



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107991374 B

(45)授权公告日 2019.12.10

(21)申请号 201711240609.6

G01N 27/416(2006.01)

(22)申请日 2017.11.30

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107991374 A

CN 105688222 A, 2016.06.22,
CN 106596969 A, 2017.04.26,

(43)申请公布日 2018.05.04

审查员 瓮龙明

(73)专利权人 江苏省农业科学院
地址 210014 江苏省南京市玄武区孝陵卫
钟灵街50号

(72)发明人 孙冲 王道营 张牧焱 李鹏鹏
邹焯 诸永志 徐为民

(74)专利代理机构 北京远大卓悦知识产权代理
事务所(普通合伙) 11369
代理人 史霞

(51) Int. Cl.

G01N 27/48(2006.01)

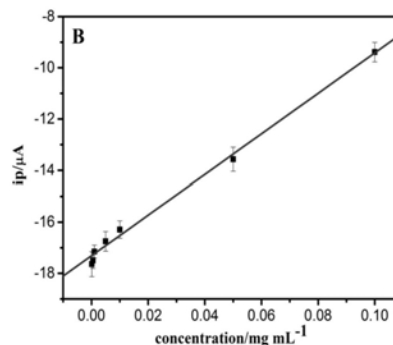
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54)发明名称

基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,其包括以下步骤:步骤一,制备anti-actin/CS-Zn/GCE电极;步骤二,建立actin浓度的标准曲线,其中将anti-actin/CS-Zn/GCE电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt电极用作对电极;步骤三,提取肉品中的actin,利用anti-actin/CS-Zn/GCE电极对其进行检测。本发明所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法能够选用低成本原料构建anti-actin/CS-Zn/GCE免疫传感器,并利用该传感器对肉品中的肌动蛋白进行定量检测,其检测成本低、操作简单且灵敏度高。



1. 基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

步骤一, 制备 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极;

步骤二, 建立 actin 浓度的标准曲线, 其中将 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt 丝电极用作对电极;

步骤三, 提取肉品中的 actin, 利用 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极对其进行检测; 所述 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极的制备包括以下步骤:

A, 制备 Zn NPs: 取 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 加入 NaOH 中, 搅拌 2 h 后, 加入 $NaBH_4$ 在温度 $60^\circ C$ 下连续搅拌 4 h, 静置沉淀制得的沉淀物经清洗干燥后备用;

B, 合成 CS-Zn NPs: 将步骤 A 制备的 Zn NPs 分散到 0.1% 的壳聚糖溶液中, 搅拌 0.5 h 后再加入三聚磷酸钠, 搅拌 5 h 制得混合溶液, 将混合溶液透析过夜;

C, 制备 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极: 将玻碳电极抛光至呈镜面后超声洗涤、室温干燥, 后取 5 μL CS-Zn NPs 滴到电极表面, 在空气中干燥后, 再取 5 μL anti-actin 溶液滴在经 CS-Zn NPs 修饰的电极表面, 晾干即可。

2. 如权利要求 1 所述的基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 所述步骤 A 中, 按照体积比份数计: $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 为 10~30 份, NaOH 为 5~20 份, $NaBH_4$ 为 1~10 份; $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 、NaOH 以及 $NaBH_4$ 的浓度均为 0.1 mol/L。

3. 如权利要求 1 所述的基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 所述步骤 B 中, 按照重量份计, 所述 Zn NPs 为 0.03 份, 所述壳聚糖溶液为 5 份, 所述三聚磷酸钠为 4 份; 其中所述壳聚糖溶液是将壳聚糖溶于 1% 的 HAc 中, 所述三聚磷酸钠的浓度百分比为 0.1%。

4. 如权利要求 1 所述的基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 所述步骤 B 中使用透析袋进行透析, 所述透析袋截留分子量为 $MW=14000$ 。

5. 如权利要求 1 所述的基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 所述步骤 C 中, 所述 anti-actin 溶液的浓度为 1 $\mu mol/L$ 。

6. 如权利要求 1 所述的基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 所述步骤二还包括配制不同浓度的 actin 标准溶液, 之后利用 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极对不同浓度 actin 溶液进行差示脉冲伏安 (DPV) 扫描, 记录峰电流 I_{pa} , 将所述峰电流 I_{pa} 与 actin 标准溶液浓度绘制工作曲线, 建立 actin 浓度的标准曲线。

7. 如权利要求 1 所述的基于 CS-Zn NPs 传感器检测肉品中肌动蛋白的方法, 其特征在于, 所述 anti-actin/CS-Zn/GCE 电极在使用前进行电化学性能测试, 具体为: 采用线性扫描伏安法 (LSV) 和电化学阻抗 (EIS) 对 CS-Zn/GCE, anti-actin/CS-Zn/GCE 和 actin/anti-actin/CS-Zn/GCE 进行电极性能检测, 其中, 电解液为 0.1 mol/L PBS 缓冲溶液, 扫描速率为 100 mV/s, 扫描范围为 -0.2~0.7 V。

基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种食品检测方法。更具体地说,本发明涉及一种基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法。

背景技术

[0002] 肌动蛋白(actin)是细肌丝的主要组成成分,而肉品中肌原纤维是由可调节的粗肌丝和细肌丝组成的,肌原纤维收缩是造成嫩度下降的主要原因。随着肉品新鲜度的降低,嫩度逐渐降低,肌动蛋白的含量也不断减少。因此可以通过检测肌动蛋白的含量来评价肉品的嫩度。传统的肌动蛋白检测方法主要是荧光法,但是荧光法检测过程比较复杂,成本较大。因此,迫切需要开发一种检测成本低、操作简单、灵敏度高的肌动蛋白定量检测方法。

发明内容

[0003] 本发明的一个目的是解决至少上述问题,并提供至少后面将说明的优点。

[0004] 本发明还有一个目的是提供一种基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,其能够选用低成本原料构建anti-actin/CS-Zn/GCE免疫传感器,并利用该传感器对肉品中的肌动蛋白进行定量检测,其检测成本低、操作简单且灵敏度高。

[0005] 为了实现根据本发明的这些目的和其它优点,提供了一种基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,其包括以下步骤:步骤一,制备anti-actin/CS-Zn/GCE电极;

[0006] 步骤二,建立actin浓度的标准曲线,其中将anti-actin/CS-Zn/GCE电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt丝电极用作对电极;

[0007] 步骤三,提取肉品中的actin,利用anti-actin/CS-Zn/GCE电极对其进行检测。本发明将免疫传感器用于肉品中肌动蛋白的检测中,不仅能够加快检测速度,提高实时检测的效率,同时简化检测步骤,提高检测灵敏度和精确度。

[0008] 优选的是,所述步骤一中所述anti-actin/CS-Zn/GCE电极的制备包括以下步骤:

[0009] A,制备Zn NPs:取 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 加入NaOH中,搅拌2h后,加入 $NaBH_4$ 在温度 $60^\circ C$ 下连续搅拌4h,静置沉淀制得的沉淀物经清洗干燥后备用;

[0010] B,合成CS-Zn NPs:将步骤A制备的Zn NPs分散到0.1%的壳聚糖溶液中,搅拌0.5h后再加入三聚磷酸钠,搅拌5h制得混合溶液,将混合溶液透析过夜;

[0011] C,制备anti-actin/CS-Zn/GCE电极:将玻碳电极抛光至呈镜面后超声洗涤、室温干燥,后取 $5\mu L$ CS-Zn NPs滴到电极表面,在空气中干燥后,再取 $5\mu L$ anti-actin溶液滴在上述修饰电极表面,晾干即可。在所述玻碳电极上修饰的壳聚糖金属纳米复合材料,利用成本更低的Zn离子,降低检测成本,为肉品嫩度实时检测提供一种便捷方法。

[0012] 优选的是,所述步骤A中,按照体积比份数计: $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 为10-30份,NaOH为5-20份, $NaBH_4$ 为1-10份; $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 、NaOH以及 $NaBH_4$ 的浓度均为 $0.1mol/L$ 。

[0013] 优选的是,所述步骤B中,按照重量份计,所述Zn NPs为0.03份,所述壳聚糖溶液为5份,所述三聚磷酸钠为4份;其中所述壳聚糖溶液是将壳聚糖溶于1%的HAc中,所述三聚磷

酸钠的浓度百分比为0.1%。

[0014] 优选的是,所述步骤B中使用透析袋进行透析,所述透析袋截留分子量为MW=14000。

[0015] 优选的是,所述步骤C中,所述anti-actin溶液的浓度为1 μ mol/L。

[0016] 优选的是,所述步骤二还包括配制不同浓度的actin标准溶液,之后利用anti-actin/CS-Zn/GCE电极对不同浓度actin溶液进行差示脉冲伏安(DPV)扫描,记录峰电流 I_{pa} ,将所述峰电流 I_{pa} 与actin标准溶液浓度绘制工作曲线,建立actin浓度的标准曲线。

[0017] 优选的是,所述anti-actin/CS-Zn/GCE电极在使用前进行电化学性能测试,具体为:采用线性扫描伏安法(LSV)和电化学阻抗(EIS)对CS-Zn/GCE,anti-actin/CS-Zn/GCE和actin/anti-actin/CS-Zn/GCE进行电极性能检测,其中,电解液为0.1mol/L PBS缓冲溶液,扫描速率为100mV/s,扫描范围为-0.2~0.7V。

[0018] 本发明至少包括以下有益效果:本发明所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,基于CS-Zn NPs,构建anti-actin/CS-Zn/GCE免疫传感器。选用低成本、易获得的 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 作为制备原料,大大降低免疫传感器的构建难度和成本。利用本发明所述方法构建的免疫传感器具有线性范围广(0.0001-0.1mg/mL)、灵敏度高(检测限为21.52ng/mL)、特异性好(对Hb、Mb、HSP90和IMP有良好的抗干扰能力)的优点;实现了对actin的定量检测,为肉品嫩度检测提供了一个新的方法。

[0019] 本发明的其它优点、目标和特征将部分通过下面的说明体现,部分还将通过对本发明的研究和实践而为本领域的技术人员所理解。

附图说明

[0020] 图1为本发明其中一个实施例所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法中CS-Zn NPs的电镜图;

[0021] 图2为本发明其中一个实施例所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法中CS-Zn NPs的红外光谱图;

[0022] 图3为本发明其中一个实施例所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法中CS-Zn NPs的XRD谱图;

[0023] 图4为本发明其中一个实施例中actin、anti-actin、actin/anti-actin和actin/anti-actin/CS-Zn的圆二色光谱图;

[0024] 图5为本发明其中一个实施例中CS-Zn/GCE、anti-actin/CS-Zn/GCE、actin/anti-actin/CS-Zn/GCE的线性伏安(LSV)曲线;

[0025] 图6为本发明其中一个实施例中不同浓度的actin的峰电流图;

[0026] 图7为本发明其中一个实施例中actin/anti-actin/CS-Zn/GCE检测actin的标准曲线;

[0027] 图8为本发明其中一个实施例中Hb、Mb、HSP90和IMP对anti-actin/CS-Zn/GCE传感器的干扰柱状图。

具体实施方式

[0028] 下面结合附图对本发明做进一步的详细说明,以令本领域技术人员参照说明书文

字能够据以实施。

[0029] 应当理解,本文所使用的诸如“具有”、“包含”以及“包括”术语并不排除一个或多个其它元件或其组合的存在或添加。

[0030] 本发明提供一种基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,其包括以下步骤:

[0031] 步骤一,制备anti-actin/CS-Zn/GCE电极;其中,所述anti-actin/CS-Zn/GCE电极的制备包括以下步骤:

[0032] A,制备Zn NPs:取 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 加入NaOH中,搅拌2h后,加入 $NaBH_4$ 在温度 $60^\circ C$ 下连续搅拌4h,静置沉淀制得的沉淀物经清洗干燥后备用;其中所述步骤A中,按照体积比份数计: $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 为20份,NaOH为10份, $NaBH_4$ 为5份; $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 、NaOH以及 $NaBH_4$ 的浓度均为 $0.1mol/L$ 。本发明采用 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 作为纳米材料的制备原料,其成本更低,方法更加简单。并且经过试验后发现利用该材料制备的传感器,其生物相容性更好,灵敏度更高。

[0033] B,合成CS-Zn NPs:将步骤A制备的Zn NPs分散到0.1%的壳聚糖溶液中,搅拌0.5h后再加入三聚磷酸钠,搅拌5h制得混合溶液,将混合溶液透析过夜;其中按照重量份计,所述Zn NPs为0.03份,所述壳聚糖溶液为5份,所述三聚磷酸钠为4份;其中所述壳聚糖溶液是将壳聚糖溶于1%的HAc中,所述三聚磷酸钠的浓度百分比为0.1%。使用透析袋进行透析,所述透析袋截留分子量为 $MW=14000$ 。由于壳聚糖分子内既有可以衍生化和配位反应的羟基和氨基,又具有疏水基和亲水基。此外,这种天然的聚合物已被证实具有生物降解性、无毒性和生物相容性的特性,因此选用其合成纳米材料。

[0034] C,制备anti-actin/CS-Zn/GCE电极:将玻碳电极抛光至呈镜面后超声洗涤、室温干燥,后取 $5\mu L$ CS-Zn NPs滴到电极表面,在空气中干燥后,再取 $5\mu L$ anti-actin溶液滴在上述修饰电极表面,晾干即可。其中,所述anti-actin溶液的浓度为 $1\mu mol/L$ 。本发明所述anti-actin/CS-Zn/GCE电极在制备过程中,先制备金属-壳聚糖纳米复合材料,将其修饰至玻碳电极上后,再结合肌动蛋白适配体。构建的电极结合锌与壳聚糖两种物质的各自优越性,在电极表面可以用来构筑肌动蛋白适配体并保持其生物活性,不仅保持了肌动蛋白适配体良好的生物活性,而且可表现出相当快的电子传递,由此大大增强本发明工作电极的检测信号,提高检测的灵敏度和精确度。

[0035] 步骤二,建立actin浓度的标准曲线,其中将anti-actin/CS-Zn/GCE电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt丝电极用作对电极;配制不同浓度的actin标准溶液,之后利用anti-actin/CS-Zn/GCE电极对不同浓度actin溶液进行差示脉冲伏安(DPV)扫描,记录峰电流 I_{pa} ,将所述峰电流 I_{pa} 与actin标准溶液浓度绘制工作曲线,建立actin浓度的标准曲线。利用本发明构建的anti-actin/CS-Zn/GCE免疫传感器进行肉品中肌动蛋白的检测,其步骤更加简化,操作简单。

[0036] 配制不同浓度的actin,分别为 $0.0001, 0.0005, 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1mg/mL$,对其进行差示脉冲伏安(DPV)扫描,记录峰电流 I_{pa} 。图6所示,将上述的峰电流 I_{pa} 和不同浓度的actin绘制 $I_{pa}-c$ 工作曲线,建立检测actin的标准曲线,如图7所示。根据线性方程: $I_{pa}(\mu A) = -17.3137 + 78.9691c$ ($R^2 = 0.9948$),计算出检测限为 $21.52ng/mL$ 。

[0037] 步骤三,提取肉品中的actin,利用anti-actin/CS-Zn/GCE电极对其进行检测。所

述anti-actin/CS-Zn/GCE电极在使用前进行电化学性能测试,具体为:采用线性扫描伏安法(LSV)和电化学阻抗(EIS)对CS-Zn/GCE,anti-actin/CS-Zn/GCE和actin/anti-actin/CS-Zn/GCE进行电极性能检测,其中,电解液为0.1mol/L PBS缓冲溶液,扫描速率为100mV/s,扫描范围为-0.2~0.7V。通过实验证明,本发明构建的用于肉品中肌动蛋白定量检测的免疫传感器其抗干扰性能更优,尤其是对肉品中的Hb、Mb、HSP90和IMP有良好的抗干扰能力。

[0038] 电化学性能检测:所有电化学检测采用传统的三电极体系,玻碳电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt丝电极用作对电极。电化学工作站采用CHI660D(上海辰华,中国)。

[0039] 采用线性扫描伏安法(LSV)对CS-Zn/GCE、anti-actin/CS-Zn/GCE和actin/anti-actin/CS-Zn/GCE的电化学性能进行检测,其中电解液为0.1mol/L PBS (PH=7) 缓冲溶液,扫描速率为100mV/s,扫描范围是0.2~0.8V。图5中可见,其中曲线a代表CS-Zn/GCE、曲线b代表anti-actin/CS-Zn/GCE、曲线c代表actin/anti-actin/CS-Zn/GCE;其中actin/anti-actin/CS-Zn/GCE(曲线c)与CS-Zn/GCE(曲线a)相比,anti-actin/CS-Zn/GCE(曲线b)电流峰值降低,这是由于因为anti-actin结合到电极表面,增加了电极表面的电阻,导致电子传导能力减弱,证明anti-actin/CS-Zn/GCE被成功构建。当溶液中出现actin,actin被特异性结合到传感器表面,导致actin/anti-actin/CS-Zn/GCE(曲线c)峰值继续降低,说明actin在电极表面形成了有机层,阻碍了传感器表面和溶液中的电子传递。

[0040] 实施例1

[0041] 本发明所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,包括以下步骤:

[0042] 1) Zn NPs的制备:Zn NPs是采用共沉淀的方法合成的。取10mL $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (0.1mol/L) 加入到5mL NaOH (0.1mol/L) 中,搅拌2h,接着在上述溶液中加入1mL的NaBH₄ (0.1mol/L) 在60℃连续搅拌4h。将得到的沉淀清洗并干燥。

[0043] 2) CS-Zn NPs的合成:取0.03g Zn NPs分散到5mL 0.1%的壳聚糖(CS)溶液(含1% HAc)的中,搅拌0.5h。然后继续加入4mL 0.1%的三聚磷酸钠(STPP),搅拌5h。将获得的溶液经过透析膜(MW=14000)透析过夜。

[0044] 3) anti-actin/CS-Zn/GCE的制备:将玻碳电极(GCE)抛光至呈镜面,然后超声洗涤、室温干燥。取5μL CS-Zn NPs滴到电极表面,在空气中干燥。取5μL anti-actin(1μmol/L)溶液滴在上述修饰电极表面,晾干。

[0045] 4) 电化学性能测试:采用线性扫描伏安法(LSV)和电化学阻抗(EIS)对CS-Zn/GCE, anti-actin/CS-Zn/GCE和actin/anti-actin/CS-Zn/GCE进行电极性能检测。电解液为0.1mol/L PBS (pH=7) 缓冲溶液,扫描速率为100mV/s,扫描范围是-0.2~0.7V。

[0046] 5) actin检测:采用anti-actin/CS-Zn/GCE电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt丝电极用作对电极,配制不同的浓度的actin,将构建anti-actin/CS-Zn/GCE传感器对其进行差示脉冲伏安(DPV)扫描,记录峰电流 I_{pa} ,将所述的峰电流 I_{pa} 与actin标准溶液浓度 c 绘制 $I_{pa}-c$ 工作曲线,建立actin浓度的标准曲线。

[0047] 6) 提取肉品中的actin,并将构建anti-actin/CS-Zn/GCE传感器对实际样品进行检测,与荧光法检测结果进行对比分析。

[0048] 实施例2

[0049] 本发明所述基于CS-Zn NPs传感器检测肉品中肌动蛋白的方法,包括以下步骤:

[0050] 1) Zn NPs的制备:Zn NPs是采用共沉淀的方法合成的。取30mL $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1mol/L) 加入到20mL NaOH (0.1mol/L) 中,搅拌2h,接着在上述溶液中加入10mL的 NaBH_4 (0.1mol/L) 在60℃连续搅拌4h。将得到的沉淀清洗并干燥。

[0051] 2) CS-Zn NPs的合成:取0.03g Zn NPs分散到5mL 0.1%的壳聚糖(CS)溶液(含1% HAc)的中,搅拌0.5h。然后继续加入1mL、4mL、8mL 0.1%的三聚磷酸钠(STPP),搅拌5h。将获得的溶液经过透析膜(MW=14000)透析过夜。

[0052] 3) anti-actin/CS-Zn/GCE的制备:将玻碳电极(GCE)抛光至呈镜面,然后超声洗涤、室温干燥。取5 μL CS-Zn NPs滴到电极表面,在空气中干燥。取5 μL anti-actin(1 $\mu\text{mol/L}$) 溶液滴在上述修饰电极表面,晾干。

[0053] 4) 电化学性能测试:采用线性扫描伏安法(LSV)和电化学阻抗(EIS)对CS-Zn/GCE, anti-actin/CS-Zn/GCE和actin/anti-actin/CS-Zn/GCE进行电极性能检测。电解液为0.1mol/LPBS (pH=7) 缓冲溶液,扫描速率为100mV/s,扫描范围是-0.2~0.7V。

[0054] 5) actin检测:采用anti-actin/CS-Zn/GCE电极为工作电极、饱和甘汞电极用作参比电极、Pt丝电极用作对电极,配制不同的浓度的actin,将构建anti-actin/CS-Zn/GCE传感器对其进行差示脉冲伏安(DPV)扫描,记录峰电流 I_{pa} 。将所述的峰电流 I_{pa} 与actin标准溶液浓度 c 绘制 I_{pa} - c 工作曲线,建立actin浓度的标准曲线。

[0055] 6) 提取肉品中的actin,并将构建anti-actin/CS-Zn/GCE传感器对实际样品进行检测,与荧光法检测结果进行对比分析。

[0056] 下面通过实验对本发明制备的anti-actin/CS-Zn/GCE电极进行性能检测:

[0057] (一) TEM分析:使用HITACHI H-7650 (HITACHI,日本)透射电镜,加速电压为80kV。在CS-Zn NPs合成过程中,CS有良好的生物相容性,Zn NPs具有良好的导电性并提供较多的活性位点。结果见图1,从图1中可以看出,CS形成了一块模板,Zn NPs均匀附着在CS上。

[0058] (二) 红外光谱实验:采用傅立叶变换红外光谱仪(Nicolet 5700,美国Thermo公司),检测范围是4000 cm^{-1} 到500 cm^{-1} ,得CS-Zn NPs的红外光谱图(图2)。由图2可知,CS-Zn在3429 cm^{-1} 、1603 cm^{-1} 和891 cm^{-1} 有特征吸收峰,分别是CS的O-H和N-H的伸缩振动、C-N的弯曲振动、C-O的振动吸收峰。

[0059] (三) X-射线衍射(XRD)分析:图3是CS-Zn NPs的XRD图。使用X-射线衍射仪(D/max 2500/PC,日本)。如图所示,其中Zn在32°,36°,48°,56°,67°,69°有峰,符合ICDDPDF-2file:00-001-1238。而CS在20°左右有一个典型的非晶体单峰,CS-Zn NPs具有与CS和Zn相同的特征,在20°到80°基本重合,说明物质CS-Zn既没有改变Zn的结构也没有改变CS的结构,可知CS-Zn NPs被成功合成。

[0060] (四) 圆二色光谱分析:图4中a表示actin,b表示anti-actin,c表示actin/anti-actin以及d表示actin/anti-actin/CS-Zn。圆二色光谱仪(Chirascan,英国Applied Photophysics公司)的检测范围是180 cm^{-1} 到260 cm^{-1} 。actin与anti-actin结合之后,峰形和峰高发生了明显的变化,说明actin与anti-actin形成聚合物。加入CS-Zn NPs后,actin/anti-actin峰形和峰高均没有明显的变化,说明CS-Zn NPs具有良好的生物相容性,不会破坏蛋白的二级结构。

[0061] (五) 干扰实验:为证实所研究的电化学免疫传感器对actin具有特异性识别能力,

选取血红蛋白(Hb)、肌红蛋白(Mb)、热休克蛋白90(HSP90)和肌昔酸(IMP)这些生物分子对免疫传感器的选择性进行研究。如图8所示,Hb、Mb、HSP90和IMP产生的电流信号远小于actin产生的信号,不会对actin的测定产生影响,该免疫传感器具有良好的特异性。

[0062] (六)取猪肉、鸭肉和鹅肉三种样品分别进行荧光仪器检测和本发明所述电化学免疫传感器检测,结果见下表:

	NO.	荧光仪器参考值(mg/g)	本发明所述免疫传感器检测值(mg/g)
[0063]	1	38.6±4.56	39.1±3.37
	2	41.2±4.87	40.5±3.92
	3	33.4±3.52	34.3±2.48

[0064] 所得数值均是每个样品平行五次测定得到,并取其平均值。

[0065] 由上表可见:本发明所述免疫传感器测得的数据是与分析仪器中测得的数据结果相吻合。这些数据均说明了本发明所述免疫传感器的灵敏度、准确度以及抗干扰性均较高,其用于检测actin,检测结果准确。

[0066] 尽管本发明的实施方案已公开如上,但其并不仅仅限于说明书和实施方式中所列运用,它完全可以被适用于各种适合本发明的领域,对于熟悉本领域的人员而言,可容易地实现另外的修改,因此在不背离权利要求及等同范围所限定的一般概念下,本发明并不限于特定的细节和这里示出与描述的图例。

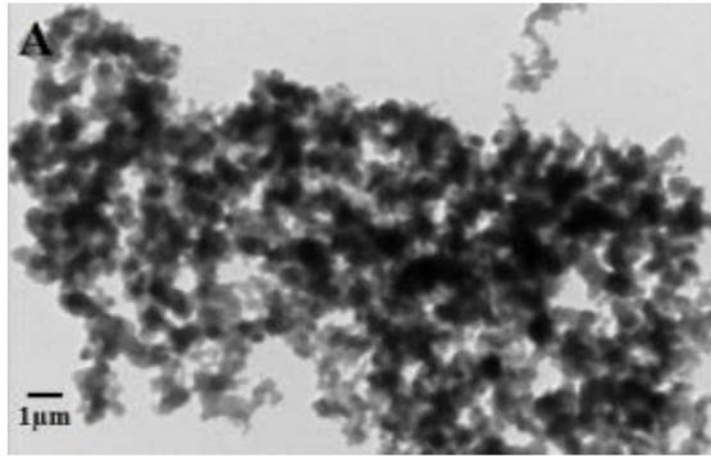


图1

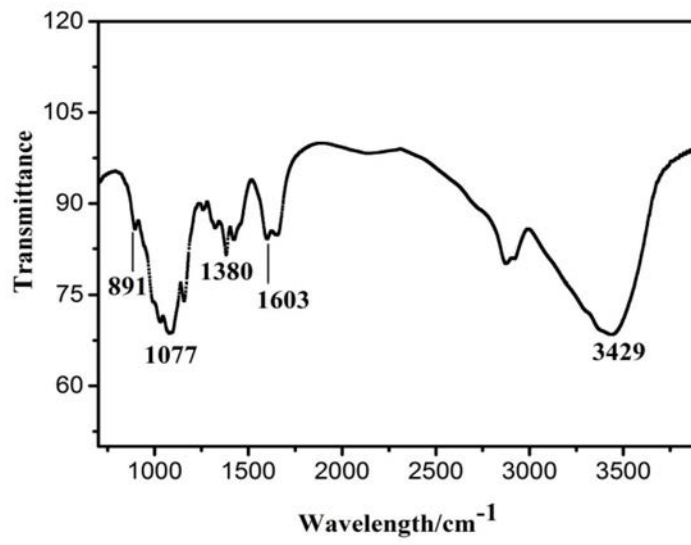


图2

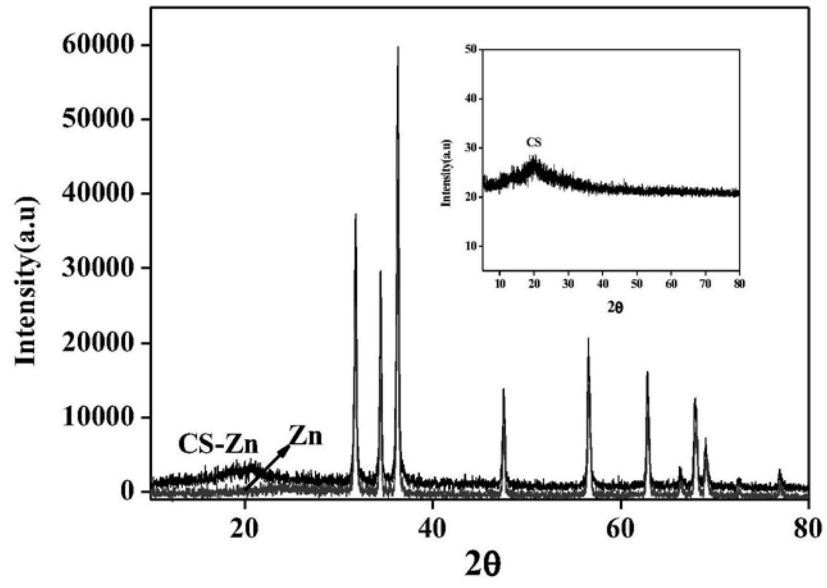


图3

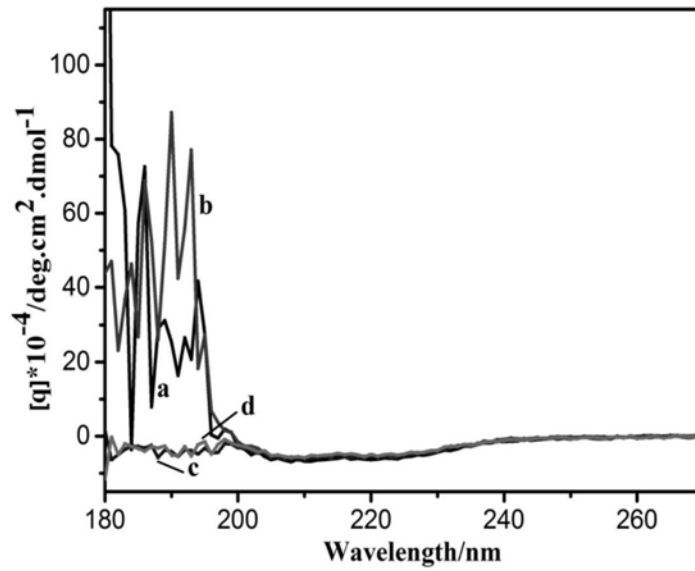


图4

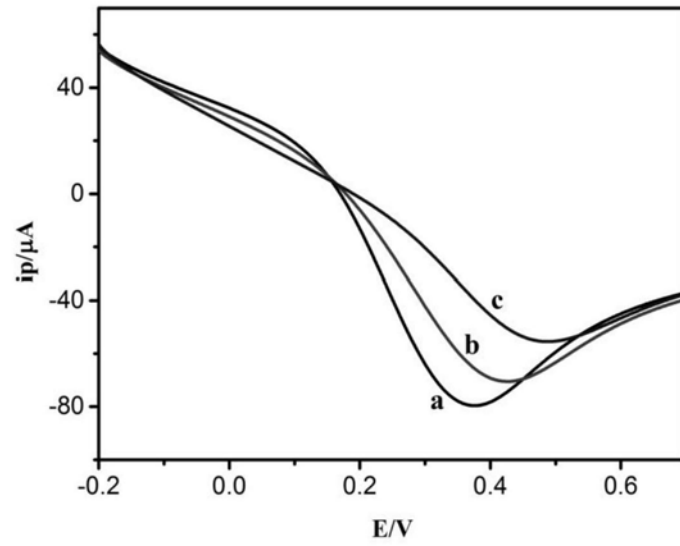


图5

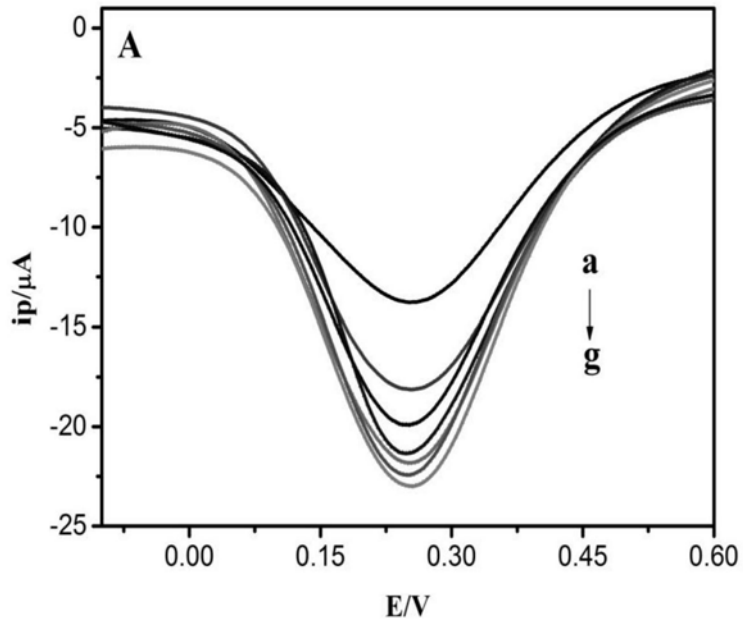


图6

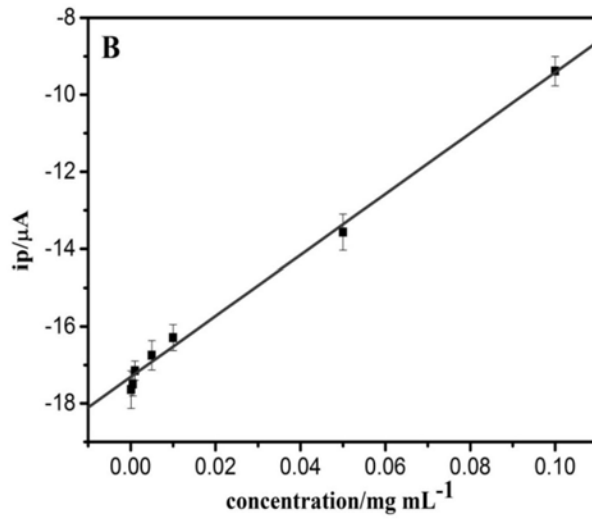


图7

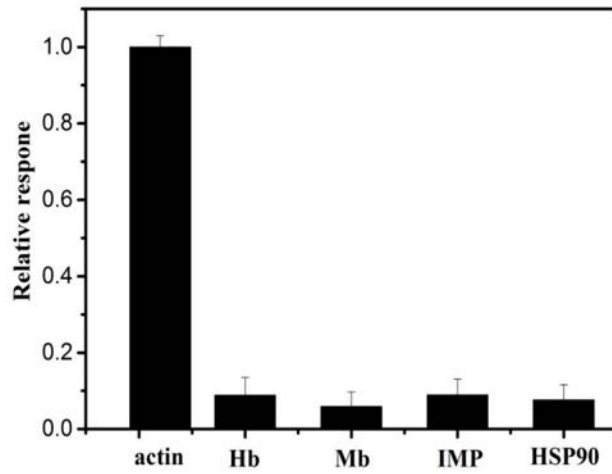


图8