



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109030422 A

(43)申请公布日 2018.12.18

(21)申请号 201810661826.0

(22)申请日 2018.06.25

(71)申请人 北京中龙益诚科技有限公司

地址 100000 北京市丰台区五里店北里一
区4号楼3A10室

(72)发明人 苏晖 崔政 闫安 翟俊辉 张腾

(74)专利代理机构 北京华仲龙腾专利代理事务
所(普通合伙) 11548

代理人 李静

(51)Int.Cl.

G01N 21/552(2014.01)

G01N 33/53(2006.01)

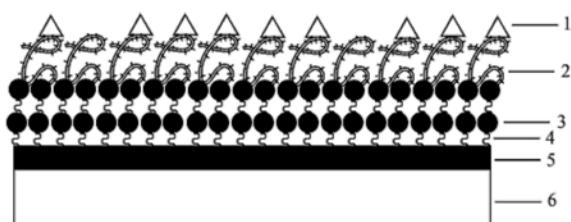
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和
黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法

(57)摘要

本发明提出了一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法包括磺胺嘧啶(SD)、三聚氰胺(MEL)、黄曲霉毒素B1(FMB1)，其技术特点在于将牛血清白蛋白(BSA)偶联的相应半抗原作包被到纳米金传感芯片表面，根据免疫原理，通过竞争抑制法结合SPR技术实现对牛奶中三种有害物的定量检测。该方法具有高灵敏度，高准确性的特点，可以实现免标记，实时动态检测。为牛奶中有害物的检测提供了新方法。



1.一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、芯片的包被;在3片纳米金生物芯片上分别滴加1mg/mL~2mg/mL的磺胺嘧啶-BSA溶液,1mg/mL~2mg/mL的三聚氰胺-BSA溶液,1mg/mL~2mg/mL的黄曲霉毒素B1-BSA溶液,37℃孵育1h,用去离子水冲洗,氮气吹干;滴加脱脂奶粉进行封闭,37℃孵育1h,用去离子水冲洗,氮气吹干,制备成磺胺嘧啶检测芯片、三聚氰胺检测芯片和黄曲霉毒素B1检测芯片,备用;

S2、样品前处理方法;取空白牛奶,加入甲醇,混匀,在4℃、10000rpm离心30min,去除上层油脂,在下层牛奶中加入大分子吸附剂,孵育0.5h,10000rpm离心30min,取上清;

S3、标准溶液的配制:分别准确称取磺胺嘧啶,三聚氰胺、黄曲霉毒素B1,先用终体积10%的甲醇溶解样品,再加0.01M终体积90%的PBS溶解配制成1mg/mL的标准储备液;由1mg/mL的标准储备液加0.01M PBS逐级稀释得到不同梯度标准溶液;

S4、表面等离子共振方法检测;

(1) 磺胺嘧啶的检测:将0ng/mL,12.5ng/mL,20ng/mL,50ng/mL,100ng/mL,的磺胺嘧啶的标准溶液与等体积的抗体溶液混合,37℃孵育0.5h,备用,使磺胺嘧啶的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,10ng/mL,25ng/mL,50ng/mL。将包被好的芯片装入SPR生化分析仪流通槽,通入0.01M PBS作为仪器运行缓冲液,将磺胺嘧啶标准溶液与抗体的混合液通入流通池中进行竞争免疫结合反应,记录仪器的响应值(RU),将标准品样品浓度与所对应的仪器响应值(RU)做标准曲线,获得磺胺嘧啶浓度与RU的线性方程;

(2) 三聚氰胺的检测:将0ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL,200ng/mL的三聚氰胺的标准溶液与等体积的抗体溶液混合,37℃孵育0.5h,备用,使三聚氰胺的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL。将包被好的芯片装入SPR生化分析仪流通槽,通入0.01M PBS作为仪器运行缓冲液,将三聚氰胺标准溶液与抗体的混合液通入流通池中进行竞争免疫结合反应,记录仪器的响应值(RU),将标准品样品浓度与所对应的仪器响应值(RU)做标准曲线,获得三聚氰胺浓度与RU的线性方程;

(3)、黄曲霉毒素B1的检测:将0ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,40ng/mL,100ng/mL的黄曲霉毒素B1的标准溶液与等体积的抗体溶液混合,37℃孵育0.5h,备用,使黄曲霉毒素B1的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,20ng/mL,25ng/mL。将包被好的芯片装入SPR生化分析仪流通槽,通入0.01M PBS作为仪器运行缓冲液,将黄曲霉毒素B1的标准溶液与抗体的混合液通入流通池中进行竞争免疫结合反应,记录仪器的响应值(RU),将标准品样品浓度与所对应的仪器响应值(RU)做标准曲线,获得黄曲霉毒素B1浓度与RU的线性方程;

S5、再生:用再生液分别洗脱磺胺嘧啶检测芯片、三聚氰胺检测芯片和黄曲霉毒素B1检测芯片的表面结合的抗体,实现三种芯片的再生,用0.01M PBS冲洗至基线稳定,进行下一次测定;

S6、定量分析检测牛奶样品中的有害物:分别将一定量磺胺嘧啶、三聚氰胺、黄曲霉毒素B1添加到牛奶中,按照步骤S2的方法进行样品前处理,按照步骤S4的方法对实际样品进行检测,记录仪器响应值(RU),通过步骤S4所得到的线性方程,换算出牛奶样品中的实际浓度,实现对牛奶中的有害物的定量检测。

2.根据权利要求1一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等

离子体共振免疫方法，其特征在于，步骤S1中，所述碘胺嘧啶-BSA溶液、三聚氰胺-BSA溶液、黄曲霉毒素B1-BSA溶液的体积均为40 μ L，浓度均为1mg/mL，脱脂奶粉的体积为100 μ L，质量浓度(M/V)为4%。

3. 根据权利要求1所述的一种定量检测牛奶中碘胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法，其特征在于，步骤S2中，所述甲醇与牛奶的比例为9:1，大分子吸附剂为质量浓度(M/V)为20%的玻璃粉溶液，所述玻璃粉溶液成分包括球形二氧化硅，样品溶液与玻璃粉孵育的条件是37℃, 0.5h。

4. 根据权利要求1所述的一种定量检测牛奶中碘胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法，其特征在于，步骤S4中，三种有害物的标准溶液分别与等体积的抗体溶液混合后，碘胺嘧啶其终浓度为0ng/mL, 6.25ng/mL, 10ng/mL, 25ng/mL, 50ng/mL, 三聚氰胺的终浓度为0ng/mL, 6.25ng/mL, 12.5ng/mL, 25ng/mL, 50ng/mL, 100ng/mL, 黄曲霉毒素B1的终浓度为0ng/mL, 6.25ng/mL, 12.5ng/mL, 20ng/mL, 25ng/mL, 抗体浓度均为10 μ g/mL，进样体积均为200 μ L，进样时间为10min。

5. 根据权利要求1所述的一种定量检测牛奶中碘胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法，其特征在于，步骤S5中，所述再生液为0.1M的氢氧化钠溶液，进样体积为100 μ L，进样时间为15s, 0.01M PBS冲洗时间为1min, 冲洗流速为400 μ L/min。

6. 根据权利要求1所述的一种定量检测牛奶中碘胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法，其特征在于，步骤S6中，添加到牛奶样品中的三聚氰胺的终浓度为6.25ng/mL, 12.5ng/mL, 25ng/mL, 黄曲霉毒素B1的终浓度都为5ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 碘胺嘧啶的终浓度为10、15、20ng/mL。

一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法

技术领域

[0001] 本发明涉及领域,尤其是涉及一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法。

背景技术

[0002] 表面等离子体共振(SPR)是一种物理光学现象,20世纪90年代后发展成为一种研究生物分子相互作用的新技术。该技术原理是在传感芯片表面固定一层生物分子,当待测样品流过芯片表面时,样品中与芯片表面生物分子相互作用的分子结合在一起而引起金属膜表面折射率或厚度的变化,最终表现为SPR共振角度的变化,据此可以获得目标分析物的浓度、亲和力、动力学常数和特异性等信息。

[0003] 磺胺嘧啶(SD)、三聚氰胺(MEL)、黄曲霉毒素B1(FMB₁)都是牛奶中较容易出现的有害物质,会对人类健康又一定的损害,且有潜在致癌性。本发明用一种表面等离子共振免疫方法能检测出三种有害物质,具有快速,准确,简便的特点。

发明内容

[0004] 本发明提出一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法,操作简便,准确度和灵敏度高,可重复使用,以用于检测牛奶中多种有害物质。

[0005] 本发明的技术方案是这样实现的:一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法,包括以下步骤:

[0006] S1、芯片的包被;在三片纳米金生物芯片上分别滴加1mg/mL~2mg/mL的磺胺嘧啶-BSA溶液,1mg/mL~2mg/mL的三聚氰胺-BSA溶液,1mg/mL~2mg/mL的黄曲霉毒素B1-BSA溶液,37℃孵育1h,用去离子水冲洗,氮气吹干;滴加脱脂奶粉进行封闭,37℃孵育1h,用去离子水冲洗,氮气吹干,制备成磺胺嘧啶检测芯片、三聚氰胺检测芯片和黄曲霉毒素B1检测芯片,备用;

[0007] S2、样品前处理方法;取空白牛奶,加入甲醇,混匀,在4℃、10000rpm离心30min,去除上层油脂,在下层牛奶中加入大分子吸附剂,孵育0.5h,10000rpm离心30min,取上清;

[0008] S3、标准溶液的配制:分别准确称取磺胺嘧啶,三聚氰胺、黄曲霉毒素B1,先用终体积10%的甲醇溶解样品,再加0.01M终体积90%的PBS溶解配制成1mg/mL的标准储备液;由1mg/mL的标准储备液加0.01M PBS逐级稀释得到不同梯度标准溶液;

[0009] S4、表面等离子共振方法检测;

[0010] (1) 磺胺嘧啶的检测:将0ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL的磺胺嘧啶的标准溶液与等体积的抗体溶液混合,37℃孵育0.5h,备用,使磺胺嘧啶的终浓度0ng/mL,6.25ng/mL,10ng/mL,25ng/mL,50ng/mL。将包被好的芯片装入SPR生化分析仪流通槽,通入0.01M PBS作为仪器运行缓冲液,将磺胺嘧啶的标准溶液与抗体的混合液通入流通池中

进行竞争免疫结合反应,记录仪器的响应值(RU),将标准品样品浓度与所对应的仪器响应值(RU)做标准曲线,获得磺胺嘧啶浓度与RU的线性方程;

[0011] (2)三聚氰胺的检测:将0ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL,200ng/mL的三聚氰胺的标准溶液与等体积的抗体溶液混合,37℃孵育0.5h,备用,使三聚氰胺的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL。将包被好的芯片装入SPR生化分析仪流通槽,通入0.01M PBS作为仪器运行缓冲液,将三聚氰胺的标准溶液与抗体的混合液通入流通池中进行竞争免疫结合反应,记录仪器的响应值(RU),将标准品样品浓度与所对应的仪器响应值(RU)做标准曲线,获得三聚氰胺浓度与RU的线性方程;

[0012] (3)、黄曲霉毒素B1的检测:将0ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,40ng/mL,100ng/mL的黄曲霉毒素B1的标准溶液与等体积的抗体溶液混合,37℃孵育0.5h,备用,使黄曲霉毒素B1的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,20ng/mL,25ng/mL,将包被好的芯片装入SPR生化分析仪流通槽,通入0.01M PBS作为仪器运行缓冲液,将黄曲霉毒素B1的标准溶液与抗体的混合液通入流通池中进行竞争免疫结合反应,记录仪器的响应值(RU),将标准品样品浓度与所对应的仪器响应值(RU)做标准曲线,获得黄曲霉毒素B1浓度与RU的线性方程;

[0013] S5、再生:用再生液分别洗脱磺胺嘧啶检测芯片、三聚氰胺检测芯片和黄曲霉毒素B1检测芯片的表面结合的抗体,实现三种芯片的再生,用0.01M PBS冲洗至基线稳定,进行下一次测定;

[0014] S6、定量分析检测牛奶样品中的有害物:分别将一定量磺胺嘧啶、三聚氰胺、黄曲霉毒素B1添加到牛奶中,按照步骤S2的方法进行样品前处理,按照步骤S4的方法对实际样品进行检测,记录仪器响应值(RU),通过步骤S4所得到的线性方程,换算出牛奶样品中的实际浓度,实现对牛奶中的有害物的定量检测。作为一种优选的技术方案,步骤S1中,所述纳米金生物芯片采用的是北京中龙益诚科技有限公司的记载于发明专利201410699155.9,所述磺胺嘧啶-BSA溶液,三聚氰胺-BSA溶液、黄曲霉毒素B1-BSA溶液的体积均为40μL,浓度均为1mg/mL,脱脂奶粉的体积为100μL,质量浓度(M/V)为4%。

[0015] 作为一种优选的技术方案,步骤S2中,所述甲醇与牛奶的比例为9:1,大分子吸附剂为质量浓度(M/V)为20%的玻璃粉溶液,所述玻璃粉溶液成分包括球形二氧化硅,样品溶液与玻璃粉孵育的条件是37℃,0.5h。

[0016] 作为一种优选的技术方案,步骤S4中,表面等离子共振生化分析仪为北京中龙益诚科技有限公司生产的,型号为YC-SPR-A1。三种有害物的标准溶液与等体积的抗体溶液混合后,磺胺嘧啶其终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,10ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,三聚氰胺的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL,黄曲霉毒素B1的终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,20ng/mL,25ng/mL,抗体浓度均为10μg/mL,进样体积均为200μL,进样时间为10min。

[0017] 作为一种优选的技术方案,步骤S5中,所述再生液为0.1M的氢氧化钠溶液,进样体积为100μL,进样时间为15s,0.01M PBS冲洗时间为1min,冲洗流速为400μL/min。

[0018] 作为一种优选的技术方案,步骤S6中,添加到牛奶样品中的三聚氰胺的终浓度为6.25ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,黄曲霉毒素B的终浓度都为5ng/mL,10g/mL,20ng/mL,磺胺嘧啶的终浓度为10、15、20ng/mL。

[0019] 采用了上述技术方案,本发明的有益效果为:本发明的方法可以定量检测牛奶中

的三种有害物，具有高灵敏性和准确性，实验操作简便，检测抗体和抗原免于标记，可以实现样品的实时动态检测，并且该方法的芯片可再生性能好，可重复利用。为牛奶中的有害物的检测提供了一种快速，简便且灵敏度高的检测方法。

附图说明

[0020] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案，下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动性的前提下，还可以根据这些附图获得其他的附图。

- [0021] 图1是本发明生物传感芯片的结构示意图；
- [0022] 图2是本发明检测磺胺嘧啶的标准曲线图；
- [0023] 图3是本发明检测三聚氰胺的标准曲线图；
- [0024] 图4是本发明检测黄曲霉毒素B1的标准曲线图；
- [0025] 其中：1-有害物抗原、2-脱脂奶粉、3-纳米金、4-L-半胱氨酸、5-金膜、6-玻璃基质。

具体实施方式

[0026] 下面将结合本发明实施例中的附图，对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

[0027] 本发明检测牛奶中的磺胺嘧啶、三聚氰胺、黄曲霉毒素B的操作方法，具体步骤如下：

[0028] (1) 芯片包被过程：

[0029] 在纳米金生物芯片上分别滴加40 μ L，浓度为1.0mg/mL的磺胺嘧啶-BSA溶液、三聚氰胺-BSA、黄曲霉毒素B1-BSA溶液，37℃孵育1h，用去离子水冲洗，氮气吹干；滴加100 μ L，质量浓度(M/V)为4%的脱脂奶粉溶液进行封闭，37℃孵育1h，用去离子水冲洗，氮气吹干，备用。纳米金生物芯片为北京中龙益诚科技有限公司生产，市场上可购得。

[0030] (2) 样品前处理：

[0031] 取空白牛奶，按照牛奶：甲醇体积比为9:1的比例加入甲醇，混匀，在4℃、10000rpm(rpm最后的m就是代表每分钟的)离心30min，去除上层油脂，在下层牛奶中加入等体积的20%的玻璃粉溶液，37℃摇床孵育1h，10000rpm离心30min，取上清。

[0032] (3) 仪器检测方法

[0033] 以磺胺嘧啶的检测为例：

[0034] 1) 将包被好的生物传感芯片插入SPR生化分析仪检测通道；

[0035] 用0.01M PBS配制一系列不同浓度的磺胺嘧啶标准品溶液，然后与10 μ g/mL的抗体溶液等体积(1:1,V/V)混合，37℃孵育0.5h，混合溶液中磺胺二甲基嘧啶最终质量浓度为(0、6.25、10、25、50ng/mL)；进样体积200 μ L，进样流速20 μ L/min，进样时间为10min，记录仪器响应值(RU)，以响应值(RU)为横坐标，以磺胺嘧啶的浓度为纵坐标绘制标准曲线。

[0036] 往SPR生化分析仪检测通道通入0.1M氢氧化钠溶液，进样体积为100 μ L，进样时间

为15s,0.01M PBS冲洗时间为1min,冲洗流速为400 μ L/min。

[0037] 表面等离子共振生化分析仪为北京中龙益诚科技有限公司生产的,型号为YC-SPR-A1。

[0038] (4) 定量检测实际样品中的磺胺嘧啶:

[0039] 将磺胺嘧啶添加到牛奶样品中,进行样品前处理,使添加的磺胺嘧啶的终浓度为10ng/mL,15ng/mL,20ng/mL,跟抗体混合孵育后,跟标准样品一样的进样参数进行进样,记录仪器响应值(RU),通过标准曲线方程,换算出牛奶样品中的实际浓度,计算回收率。

[0040] 三聚氰胺、黄曲霉毒素B1的检测方法与磺胺嘧啶相似,三聚氰胺的标准品终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,50ng/mL,100ng/mL,黄曲霉毒素B1的标准品终浓度为0ng/mL,6.25ng/mL,12.5ng/mL,20ng/mL,25ng/mL,添加到牛奶样品中的三聚氰胺的终浓度为6.25ng/mL,12.5ng/mL,25ng/mL,黄曲霉毒素B1的终浓度均为5ng/mL,10ng/mL,20ng/mL

[0041] (5) 实验结果

[0042] 1) 本发明方法得到磺胺嘧啶线性方程为 $y = -1.243x + 59.25$,拟合曲线的相关系数 R^2 为0.989,LOD(Limit of detection)值为3.41ng/mL,通过拟合方程可以得出IC₅₀为17.7ng/mL,线性检测范围为0~50ng/mL。

[0043] 表1表示牛奶中磺胺嘧啶(SD)三个添加浓度的回收率结果

[0044]

加标浓度 (ng/mL)	平均测定值浓度 (ng/mL)	回收率	批内变异系数 (%)	批间变异系数 (%)
10	12.17	121.7%	4.1	11.01
15	10.8	71.9%	7.2	0.4
20	20.04	100.2%	0.91	14.64

[0045] 2) 本发明方法得到三聚氰胺的线性方程为 $y = 0.1197x^2 - 7.9885x + 139.75$,拟合曲线的相关系数 R^2 为0.9993,LOD(Limit of detection)值为3.24ng/mL,曲线定量范围为6.25~100ng/mL。

[0046] 表2表示牛奶中三聚氰胺三个添加浓度的回收率结果

[0047]

样品	平均响应值 (RU)	实测质量 浓度(ng/mL)	加标回收率 (%)
6.25 ng/ml	35.00 ± 1.32	5.89	94.32
12.50 ng/ml	27.00 ± 0.56	10.77	86.20
25.00 ng/ml	21.00 ± 0.88	24.43	97.72

[0048]

[0049] 3) 本发明方法得到黄曲霉毒素B1的线性方程为 $y=-1.062x+33.98$,拟合曲线的相关系数 R^2 为0.975,LOD(Limit of detection)值为3.28ng/mL,曲线定量范围为6.25-100ng/mL.。

[0050] 表3表示牛奶中黄曲霉毒素B1三个添加浓度的回收率结果

[0051]

加标浓度 (ng/mL)	平均测定值浓度 (ng/mL)	回收率	批内变异系数 (%)	批间变异系数 (%)
5	4.86	97.2%	5.5	2.52
10	9.79	97.9%%	13.8	0.59
20	19.6	98%	4.1	0.86

[0052] 本发明方法可以定量检测牛奶中三种有害物,具有高灵敏性和准确性,且反应时间短,无毒无污染,便于推广;再生性能好,可多次重复使用,保存时间长;在定量检测中具有准确度高,实时监测等优势。表面等离子体共振免疫法检测牛奶中的优化物提供了一种快速,简便的方法。

[0053] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

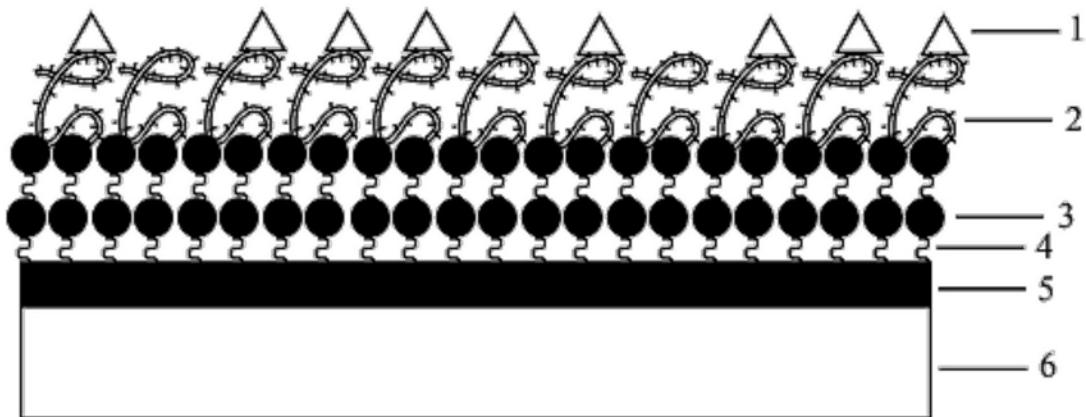


图1

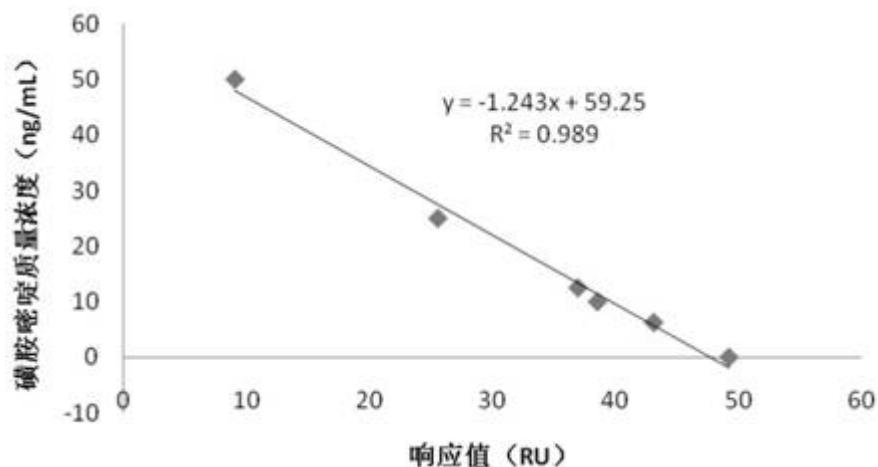


图2

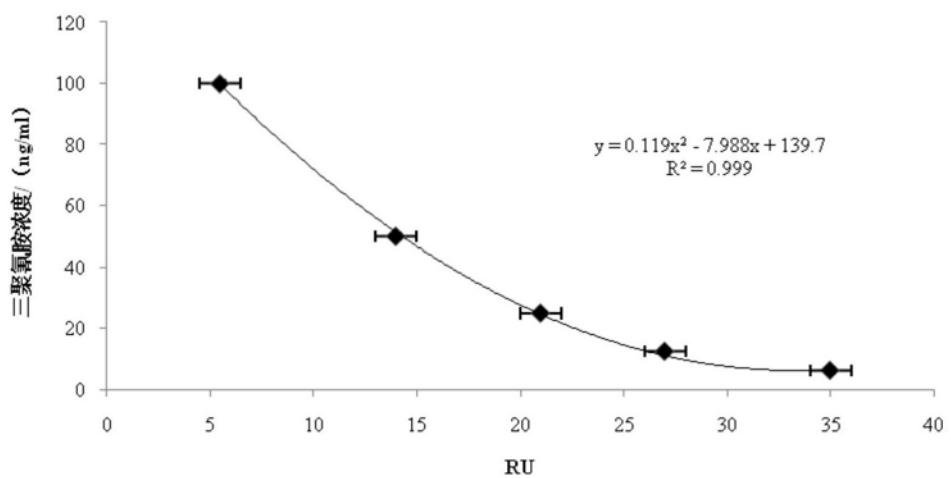


图3

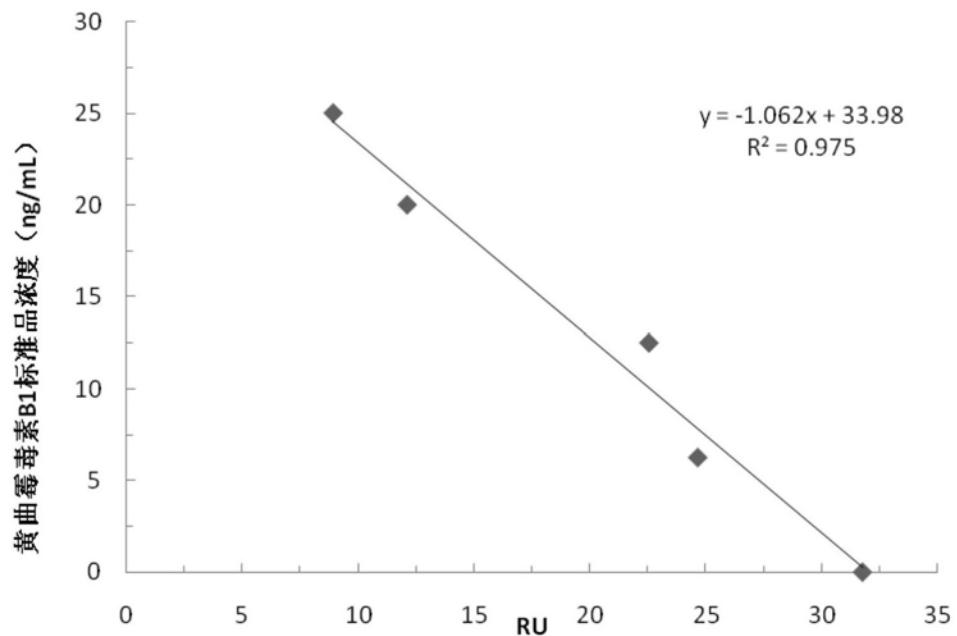


图4

专利名称(译)	一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法		
公开(公告)号	CN109030422A	公开(公告)日	2018-12-18
申请号	CN201810661826.0	申请日	2018-06-25
[标]申请(专利权)人(译)	北京中龙益诚科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京中龙益诚科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京中龙益诚科技有限公司		
[标]发明人	苏晖 崔政 闫安 翟俊辉 张腾		
发明人	苏晖 崔政 闫安 翟俊辉 张腾		
IPC分类号	G01N21/552 G01N33/53		
CPC分类号	G01N21/553 G01N33/53		
代理人(译)	李静		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明提出了一种定量检测牛奶中磺胺嘧啶、三聚氰胺和黄曲霉毒素B1的表面等离子体共振免疫方法包括磺胺嘧啶(SD)、三聚氰胺(MEL)、黄曲霉毒素B1(FMB1)，其技术特点在于将牛血清白蛋白(BSA)偶联的相应半抗原包被到纳米金传感芯片表面，根据免疫原理，通过竞争抑制法结合SPR技术实现对牛奶中三种有害物的定量检测。该方法具有高灵敏度，高准确性的特点，可以实现免标记，实时动态检测。为牛奶中有害物的检测提供了新方法。

