 溶液以 2 μL/cm 的喷速分别喷涂于无背衬 NC 膜上, 分别形成检测线(T 线)和质控线(C 线)。将所制备的 NC 膜置于 37 ℃下干燥 2 h 并切割成宽度为 0.5 cm 大小。

将上述制备的无背衬 NC 膜粘贴在图案化碳油墨三电极上, 其中 T 线垂直对准图案化碳油墨三电极的工作电极, 然后将吸收垫和样品垫分别粘贴在 PVC 基板上, 分别与 NC 膜重叠约 2 mm, 即得到 ECL 试纸条。

1.3.3 ECL 试纸条对 AFB_1 检测过程

将 450 μL Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au-Anti-AFB_1 偶联物与 50 μL 不同浓度的 AFB_1 标准溶液混合, 室温孵育 5 min。取 100 μL 混合液滴加于 ECL 试纸条样品垫前端, 反应 15 min 后, 加入 100 μL PBST 缓冲液冲洗样品垫。随后拍照记录条带的比色信号。为采集 ECL 信号, 将 ECL 试纸条置于便携式 ECL 仪中, 并在电极区域滴加 30 μL 0.1 mol/L PBS (pH 7.4)缓冲液。在扫描范围为 0~1.5 V, 扫描速率为 100 mV/s, 放大级数为 7, 光电倍增管为 800 mV 的条件下记录 ECL 信号。ECL 试纸条检测 AFB_1 的原理如图 1 所示, 当 AFB_1 存在时, AFB_1 优先与 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au-Anti-AFB_1 信号探针特异性结合, 导致 T 线上 AFB_1-BSA 捕获的信号探针减少。随着目标物 AFB_1 浓度的增大, T 线处颜色逐渐变浅, 同时 ECL 信号逐渐降低, 实现 AFB_1 比色和 ECL 双信号检测。

1.3.4 加标回收率测定

将 5 g 新鲜玉米研碎, 加入 20 mL 乙醇-水溶液(1:1, *V*:*V*), 剧烈振荡 5 min 后于 6000 r/min 离心 5 min。取上清液用 PBST 缓冲液稀释 10 倍, 分别加入不同浓度的 AFB_1 标准液, 配制成不同质量浓度(1、10、50 ng/mL)的加标样品液, 用于玉米样品中 AFB_1 的检测。

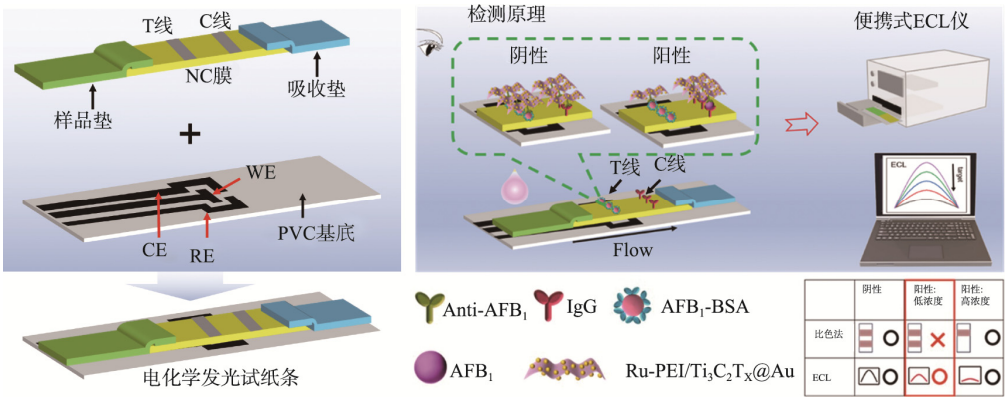


图 1 ECL 试纸条用于 AFB_1 双信号检测示意图

Fig.1 Schematic illustration of the ECL test strip for dual-signal detection of AFB_1

1.4　数据处理

通过 Image J 1.54d 处理比色图像，采用 Origin 8.5 和 CorelDRAW Graphics Suite 2021 软件进行数据分析和处理，并绘制图表。

2　结果与分析

2.1　Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的表征

采用 TEM 对 $Ti_3C_2T_x$ 和 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的形貌进行表征。结果显示，与 $Ti_3C_2T_x$ 纳米片的薄层结构相比[图 2(A)]，Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料表面呈现出明显的纳米颗粒[图 2(B)]，表明 $Ti_3C_2T_x$ 还原制备的 Au 纳米颗粒及 Ru-PEI 成功负载在 $Ti_3C_2T_x$ 纳米片表面。能量色散 X 射线谱(energy dispersive X-ray spectroscopy, EDX)分析表明[图 2(C)]，复合材料中同时存在 C、Ti、Ru、N、Au 元素，表明 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 成功制备。

通过 Zeta 电势和紫外-可见吸收光谱进一步验证了 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的成功合成。如图 3(A)所示，$Ti_3C_2T_x$ 纳米片的 Zeta 电位为−26.8 mV，而 Ru-PEI 的 Zeta 电位为 36.3 mV。通过静电相互作用复合后，所得到的 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$ 的 Zeta 电位为 18.6 mV。与 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$ 相比，Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的 Zeta 电位变为 16.5 mV，表明 Au NPs 成功原位修饰在 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$ 表面。紫外-可见吸收光谱结果表明，$Ti_3C_2T_x$ 纳米片无明显特征吸收峰，当 Ru-PEI 负载于 $Ti_3C_2T_x$ 纳米片上后，Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$ 在 285 nm 和 460 nm 处出现 Ru-PEI 的两个特征吸收峰[图 3(B)]，分别归属于 Ru-PEI 中配体中心的电子跃迁和金属-配体电荷转移跃迁[32]。此外，Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 纳米复合材料的紫外-可见吸收光谱不仅出现 Ru-PEI 的特征吸收峰，还在 530 nm 处出现 Au NPs 的特征吸收峰。上述结果进一步表明 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料成功合成。

2.2　ECL 试纸条形状优化及性能表征

通常，电化学发光传感电极由工作电极、对电极和参比电极组成。不同形状的电极体系电化学响应各不相同，可能会直接影响传感性能。为了实现最佳的检测性能，设计了 3 种不同的图案化碳油墨三电极。如图 4(A)所示，每种图案化碳油墨电极均由工作电极、对电极和参比电极组成。通过循环伏安法对 3 种图案化碳油墨三电极的电化学性能进行探究。如图 4(B)所示，图案化碳油墨三电极(a)表现出最高的氧化还原峰电流响应，可能是由于图案(a)中对电极的面积较大，且与工作电极正对，更有利于电流传导，从而表现出最强的电流响应。同时，该电极在连接扫描 50 圈后电流响应保持稳定[图 4(C)]，表明所制备的图案化碳油墨三电极具有良好的电化学性能与优异的稳定性。

为探究所制备材料的 ECL 性能，采用上述优化后的的图案化碳油墨三电极，对 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的 ECL

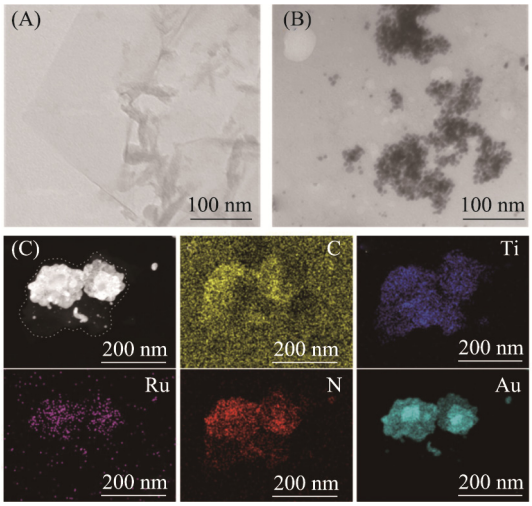


图 2　Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$ (A)和 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au (B)的 TEM 图、Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 的 SEM-EDX 图像(C)

Fig.2　TEM images of Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$ (A) and Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au (B); SEM-EDX elemental mapping images of Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au (C)

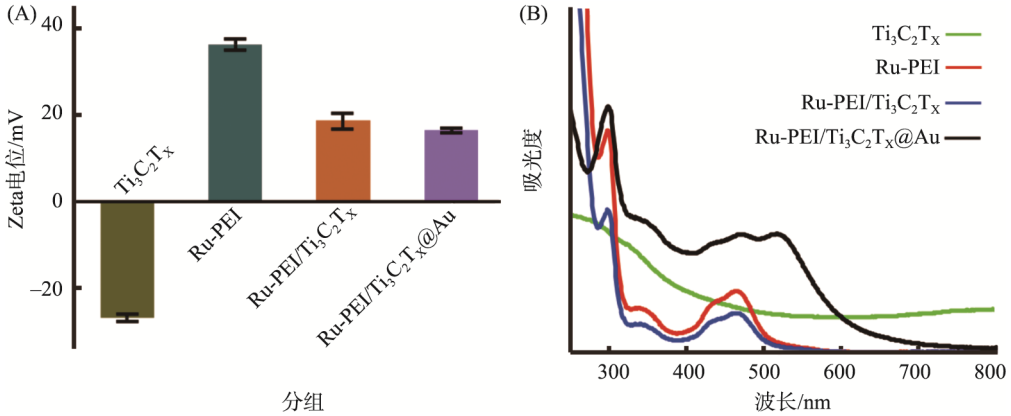


图 3　不同材料的 Zeta 电位(A)及紫外-可见吸收光谱(B)

Fig.3　Zeta potentials (A) and ultraviolet-vis absorption spectra (B) of different materials

信号进行测试。ECL–电位曲线结果如图 5(A)所示，该复合材料表现出明显的阳极 ECL 发射，在电位为 1.5 V 时具有优异的阳极 ECL 信号。Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料的 ECL 响应机制如下：首先 Ru(II)-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 电化学氧化生成 Ru(III)-$PEI^{\bullet+}$/$Ti_3C_2T_x$@Au，并进一步去质子化形成 Ru(III)-$PEI^{\bullet}$/$Ti_3C_2T_x$@Au 以及发生分子内电子传递过程，产生激发态的 $Ru(II)^*$-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au，回到基态过程中产生 ECL 响应[33]。进一步考察了 ECL 试纸条中 NC 膜覆盖对碳油墨三电极体系 ECL 信号的影响。将 30 μL Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 复合材料溶液滴加于电极表面，分别记录 NC 膜覆盖前后的 ECL 强度。结果如图 5(B)所示，NC 膜覆盖后，ECL 信号无显著差异，表明 NC 膜覆盖对图案化碳油墨三电极的 ECL 性能无明显影响。

2.3 实验条件优化

对 ECL 试纸条反应时间、检测缓冲液 pH 以及测试电压进行了优化。如图 6(A)所示，随着免疫反应时间的增加，ECL 信号强度逐渐增强，在 12 min 时达到最大并趋于稳定。因此，选择 12 min 作为后续检测的反应时间。此外，检测缓冲液 pH 对 Ru-PEI 的 ECL 响应具有显著影响。如图 6(B)所示，当测试缓冲液的 pH 从 5.5 增大到 7.5 时，ECL 信号显著增强。然而，pH 进一步增大至 9.5 时，ECL 信号降低。因此，选择 pH 7.5 的 PBS 缓冲溶液用于后续实验。同时，考察了激发电压对 ECL 响应的影响。如图 6(C)所示，每一次起始扫描电位为 0 V，随着施加最高电位的增大，ECL 信号逐渐增强，在 1.6 V 时达到最大值。随着电压继续增大，ECL 信号降低，可能是由于过高的电位易造成自由基中间体的猝灭，导致 ECL 信号降低。因此，选择 1.6 V 作为后续测试的激发电压。

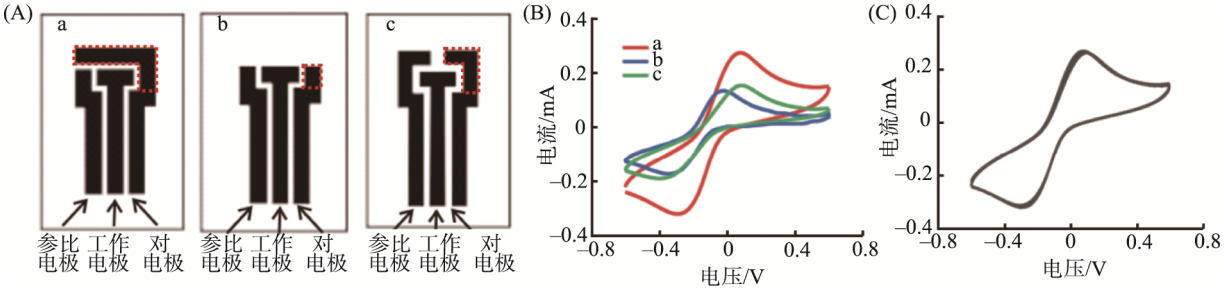
2.4 ECL 试纸条对 AFB_1 检测性能研究

在最佳的实验条件下，研究了 ECL 试纸条对 AFB_1 的检测性能。当 AFB_1 存在时，由于 AFB_1 与 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au-Anti-AFB_1 信号探针结合，导致与 T 线上 AFB_1-BSA 结合的探针减少，所开发的 ECL 试纸条能够实现 AFB_1 比色和 ECL 双模式检测。如图 7(A)所示，随着 AFB_1 浓度的增加，T 线上紫红色条带逐渐变浅。在 0.1~100 ng/mL 范围内，比色信号与 AFB_1 质量浓度的对数呈良好的线性关系，线性回归方程为 Y=–5.48lg$C$+16.0 (决定系数 r^2=0.8932)[图 7(B)]，检出限为 32.0 pg/mL。此外，在 1.0 pg/mL~100 ng/mL 范围内，ECL 信号逐渐降低[图 7(C)]，线性回归方程为 Y=–1.73lg$C$+4.58 (r^2=0.9958) [图 7(D)]，检出限为 319 fg/mL。上述结果表明，所制备的 ECL 纸芯片兼具现场快速肉眼检测与精确定量分析 AFB_1 的能力。将所构建的 ECL 试纸条与近年来报道的比色和 ECL 检测方法对 AFB1 检测性能进行对比，结果如表 1 所示，所构建的 ECL 试纸条在检出限和线性范围方面表现出较好的检测性能，且操作简便、成本低廉，为 AFB_1 的现场快速检测提供了有力工具。

为考察所制备的 ECL 试纸条在复杂基质中的选择性，分别采用 10 ng/mL 的 AFB_1 标准溶液和 100 ng/mL 的 OTA、DON、ZEN 以及它们的混合溶液进行选择性测试。如图 8(A)所示，只有在 AFB_1 存在时，ECL 信号显著降低。空白样品及其他干扰毒素对 ECL 信号无明显影响，表明该 ECL 试纸条对 AFB_1 具有良好的的特异性检测能力。采用同一批次的 5 个 ECL 试纸条分别对 10 ng/mL 的 AFB_1 进行 ECL 信号测试。结果显示，ECL 信号强度基本一致，相对标准偏差为 0.03%，表明该 ECL 试纸条具有很好的重现性[图 8(B)]。此外，该 ECL 试纸条在室温下保存不同天数后，ECL 强度无明显差异，表明所制备的传感器具有良好的稳定性[图 8(C)]。

2.5 实际玉米样品中 AFB_1 加标回收测试

采用加标回收法考察了所构建的 ECL 试纸条在玉米样品中检测的可适用性。在玉米样品中分别添加不同浓度(1、10、50 ng/mL)的 AFB_1 标准溶液进行检测。结果如表 2 所示，比色模式下的加标回收率为 92.6%~110.3%，RSD 小于 1.8%。ECL 模式下的加标回收率为 99.2%~102.4%，RSD 小于 6.2%。以上结果表明了该 ECL 试纸条具有良好的检测准确性与复杂基质中的适用性。此外，与商品化胶体金免疫层析试纸条同步测试(表 3)，在低浓度 AFB_1 水平(0.001 ng/mL 和 0.01 ng/mL)下，只有本研究构建的 ECL 试纸条能够有效检出目标物，表明所制备的 ECL 试纸条灵敏度高；在高浓度水平下(5.0 ng/mL 和 10.0 ng/mL)，两种方法的检测结果一致，表明所制备的 ECL 试纸条检测结果可靠。



注：不同小写字母表示不同的电极形状。

图 4 不同图案化电极形状(A)及 CV 曲线(B)及电化学性能稳定性(C)

Fig.4 Different patterned electrode shapes (A), CV curves (B) and electrochemical performance stability (C)

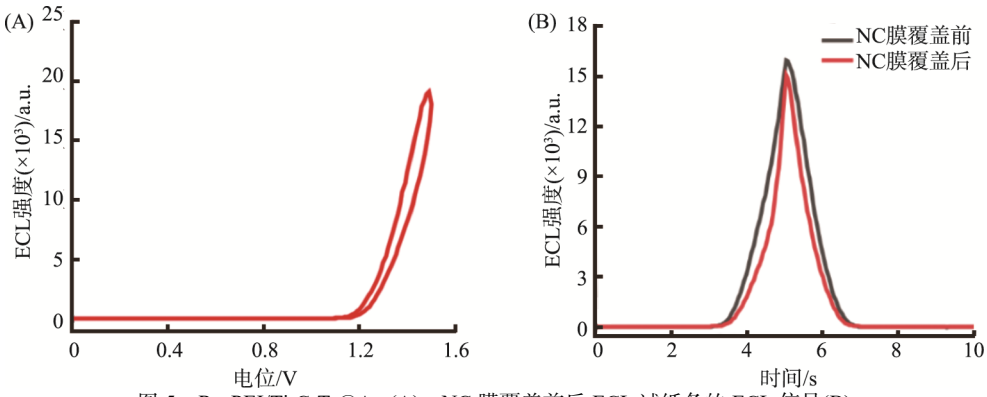
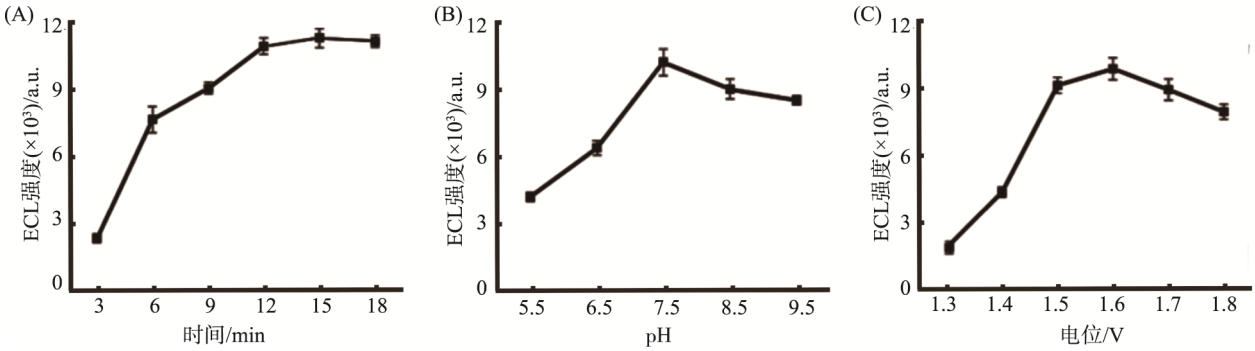


图 5　Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au (A)、NC 膜覆盖前后 ECL 试纸条的 ECL 信号(B)

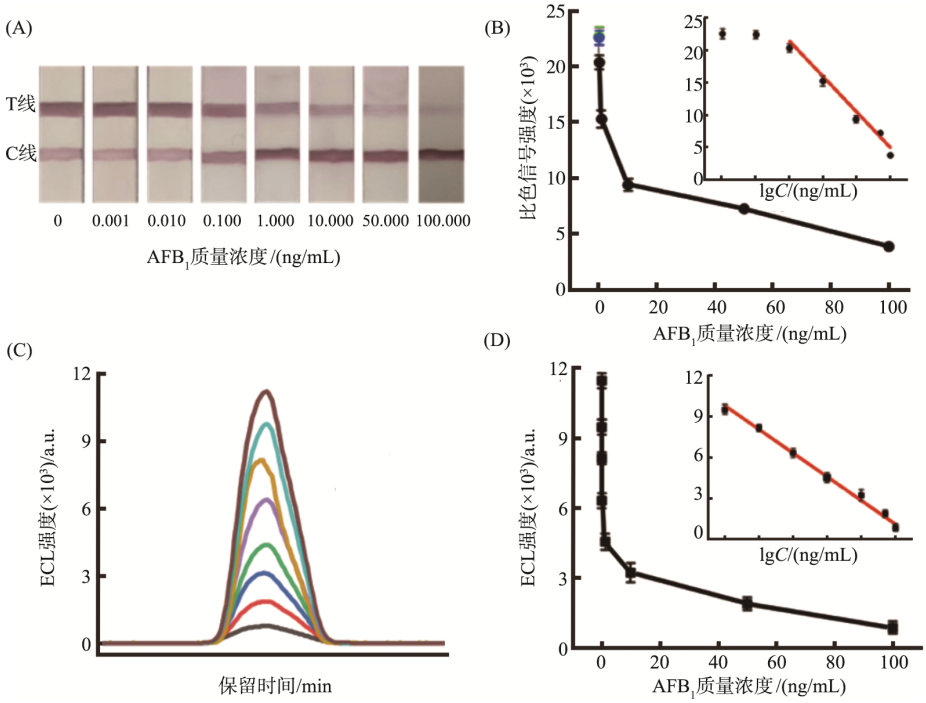
Fig.5　ECL signals of Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au (A) and ECL test strip before and after covering with NC membrane (B)



注: A. 反应时间优化; B. 缓冲液 pH 优化; C. 激发电位优化。

图 6　实验条件优化

Fig.6　Optimization of experimental conditions



注: A. 不同浓度 AFB_1 下 ECL 试纸条的比色图像; B. 比色模式对应的线性校准曲线; C. 不同浓度 AFB_1 下 ECL 试纸条的 ECL 信号; D. ECL 模式对应的线性校准曲线。

图 7　ECL 试纸条 AFB_1 检测性能表征

Fig.7　Performance characterization of ECL test strip for AFB_1 detection

表 1 不同方法检测 AFB_1 性能比较

Table 1 Performance comparison of different methods for AFB_1 detection

检测方法	检测范围	检出限	数据来源
比色法	0.05~100.00 ng/mL	47 pg/mL	[34]
比色法	0.1~3000.0 ng/mL	70 pg/mL	[35]
电化学发光法	0.5~200.0 ng/mL	170 pg/mL	[36]
电化学发光法	1.0 pg/mL~1000.0 ng/mL	585 fg/mL	[37]
ECL 纸芯片	比色模式: 0.1~100.0 ng/mL	32.0 pg/mL	本研究方法
	ECL 模式: 1.0 pg/mL~100.0 ng/mL	319 fg/mL	

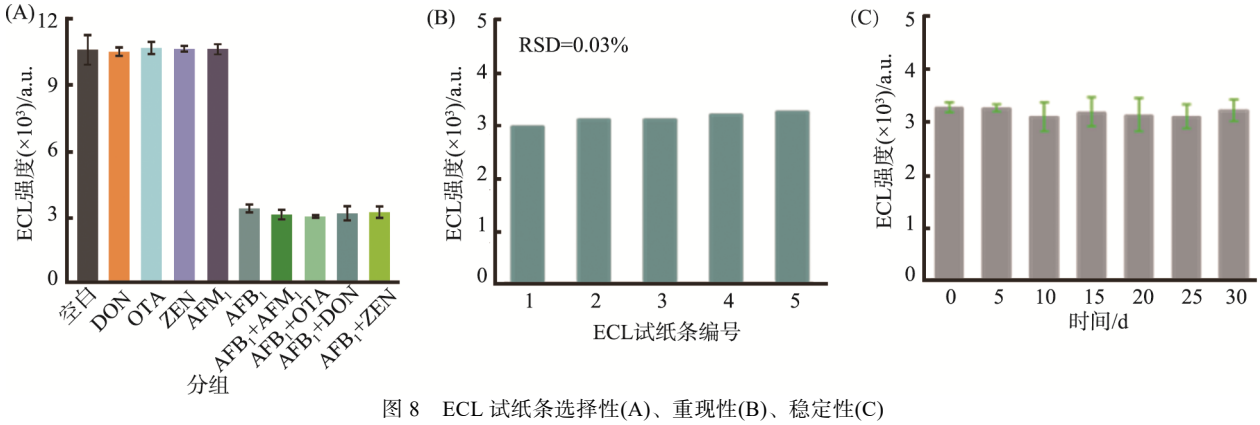


图 8 ECL 试纸条选择性(A)、重现性(B)、稳定性(C)

Fig.8 Selectivity (A), reproducibility (B) andstability (C) of ECL test strips

表 2 玉米样品中 AFB_1 的加标回收实验

Table 2 Spiked recovery experiments of AFB_1 in corn sample

加标量/(ng/mL)	ECL 试纸条比色模式			ECL 试纸条 ECL 模式		
	检测值/(ng/mL)	回收率/%	RSDs/%	检测值/(ng/mL)	回收率/%	RSDs/%
0	未检出	–	–	0	–	–
1	1.10	110.3	1.4	1.02	102.4	5.1
10	9.26	92.6	1.2	9.92	99.2	6.2
50	55.00	110.0	1.8	50.54	101.1	0.9

注: –表示未测得。下表同。

表 3 ECL 试纸条与胶体金免疫层析试纸条性能比较

Table 3 Performance comparison between the ECL strip and the colloidal gold immunochromatographic strip

AFB_1 质量浓度/(ng/mL)	胶体金免疫层析试纸条		ECL 试纸条	
	检测值/(ng/mL)	RSDs/%	检测值/(ng/mL)	RSDs/%
0.001	未检出	–	0.0014	2.1
0.010	未检出	–	0.012	3.4
5.000	5.12	3.60	5.02	5.3
10.000	10.46	3.88	9.92	6.2

3 结 论

本研究组装图案化碳油墨电极和LIFA, 成功研制了一种 ECL 试纸条, 实现了玉米样品中 AFB_1 快速检测。所合成的 Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au 信号探针表现出优异的 ECL 响应性能。通过竞争免疫反应, 结合在T线上的Ru-PEI/$Ti_3C_2T_x$@Au探针分别触发比色和 ECL 信号, 实现了 AFB_1 的可视化、高灵敏检测。比色模式检出限为 32.0 pg/mL, ECL 模式检出限为 319 fg/mL。该 ECL 试纸条快速检测 AFB_1 也表现出优异的选择性、重现性和长程稳定性。最后, 在以玉米为验证模型的实际样品中, ECL 试纸条表现出理想的加标回收率, 充分验证了该方法的准确性与基质耐受性。与传统 LFIA 相比, 该 ECL 试纸条在保持试纸条便携性和操作简便性的同时, 引入 ECL 检测模式, 有效克服了传统比色检测灵敏度不足的问题。双信号检测策略兼顾了现场快速筛查和高灵敏定量分析, 为现场食品安全检测提供了一种兼具准确性和实用性的新方法。

参考文献

[1] Li Junying, Diao Xihui, Chen Chao, et al. A series of colorimetric and self-calibrated fluorescent sensors based on Ln-BTCs for detection of aflatoxin B_1 in food [J]. Chemical Engineering Journal, 2025, 505: 159481.

[2] Liu Xinnan, Liu Sijie, Kong Lu, et al. Advancements in nanomaterial-based sensors for dual and multi-mode detection of aflatoxin B_1 [J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 163: 105120.

[3] 郝伟, 杨利芳, 王亮, 等. 食品中常见真菌毒素检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(10): 165–172.
Hao Wei, Yang Lifang, Wang Liang, et al. Development of detecting method of mycotoxins in the food [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(10): 165–172.

[4] Lu Yating, He Fuqing, Zhu Xu, et al. On-site tracking of trace aflatoxin B_1 in food waste composting via a portable colorimetric sensing platform with nanozymes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2025, 489: 138333.

[5] Zhao Yijian, Wang Qiuyue, Li Yani, et al. Supramolecular coassembly activated dual-excitation fluorescent sensing platform for precise detection of aflatoxin B_1 [J]. Analytical Chemistry, 2025, 97(3): 1357–1365.

[6] 秦孝晨, 张祥泰, 姚志轶. 纳米生物传感器在黄曲霉毒素 B_1 检测中的应用新进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(23): 1–13.
Qin Xiaochen, Zhang Xiangtai, Yao Zhiyi. New advances in the application of nanobiosensors in the detection of aflatoxin B_1 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(23): 1–13.

[7] Li Xiaolong, Li Wenlin, Cai Mengmeng, et al. Aptamer-cDNA-driven nanozyme strategy: a recyclable dual-signal immunosensor for amplified detection of aflatoxin B_1 in edible oil [J]. Food Research International, 2026, 237: 119356.

[8] Zhang Tianyu, Lu Dai, Zeng Yini, et al. A simple post-processing approach induced interface recombination to construct hollow cubic-shape prussian blue analogs for biosensing and degradation of aflatoxins B_1 [J]. Food Chemistry, 2025, 479: 143807.

[9] Yuan Bei, Liu Qiang, Yang Qingqing, et al. An immediate and antibody protected carboxyl quantum dot immunochromatographic analysis hierarchical signal amplification test strip based on biotin-streptavidin system for the detection of aflatoxin B_1 in peanuts [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 125: 105759.

[10] Liu Jiarong, Zhao Xi, Yang Yumin, et al. Portable visual sensing platform integrated with smart phones: for on-site rapid detection of aflatoxins in food safety [J]. Trends in Food Science & Technology, 2026, 173: 105792.

[11] Li Xiaofang, Liu Liqiang, Song Shanshan, et al. Colloidal gold immunochromatographic assay for the detection of total aflatoxins in cereals [J]. Food Chemistry, 2025, 472: 142877.

[12] Hou Silu, Ma Jingjiao, Cheng Yuqiang, et al. One-stop rapid detection of fumonisin B_1, deoxynivalenol and zearalenone in grains [J]. Food Control, 2020, 117: 107107.

[13] Sun Qingwen, Feng Shaoqing, Xu Hao, et al. A smartphone-integrated deep learning strategy-assisted rapid detection system for monitoring dual-modal immunochromatographic assay [J]. Talanta, 2025, 282: 127043.

[14] Liang JunFa, Li Xuewei, Huang Bin, et al. Rapid, on-site quantitative determination of mycotoxins in grains using a multiple time-resolved fluorescent microsphere immunochromatographic test strip [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2024, 258: 116357.

[15] Sun Boyan, Panferov V, Guo Xuewen, et al. A novel triple-signal biosensor based on ZrFe-MOF@Pt NPs for ultrasensitive aflatoxins detection [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2025, 267: 116797.

[16] Chuai Qingxin, Zhu Xuecheng, An Yilin, et al. Advances in optical sensor visualization: Enabling rapid mycotoxin detection [J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 160: 105003.

[17] Huang Siqing, Xu Liguang. Recent progress of rapid detection technologies for mycotoxins [J]. Food Chemistry, 2025, 494: 146212.

[18] Li Yifan, Ren Wenjie, Wang Ting, et al. Novel raspberry-like AuAgPd nanospheres bidirectional driven nanobody-based immunochromatographic strip for sensitive detection of aflatoxin B_1 [J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 235: 118657.

[19] Yang Qinkai, Jia Huilin, Ge Guangsheng, et al. Nanobody-based dual-mode sensing platform for highly sensitive detection of aflatoxin B_1 [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2025, 288: 117811.

[20] Sun Boyang, Wu Haiyu, Fang Tianrui, et al. Dual-mode colorimetric/SERS lateral flow immunoassay with machine learning-driven optimization for ultrasensitive mycotoxin detection [J]. Analytical Chemistry, 2025, 97(9): 4824–4831.

[21] Preechakasedkit P, Panphut W, Lomae A, et al. Dual colorimetric/electrochemical detection of *Salmonella typhimurium* using a laser-induced graphene integrated lateral flow immunoassay strip [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(37): 13904–13912.

[22] 陈冬丽, 张蒙, 海洪, 等. 电化学发光法在食品分析中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(2): 380–390.
Chen Dongli, Zhang Meng, Hai Hong, et al. Application of electrochemical luminescence method in food analysis [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(2): 380–390.

[23] Lv Yanqin, Chen Shiyu, Shen Yanfei, et al. Competitive multiple-mechanism-driven electrochemiluminescent detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine [J]. Journal of the American Chemical Society, 2018, 140(8): 2801–2804.

[24] Han Tingting, Cui Chen, Xing Yujun, et al. Advances of signal amplification strategies and sensing formats in electrochemiluminescence sensors for mycotoxins [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2024, 180: 117961.

[25] Chen Jun, Nan Xuanxu, Yang Li, et al. Electrochemiluminescence lateral flow immunosensor using luminol-labeled silver nanoparticles for highly sensitive and quantitative detection of cardiac troponin I [J]. Talanta, 2025, 293: 128159.

[26] Dhiman A, Kalra P, Bansal V, et al. Aptamer-based point-of-care diagnostic platforms [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 246: 535–553.

[27] Qin Yao, Yuan Shichao, Wang Xihan, et al. Development of paper-based electrochemiluminescence test strips for pathogenic microorganisms [J]. BMC Infectious Diseases, 2025, 25: 1097.

[28] Hong Donggu, Jo E J, Kim K Y, et al. $Ru(bpy)_3^{2+}$ loaded mesoporous silica nanoparticles as electrochemiluminescent probes of a lateral flow immunosensor for highly sensitive and quantitative detection of troponin I [J]. Small, 2020, 16(44): 2004535.

[29] Hong Donggu, Kim K Y, Jo E J, et al. Electrochemiluminescence-incorporated lateral flow immunosensors using $Ru(bpy)_3^{2+}$-labeled gold nanoparticles for the full-range detection of physiological C-reactive protein levels [J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(22): 7925–7932.

[30] Chen Miaomiao, Zhang Minling, Song Xiao, et al. Smartphone-assisted electrochemiluminescence imaging test strips towards dual-signal visualized and sensitive monitoring of aflatoxin B_1 in corn samples [J]. Chinese Chemical Letters, 2025, 36: 109785.

[31] Zhu Yanlin, Wang Zhao, Zhao Ruoxi, et al. Pt decorated $Ti_3C_2T_x$ MXene with NIR-II light amplified nanozyme catalytic activity for efficient phototheranostics [J]. ACS Nano, 2022, 16: 3105–3118.

[32] Luo Lijun, Liu Xiaohong, Bi Xiaoya, et al. Facile fabrication and application of an innovative self–enhanced luminophore with outstanding electrochemiluminescence properties [J]. Sensors and Actuators A: Physical, 2020, 312: 112167.

[33] Chen Miaomiao, Cheng Shibo, Ji Kailun, et al. Construction of a flexible electrochemiluminescence platform for sweat detection [J]. Chemical Science, 2019, 10: 6295.

[34] Wang Yixin, Cao Jing, Song Mingxia, et al. AIE-active UiO-66@PtNPs nanozyme-amplified fluorescence and colorimetric dual-signal magnetic immunosensing platform for effective detection of aflatoxin B_1 in food products [J]. Food Chemistry, 2026, 513: 149038.

[35] Wang Tianshuo, Ding Lijun, Zhang Min, et al. A high-sensitivity magnetic-controlled separable visuable aptasensor based on neutral pH SOD-like dual-metal based MOF on MOF for aflatoxin B_1 detection [J]. Food Chemistry, 2026, 498: 147255.

[36] Jia Yue, Zhang Xiaoyue, Kuang Xuan, et al. 1,1,2,2-tetra(4-carboxylphenyl) ethylene-based metal-organic gel as aggregation-induced electrochemiluminescence emitter for the detection of aflatoxin B_1 based on nanosurface energy transfer [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(31): 12593–12597.

[37] Yang Yuqin, Song Li, Ding Yilan, et al. Yttrium and silicon co-doped carbon nanoparticles: multi-faceted collaborative enhancement of electroluminescence signals and aptasensor for high sensitivity detection of aflatoxin B_1 [J]. Food Chemistry, 2026, 501: 147548.

(责任编辑：蔡世佳　曹岱琳)