

微流控预处理联用阻抗感知检测小麦中赭曲霉毒素A

吴志威¹, 孙宗保^{1*}, 蒋欣容², 邹小波¹, 杨宁³

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 镇江市粮食和物资储备质量监测中心, 江苏镇江 212216) (3. 江苏大学电气信息工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要: 小麦中赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A, OTA) 对其造成了严重的质量安全问题, 现场快速检测 OTA 需要稳定可靠的设备与检测方法, 现阶段预处理所需设备多、检测时间长, 且易受人为干扰。该研究提出了一种一体化微流控芯片, 设计各功能腔室实现同步快速预处理小麦, 通过将预处理后的待测液滴加在修饰了抗体的电极上对 OTA 阻抗感知检测, 该方法仅需约 15 min。阻抗感知定量检测 OTA 具有良好的线性关系 ($R^2=0.98$)、低检出限 ($0.05 \mu\text{g/mL}$) 和稳定的加标回收率 ($88.25\%\sim 112.36\%$)。通过测试其他干扰毒素发现微流控联用阻抗感知法对 OTA 检测特异性良好, 与常规预处理方法和液相色谱-质谱联用方法相比, 该方法具有较好的特异性、可靠性和稳定性。该方法联用微流控芯片与阻抗感知技术, 可以满足小麦等食品预处理的基本检测需求, 实现快速检测小麦中的 OTA, 更加省时省力, 为食品质量安全和病害早期监测的发展提供了一定的思路。

关键词: 小麦; 赭曲霉毒素 A; 微流控芯片; 预处理; 抗原-抗体; 阻抗感知

文章编号: 1673-9078(2025)05-312-319

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.5.0501

Microfluidic Pretreatment Coupled with Impedance Sensing for the Detection of Ochratoxin A in Wheat

WU Zhiwei¹, SUN Zongbao^{1*}, JIANG Xinrong², ZOU Xiaobo¹, YANG Ning³

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)
(2. The Quality Monitoring Center for Food and Strategic Reserves of Zhenjiang City, Zhenjiang 212216, China)
(3. School of Electrical and Information Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Ochratoxin A (OTA) can contaminate wheat, thus posing a serious food safety issue. On-site rapid detection of OTA requires stable and reliable equipment and detection methods. Current pretreatment methods require extensive equipment, involve long detection times, and are susceptible to human interference. In this study, an integrated microfluidic chip with various functional chambers was proposed to achieve synchronous, rapid pretreating of wheat. Pretreated test droplets are added to electrodes modified with antibodies for OTA detection through impedance sensing. The whole process only requires 15 minutes. Quantitative detection of OTA through impedance sensing exhibited a good linear relationship

引文格式:

吴志威, 孙宗保, 蒋欣容, 等. 微流控预处理联用阻抗感知检测小麦中赭曲霉毒素A [J]. 现代食品科技, 2025, 41(5): 312-319.

WU Zhiwei, SUN Zongbao, JIANG Xinrong, et al. Microfluidic pretreatment coupled with impedance sensing for the detection of ochratoxin A in wheat [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(5): 312-319.

收稿日期: 2024-04-17

基金项目: 国家重点研发青年科学家项目 (2022YFD2000200); 江苏省农业科技自主创新项目 (CX(23)3041) 和镇江市重点研发计划项目 (NY2023002)

作者简介: 吴志威 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品快速检测与微流控技术, E-mail: 2208673845@qq.com

通讯作者: 孙宗保 (1976-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品无损快速检测与农业装备智能化, E-mail: zongbaos@163.com

($R^2=0.98$), low detection limit (0.05 $\mu\text{g/mL}$), and stable recovery (88.25%~112.36%). Testing of other confounding toxins reveals that the combined use of the pretreatment microfluidic chip and impedance sensing has good specificity for OTA detection. The proposed method demonstrates higher specificity, reliability, and stability than conventional pretreatment methods and liquid chromatography-mass spectrometry. By combining a microfluidic chip with impedance sensing, this method meets the basic pretreatment requirements for detecting OTA in wheat and other foods and enables rapid detection of OTA. This efficient and convenient method provides insight into the development of systems for food quality and safety and early disease monitoring.

Key words: wheat; ochratoxin A; microfluidic chip; pretreatment; antigen-antibody; impedance sensing

小麦作为全球三大谷物之一, 极易受到真菌毒素的侵害。赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A, OTA) 由多种曲霉和青霉菌产生, 会对多种食品及农产品造成严重污染^[1], 同时 OTA 对人类健康有严重的危害, 包括损害肾脏和免疫系统^[2]。因此, 实现小麦中 OTA 快速原位检测, 并提出一种用于对 OTA 预处理检测的专用智能化食品检测方法, 已成为实时检测亟待解决的难题。

迄今为止, 国内外检测 OTA 大多采用采用色谱法、质谱法、酶联免疫法及免疫胶体金法等方法^[3,4]。Zhang 等^[5]建立了一种无毒性酶联免疫法对农产品中 OTA 进行检测, 并通过高效液相色谱进一步验证所建立方法准确性; Jin 等^[6]通过免疫胶体金法同时检测小麦中三种真菌毒素。色谱法和质谱法具有较高的检测精度, 但对于现场样品的检测, 需要长时间的精密前处理, 且需在相应实验室内完成检测; 酶联免疫法过程快速, 但检测过程中酶的活性极易受到环境、操作等影响, 出现假阳性现象^[7]; 免疫胶体金法检测方便, 但通常只能用于定性试验, 且灵敏度不高, 易出现假阳性和漏检现象^[8]。目前 OTA 检测往往面临检测时效性差、精准度低的问题, 而阻抗法稳定性好且能实时快速检测, 对 OTA 的检测展现出强大潜力^[9], 本文拟通过阻抗感知法对小麦中 OTA 快速精准定量。但是, 在检测前的预处理过程中存在诸多问题, 食品的实时快速检测环境复杂, 预处理需理化实验室中多种大型设备, 且实验过程中废液耗材较多。

作为一种集成化装备, 微流控芯片可以解决以上难题^[10]。微流控芯片将实验过程集成, 设备小型化不仅提高了便携性, 且使用的样本和试剂含量极低, 产生的污染极小, 有助于实现可持续的生产方式^[11]。Xi 等^[12]开发了一种新型的微型磁驱动液固萃取装置, 对环境中的有机污染物进行预处理检

测; 王晓东等^[13]基于微流控技术研制了一种集成液体生化试剂的离心式农残速测芯片, 实现样品提取、反应及检测的全集成和自动化。微流控技术应用广泛^[14], 然而目前缺乏对食品中真菌毒素预处理的研

究, 因此设计一种一体化的微流控芯片用于小麦中真菌毒素的预处理是十分必要的。为了使采集的样品适合食品现场检测, 微流控技术和电阻抗法的结合在预处理检测领域展现出了强大的潜力^[15,16]。Zhang 等^[17]提出了一种基于微流控分离富集和交流阻抗特性对空气中作物真菌孢子的检测方法; 刘哲等^[18]提出了一种基于多层微流控纸芯片的农药残留识别方法, 通过纸基芯片和时序阻抗法用于农产品与食品中的农药残留检测。因此, 如果考虑在芯片上对小麦实现高通量预处理并捕获 OTA 阻抗感知信号, 不仅降低实验成本, 还提高了实验效率。

基于此, 本研究提出了一种微流控芯片与阻抗感知联用的方法, 通过电极对 OTA 与抗体反应的信号感知, 用于对小麦的中 OTA 的快速预处理检测, 为食品质量安全把控提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小麦样品由镇江市农业农村局提供。OTA 及其抗体 (Antibody-OTA, Anti-OTA), 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。吐温-20 (TWEEN-20)、 $\varphi=95\%$ 乙醇、 $\varphi=80\%$ 甲醇、10 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 值为 7.4) 由中国 Fisher 商业提供。其他分析级化学品由中国 Sigma 提供。亚克力 (Polymethyl Methacrylate, PMMA) 薄板, 购于深圳新涛亚克力有限公司; 亚克力胶水, 购于东莞汇固胶粘制品有限公司。

1.2 仪器与设备

开关电源 (120 W, 5 A)、50ZYT78 型直流电机 (24 V, 5 A), 购自德晟电机有限公司; CHI 660E 型电化学工作站, 购自上海辰华仪器有限公司; XF-101PDH 型高精度注射进样泵, 购自苏州讯飞科学仪器有限公司; AB SCIEX QTRAP 4500 型 LC-MS, 购自谱质分析检测技术 (上海) 有限公司。

1.3 微流控芯片设计及制作

使用 Solidworks 2018 绘制微流控芯片通道图, 如图 1a 所示。设计的微流控芯片由入样口、混合室、离心室、虹吸通道、检测室与取样口组成。预处理区域分为三个部分, 第一部分为入样口和混合室; 第二部分由离心室和一条虹吸通道组成; 第三部分由检测室组成。混合室中的混合通道设计参考先前的研究^[19], 混合通道设计成 S 形直角通道, 宽度为 0.50 mm, 深度为 0.30 mm, 虹吸通道长度均为 900 mm, 宽度为 0.30 mm, 深度为 0.10 mm, 图中展示了微流控各功能腔室, 构成完整的 OTA 预处理区。

微流控芯片整体分为上下两层, 上层为带有通道腔室的通道层, 下层为底板。两层均使用亚克力材质, 半径为 80 mm, 中心预留半径为 3.50 mm 的圆孔。芯片设计 8 条并行通道, 实现对小麦中 OTA 的高通量预处理, 一体化与多通路的设计, 为快速预处理检测提供了良好的平台。使用 Solidworks 2018 绘制微流控芯片三维图, 如图 1b 所示。

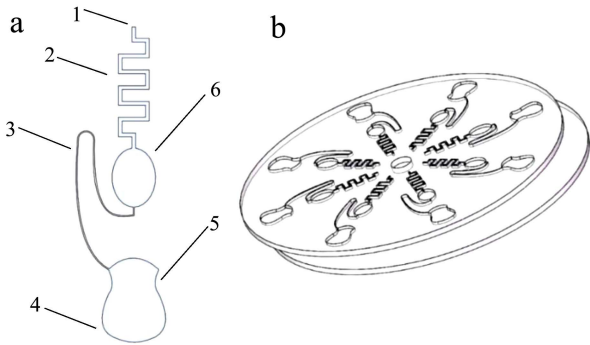


图 1 (a) 预处理腔室和 (b) 微流控芯片
Fig.1 (a) The pretreatment chamber and (b) The microfluidic chip

注: 1. 入样口; 2. 混合室; 3. 虹吸通道; 4. 取样口; 5. 检测室; 6. 离心室。

1.4 微流控芯片制作

芯片制作可分为切割、亲水性处理和粘合三个过程^[20]:

①激光切割: 将设计好的芯片图案导入 CO₂ 激光雕刻机中, PMMA 水平放置在激光切割机的加工室内, 调节激光枪头切割通道层, 切割高度为 0.10 mm 高度, 两层芯片圆心处均切割穿透留有 7 mm 半径的圆孔。

②亲水性处理: 用乙醇 (体积分数为 95%) 将 TWEEN-20 稀释至体积分数 2%, 将 10 μL 的 TWEEN-20 滴加在虹吸微阀中, 使通道充满亲水试剂, 待溶剂蒸发后放置在干燥无光环境中存放。

③清洁粘合: 采用激光技术处理的 PMMA 上下两层芯片通过亚克力粘合剂实现精密的结合。激光加工过程中, PMMA 表面及其微通道内部不可避免地残留有甲基丙烯酸甲酯 (Methyl Methacrylate, MMA) 单体和 PMMA 微粒, 这要求在粘合操作之前必须对芯片进行彻底的清洁处理。清洁方案包括: 首先使用清洁剂除去 PMMA 表层的 MMA 单体及碎片, 随后将之浸泡于体积分数为 95% 的乙醇溶液中, 利用超声波技术进行 15 min 的深度清洁, 之后在去离子水中以相同的方式进行再清洁, 目的是彻底移除残留的清洁剂和乙醇。完成这一系列清洁步骤后, 使用高纯度氮气对芯片进行吹干处理, 直至表面不留任何液滴和痕迹。

接下来, 经过清洁的芯片通过精确对齐后进行贴合。操作中, 使用 1 mL 注射器从专用容器中提取适量的亚克力粘合剂, 并小心地从芯片层间的微缝隙中注入, 以实现两层芯片的无缝粘合并用氮气吹干, 确保芯片的完整性和清洁度, 制备好的芯片如图 2 所示。



图 2 预处理一体化的微流控芯片
Fig.2 Pretreating integrated microfluidic chip

通过这种综合的清洁和粘合策略, 不仅确保了芯片的结构完整性和功能稳定性, 而且进一步提高了制备过程的可靠性和重现性, 对于高精度微流控芯片的制备具有重要意义。

1.5 预处理检测过程

使用前连接开关电源和直流电机，微流控芯片通过圆心处预留的圆孔固定于电机轴，电机轴上有用于固定的垫片与螺丝，如图固定后通过胶水粘连加固，离心设备电压 24 V，额定电流 0.5 A，输入功率 12 W，转速 0~3 000 r/min。将小麦样品粉碎后过 200 目筛，称取 100 μg 过筛后的小麦粉末与 100 μL 甲醇（体积分数为 80%）通过注射泵分别加入到微流控芯片混合通道上方各入样口中，其中进样口的连接头是 0.45 mm 内径的注射器针头，如图 3 所示。

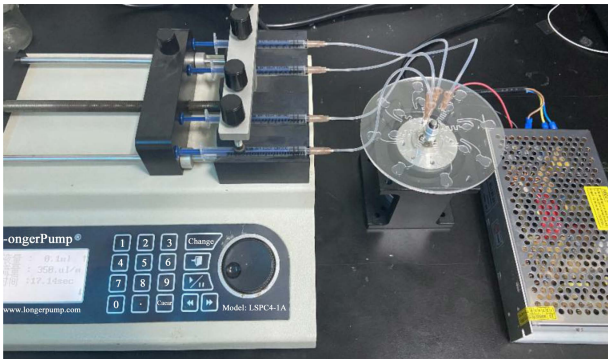


图 3 进样系统搭建

Fig.3 Construction of sample adding system

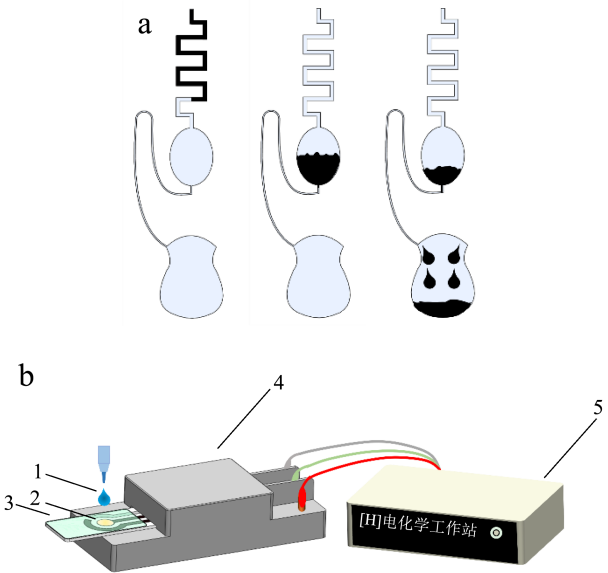


图 4 (a) 片上预处理; (b) 阻抗感知检测系统

Fig.4 (a) On-chip pretreatment; (b) Impedance sensing detection system

注：1. 滴加预处理后样品；2. Anti-OTA；3. 丝网印刷电极；4. 电极适配器；5. 电化学工作站。

样品进入微流控芯片后在通道中混合，如图 4a 所示，混合后全部流入离心室，关闭注射泵，打开

电机调节转速至 2 000 r/min，混合物在离心室中离心 10 min。在实验过程中入样口和取样口保持整体通道内气压平衡，由于虹吸通道的存在构成了离心式微流控芯片中的虹吸微阀，在高速离心的状态下，样品所受的离心力远大于虹吸微阀提供的毛细力，使得样品在离心时会被留在离心室中，离心完成后关闭电机导致离心力骤降，样品受毛细力影响被吸入虹吸通道进入检测室，与预留在检测室中的 5 μL Tris-HCl 缓冲液充分混合稀释^[20]。如图 4b 所示，将待测液从检测室取出，滴加在预留有 Anti-OTA 的丝网印刷电极上，电极通过电极适配器与电化学工作站连接，检测电极传感器上的电阻抗值变化。完成整个预处理过程大约需要 12 min，检测过程大约需要 3 min。

1.6 OTA 与抗体的阻抗感知检测机理

在芯片预处理完成后，OTA 与 Anti-OTA 的结合在丝网印刷电极上进行（图 5a）^[21]，特异性反应会产生阻抗感知信号（图 5b）^[22]。

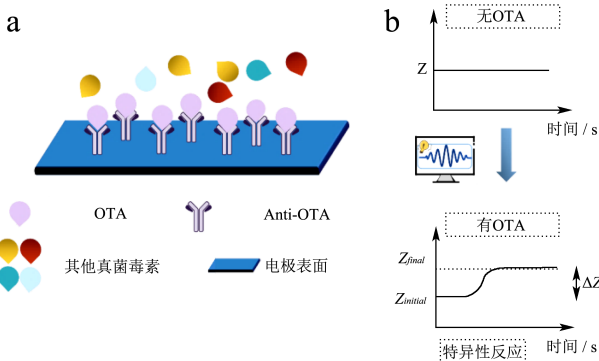


图 5 (a) OTA 检测机理; (b) 有无 OTA 存在时阻抗感知信号

Fig.5 (a) Detection mechanism of OTA; (b) Whether there is an impedance sensing signal in the presence of OTA

一个用于对 OTA 检测的阻抗感知系统，其中包含了固定在电极表面的 Anti-OTA，在抗体未与 OTA 结合时，系统的阻抗由下式给出：

$$Z_{initial} = R_{sol} + \frac{1}{j\omega C_{elec} + \frac{1}{R_{elec}}} \tag{1}$$

式中：

$Z_{initial}$ ——阻抗感知的初始值，即 OTA 未与 Anti-OTA 结合时的阻抗值；

R_{sol} ——溶液电阻；

C_{elec} ——电极电容；

R_{elec} ——电极电阻；

j —虚数单位;

ω —角频率。

当 OTA 与 Anti-OTA 结合后, 系统的阻抗感知值可表示为:

$$Z_{final} = R_{sol} + \frac{1}{j\omega C'_{elec} + \frac{1}{R'_{elec}}} \quad (2)$$

式中:

Z_{final} —阻抗感知的最终值, 即 OTA 与 Anti-OTA 结合后的阻抗值;

C'_{elec} 和 R'_{elec} —分别为结合后电极电容和电阻的新值。

通过比较 $Z_{initial}$ 和 Z_{final} , 我们可以定量衡量真菌毒素的质量浓度。阻抗感知差值为:

$$\Delta Z = Z_{final} - Z_{initial} \quad (3)$$

感知阻抗差值与 OTA 质量浓度之间的关系可以通过下面的关系式进一步量化:

$$\Delta Z = f(C_{OTA}) \quad (4)$$

式中:

C_{OTA} —OTA 的质量浓度;

f —描述 OTA 质量浓度与阻抗感知差值之间关系的函数, 即 OTA 定量检测的标准曲线模型。

1.7 数据分析

参考文献^[23,24], 检出限 (Detection Limit) 的公式如式 5 所示:

$$D = \frac{3 \cdot B}{x} \quad (5)$$

式中:

D —检出限;

B —空白测量的标准差 (Blank Standard Deviation, BSD);

x —标准曲线的斜率。

加标回收率 (Recovery) 的公式如式 6 所示:

$$R = \frac{X - Y}{C} \times 100\% \quad (6)$$

式中:

X —加标试样测定值;

Y —试样测定值;

C —加标量。

变异系数 (Coefficient of Variation, CV) 的公式如式 7 所示:

$$E = \frac{\sigma}{A} \times 100\% \quad (7)$$

式中:

E —变异系数 (CV);

σ —标准偏值;

A —平均值。

相对误差 (Relative Error, RF) 的公式如式 8 所示:

$$H = \frac{a - b}{b} \times 100\% \quad (8)$$

式中:

H —相对误差 (RF);

a —微流控检测值;

b —传统检测值。

皮尔逊相关系数 r 的公式如式 9 所示:

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (9)$$

式中:

x_i 和 y_i —分别是同份样品两种方法预处理后 LC-MS 的检测值;

$\bar{x}$ 和 $\bar{y}$ —分别是这两种方法预处理后检测 LC-MS 的平均值。

上述试验中每个试验条件, 均进行 3 个平行测试。试验结果的数据, 通过 Origin 2018 进行分析和绘图。

2 结果与讨论

2.1 阻抗的频率选取

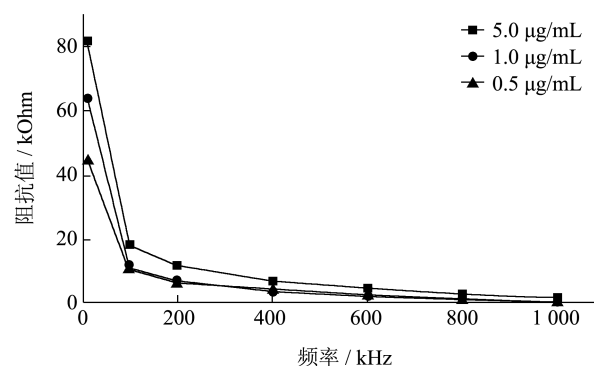


图 6 OTA 的频率阻抗图

Fig.6 The frequency impedance diagram of OTA

本研究使用的电化学工作站工作频率范围为 1~1 000 kHz, 分别选取 10、100、200、400、600、800、1 000 kHz 作为参考频率。图 6 为 OTA 标准样品 0.5、1 和 5 µg/mL 下的频率阻抗图。当扫描频率从 10 kHz 增加到 1 000 kHz 时, 阻抗减小, 特别是在 1~100 kHz 的频率范围内, 阻抗下降最为明显。当扫描电压频率达到 100 kHz 时, 阻抗降至 10 kΩ 以下, 随后阻抗逐渐变化, 最终趋于稳定。当扫描

电压频率超过 100 kHz 时, 阻抗随电压扫描频率变化不明显, 其值趋于稳定。因此, OTA 的阻抗特征对低频信号更为敏感, 可以选择 1~100 kHz 的频率范围。

2.2 OTA标准曲线

采用阻抗感知方法用于定量检测小麦实际样品中的 OTA 含量, 小麦中 OTA 在 0.01~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下的阻抗感知图, 如图 7a 所示, OTA 在 0.1~20 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内呈现良好线性关系。在 0.1~20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内小麦中 OTA 质量浓度与检测的阻抗感知差值之间的线性关系为 $y=3.10x+11.58$ ($R^2=0.98$), OTA 的检出限为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ ($S/N=3$), 如图 7b 所示。如表 1 所示, 与以往报道的 OTA 检测方法相比, 阻抗感知法检测方法检测响应时间仅有 3 min, 响应速度较快、灵敏度更好, 且具有较好的线性范围和检出限。

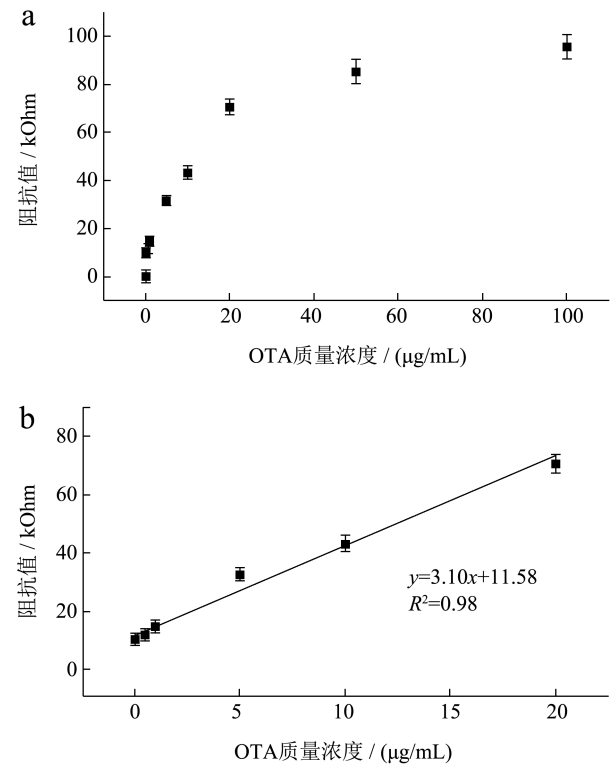


图 7 (a) OTA 在 0.01~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下的阻抗感知图;
(b) OTA 在 0.1~20 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下的标准曲线
Fig.7 (a) Impedance sensing of OTA at 0.01~100 $\mu\text{g/mL}$;
(b) Standard curve of OTA at 0.1~20 $\mu\text{g/mL}$

2.3 特异性分析

记 Z_{initial} 与 Z_{final} 的变化倍数为 Z' 。黄曲霉毒素 B1 (Aflatoxin B1, AFB1)、黄曲霉毒素 G1 (Aflatoxin G1, AFG1) 和玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN)

是经常与 OTA 同时存在的真菌毒素, 这可能对分析存在潜在干扰, 因此通过检测这几种真菌毒素以检验阻抗感知法检测 OTA 时的特异性。选取 OTA 质量浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 而干扰物 AFB1、AFG1、ZEN 质量浓度均为 5 $\mu\text{g/mL}$, 由图 8 可得, 有 OTA 存在的溶液由于抗原抗体的结合导致阻抗感知值变大, 进而出现阻抗增大数倍的结果, 其他真菌毒素单独存在时传感器基本无信号响应, 实验结果波动较小, 且 OTA 与多种真菌毒素同时存在时对实验结果影响较小。结果表明提出的微流控联用阻抗感知法特异性良好, 能为将来特异性检测小麦中 OTA 提供思路。

表 1 阻抗感知法及其他方法检测OTA的结果比较
Table 1 Comparison of OTA detection results by impedance sensing method and other methods

方法	响应时间/min	灵敏度	检出限/ ($\mu\text{g/mL}$)	线性范围	参考文献
高效液相色谱法	—	1.088 3	0.25	0.5~20 $\mu\text{g/mL}$	[25]
超高效液相色谱串联质谱法	—	0.570 32	0.1	0.1~10.0 ng/mL	[26]
胶体金免疫法	20	0.846 1	0.32	0.53~12.16 ng/mL	[27]
阻抗感知法	3	3.10	0.05	0.1~20 $\mu\text{g/mL}$	此方法

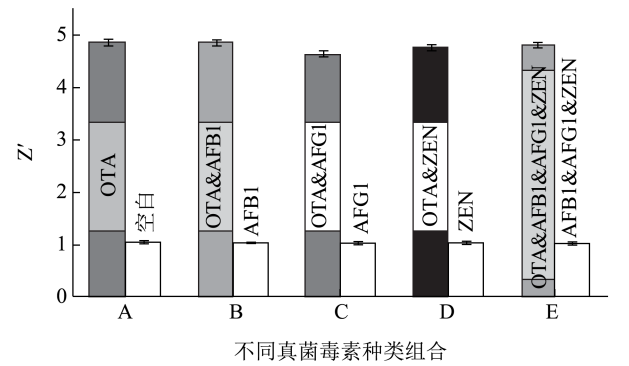


图 8 OTA 的特异性表现
Fig.8 The specific of the OTA

2.4 回收率及变异系数评估

通过评价测定的回收率和变异系数 (Coefficient of Variation, CV), 考察了该方法的准确度和精密度^[28]。同一份小麦样品的 OTA 检测实验在一天进行, 连续 3 d 对多份小麦样品分别进行检测。表 2 结果显示, 平均加标回收率为 88.25%~112.36%, CV 为 2.15%~9.04%, 表明该方法适用于 OTA 的准确定量,

精密度在可接受范围内。

表 2 OTA的回收率
Table 2 The recovery rate of OTA

真菌毒素	加标量 C/ (μg/mL)	阻抗感知值/ kOhm	回收率/%	CV/%
OTA	0.1	0.11 ± 0.07	112.36	6.73
	0.5	0.51 ± 0.04	101.75	2.15
	1	0.98 ± 0.14	98.25	4.19
	5	4.66 ± 0.24	93.25	5.74
	10	8.83 ± 0.13	88.25	9.04
	20	17.91 ± 0.11	89.56	8.53

2.5 微流控预处理与常规预处理对实际样品检测比对

将收集好的小麦样品，首先使用传统预处理方法处理样品，取 100 mg 小麦样品浸泡 5 min 后加入 100 mL φ=80% 甲醇溶液，2 000 r/min 离心处理 10 min，取上清液后分散在 5 mL Tris-HCl 溶液中。同时取等量小麦样品通过微流控芯片实现预处理，具体操作步骤参考 1.5 章节，两种方法预处理后均使用液相色谱-质谱联用方法（Liquid Chromatograph Mass Spectrometer, LC-MS）进行检测^[29]。得到的实验结果如表 3 所示，相对误差可以反映测量的可信程度^[30]，相对误差为 3.25%~5.02%，并通过皮尔逊相关系数衡量传统方法与微流控法预处理效果一致性，计算可得皮尔逊相关系数为 0.997，非常接近 1，说明两组数据之间的一致性非常强，说明微流控预处理法具有良好的可靠性。

表 3 实际样品中传统预处理和微流控预处理OTA的比较
Table 3 Comparison of the tradition methods and on-chip methods for pretreating OTA in real samples

真菌毒素	小麦	传统方法	微流控法	相对误差/%
OTA/ (μg/mL)	样本 1	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.07	4.54
	样本 2	0.81 ± 0.05	0.78 ± 0.07	5.02
	样本 3	3.98 ± 0.09	4.08 ± 0.04	3.25
	样本 4	12.31 ± 0.05	11.93 ± 0.05	3.77
	样本 5	18.84 ± 0.04	18.43 ± 0.09	3.83

2.6 微流控联用阻抗感知法和液相色谱-质谱联用的方法比对

为了证明该方法用于 OTA 定量检测的实用性和可靠性，使用微流控联用阻抗感知法与 LC-MS 方法对小麦样品中 OTA 进行检测，如表 4 所示，相对误差为 2.32%~4.82%，同时使用皮尔逊相关系数

衡量 LC-MS 与阻抗感知法检测一致性，计算可得皮尔逊相关系数为 0.995，说明微流控联用阻抗感知法具有良好的可靠性和重复性。

表 4 实际样品中阻抗感知法和LC-MS检测OTA的比较
Table 4 Comparison of OTA detected by impedance sensing and LC-MS in actual samples

真菌毒素	小麦	检测方法		相对误差 /%
		LC-MS	阻抗感知法	
OTA/ (μg/mL)	样本 1	0.52 ± 0.04	0.54 ± 0.03	4.11
	样本 2	0.69 ± 0.06	0.70 ± 0.04	2.32
	样本 3	5.58 ± 0.05	5.84 ± 0.09	4.82
	样本 4	9.73 ± 0.07	9.54 ± 0.06	2.60
	样本 5	16.55 ± 0.06	16.23 ± 0.06	2.85

3 结论

本文制备了一种微流控芯片实现小麦中 OTA 的一体化预处理，并通过阻抗感知法对其定量检测。首先依据小麦样品预处理过程设计芯片的腔室及通路，设计并行多通路实现对小麦样品的高通量预处理，实现不同小麦样品的检测结果比对或同一小麦样品的平行结果对比，然后结合修饰了 Anti-OTA 的丝网印刷电极通过阻抗感知法检测 OTA，在 0.1~20 μg/mL 范围内呈良好的线性关系，定量检测的回归曲线为 $y=3.10x+11.58$ ($R^2=0.98$)，检出限为 0.05 μg/mL，平均加标回收率为 88.25%~112.36%，变异系数为 2.15%~9.04%，将 OTA 与其他多种真菌毒素（AFB1、AFG1 和 ZEN）混合后进行测试。

结果显示所提出的研究方法具有较好的选择性，仅对存在 OTA 这一种真菌毒素的溶液中展现出显著的阻抗感知信号变化，表明微流控阻抗感知联用法具有良好的特异性。最后将传统预处理法与微流控法进行比对，阻抗感知法与 LC-MS 检测法进行比对，证明此方法具有可靠性和实用性。研究表明采用微流控联用阻抗感知技术可以成功应用于小麦的原位预处理与 OTA 的定量检测，提出了快速预处理检测食品中 OTA 的一体化方法，为食品早期预防监测实现理论基础，为食品质量控制和分析检测提供了一定的思路。

参考文献

[1] 邢福国,刘一冰,王刚.食品中赭曲霉毒素A的产生机制及污染防控策略[J].食品科学技术学报,2023,41(4):26-37.
[2] TIAN Y X, HU X F, JIANG J, et al. Smartphone-based

- quantitative detection of ochratoxin A in wheat via a lateral flow assay [J]. *Foods*, 2023, 12(3): 431.
- [3] 高云慨,陈小妹,陈春泉,等.咖啡中3种赭曲霉毒素 QuEChERS-UPLC-MS/MS检测方法[J].食品与机械, 2023,39(11):91-97.
- [4] 刘妍,陈坚,谭贵良,等.QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法测定发酵黑茶中的10种真菌毒素[J].现代食品科技,2017,33(7):280-288,260.
- [5] ZHANG C X, ZHANG Q, TANG X Q, et al. Development of an anti-idiotypic VHH antibody and toxin-free enzyme immunoassay for ochratoxin A in cereals [J]. *Toxins*, 2019, 11(5): 280.
- [6] JIN N, WANG M, FAN B, et al. Wheat with a colloidal gold test strip and matrix solid-phase dispersion cleaning [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2017, 19(6): 1571-1575.
- [7] 曹向红,董玉琳,徐敏.酶联免疫吸附试验的干扰因素和对策[J].实用医技杂志,2011,18(12):1321-1322.
- [8] 孙莉,王军.胶体金免疫定性试剂质量评价和问题浅析[J].首都食品与医药,2020,27(2):182-184.
- [9] CANCELLIERE R, ALBANO D, BRUGNOLI B, et al. Electrochemical and morphological layer-by-layer characterization of electrode interfaces during a label-free impedimetric immunosensor build-up: The case of ochratoxin A [J]. *Applied Surface Science*, 2021, 567: 150791.
- [10] SUN Z B, QI J H, SHEN Y, et al. Collection, nucleic acid release, amplification, and visualization platform for rapid field detection of rice false smut [J]. *Lab on a Chip*, 2023, 23(3): 542-552.
- [11] 庞浩然,解加庆,关其锋,等.搭载微混合芯片的食品内亚硝酸盐含量光电检测方法研究[J].食品与机械,2021, 37(11):50-54,158.
- [12] XI Y Q, DUFORD D A, SALIN E D. Automated liquid-solid extraction of pyrene from soil on centrifugal microfluidic devices [J]. *Talanta*, 2010, 82(3): 1072-1076.
- [13] 王晓东,乔奇伟,宋志谦,等.全集成离心式微流控农残检测芯片研制[J].食品与发酵工业,2021,47(15):276-279.
- [14] 周杰,黄文胜,邓婷婷,等.转基因检测微流控恒温扩增芯片的研制[J].现代食品科技,2017,33(6):293-302,270.
- [15] WANG X, GUO Z Y, ZHANG D T, et al. Integrating liquid chromatography-electrochemical detection-surface enhanced raman spectroscopy on microfluidic chip for phenylurea herbicides analysis [J]. *Sensors and Actuators: B. Chemical*, 2024, 407: 135436.
- [16] CHEN X M, SHEN M, LIU S, et al. Microfluidic impedance cytometry with flat-end cylindrical electrodes for accurate and fast analysis of marine microalgae [J]. *Lab on a Chip*, 2024, 27(4): 2058-2068.
- [17] ZHANG X D, GUO B X, WANG Y F, et al. A detection method for crop fungal spores based on microfluidic separation enrichment and AC impedance characteristics [J]. *Journal of Fungi*, 2022, 8(11): 1168.
- [18] 刘哲,毛罕平,杨宁.自供热复合磁吸式微流控纸芯片加热层的研究[J].农机化研究,2023,45(6):159-164,263.
- [19] CHEN X Y, LI T C, HU Z L. A novel research on serpentine microchannels of passive micromixers [J]. *Microsystem Technologies-Micro-and Nanosystems-Information Storage and Processing Systems*, 2017, 23(7): 2649-2656.
- [20] 梁照.表面差异化处理的离心微流控芯片及用于蛋白质检测初步研究[D].重庆:重庆大学,2022.
- [21] WANG X, ZHAO X L, SONG X Y, et al. Diazo-functionalised immunoelectrochemical sensor for the detection of ochratoxin A in foods [J]. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 2024, 41(6): 699-713.
- [22] LI X Y, FALCONE N, HOSSAIN M N, et al. Development of a novel label-free impedimetric electrochemical sensor based on hydrogel/chitosan for the detection of ochratoxin A [J]. *Talanta*, 2021, 226: 122183.
- [23] ACHADU O J, NYOKONG T. Fluorescence “turn-ON” nanosensor for cyanide ion using supramolecular hybrid of graphene quantum dots and cobalt pyrene-derivatized phthalocyanine [J]. *Dyes and Pigments*, 2019, 160: 328-335.
- [24] 董孝元,周玉,余义,等.LC-ESI-MS/MS测定白酒中氨基甲酸乙酯的方法研究[J].酿酒科技,2023,11:105-111.
- [25] 李宗旺,叶金,李丽,等.多合一免疫磁珠全自动净化高效液相色谱法测定辣椒粉中5种真菌毒素[J].农产品质量与安全,2024,2:55-61.
- [26] 孟春杨,吴玉田,邹璐,等.免疫亲和柱净化-超高效液相色谱串联质谱法同时测定火锅底料中的5种真菌毒素[J].食品科技,2024,49(2):334-339.
- [27] ZHANG X, HE K, FANG Y, et al. Dual flow immunochromatographic assay for rapid and simultaneous quantitative detection of ochratoxin A and zearalenone in corn, wheat, and feed samples [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*, 2018, 19(11): 871-883.
- [28] 石文婷,陆丽婷,严艺琳,等.食品中赭曲霉毒素A三种检测方法的比较研究[J].粮食与食品工业,2019,26(3):56-60.
- [29] 宋卫得,苏征,惠希东,等.液质联用技术在食品真菌毒素检测中的研究进展[J].食品工业科技,2016,37(17):395-399.
- [30] 苏小雨.果蔬中有机磷农药的比率型电化学传感器检测研究[D].镇江:江苏大学,2023.