 未标题-1

**2017级硕士毕业论文**

**开题报告**

**题 目：基于核酸适配体电化学传感器检测重金属铅的研究Title : Based on nucleic acid aptamer electrochemical sensor for detection of heavy metal lead**

**专 业 ： 食 品 科 学 与 工 程**

**SpeciaLty ： Food Science and Engineering**

**研究方向 ： 食 品 安 全 与 品 质 快 速 检 测**

**Direction ： Food Safety and Quality Rapid Detection**

**指导老师 ： 金 华 丽**

**Tutor ： Huali Jin**

**研 究 生 ： 张 迪**

**Postgraduate： Di Zhang**

河南工业大学

二零一八年十月三十日

1. **课题研究的目的与意义**

九十年代以来，针对环境内分泌干扰物的研究逐渐成为人体健康和环境科学领域的研究热点。对于已经明确具有生态效应的内分泌干扰物种现在大约有70余种，其中重金属包括铅、镉、汞、砷等。重金属是生态环境中比较常见的污染物，具有使用广泛、毒性大、排放量大、影响区域广的特点。近年来，随着工农业的发展，重金属在环境中的排放量、蓄积量越来越大。它们在环境中共存而产生复合效应，可以大大改变某一或某些污染物的生理活性或毒性，对人类健康和生态系统造成严重破坏。

比重大于4.5的金属被称为重金属，如铬(Cr)、铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)等，它们往往在动物和植物体内不断积聚，再经由食物链富集，最后进入人体并在人体内与蛋白质及酶等发生强烈的相互作用，使它们失去活性,从而危害人体健康[1,2]。重金属污染源可以分为天然和人为两种。前者包括岩石风化、土壤侵蚀和火山活动等；后者包括采矿、冶炼、汽车尾气、金属制品的制造与使用、污水灌溉等人为因素。肉制品、水产品、海产品、水果、蔬菜以及粮食等均存在重金属超标的现象[3-6]。重金属污染食品有很多途径，例如动植物摄取环境中的人为污染物或者自然环境中的原本重金属物质，食品加工过程中带入的重金属杂质等[7]，食品重金属污染问题一直是食品安全的重要问题之一。重金属进入人体的途径主要有三种，分别是食物、水和大气。且不论大气污染如何导致重金属通过呼吸道进入人体，就食物和水来说重金属污染问题就不容小觑。目前重金属的污染已经成为全社会重要的危害之一[8-10]。如何快速有效的检测重金属对产品质量安全具有非常重要的意义。

本课题选取铅作为重金属污染物的代表，由于其具有痕量、剧毒、受污染的基质比较复杂等特点，人为控制的难度比较大，给实际检测带来了很大难度。因此，寻找简单、快速、准确、经济、灵敏高、特异性强的检测方法，对于研究重金属的污染状况、有效降低其危害及制定各种基质中重金属的限量标准具有重要意义。

**1.1 重金属铅的危害及污染现状**

铅，一种化学重金属元素，是柔软性好和延展性高的弱金属，颜色为青白色，表面与空气中的氧接触很快会被一层暗灰色的氧化物覆盖。由于铅具有良好的柔软性和延展性，在工业中有许多用途，例如油漆制造、铅蓄电池、铅合金、建筑材料、陶瓷、枪弹和炮弹等领域。但是铅及其化合物都有毒，会造成大气、土壤、水体的污染，是对动植物影响较大的重金属元素之一。

铅在环境中主要以铅离子以及化合物的形式存在，是毒性最大的环境污染物之一，不可降解，对生态系统和人类健康造成威胁[11,12]。在环境中受污染的天然水，及含铅汽油，煤燃烧，铅基涂料等的使用都可能使铅暴露，从而危害人类健康。从全球角度看汽车尾气是最广泛、最严重的大气铅污染源。它可通过皮肤吸收、消化道或食物链在体内蓄积，进入呼吸道的铅约有20% ～ 40% 留在了人体里。铅可积聚在软组织中，特别是肝脏，肾脏和大脑中。对人体的神经系统、消化系统、免疫系统、生殖系统和肝肾功能等造成伤害，如记忆衰退、贫血、心血管功能障碍和精神发育迟滞等[13-15]。其中，铅离子对中枢神经系统的影响最大。在脑发育早期，铅可以抑制神经元的增殖和分化以及导致胶质细胞的提前分化，使神经元与胶质细胞之间的相互作用不能正常进行[16]。铅可以与蛋白质上的巯基强烈结合，导致酶或结构蛋白的变性。例如铅可以影响血红蛋白的合成，在血红蛋白的代谢过程中，铅离子能与活动位点的锌离子发生置换，从而导致血红蛋白的合成减少和红细胞寿命缩短，造成铅离子中毒贫血[17]。铅也具有与钙竞争的能力，可以抑制钙进入细胞。骨头和牙齿中可以储存铅，并且保留数十年之久。骨髓中蓄积的铅离子会影响血液成分的成熟过程，并且抑制血红素的合成[18]。儿童对于铅离子的敏感度高于成人。特别是正处于生长发育阶段的儿童，中枢神经系统正处于发育阶段，许多器官尚不成熟，以及肠道的高吸收率和保留率使得其对铅的神经效应更敏感。即使铅离子的浓度很低，也可以抑制大脑的发育[19-21]。因此，对于铅离子的定性检测和定量分析对生命、环境和医学科学以及工农业生产等都具有重要的意义。

1. **重金属铅的检测方法及研究进展**

传统检测铅离子的方法有石墨炉原子吸收光谱法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子体-原子发射光谱法、气相色谱法和液相色谱法等。

**2.1 原子吸收光谱法**

原子吸收光谱，又称原子分光光度法，是基于待测元素的基态原子蒸汽对其特征谱线的吸收，由特征谱线的特征性和谱线被减弱的程度对待测元素进行定性定量分析的一种仪器分析的方法。在利用原子吸收光谱法测定样品时，根据原子化器的不同，检测方法可分为石墨炉原子吸收光谱法、火焰原子吸收光谱法、氢化物发生原子吸收光谱法和冷蒸汽原子吸收光谱法等。

Soylak等[22]采用多壁碳纳米管固相萃取和火焰原子吸收光谱法测定环境和食品样品中的一些金属离子，其中Pb2+的检出限为8.9ng/mL，利用所提出的方法对大米样品进行检测，得到的加标回收率为97%-107%。唐森福等[23]采用石墨炉原子吸收光谱法对茶多酚中的铅进行测定，回收率为103%，检出限为 0. 11 mg /kg。谷晓稳等[24]将石墨烯/二氧化钛复合材料作为铅离子吸附剂，利用石墨炉原子吸收光谱法测定茶叶中的铅和镉，其中Pb2+的检测限为0.086μg/L，回收率为96.8%-104.7 % 。Petropulos等[25]利用电热原子吸收光谱法检测红酒中的铅和镉的含量，测得的Pb2+的浓度范围为2-28.5μg/L。

**2.2 原子荧光光谱法**

原子荧光光谱法是基态原子（一般蒸汽状态）吸收一定特征波长的光源照射后被激发至高能态，而后激发过程中以光辐射的形式发射出特征波长的荧光。每种金属元素都有特定的原子荧光光谱，根据其荧光强度，可以进行定量分析。按照蒸气发生方式分，原子荧光光谱法可分为氢化物发生-原子荧光光谱法、原子蒸气发生-原子荧光光谱法和氯化物蒸气发生-原子荧光光谱法[26]。其中氢化物发生-原子荧光光谱法方法简单，可同时进行多元素测定等优点，以广泛应用于铅离子的测定[27]。

Karadjova等[28]采用连续流动氢化物原子荧光光谱法对葡萄酒中的Pb2+进行测定，将葡萄酒用0.2mol/L的硝酸稀释，使用铁氰化钾提高氢化铅生成效率，结果显示Pb2+的检测限为0.3μg/L，定量限为1μg/L。蒋倩等[29]采用原子荧光光谱法对大米和甘蓝中的Pb2+进行测定，用10mL的混酸消解样品，然后使用氢化物原子荧光光谱法对样品中的铅进行测定，检出限为0.07 μg/L。李贵峰等[30]使用氢化物-原子荧光光谱法对水中的铅离子进行测定，使用硫酸铵和四硼酸钾使痕量铅成为氧化态，检出限为0.68μg/L，回收率为90-105%。

**2.3 电感耦合等离子体质谱法-原子发射光谱法**

电感耦合等离子体-原子发射光谱法是原子光谱分析中应用最为广泛的一种技术，既具有原子发射光谱法多元素同时测定的优点，又具备很宽的线性范围。已广泛用于地质矿物、金属材料、环境保护及生化样品等多个领域[31]。

Elfering等[32]使用电感耦合等离子体-原子发射光谱法对土壤中和水中的有机铅进行测定，用四氢硼酸钠将样品转化为氢化物，通过对样品进行加标回收，测得回收率为71-107%，线性范围为0.1-100mg/L。Bispo等[33]使用电感耦合等离子体质谱法对海水中的Pb2+进行测定，使用固相萘 - 茜素红从海水中提取铅，检出限为53μg/L，定量限为176μg/L，样品的加标回收率为95-97%。Wuilloud等[34]采用电感耦合等离子体质谱法与超声雾化结合的方法对葡萄酒样品中的铅进行测定，检出限为0.15μg/L，在Pb2+浓度为25μg/L条件下重复十次测定的相对标准偏差为2.5%，样品的加标回收率为97.6-100％。

**2.4 高效液相色谱法**

高效液相色谱法是在经典液相色谱法的基础上发展起来的一种色谱方法，分离原理是靠分离组份的分子与流动相分子争夺吸附表面活性中心的吸附能力差别而实现的[35]。根据流动相与固定相的极性不同，可以分为正相色谱法和反相色谱法。

Saito等[36]采用高效液相色谱与荧光检测器测定饮用水中的Pb2+和Cd2+的浓度，使用芳香族聚氨基羧酸酯，1-（4-氨基苄基）乙二胺-N，N，N'，N'-四乙酸酯作为柱前衍生剂，结果显示的检出限为1.5×10-8 mol/L，线性范围为5×10-8-2×10-6 mol/L。殷晓玲等[37]采用高效液相色谱法对卷烟烟气中的铅、镉、汞的含量进行测定，使用四 -(对甲氧基苯基 ) -卟啉作为柱前衍生剂，其中Pb2+的检出限为0.02 μg/L，线性范围为0.4-470μg/L，加标回收率为 95-102% 之间。Chang等[38]采用液相色谱-电感耦合等离子体质谱法（LC-ICP-MS）对鱼样中的铅和汞进行测定，使用反相色谱法以C18 柱作为固定相，结果显示铅离子的检出限为0.1-0.3μg/L，加标回收率为93-99%。

**2.5 气相色谱法**

气相色谱法是利用气体作流动相的色层分离分析方法。根据各组分从色谱柱中流出时间快慢因色谱柱中的固定相与样品中各组份分子作用力的不同而有所差异，从而将各组份分离出来的方法。

曹志斌等[39]采用气相色谱法对水中的铅离子进行测定，使用C18固相萃取柱富集水样中的四乙基铅，检出限为0.02 μg/Ｌ，回收率为 89-92.4 % 。

Feldman等[40]采用气相色谱-质谱法对水中的铅离子进行测定，在用同位素标记法， 将水样品加入同位素Pb206标准样品与四乙基硼酸钠进行乙基化反应，检出限为0.3ng/g，在0.5-100ng / g的浓度内具有良好的线性范围。Salih等[41]采用气相色谱-原子吸收光谱法测定污水样品中的铅含量， 使用双硫腙固定的）微珠对样品进行预浓缩，结果显示Pb2+的检出限为0.28ng/mL 。

**2.6 电化学分析法**

电化学分析法是根据溶液中物质的电化学性质及其变化规律，建立在以电位、电导、电流和电量等电学量与被测物质某些量之间的计量关系的基础之上，对组分进行定性和定量的仪器分析方法，也称电分析化学法。在重金属检测方法方面，检测方法主要有阳极溶出伏安法、离子选择电极法、极谱分析法和电位溶出法。

阳极溶出伏安法是指在一定的电位下，使待测金属离子部分地还原成金属并溶入微电极或析出于电极的表面，然后向电极施加反向电压，使微电极上的金属氧化而产生氧化电流，根据氧化过程的电流一电压曲线进行分析的电化学分析法。Pan等[42]采用电化学阳极溶出伏安法对水样中的铅离子进行测定，使用纳米材料-离子载体修饰玻碳电极，检出限为1.0 nmol/L，线性范围为5.0-8.0 nmol/L。

离子选择性电极是指带有敏感膜的、对某种离子或分子态物质具有选择性响应的指示电极，属于电位分析法[43]。Ardakani等[44]分别制备了溶胶 - 凝胶和PVC膜铅离子选择性电极测定土壤中的铅离子，传感器在10-20 s内可产生稳定的电位，检出限分别为3.0×10-6和5.0×10-6 mol /L其中溶胶 - 凝胶选择性电极的线性范围为5.0×10-6 -1.0×10-1 mol /L。

极谱分析法是通过测定电解过程中所得到的极化电极的电流-电位（或电位-时间）曲线来确定溶液中被测物质浓度的一类电化学分析方法。赵丹庆等[45]使用电化学极谱分析法对酒和面粉中的痕量铅和镉进行测定，其中Pb2+的检出限为1×10-7g/L，回收率为99.9-101.1%。

电位溶出法是在一定条件下使待测物质富集在电极上，再附加一个电流使待测物质发生氧化反应，通过记录溶出过程中的电位-时间特性来进行分析的方法[46]。Tarley等[47]采用电位溶出法对湖泊好污水中的Zn2+，Cd2+和Pb2+进行测定，在多壁碳纳米管修饰的玻碳电极上预浓缩和还原金属离子，其中Pb2+的检出限为6.6μg/L，定量限为22.1μg/L。

**2.7 研究主要内容**

目前检测重金属的传统方法主要有光谱法、色谱法及电感藕合等离子体质谱法等。这些方法虽然灵敏度高、准确度高，但对于样品前处理较为复杂且依赖于精密、昂贵的分析仪器，对操作者的专业操作水平要求较高，不易于实现现场检测等不足在很大程度上限制了其实际应用，不易于实现现场检测。而电化学方法相较于传统检测方法具有制作简单、微型化、分析时间短、成本低及可现场检测等优点，引起了科学工作者的高度关注。

适配体识别技术和新型纳米材料相结合，建立的电化学分析技术，既满足了检测时的高特异性、准确性、灵敏性要求，又不需要复杂的前处理，节约了分析时间，同时操作简单，不需要很高的专业分析水平，节约了分析成本，具有无可比拟的优势。因此本课题结合核酸适配体特异性强与稳定性高，新型纳米材料比表面积大、催化效率高以及电化学传感器成本低、制作简单、易于现场检测的优点制备三个不同的电化学核酸适配体传感器用于重金属铅的检测。

1. **研究内容**

本课题结合纳米材料、核酸适配体与电化学传感器的优点分别设计了三个传感器。整个实验从纳米材料的选取与制备、传感器的制备、Pb2+的检测以及传感器的性能研究等方面进行研究。以下是第一章传感器的制备与研究。

**3.1 实验原理**

本传感器利用催化发夹自组装装置和多孔碳负载铂纳米颗粒（PtNPs@CS）材料作为信号放大平台。将适体链Apt与其互补的c-DNA链按相同比例在DNA杂交缓冲溶液中杂交一段时间后，溶液中形成双链DNA结构。在Pb2+存在的情况下，由于适体链Apt与Pb2+结合形成G-四链体结构，从而使c-DNA链从双链体结构中脱落。首先将巯基修饰的发夹DNA（HP1）通过Au-S键固定在金电极上，之后加入MCH 封闭未结合位点。与适体链互补的c-DNA可以与电极上的发夹结构结合从而打开发夹结构从而暴露隐藏的序列进一步与生物素化的HP2（bio-HP2）结合。由于bio-HP2与HP1结合的碱基序列比c-DNA与HP1结合的碱基序列多，c-DNA从电极上释放出来，可进行下一步杂交过程，因此在此循环扩增过程后电极上会留有大量HP1/bio-HP2双链体。最后，利用生物素与链霉亲和素（SA）之间的特异性结合，将材料PtNPs@CS-SA固定到电极中后，将电极放入含有过氧化氢与氢锟的PBS缓冲溶液中。由于多孔碳修饰的铂纳米颗粒可以加速催化在过氧化氢存在下的氢锟的氧化，从而使电信号增强。

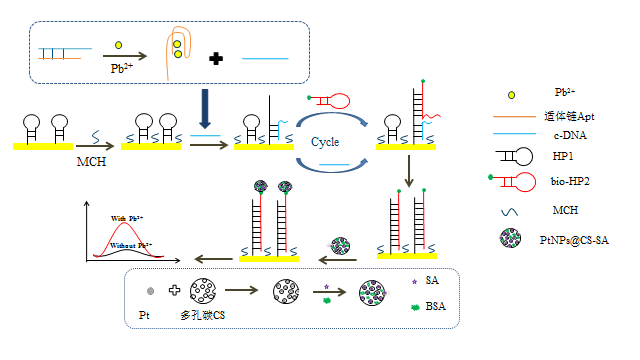


图1.传感器原理

**3.2 材料与方法**

**3.2.1 实验试剂**

硝酸铅、铁氰化钾、亚铁氰化钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、多孔碳、铂纳米颗粒、TCEP三（2-羰基乙基）磷盐酸盐、NH2（CH2）2SH (2-氨基乙硫醇)、Tris-HCL(pH=7.4)、MCH( 6-巯基-1-己醇)、PBS缓冲液（pH=7.4)）、链霉亲和素、生物素、BSA（牛血清蛋白）

**3.2.2 实验仪器**

金电极、饱和甘汞电极、铂丝电极、电化学工作站、电极架、移液枪、烧杯、砂纸、高纯氮气、超声波清洗器、电子天平、自动双重纯水蒸馏器、立式压力蒸汽灭菌器、旋涡式恒温摇床、磁力搅拌器

**3.2.3 多孔碳负载铂-链霉亲和素（**PtNPs@CS-SA**）的制备**

通过用硼氢化钠还原Na2PdCl 4制备PdNP，并且反应过程类似于AuNP。将制备的铂胶体溶液加入到多孔碳纳米材料中，搅拌12小时。之后，将所得的纳米复合物离心并分别用去离子水和乙醇洗涤数次。最后，将2mg链霉抗生物素蛋白滴加到2mL PdNPs @ Fe-MOFs纳米复合物（1mg mL-1）中，在4℃温和搅拌12小时，使链霉抗生物素蛋白充分锚定在纳米复合物的表面上。将1mg BSA加入溶液中以阻断非特异性结合位点。离心和洗涤后，将其分散在0.1mol/L PBS（pH7.4）中并在4℃下储存。

**3.2.4 适体传感器的制备：**

1. 预处理金电极AuE：将裸露的AuE用0.3μm和0.05μm氧化铝浆体重复抛光至镜面，并用超纯水彻底冲洗。然后，将AuE用无水乙醇超声漂洗5min，再在超纯水中超声洗涤5min，并在室温下干燥。
2. 发夹DNA HP1与HP2 在95℃下加入5min后缓慢冷却至室温备用。
3. 将适体Apt与其互补的c-DNA链按照相同比例（10μL,2.5μmol/L）在DNA杂交缓冲溶液中杂交一段时间后，将不同浓度的Pb2+加入到缓冲溶液中。
4. 首先将硫醇化HP1在含有5 mmol/L TCEP的缓冲液孵育30min 以减少二硫键的形成，之后将10μL(2μmol/L)巯基修饰的发夹DNA（HP1）滴加在金电极上过夜孵育，加入10μL(1μmol/L)MCH 封闭30min阻断未结合位点。
5. 将含有适体链Apt、互补链c-DNA与不同Pb2+浓度的缓冲溶液加入到电极上在37℃下孵育2h后，冲洗掉未与HP1结合的互补链。之后向电极上加入10μL(2μmol/L)HP2孵育1h ,冲洗掉未与电极结合的HP2。
6. 最后，向电极中加入5μL PtNPs@ CS-SA 纳米材料孵育30min。

**3.2.5 Pb2+的电化学检测**

将制备的电化学传感器放入10mmol/L的PBS（pH=7.4）缓冲溶液中，向溶液中加入20μL（1.2mmol/L）的H2O2和1mmol/L HQ，使用DPV记录电化学信号。

1. **研究进程安排**

2017年09月~2018年10月：查阅资料及实验准备阶段

2018年11月~2019年01月：试验一阶段

2019年09月~2020年02月：试验二、三阶段

2020年02月~2020年04月：撰写论文

2020年05月~2020年06月：答辩阶段

1. **参考文献**
2. 王增焕, 林钦, 王许诺,等. 华南沿海牡蛎重金属含量特征及其风险评估[J]. 水产学报, 2011, 35(2):291-297.
3. 王增焕, 贾晓平, 林钦,等. 广东沿海近江牡蛎重金属含量特征及其风险分析[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(3):607-612.
4. 杨丽萍, 姜文学, 高淑霞,等. 山东省肉兔组织中农药、重金属残留现状调查[J]. 山东农业科学, 2010(11):101-102.
5. 高彭, 梁和平, 陈东宛,等. 2004—2010年北京市顺义区猪肾中镉污染水平监测[J]. 职业与健康, 2011, 27(6).
6. 邓小鹏, 彭克俭, 陈亚华,等. 4种茄科植物对矿区污染土壤重金属的吸收和富集[J]. 环境污染与防治, 2011, 33(1):46-51.
7. 于瑞莲, 徐加庆, 胡恭任,等. 施用污泥对小白菜生长及其迁转重金属的影响[J]. 生态学杂志, 2011, 30(1):82-86.
8. Chen J Q, Wang Z X, Xie W U, et al. Source and hazard identification of heavy metals in soils of Changsha based on TIN model and direct exposure method[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2011, 21(3):642-651.
9. Silveira M L A, Alleoni L R F, Guilherme L R G. Biosolids and heavy metals in soils Biossólidos e metais pesados em solos[J]. Scientia Agricola, 2003, 60(4):793-806.
10. Rajamanickam V. Effect of heavy metals induced toxicity on metabolic biomarkers in common carp (Cyprinus Carpio L.)[J]. Maejo International Journal of Science & Technology, 2008, 2(01):192-200.
11. 董秋洪, 聂根新. 食品中重金属污染对人体健康的影响及其对策[J]. 城乡致富, 2003(3):37-38.
12. Li T, Wang E, Dong S. Lead(II)-Induced Allosteric G-Quadruplex DNAzyme as a Colorimetric and Chemiluminescence Sensor for Highly Sensitive and Selective Pb2+ Detection[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(4):1515-1520.
13. Liu Y, Zhou Q, Yuan Y, et al. Hydrothermal synthesis of fluorescent carbon dots from sodium citrate and polyacrylamide and their highly selective detection of lead and pyrophosphate[J]. Carbon, 2017, 115:550-560.
14. Chen B, Wang Z, Hu D, et al. Scanometric nanomolar lead (II) detection using DNA-functionalized gold nanoparticles and silver stain enhancement[J]. Sensors & Actuators B Chemical, 2014, 200(3):310-316.
15. Zapata F, Caballero A, Espinosa A, et al. Triple Channel Sensing of Pb(II) Ions by a Simple Multiresponsive Ferrocene Receptor Having a 1-Deazapurine Backbone[J]. Organic Letters, 2008, 10(1):41-4.
16. Rong-Na Ma, Lan-Lan Wang, Min Zhang, et al. A novel one-step triggered “signal-on/off” electrochemical sensing platform for lead based on the dual-signal ratiometric output and electrode-bound DNAzyme assembly[J]. Sensors\s&\sactuators B:chemical, 2018, 257:678-684.
17. 厉有名, 姜玲玲. 铅中毒病理生理机制的若干研究进展[J]. 广东微量元素科学, 2001, 8(9):8-11.
18. 高万珍. 244 δ—氨基乙酰丙酸脱水酶与铅中毒的关系[J]. 环境卫生学杂志, 1997(6):345-348.
19. Ajioka R S, Phillips J D, Kushner J P. Biosynthesis of heme in mammals.[J]. BBA - Molecular Cell Research, 2006, 1763(7):723-736.
20. Hung Y L, Hsiung T M, Chen Y Y, et al. A label-free colorimetric detection of lead ions by controlling the ligand shells of gold nanoparticles.[J]. Talanta, 2010, 82(2):516-522.
21. Yabe J, Nakayama S M, Ikenaka Y, et al. Lead poisoning in children from townships in the vicinity of a lead-zinc mine in Kabwe, Zambia.[J]. Chemosphere, 2015, 119:941-947.
22. Wang W, Jin Y, Zhao Y, et al. Single-labeled hairpin probe for highly specific and sensitive detection of lead(II) based on the fluorescence quenching of deoxyguanosine and G-quartet[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2013, 41(4):137-142.
23. Soylak M, Yilmaz E, Ghaedi M, et al. Solid phase extraction on multiwalled carbon nanotubes and flame atomic absorption spectrometry combination for determination of some metal ions in environmental and food samples[J]. Toxicological & Environmental Chemistry Reviews, 2011, 93(5):873-885.
24. 唐森富. 石墨炉原子吸收光谱法测定茶多酚中铅[J]. 光谱实验室, 2007, 24(2):113-115.
25. 谷晓稳, 吕学举, 贾琼,等. 石墨烯/二氧化钛复合材料富集-石墨炉原子吸收光谱法测定铅和镉[J]. 分析化学, 2013, 41(3):417-421.
26. vanova-Petropulos V, Jakabová S, Nedelkovski D, et al. Determination of Pb and Cd in Macedonian Wines by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ETAAS)[J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(8):1947-1952.
27. 黄种迁. 原子荧光光谱法在测定食品中有毒金属元素的应用[J]. 台湾农业探索, 2013, 123(4):61-65.
28. 付晓陆, 汪钊, 叶海云. 氢化物发生原子荧光光谱法同时测定茶叶中的砷、铅和硒[J]. 食品工业科技, 2003, 24(4):80-81.
29. Karadjova I B, Lampugnani L, D’Ulivo A, et al. Determination of lead in wine by hydride generation atomic fluorescence spectrometry in the presence of hexacyanoferrate(III)[J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2007, 388(4):801.
30. 蒋倩, 韩勇, 华建峰,等. 氢化物发生-原子荧光光谱法测定大米与圆白菜中痕量铅[J]. 光谱实验室, 2012, 29(2):000658-662.
31. 李贵峰. 氢化物发生—原子荧光法测定水中痕量铅[J]. 中国环境监测, 1997(3):78-80.
32. 阮桂色. 电感耦合等离子体原子发射光谱(ICP-AES)技术的应用进展[J]. 中国无机分析化学, 2011, 01(4):15-18.
33. Elfering H, Andersson J T, Poll K G. Determination of organic lead in soils and waters by hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry[J]. Analyst, 1998, 123(4):669-674.
34. Bispo M S, Korn M D G A, Morte E S D B, et al. Determination of lead in seawater by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after separation and pre-concentration with cocrystallized naphthalene alizarin ☆[J]. Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy, 2002, 57(12):2175-2180.
35. Wuilloud R G, González A H, Marchevsky E J, et al. On-line complexation/preconcentration system for the determination of lead in wine by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry with ultrasonic nebulization[J]. Journal of Aoac International, 2001, 84(5):1555.
36. 刘先德. 高效液相色谱在食品质量检测中的应用[J]. 中国高新技术企业, 2015(18):50-52.
37. Saito S, Danzaka N, Hoshi S. Direct fluorescence detection of Pb 2+, and Cd 2+, by high-performance liquid chromatography using 1-(4-aminobenzyl) ethylenediamine- N, N, N ′, N ′-tetraacetate as a pre-column derivatizing agent[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1104(1–2):140-144.
38. 殷晓玲, 王亚明, 彭丽娟,等. 固相萃取富集高效液相色谱法测定卷烟烟气中的铅、镉和汞[J]. 光谱实验室, 2013, 30(4):001670-1673.
39. Chang L F, Jiang S J, Sahayam A C. Speciation analysis of mercury and lead in fish samples using liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry.[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1176(1–2):143-148.
40. 曹志斌, 王晋宇, 陆文娟,等. 固相萃取-气相色谱法测定水中四乙基铅含量[J]. 理化检验(化学分册), 2012, 48(12):1421-1423.
41. Feldman B J, Mogadeddi H, Osterloh J D. Determination of Pb2+ in water by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry of tetraethyllead formed by reaction with sodium tetraethylborate[J]. Journal of Chromatography A, 1992, 594(s 1–2):275–282.
42. Salih B. Speciation of inorganic and organolead compounds by gas chromatography-atomic absorption spectrometry and the determination of lead species after pre-concentration onto diphenylthiocarbazone-anchored polymeric microbeads ☆[J]. Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy, 2000, 55(7):1117-1127.
43. 阎秉峰. 离子选择性电极的工作原理[J]. 内蒙古科技与经济, 2005(3):106-109.
44. Ardakani M M, Kashani M K, Salavati-Niasari M, et al. Lead ion-selective electrode prepared by sol–gel and PVC membrane techniques[J]. Sensors & Actuators B Chemical, 2005, 107(1):438-445.
45. 赵丹庆, 孙占才. 极谱法连续测定痕量铅和镉[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2007, 22(1):36-37.
46. Tarley C R, Santos V S, Baêta B E, et al. Simultaneous determination of zinc, cadmium and lead in environmental water samples by potentiometric stripping analysis (PSA) using multiwalled carbon nanotube electrode.[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 169(1–3):256-262.
47. 王中荣, 魏福祥, 刘亚芹,等. 电分析化学法在重金属离子检测中的应用[J]. 河北工业科技, 2015, 32(1):55-63.