



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110726764 A

(43)申请公布日 2020.01.24

(21)申请号 201911045485.5

(22)申请日 2019.10.30

(71)申请人 山东理工大学

地址 255049 山东省淄博市高新技术开发
区高创园A座313室

(72)发明人 赵文苹 孙霞 刘中合 郭业民
赵亚

(74)专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权
代理有限公司 23211

代理人 邓宇

(51)Int.Cl.

G01N 27/30(2006.01)

G01N 27/327(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用

(57)摘要

一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用,属于电化学免疫传感器技术领域。为了解决当前对黄曲霉毒素B1检测专一性差,灵敏度低,检测周期长,不能现场在线检测及监测的问题,本发明提供一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用,电化学免疫传感器的制备方法,包括以下步骤:(1)制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极;(2)黄曲霉毒素抗体的固定;(3)BSA封闭非特异性结合位点,获得标准曲线, $y=0.1296+0.03774x$,线性相关系数 $R^2=0.98858$ 曲线线性检测范围为0.01~1000ng/mL。本发明所述的传感器可在0.11V左右的小范围电压下或确切电压下,进行黄曲霉毒素B1含量的测定。

1. 一种电化学免疫传感器,其特征在于,所述传感器的工作电极是金电极,所述金电极上修饰有碳纤维,纳米金,黄曲霉毒素B1抗体和BSA。

2. 权利要求1所述的电化学免疫传感器的制备方法,其特征在于,在金电极表面分别滴涂碳纤维和纳米金,孵育后得到修饰的金电极,然后在电极表面滴涂黄曲霉毒素B1抗体进行孵育,得到的抗黄曲霉毒素B1的电极经BSA孵育,得到电化学免疫传感器。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:以电极面积为基准计,每平方毫米金电极表面滴加0.5-1 μ l的碳纤维,23-27 $^{\circ}$ C孵育90-120min,再在每平方毫米金电极表面滴加0.5-1 μ l纳米金,23-27 $^{\circ}$ C孵育90-120min,获得AuNPs/CF/Au电极;

(2) 黄曲霉毒素B1抗体的固定:以电极面积为基准计,每平方毫米的AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.5-1 μ l质量浓度为10-30 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,23-27 $^{\circ}$ C孵育60-90min,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极;

(3) BSA的封闭:以电极面积为基准计,每平方毫米的anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.9-1.2 μ l质量浓度为2.5%-3%的BSA,23-27 $^{\circ}$ C孵育60-90min,获得检测AFB1的电化学免疫传感器。

4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述的制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:以电极面积为基准计,每平方毫米金电极表面滴加0.7 μ l的碳纤维,25 $^{\circ}$ C孵育90min,再在每平方毫米金电极表面滴加0.7 μ l的纳米金,25 $^{\circ}$ C孵育90min,获得AuNPs/CF/Au电极。

5. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤(2)所述的黄曲霉毒素B1抗体的固定:以电极面积为基准计,每平方毫米的AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.7 μ l质量浓度为10 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,25 $^{\circ}$ C孵育60min,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极。

6. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,步骤(3)所述的BSA的封闭:以电极面积为基准计,每平方毫米的anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加1 μ l质量浓度为2.5%的BSA,25 $^{\circ}$ C孵育60min,获得检测AFB1的电化学免疫传感器。

7. 权利要求1所述的电化学免疫传感器在检测AFB1上的应用。

8. 根据权利要求7所述的应用,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 将待测液与传感器36-38 $^{\circ}$ C孵育30-50min,然后用水冲洗干净;

(2) 在pH为7.4-7.6的含有0.1M KCL和5mM[Fe(CN) $_6^{3-/4-}$]的PBS溶液中,用循环伏安法进行检测;

(3) 将在0.09-0.12V电压下,测得的免疫反应电流响应值通过归一化电流法进行换算得到y值,带入标准曲线 $y=0.1296+0.03774x$ 中,得出的x值即AFB1的浓度的对数值,进一步获得AFB1的浓度。

9. 根据权利要求8所述的应用,其特征在于,所述归一化电流法进行换算是 $y=(待测样品免疫反应电流响应值-无待测样孵育时品免疫反应电流响应值)/无待测样孵育时免疫反应电流响应值$,所述AFB1的检出范围为0.01~1000ng/ml。

10. 根据权利要求8所述的应用,其特征在于,步骤(2)所述的含有0.1M KCL和5mM[Fe(CN) $_6^{3-/4-}$]的PBS溶液的pH为7.4;步骤(3)所述的电压为0.10-0.12V。

一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于电化学免疫传感器技术领域,具体涉及一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 黄曲霉毒素是由黄曲霉和寄生菌产生的有毒、致癌性次生代谢产物,是真菌毒素中毒性最大、毒性最强的一种。由于黄曲霉毒素经常在食品和农产品中被发现,它们在许多国家造成了严重的健康和经济问题。在黄曲霉毒素中,黄曲霉毒素B1 (AFB1) 毒性最高,被国际癌症研究机构列为一类致癌物。因此,对人、家畜、家禽的健康威胁极大,引起了世界各国的高度重视,并制定了最高限量作为食品和饲料的强制性标准。

[0003] 目前黄曲霉毒素的检测方法有多种,概括起来有化学分析法、仪器分析法、生物鉴定法及免疫分析法等。这些分析方法主要是根据黄曲霉毒素的化学结构和生物学特性,结合仪器对黄曲霉毒素进行定性和定量分析。例如利用黄曲霉毒素具有荧光性,可以进行薄层层析法 (TLC) 和高效液相色谱法 (HPLC),但该法专一性差、灵敏度低,一般只作为化学分析法的佐证;利用酶及生化技术的免疫分析法特异性强,灵敏度高,比较准确快速,操作简单,易于标准化,但需要特殊的设备和安全保护,妨碍了更广泛的应用。

[0004] 电化学免疫方法选择性强、专一性好、操作简单,具有广阔的发展前景。Y.Liu等利用自组装的辣根过氧化物酶 (HRP) 和AFB1抗体分子在纳米金颗粒的功能生物识别表面上制备了微梳电极,运用微梳电极上发生的生物电催化反应来测定黄曲霉毒素AFB1,传感器的最低检测限为0.1ng/mL。Beheshti-Marnani等研究了还原石墨烯修饰的电极的电化学特征,用这种电极制备的适配体传感器用于AFB1的超微量检测,检测结果表明该传感器的最低检测限为0.07ng/mL。K.Gouda等人使用亚甲基蓝标记的适配体作为信号片段,提出了一种基于功能化氧化石墨烯电催化放大信号的电化学适配体生物传感器用于黄曲霉毒素B1检测,最低检测限达到0.05ng/mL。Yu等提出了一种用MWCNTs/RTIL复合物薄膜修饰电极构建的电化学阻抗免疫传感器快速灵敏地测定AFB1,MWCNTs的存在保证了快速的电子转移,离子液体为抗体提供了一个良性的微环境,检测结果显示:在0.1-10ng/mL的范围内,传感器具备良好的线性关系,最低检测限0.03ng/mL。这些方法检测信号的获得大都基于实验室里的电化学分析仪器,但是农业生产现场环境恶劣,条件简陋,急需检测结果简便易得、实时可见,急需发明一种与实际农业生产中的现场快速检测场景及检测装置匹配的检测方法。

发明内容

[0005] 为了解决当前对黄曲霉毒素B1检测专一性差,灵敏度低,检测周期长,不能现场在线检测及监测的问题,本发明提供一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用。

[0006] 本发明所述传感器的工作电极是金电极,所述金电极上修饰有碳纤维,纳米金,黄曲霉毒素B1抗体和BSA。

[0007] 本发明所述的电化学免疫传感器的制备方法,是在金电极表面分别滴涂碳纤维和纳米金,孵育后得到修饰的金电极,然后在电极表面滴涂黄曲霉毒素B1抗体孵育进行抗体固定,制备好的电极最后经BSA孵育,封闭固定在电极上的抗体的非特异性位点,得到电化学免疫传感器。

[0008] 传感器制备过程中的参数优化过程包括以下步骤:

[0009] (1) 制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:以电极面积为基准计,每平方毫米金电极表面滴加0.5-1 μ l的碳纤维,23-27 $^{\circ}$ C孵育90-120min,再在每平方毫米金电极表面滴加0.5-1 μ l纳米金,23-27 $^{\circ}$ C孵育90-120min,获得AuNPs/CF/Au电极;

[0010] (2) 黄曲霉毒素B1抗体的固定:以电极面积为基准计,每平方毫米的AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.5-1 μ l质量浓度为10-30 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,23-27 $^{\circ}$ C孵育60-90min,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极;

[0011] (3) BSA的封闭:以电极面积为基准计,每平方毫米的anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.9-1.2 μ l质量浓度为2.5%-3%的BSA,23-27 $^{\circ}$ C孵育60-90min,获得检测AFB1的电化学免疫传感器。

[0012] 优选的,步骤(1)所述的制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:以电极面积为基准计,每平方毫米金电极表面滴加0.7 μ l的碳纤维,25 $^{\circ}$ C孵育90min,再在每平方毫米金电极表面滴加0.7 μ l的纳米金,25 $^{\circ}$ C孵育90min,获得AuNPs/CF/Au电极。

[0013] 优选的,步骤(2)所述的黄曲霉毒素B1抗体的固定:以电极面积为基准计,每平方毫米的AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.7 μ l质量浓度为10 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,25 $^{\circ}$ C孵育60min,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极。

[0014] 优选的,步骤(3)所述的BSA的封闭:以电极面积为基准计,每平方毫米的anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加1 μ l质量浓度为2.5%的BSA,25 $^{\circ}$ C孵育60min,获得检测AFB1的电化学免疫传感器。

[0015] 本发明所述的电化学免疫传感器在检测AFB1上的应用。

[0016] 包括如下步骤:

[0017] (1) 将待测液与传感器36-38 $^{\circ}$ C孵育30-50min,然后用水冲洗干净;

[0018] (2) 在pH为7.4-7.6的含有0.1M KCL和5mM[Fe(CN) $_6^{3-/4-}$]的PBS溶液中,用循环伏安法进行检测;

[0019] (3) 将在0.09-0.12V电压下,测得的免疫反应电流响应值通过归一化电流法进行换算得到y值,带入标准曲线 $y=0.1296+0.03774x$ 中,得出的x值即AFB1的浓度的对数值,进一步获得AFB1的浓度,所述归一化电流法进行换算是 $y=(\text{待测样品免疫反应电流响应值}-\text{无待测样孵育时品免疫反应电流响应值})/\text{无待测样孵育时免疫反应电流响应值}$,所述AFB1的检出范围为0.01~1000ng/ml。

[0020] 优选的,步骤(2)所述的含有0.1M KCL和5mM[Fe(CN) $_6^{3-/4-}$]的PBS溶液的pH为7.4。

[0021] 优选的,步骤(3)所述的电压为0.10-0.12V。

[0022] 有益效果

[0023] 碳纤维是含碳量高于90%的无机高分子纤维,是由片状石墨微晶等有机纤维沿纤维轴向方向堆砌而成,经碳化及石墨化处理而得到的微晶石墨材料。碳纤维具有许多优良性能,碳纤维的轴向强度和模量高,密度低、比性能高,无蠕变,非氧化环境下耐超高温,耐

疲劳性好,电导率高,X射线透过性好,在有机溶剂、酸、碱中不溶不胀,耐蚀性突出年来在电化学中成为具有吸引力的材料。

[0024] 纳米金(金纳米粒子)即指金的微小颗粒,其直径在1~100nm,具有高电子密度、介电特性和催化作用,能与多种生物大分子结合,且不影响其生物活性。由氯金酸通过还原法可以方便地制备各种不同粒径的纳米金,其颜色依直径大小而呈红色至紫色。纳米金可用于标记技术,实质上是蛋白质等高分子被吸附到纳米金颗粒表面的包被过程。吸附机理是纳米金颗粒表面负电荷,与蛋白质的正电荷基团因静电吸附而形成牢固结合,而且吸附后不会使生物分子变性。由于球形的纳米金粒子对蛋白质有很强的吸附功能,可以与免疫球蛋白、毒素、酶、抗生素、牛血清白蛋白等非共价结合,因而在基础研究和实验中成为非常有用的工具。

[0025] 本发明制备的AuNPs和CF信号放大材料具有良好的电化学活性及检测能力,制备的电化学免疫传感器线性范围很宽,检出限较低,成功实现了对AFB1的灵敏检测。将一系列不同浓度的AFB1抗原和抗体特异性识别,37℃孵育30min,超纯水冲洗干净,在含有0.1M KCl和5mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 的PBS溶液中用循环伏安法对不同浓度的AFB1进行检测,应用归一化方法处理黄曲霉毒素B1孵育前后传感器上的检测电流值,获得以AFB1浓度的对数为横坐标,免疫反应电流响应电流归一化值最大处对应的电压0.11V处的电流差值为纵坐标的标准曲线,曲线线性检测范围为0.01~1000ng/mL,检出限为0.01ng/mL,线性回归方程为 $y = 0.1296 + 0.03774x$,线性相关系数 $R^2 = 0.98858$ 。

[0026] 电化学免疫传感器的检测信号一般比较微弱,易受外界各种干扰因素的影响,使用归一化电流法(NSPV)处理传感器检测的电化学信号,确定了传感器感应信号变化率最大处的电压值,以此电压值处的反应前后的电流响应差值为计算依据提取的线性回归模型,其检测灵敏度和准确性及稳定性都有极大提高,该传感器检测效果切实可靠,在检测黄曲霉毒素B1方面具备良好的开发潜力。

[0027] 本发明在实际测定待测样品中黄曲霉毒素B1含量时,不仅可在实验室的条件下应用电化学工作站,施以一定范围的电压进行测定,还可以在0.11V左右的小范围电压下或确切电压下,进行黄曲霉毒素B1含量的测定,这将大大减少本方法在实际使用中对实验仪器的限制,增加本方法与黄曲霉毒素现场快速检测装置的适用性,满足实际农业生产中的现场快速检测场景及检测装置匹配问题,将此套方法更换其他的生物识别元件(其他种类抗体),可以更大范围内推广此类检测技术及应用,为现场快速技术的发展提供标杆性贡献。

附图说明

[0028] 图1.不同材料修饰顺序对金电极表面的不同电流响应(a)裸金电极Au;(b)纳米金/碳纤维/金电极AuNPs/CF/Au;(c)碳纤维/纳米金/金电极CF/AuNPs/Au;

[0029] 图2.不同材料修饰顺序对玻碳电极表面的不同电流响应(a)裸玻碳电极GCE;(b)纳米金/碳纤维/玻碳电极,AuNPs/CF/GCE;(c)碳纤维/纳米金/玻碳电极,CF/AuNPs/GCE;

[0030] 图3.碳纤维和纳米金复合膜对金电极和玻碳电极修饰效果比较(a) AuNPs/CF/Au;(b) AuNPs/CF/GCE;

[0031] 图4.不同浓度黄曲霉毒素孵育的传感器响应电流在不同电压下的归一化数值;

[0032] 图5.不同浓度黄曲霉毒素的浓度与黄曲霉毒素孵育后免疫传感器0.11V处电流差

值的线性关系图。

具体实施方式

[0033] 本发明所述的金纳米配制方式与Doron A, Katz E, Willner I. Organization of Au colloids as monolayer films onto ITO glass surfaces: application of the metal colloid films as base interfaces to construct redox-active monolayers [J]. Langmuir, 1995, 11 (4): 1313-1317. 记载一致;

[0034] 本发明所述的碳纤维购买自北京市德科岛金科技有限公司。

[0035] 下面结合具体实施例对本发明做进一步说明,但本发明不受实施例的限制。

[0036] 实施例1. 电化学免疫传感器及其制备方法。

[0037] 本实施例所述的光电化学免疫传感器的制备步骤如下:

[0038] (1) 制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:选择直径为3mm的金电极,在其表面滴加5 μ l碳纤维(相当于每平方毫米的金电极表面滴加约为0.7 μ l),25 $^{\circ}$ C孵育90min,用超纯水彻底冲洗电极工作区以去除没有结合的碳纤维残留并用氮气吹干,再滴加5 μ l纳米金,25 $^{\circ}$ C孵育90min,用超纯水冲洗去除未结合纳米金并用氮气吹干,获得AuNPs/CF/Au电极;

[0039] (2) 黄曲霉毒素B1抗体的固定:在AuNPs/CF/Au电极表面滴加5 μ l质量浓度为10 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,25 $^{\circ}$ C孵育1h,用超纯水彻底冲洗电极表面,以去除没有结合的残余抗体,然后用氮气吹干,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极。

[0040] (3) BSA的封闭:在anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加7 μ l(相当于每平方毫米的金电极表面滴加约为1 μ l)质量浓度为2.5%的BSA,25 $^{\circ}$ C孵育1h,用超纯水彻底冲洗电极表面以去除电极表面多余的BSA,最后用氮气吹干,获得检测AFB1的光电化学免疫传感器。

[0041] 实施例2. 电化学免疫传感器及其制备方法。

[0042] 本实施例所述的光电化学免疫传感器的制备步骤如下:

[0043] (1) 制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:以电极面积为基准计,每平方毫米金电极表面滴加0.5 μ l的碳纤维,27 $^{\circ}$ C孵育100min,用超纯水彻底冲洗电极工作区以去除没有结合的碳纤维残留并用氮气吹干,再在每平方毫米金电极表面滴加0.5 μ l纳米金,27 $^{\circ}$ C孵育100min,用超纯水冲洗去除未结合纳米金并用氮气吹干,获得AuNPs/CF/Au电极;

[0044] (2) 黄曲霉毒素B1抗体的固定:以电极面积为基准计,每平方毫米的AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.5 μ l质量浓度为20 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,27 $^{\circ}$ C孵育100min,用超纯水彻底冲洗电极表面,以去除没有结合的残余抗体,然后用氮气吹干,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极。

[0045] (3) BSA的封闭:以电极面积为基准计,每平方毫米的anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加0.9 μ l质量浓度为3%的BSA,27 $^{\circ}$ C孵育80min,用超纯水彻底冲洗电极表面以去除电极表面多余的BSA,最后用氮气吹干,获得检测AFB1的光电化学免疫传感器。

[0046] 实施例3. 电化学免疫传感器及其制备方法。

[0047] 本实施例所述的光电化学免疫传感器的制备步骤如下:

[0048] (1) 制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极:以电极面积为基准计,每平方毫米金电极表面滴加1 μ l的碳纤维,23 $^{\circ}$ C孵育120min,用超纯水彻底冲洗电极工作区以去除没有结合的碳纤维残留并用氮气吹干,再在每平方毫米金电极表面滴加1 μ l纳米金,23 $^{\circ}$ C孵育

120min,用超纯水冲洗去除未结合纳米金并用氮气吹干,获得AuNPs/CF/Au电极;

[0049] (2) 黄曲霉毒素B1抗体的固定:以电极面积为基准计,每平方毫米的AuNPs/CF/Au电极表面滴加1 μ l质量浓度为30 μ g/mL的黄曲霉毒素B1抗体,23 $^{\circ}$ C孵育120min,用超纯水彻底冲洗电极表面,以去除没有结合的残余抗体,然后用氮气吹干,获得anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极。

[0050] (3) BSA的封闭:以电极面积为基准计,每平方毫米的anti-AFB1/AuNPs/CF/Au电极表面滴加1.2 μ l质量浓度为2.8%的BSA,23 $^{\circ}$ C孵育90min,用超纯水彻底冲洗电极表面以去除电极表面多余的BSA,最后用氮气吹干,获得检测AFB1的电化学免疫传感器。

[0051] 实施例4.实施例1制得的电化学免疫传感器在检测AFB1中的应用。

[0052] 本实施例利用实施例1中制备的电化学免疫传感器,进行待测样品AFBI的检测,具体操作步骤如下:

[0053] (1) 在大米样品中分别加10ng/ml、50ng/ml、100ng/ml的AFBI,与传感器进行37 $^{\circ}$ C孵育30min,然后用水冲洗干净;

[0054] (2) 在pH为7.4的含有0.1M KCl和5mM[Fe(CN) $_6^{3-/4-}$]的PBS溶液中进行循环伏安法进行检测;

[0055] (3) 将归一化电流法获得的0.V电压作为取值参考电压,测得0.11V处的免疫反应电流响应值差值作为y值,带入标准曲线 $y=0.1296+0.03774x$ 中,得出的x值即AFB1的浓度的对数值,进一步获得AFB1的浓度,所述归一化电流法进行换算是 $y=(\text{待测样品免疫反应电流响应值}-\text{无待测样孵育时品免疫反应电流响应值})/\text{无待测样孵育时免疫反应电流响应值}$ 。

[0056] 对实施例4中大米样品中添加的AFBI,进行检测,得到如表1中的回收率。

[0057] 表1.传感器在大米样品中的AFB1添加回收率实验结果

样品编号	添加量 [ng/mL]	检出量 [ng/mL]	回收率 [%]	相对标准差 [% , n = 5]
[0058] 1	10	9.12	91.2	5.2
2	50	52.35	104.7	3.4
3	100	103.2	103.2	4.1

[0059] 添加回收率试验表明该传感器在检测加入实际大米样品中已知浓度黄曲霉毒素时,具备较好的准确性和可靠性,表明该传感器及对应检测方法切实可行可用。

[0060] 实施例5.实施例1的对比例。

[0061] 重复实施例1,不同之处在于步骤(1)制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极时,先滴加金纳米粒子再滴加碳纤维。检测不同材料修饰顺序对金电极表面的不同电流响应,归一化处理相应电流,公式是 $NSPV=(I_{\text{sample}}-I_{\text{control}})/I_{\text{control}} \times 100\%$, I_{sample} 代表与待测样品孵育后的响应电流值, I_{control} 代表孵育前的响应电流值,图1可以看出纳米金/碳纤维/金电极修饰的电极对电流响应最好。

[0062] 实施例6.实施例1的对比例。

[0063] 重复实施例1,不同之处在于将金电极替换为玻碳电极,并调整对电极修饰材料碳纤维以及纳米金的修饰顺序,结果如图2所示。碳纤维和纳米金对金电极和玻碳电极修饰效

果比较,结果如图3所示,纳米金/碳纤维/金电极修饰的电极对电流响应优于纳米金/碳纤维/玻碳电极。

[0064] 实施例7.不同电压下的不同浓度黄曲霉毒素标准液孵育的传感器响应电流。

[0065] 本实施例采用实施例1制得的电化学免疫传感器,将黄曲霉毒素B1标准品按比例稀释至一系列已知浓度(0.01,0.1,1,10,100,和1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$),孵育制备好的传感器,孵育前后的响应电流经CV检测,归一化方法处理相应电流,公式是 $\text{NSPV} = (I_{\text{sample}} - I_{\text{control}}) / I_{\text{control}} \times 100\%$,得到的NSPV值绘制的曲线,如图4所示,选取不同浓度的标准品在0.10-0.12V左右的电流峰值的反应前后的差值效果最好。

[0066] 实施例8.不同浓度黄曲霉毒素标准液与在0.11V处的感应电流差值获得的标准曲线。

[0067] 本实施例采用实施例1值得的电化学免疫传感器,将黄曲霉毒素B1标准品按比例稀释至一系列已知浓度(0.01,0.1,1,10,100,和1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$),孵育制备好的传感器,采用0.11V电压进行孵育前后的响应电流的检测,归一化处理相应电流,公式是 $\text{NSPV} = (I_{\text{sample}} - I_{\text{control}}) / I_{\text{control}} \times 100\%$, I_{sample} 代表孵育后的响应电流值, I_{control} 代表孵育前的响应电流值,以NSPV为纵坐标,以标准品的浓度的对数值为横坐标,绘制标准曲线,如图5所示,获得线性回归方程为 $y = 0.1296 + 0.03774x$, $R^2 = 0.98858$ 。

[0068] 虽然本发明已以较佳的实施例公开如上,但其并非用以限定本发明,任何熟悉此技术的人,在不脱离本发明的精神和范围内,都可以做各种改动和修饰,因此本发明的保护范围应该以权利要求书所界定的为准。

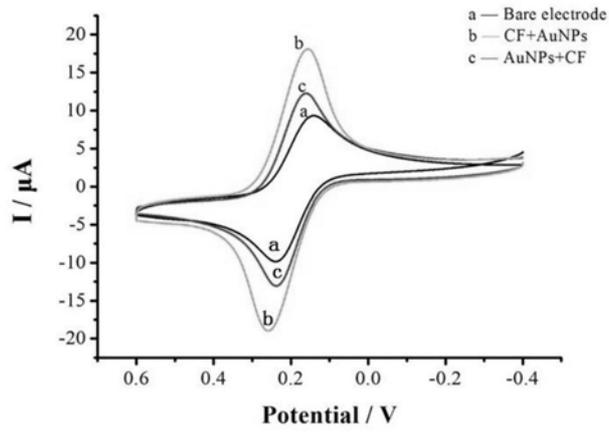


图1

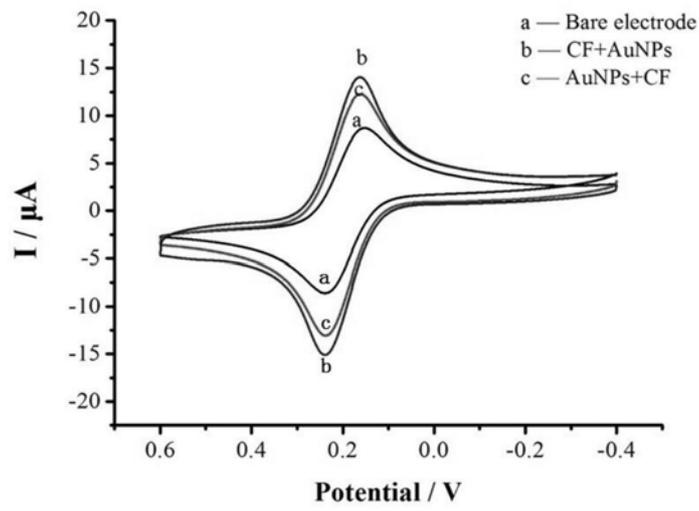


图2

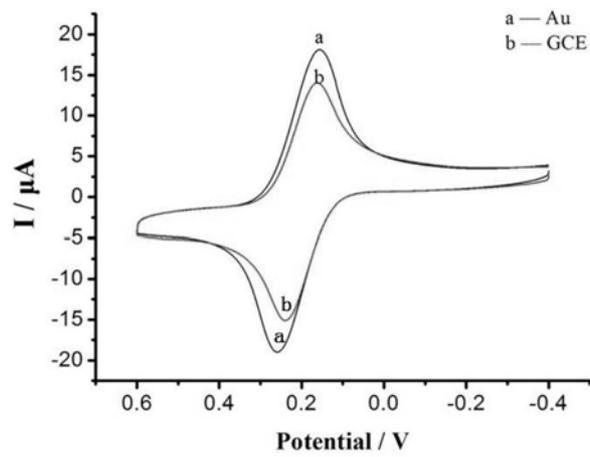


图3

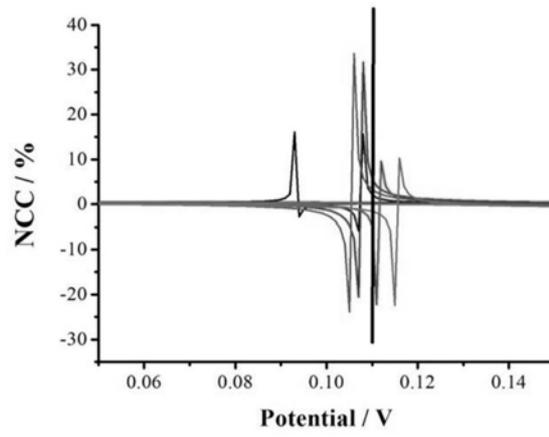


图4

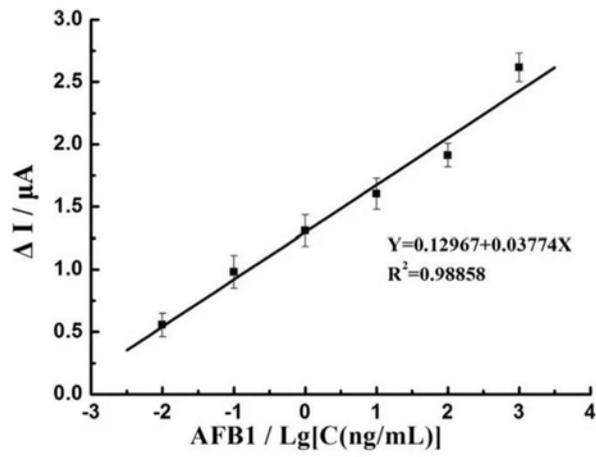


图5

专利名称(译)	一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用		
公开(公告)号	CN110726764A	公开(公告)日	2020-01-24
申请号	CN201911045485.5	申请日	2019-10-30
[标]申请(专利权)人(译)	山东理工大学		
申请(专利权)人(译)	山东理工大学		
当前申请(专利权)人(译)	山东理工大学		
[标]发明人	赵文萃 孙霞 刘中合 郭业民 赵亚		
发明人	赵文萃 孙霞 刘中合 郭业民 赵亚		
IPC分类号	G01N27/30 G01N27/327 G01N33/53		
CPC分类号	G01N27/308 G01N27/3277 G01N27/3278 G01N33/53 G01N2333/38		
代理人(译)	邓宇		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用,属于电化学免疫传感器技术领域。为了解决当前对黄曲霉毒素B1检测专一性差,灵敏度低,检测周期长,不能现场在线检测及监测的问题,本发明提供一种电化学免疫传感器及其制备方法与应用,电化学免疫传感器的制备方法,包括以下步骤:(1)制备碳纤维,金纳米粒子修饰的金电极;(2)黄曲霉毒素抗体的固定;(3)BSA封闭非特异性结合位点,获得标准曲线, $y = 0.1296 + 0.03774x$, 线性相关系数 $R^2 = 0.98858$ 曲线线性检测范围为 $0.01 \sim 1000 \text{ ng/mL}$ 。本发明所述的传感器可在 0.11 V 左右的小范围电压下或确切电压下,进行黄曲霉毒素B1含量的测定。

样品编号	添加量 [ng/mL]	检出量 [ng/mL]	回收率 [%]	相对标准差 [% , n = 5]
1	10	9.12	91.2	5.2
2	50	52.35	104.7	3.4
3	100	103.2	103.2	4.1