

基于多肽识别基团的荧光探针及其对 食品中氰化物的检测

Devise and synthesis of fluorescent probe for cyanide detection
in food based on a peptide receptor

周彬彬¹ 汪霞丽¹ 王芳斌¹ 张继红¹

ZHOU Bin-bin¹ WANG Xia-li¹ WANG Fang-bin¹ ZHANG Ji-hong¹

杨滔¹ 程云辉² 郝远强³

YANG Tao¹ CHENG Yun-hui² HAO Yuan-qiang³

(1. 湖南省食品质量监督检验研究院, 湖南 长沙 410117; 2. 长沙理工大学化学与生物工程学院,
湖南 长沙 410114; 3. 商丘师范学院化学化工学院, 河南 商丘 476000)

(1. *Human Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha, Hunan 410117, China*; 2. *School of Chemistry and Biological Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha, Hunan 410114, China*; 3. *College of Chemistry and Chemical Engineering, Shangqiu Normal University, Shangqiu, Henan 476000, China*)

摘要:以 7-二乙胺基香豆素-3-羧酸、甘氨酸、组氨酸为原料, 采用标准多肽合成法成功合成了水溶性的荧光探针分子香豆素-甘氨酸-甘氨酸-组氨酸(Coumarin-Gly-Gly-His, C-GGH), 利用 GGH 三肽对 Cu^{2+} 的络合作用形成 C-GGH- Cu^{2+} 络合物, 使探针分子 C-GGH 的荧光猝灭; 然后, 通过向体系中加入氰化物后, CN^- 对 Cu^{2+} 的强络合作用形成稳定的络合物 $[\text{Cu}(\text{CN})_x]$ 而使探针分子荧光逐渐恢复, 以此实现对氰化物的定量检测。该法检测限为 $0.015 \mu\text{mol/L}$, 远低于国家标准(GB 8537—2008)中要求最严的矿泉水中氰化物的限量值 0.01 mg/L (相当于摩尔浓度 $0.385 \mu\text{mol/L}$), 该探针分子对 CN^- 的检测不受 SCN^- 、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 PO_4^{3-} 、 N_3^- 、 NO_3^- 、 AcO^- 、 SO_4^{2-} 、 CO_3^{2-} 等共存阴离子的影响。经对实际食物样品中氰化物进行检测, 证明该方法的准确度与国标(GB/T 5009.48—2003、GB/T 5009.36—2003、GB/T 8538—2008)方法一致, 且更快捷、简单。

关键词:食品; 氰化物; 多肽; 荧光探针; 检测

Abstract: Cyanide is considered to be one of the most toxic species in food while the existing detection methods involve complex operation

基金项目:国家自然科学基金项目(编号: U1404215, 31171627, 31071523); 湖南省食品药品监督管理局食品药品安全科技项目(编号: 湘食药科 R201516)

作者简介:周彬彬, 男, 湖南省食品质量监督检验研究院工程师, 博士。

通讯作者:程云辉(1964—), 女, 长沙理工大学教授, 博士。
E-mail: chengyh6488@sina.com

收稿日期:2016—10—31

and will produce toxicity to inspectors. In this study, a water-soluble fluorescent probe(C-GGH) was synthesized by HOBT/DIC protocol in solution using 7-diethylaminocoumarin-3-carboxylic acid, Glycine and Histidine. Due to the presence of the recognition unit GGH, the probe C-GGH can conjugated with Cu^{2+} to formed non-fluorescent C-GGH- Cu^{2+} complex. Due to the strong binding affinity of CN^- to Cu^{2+} , CN^- can extract Cu^{2+} from C-GGH- Cu^{2+} complex, leading to the release of C-GGH and the recovery of fluorescent emission of the system. The probe allowed detection of cyanide in aqueous solution with a LOD (limit of detection) of $0.017 \mu\text{mol/L}$ which is much lower than the maximum contaminant level ($0.385 \mu\text{mol/L}$) for cyanide in mineral water set by national standard (GB 8537—2008). The probe also displayed excellent specificity for CN^- towards other anions, including F^- , Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- , PO_4^{3-} , N_3^- , NO_3^- , AcO^- , SO_4^{2-} , and CO_3^{2-} . The method developed in this study received the same results as national standard method (GB/T 5009.48—2003, GB/T 5009.36—2003, GB/T 8538—2008), but more simple and quick in real sample detection.

Keywords: food; cyanide; peptide; fluorescent probe; detection

氰化物是严重危害食品安全的剧毒化合物, 能与细胞线粒体内高铁细胞色素氧化酶结合, 生成氧化高铁细胞色素氧化酶, 从而失去传递氧的作用, 造成人体组织缺氧窒息, 引起组织衰竭以至机体死亡^[1]。研究^[2]表明: 口服氰化钠、氰化钾的致死量为 $1 \sim 2 \text{ mg/kg}$, 口服氢氰酸致死量为 $0.7 \sim 3.5 \text{ mg/kg}$ 。氰酸盐是氰化物的主要存在形式, 被大量应用

于电镀、冶炼等行业,造成环境的污染,从而产生食品安全隐患。另外,含菜豆亭碱的四季豆、五色豆等豆类,以及含氰甙的竹笋、苦杏仁、木薯及其相关制品等食品中也含有氰化物,能引起急性中毒^[3]。因此,食品中氰化物的检测是一项重要的安全检测指标,也是一项常规检测指标。

在现行国家标准中,氰化物的检测通常采用分光光度法,以吡啶—巴比妥酸、异烟酸—吡啶酮、异烟酸—巴比妥酸等作为显色体系。但该方法针对不同的样品需采取不同的处理方法,实际工作中若采用相同的试剂处理样品对检测结果影响很大,且该法前处理操作较复杂,部分样品毒性较大^[4-7]。近年来,学者们研究了色谱法、光谱法、离子色谱—脉冲安培检测法、银明胶络合法、电化学法、硝酸银滴定法、及快速检测试纸条法等,在氰化物检测方面的应用,这些技术与传统的分光光度法相比,都具备各自特有的优势。如色谱法和光谱法灵敏度更高,试剂用量少^[1];离子色谱—脉冲安培检测法线性范围宽、检出限低^[8];银明胶络合法选择性好^[9];电化学法操作简便^[10];硝酸银滴定法重现性好。然而,这些方法都存在耗时较长,影响因素较多、对检测人员素质要求高等问题。且色谱法、离子色谱—脉冲安培法仪器较贵,电化学法、硝酸银滴定法易受食品中复杂成分的干扰。因而这些方法都没能在食品中氰化物检测方面受到广泛推广应用。另外,现有的氰化物试纸条检测方法虽然具备现场快速定性的优点^[11],但是,其目前的灵敏度不足以达到世界卫生组织对饮用水中氰化物含量检测浓度的规定^[12],且当其针对食品中氰化物进行检测的时候,又易受到食品中其它复杂成分的干扰。

荧光探针法,因其具有高选择性、高灵敏度、反应速度快等特点,在食品安全检测方面被广泛应用^[13-15]。近年来,荧光探针法在氰化物的检测方面,也展现出了潜在的优势^[16-17],研究者们设计了荧光探针分子对水中的氰化物进行了检测,都展现出了较高的灵敏度和选择性。但目前用于氰化物检测的荧光探针分子往往存在水溶性较差,不利于实际应用等问题,而且大部分都是基于人工合成的识别基团,因此带来探针分子合成繁琐以及生物相容性不好等问题。已有研究^[18]表明,将多肽与香豆素结合而得到的荧光探针分子展现出了很好的生物相容性和水溶性。

本研究设计将香豆素(Coumarin, C)骨架与甘氨酸-甘氨酸-组氨酸三肽(Gly-Gly-His, GGH)缩合得到荧光探针分子(C-GGH),此探针的生色团为香豆素结构,识别基团为GGH三肽。利用探针分子识别基团与 Cu^{2+} 络合形成复合物(命名为C-GGH- Cu^{2+})使荧光淬灭,而复合物C-GGH- Cu^{2+} 在 CN^- 的存在下,通过 CN^- 与 Cu^{2+} 的络合形成更加稳定的络合物,体系荧光又得到恢复的原理,从而实现了对食品中氰化物的快速检测。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试剂

甘氨酸、组氨酸、DIC、HOBt:分析纯,吉尔生化上海有限

公司;

硫酸铜、7-二乙胺基香豆素-3-羧酸:分析纯,上海安耐吉化学有限公司;

用于干扰性试验的其它阴离子四丁基铵盐类:分析纯,萨恩化学技术(上海)有限公司;

用于合成的有机溶剂:分析纯,天津大茂化学试剂厂;

所有溶液的配制:用去离子水(电阻率 $18\text{ M}\Omega/\text{cm}$),密理博超纯水机。

1.1.2 样品的采集

研究过程中的食物样本为本单位监督抽检过程中所抽取的样品,检验过程中发现氰化物含量较高的样品,留样进行本试验研究;部分种类样品采取加标方式。

1.2 仪器与设备

荧光分光光度计:F-2500型,日本日立公司;

核磁共振谱仪:AMX-400型,瑞士Bruker公司;

高分辨质谱仪:LCQ Fleet型,美国Thermo-Fisher公司;

紫外可见分光光度计:UV2450型,日本岛津公司;

高效液相色谱仪:6AD型,日本岛津公司。

1.3 方 法

1.3.1 GGH三肽的合成 GGH三肽的合成参照参考文献^[19],利用HOBt和DIC通过标准的多肽液相合成法来合成,合成产率为67%。

1.3.2 C-GGH荧光探针的合成 将7-二乙胺基香豆素-3-羧酸(522 mg, 2 mmol)室温条件下加入DMF(10 mL)中,搅拌下加入DIC(2 mmol),HOBt(2 mmol)活化反应1 h。将含有三肽GGH(538 mg, 2 mmol)的DMF(10 mL)溶液缓慢滴入到上述反应液中,继续室温搅拌反应3 h。待反应结束后,向最终反应液中加入冰乙醚(80 mL),析出黄色沉淀。在冷冻条件下高速离心并收集沉淀产物。用高效液相色谱分离纯化粗产物,得到黄色固体产物789 mg(收率:77%)。

1.3.3 产物表征 核磁共振氢谱($^1\text{H-NMR}$)表征:共振频率为500 MHz, D_2O 重水作为溶剂, TMT 作为内标物, 室温进行扫描。质谱(ESI-MS)表征:采用电喷雾离子源(ESI)形式,选择正离子模式,扫描范围为从100~1 000 m/z 。

1.3.4 氰化物的检测 将合成的荧光探针分子C-GGH(1.0 $\mu\text{mol/L}$)溶解于水体系的HEPES缓冲溶液中(pH=10.0)中,加入等浓度的铜离子(1.0 $\mu\text{mol/L}$)混合得到C-GGH- Cu^{2+} 溶液。然后分别加入含不同浓度氰化物的溶液后均匀混合,测试络合物探针溶液的荧光光谱,以溶液在470 nm处的荧光发射值对氰根离子浓度作图。作为对照,食物样品中的氰化物含量参考GB/T 5009.48—2003、GB/T 5009.36—2003和GB/T 8538—2008中规定的检测方法进行检测并比较。

2 结果与分析

2.1 C-GGH荧光探针分子的合成与表征

C-GGH荧光探针分子的合成路线见图1。7-二乙胺基香豆素-3-羧酸上的羧基适合标准的多肽缩合反应,可与氨基

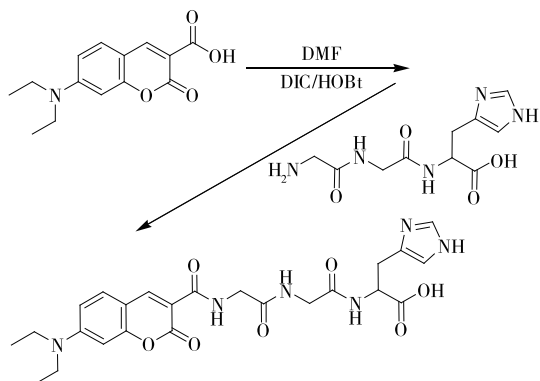


图 1 C-GGH 合成路线

Figure 1 Syntheses of fluorescent probe(C-GGH)

酸或多肽的氨基缩合。但考虑到香豆素的位阻效应可能会影响到下一步反应的产率,本研究中先合成 GGH 三肽,再与 7-二乙胺基香豆素-3-羧酸缩合。另一方面,为了避免缩合过程中出现 GGH 三肽分子内或自身分子间反应的情况,合成过程中先将 7-二乙胺基香豆素-3-羧酸活化,再采取将 GGH 溶液缓慢滴入到活化反应液中的方式,整个滴加过程控制在 2.5~3.0 h。

液相法合成以后,向反应液中加入冰乙醚析出固体,再用高效液相分离提纯,得到纯度 90% 以上的 C-GGH。然后通过质谱对探针分子进行表征, (HRMS: m/z , calcd for $[M+H]^+$ 513.209 2; found 513.208 9), 表征结果与理论值吻合。进一步的核磁表征也对合成产物进行了证实(见图 2), 1H NMR (400 Hz, D_2O): δ 8.49 (dd, $J = 20.3, 3.2$ Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.22~7.12 (m, 1H), 6.93 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 4.66~4.61 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.78 (d, $J = 34.7$ Hz, 2H), 3.28~3.02 (m, 6H), 0.95 (t, $J = 6.6$ Hz, 6H)。质谱和核磁的表征结果说明,通过以上所述合成路线及合成方法顺利得到了 C-GGH 探针分子。

2.2 C-GGH-Cu²⁺ 在氰化物作用下的荧光变化

将 C-GGH (1.0 $\mu\text{mol/L}$) 溶解于水体系的 HEPES 缓冲溶液中,加入不同浓度的 Cu²⁺ (硫酸铜形式) 后测试荧光光谱,发现当 Cu²⁺ 浓度达到等物质的量时, C-GGH 荧光基本猝灭。因此研究中选择将 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 C-GGH 加入等浓度的 Cu²⁺ 混合得到 C-GGH-Cu²⁺ 探针溶液。然后分别加入不同浓度的氰根离子后均匀混合,测试络合物探针溶液的荧

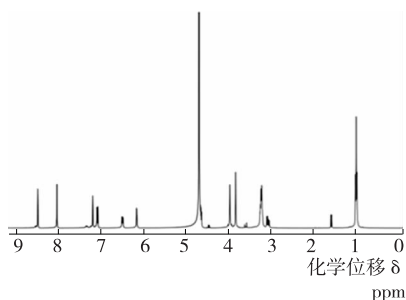
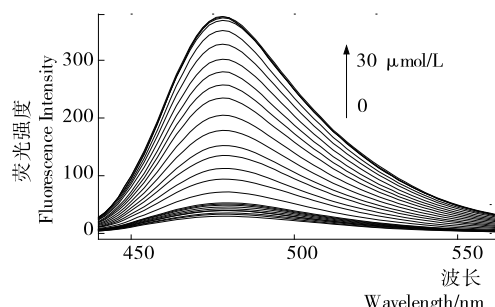
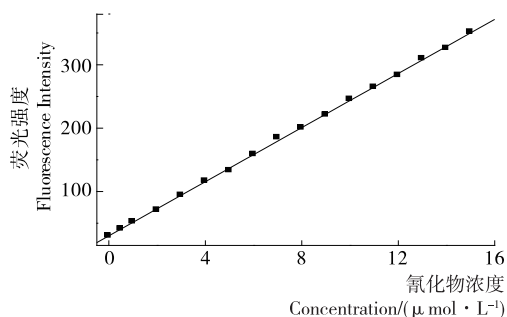


图 2 C-GGH 核磁表征结果

Figure 2 Proton NMR spectrum of C-GGH

光光谱,结果如图 3 所示,随着不同浓度氰根离子的加入,络合物探针溶液的荧光逐渐恢复,当氰根离子的浓度达到探针分子浓度 30 倍时,荧光强度恢复到最大值。以溶液在 470 nm 处的荧光发射值对氰根离子浓度作图见图 4,发现氰根离子浓度在 0.15~15.00 $\mu\text{mol/L}$ 时,两者之间呈现良好的线性关系。检测限为 0.015 $\mu\text{mol/L}$ 。根据 GB 2757—2012、GB 2715—2005 和 GB 8537—2008 规定,氰化物在蒸馏酒与配制酒中的限量值为 8.0 mg/L (以 HCN 计,折算酒精度为 100%),粮食中氰化物限量值为 0.015 mg/kg,自来水中限量值为 0.05 mg/L,矿泉水中限量值为 0.01 mg/L,以限量值要求最高的矿泉水计算,矿泉水中氰化物的限量值折算为摩尔浓度后为 0.385 $\mu\text{mol/L}$,远远高于检测限,说明该荧光探针分子的灵敏度足以满足食品中氰化物的检测。

图 3 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 C-GGH-Cu²⁺ 在不同浓度氰化物作用下的荧光变化Figure 3 Fluorescence titration of C-GGH-Cu²⁺ (1.0 $\mu\text{mol/L}$) with CN⁻ (0, 0.2, 0.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, and 30 $\mu\text{mol/L}$)图 4 C-GGH-Cu²⁺ 对氰化物检测的标准曲线Figure 4 Dose-dependent luminescence response of C-GGH-Cu²⁺ (1.0 $\mu\text{mol/L}$) to CN⁻

2.3 C-GGH-Cu²⁺ 对氰根离子的选择性

由于 Cu²⁺ 和 CN⁻ 有非常强的结合能力,能络合形成很稳定的 Cu(CN)₂ ($K_{sp} = 3.2 \times 10^{-20}$)。因此 Cu²⁺ 与 CN⁻ 螯合的机理也被广泛应用于 CN⁻ 荧光及比色法探针的开发^[20-21]。以上试验发现, CN⁻ 能够夺取 C-GGH-Cu²⁺ 络合物中的 Cu²⁺, 从而使荧光探针分子 C-GGH 的荧光恢复。这也就意味着借助 Cu²⁺ 与 CN⁻ 的强结合力, 探针分子 C-GGH 可以实现对氰化物的检测。但是食物样品相较于其它体系的特点就是其复杂性, 因此, 本研究通过测定其它阴离子存在的情况下, C-GGH-Cu²⁺ 的荧光光谱的变化, 对检测体系

的选择性进行了考察。如图5所示, CN^- 能引起 C-GGH- Cu^{2+} 荧光光谱的显著变化, 而其它阴离子如 (SCN^- , F^- , Cl^- , Br^- , I^- , PO_4^{3-} , N_3^- , NO_3^- , AcO^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-}) 都没能引起 C-GGH- Cu^{2+} 荧光光谱的变化, 原因可能是这些阴离子与 Cu^{2+} 不具有强的结合能力, 或者是结合能力弱于 GGH 三肽与 Cu^{2+} 的结合能力。同时, 本研究进一步通过竞争性试验, 即在其它阴离子存在的条件下, 考察 C-GGH- Cu^{2+} 对 CN^- 检测响应变化的情况, 从图6可以看出, 所有其它考察的阴离子, 都不能对本体系中 CN^- 的检测产生影响。因此, 本体系对 CN^- 的检测具有较高的选择性, 适宜应用于食物样品中氰化物的检测。

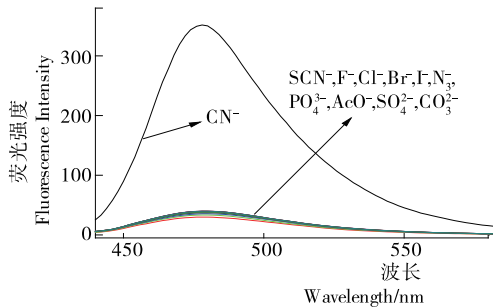


图5 C-GGH- Cu^{2+} 对不同阴离子的响应图

Figure 5 Fluorescence changes of C-GGH- Cu^{2+} (1.0 $\mu\text{mol/L}$) upon the addition of various anions

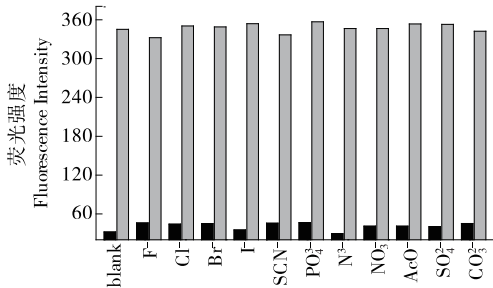


图6 不同阴离子的竞争检测结果图

Figure 6 Fluorescence responses of C-GGH- Cu^{2+} at 478 nm in the presence of different anions (15.0 $\mu\text{mol/L}$) (black bars), followed by addition of CN^- (15.0 $\mu\text{mol/L}$) (gray bars)

2.4 C-GGH- Cu^{2+} 对实际样品的检测

以上研究证明 C-GGH- Cu^{2+} 探针对于氰化物的检测具有很高的灵敏度和选择性, 但食物样品成分复杂, 因此, 本研究选取了酒、面粉、水等较易出现氰化物含量超标的食物样品作为代表, 将该荧光探针法与国标 (GB/T 5009.48—2003、GB/T 5009.36—2003、GB/T 8538—2008) 检测方法进行对比研究, 以确定该方法的准确度。由表1可知, 本研究的荧光探针方法与以上国际方法相比, 在对配制酒中氰化物检测上, 误差率为2%~3%, 对白酒的误差率更低, 仅为1.11%, 可能因为白酒的成分相对配制酒更简单, 另外配制酒一般都带颜色, 对检测结果也会稍有影响。面粉、自来水、矿泉水的误差率相对稍微高点, 分别为6.45%, 4.81%, 8.33%, 原因主要为该类食品中氰化物的含量非常低, 但即使有略高的误差

值, 其结果也完全不会影响到对食品中氰化物含量的判定。因此, 从表1中的对比研究数据可以确定, 本研究中的荧光探针方法能准确检测食品中氰化物的含量, 其准确度与国标 (GB/T 5009.48—2003、GB/T 5009.36—2003、GB/T 8538—2008) 检测方法一致。

表1 荧光探针对实际样品的检测

Table 1 Detection of cyanide in real sample mg/L

食品种类	限量值(酒根据酒精度折算)	对应国标方法	国标法检测值	荧光探针法检测值
配制酒1(36度)	2.880	GB/T 5009.48—2003	2.770	2.680
配制酒2(39度)	3.120	GB/T 5009.48—2003	4.740	4.850
白酒(52度)	4.160	GB/T 5009.48—2003	7.210	7.130
面粉	0.015	GB/T 5009.36—2003	0.031	0.033
自来水	0.050	GB/T 8538—2008	0.104	0.109
矿泉水	0.010	GB/T 8538—2008	0.024	0.220

3 结论

本研究以甘氨酸、组氨酸、7-二乙胺基香豆素-3-羧酸为原料, 采用标准多肽合成法成功合成了水溶性好的荧光探针分子 C-GGH, 该探针分子与等物质量的 Cu^{2+} 作用形成 C-GGH- Cu^{2+} , 荧光猝灭, 新形成的 C-GGH- Cu^{2+} 络合物随着氰化物的加入荧光又逐渐恢复。研究结果发现 C-GGH- Cu^{2+} 对氰化物表现出了高灵敏度和高选择性, 经对实际食物样品中氰化物进行检测, 证明该方法的准确度与国标 (GB/T 5009.48—2003、GB/T 5009.36—2003、GB/T 8538—2008) 检测方法一致。该法与现有常用的食品中氰化物检测方法相比, 具有简单、快捷、低毒性等优势, 因此, 该方法在食品中氰化物的快速检测方面具有较大的潜在应用价值。

参考文献

- [1] 邱玉敏, 朱军, 常靖, 等. 氰化物检测方法研究进展[J]. 理化检验: 化学分册, 2011, 47(12): 1491-1494.
- [2] 黄光照, 汪德文, 马丽霞. 法医毒理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 17, 48.
- [3] 邓绍平, 邝嘉萍, 钟伟祥, 等. 香港食用植物中氰化物含量及加工过程对其含量的影响[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(5): 428-430.
- [4] 于高磊. 氰化物检测中的样品前处理方法分析[J]. 科学资讯, 2015, 19(17): 69-70.
- [5] 詹为民, 沈兆欣, 鲍静. 氰化物检测中显色液溶剂的替代分析[J]. 环境工程, 2015(S1): 1-3.
- [6] 骆胜超. 对氰化物检测中样品前处理方法的探讨[J]. 公共卫生与预防医学, 2006, 17(3): 138-139.
- [7] 黄小焕, 陶晓薇, 余全忠, 等. 酱香型白酒中氰化物含量测定方法的改进[J]. 酿酒科技, 2015(8): 65-70.
- [8] 叶梅, 吴文林, 郭靓, 等. 离子色谱-脉冲安培检测法快速测定配制酒中的氰化物[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 192-195.

(下转第62页)

肪含量范围分别为 22.80~27.30, 36.12~51.59, 7.42~14.80 g/100 g 的休闲豆干的校正, 所研究的范围有限, 需要进一步扩大研究范围和加大研究力度。

参考文献

- [1] 苏继颖. 大豆制品的营养及发展趋势[J]. 中国油脂, 2006, 31(8): 40-41.
- [2] 王中江, 江连洲, 李杨, 等. 大豆制品的营养成分及研究进展[J]. 中国食物与营养, 2010(4): 16-19.
- [3] 吕晓敏, 代养勇, 董海洲, 等. 我国大豆加工业的现状和发展趋势[J]. 中国食物与营养, 2009(12): 23-25.
- [4] 张友峰, 赵玲艳. 豆干类熟食工艺优化及防腐研究进展[J]. 农产品加工: 学刊, 2013(13): 55-57.
- [5] 卜宇芳, 李文强, 谢灵来, 等. 休闲豆腐干贮藏过程中品质变化研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 115-118.
- [6] 蒋琼华, 赵良忠, 李化强, 等. 休闲豆制品贮藏期的品质变化及腐败机理研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 116-119, 211.
- [7] 杨倩, 张慇, 李瑞杰. 加工条件对豆干质构的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(5): 683-686.
- [8] 谢玲. 休闲豆腐干行业突破短板 放眼全国[N]. 中国食品报, 2011-09-13(04).
- [9] 陈金财. 休闲豆制品行业现状及未来发展方向[J]. 农产品加工: 创新版, 2009(7): 52-54.
- [10] 余有贵, 曾传广, 危兆安, 等. 邵阳风味豆干生产中过程控制的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 219-221.
- [11] 孙婷婷, 刘晔, 任占冬, 等. 基于双波长紫外吸收的乳脂肪快速测定[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 100-104.
- [12] 孙蓉, 吴文标. 食品中蛋白质检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 393-398.
- [13] WEI Qin, WU Dan, DU Bin, et al. A spectrophotometric method for determination of total proteins in cow milk powder samples using the o-nitrophenylfluorone/Mo(VI) complex[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(1): 76-82.
- [14] 邱燕燕, 孙娟娟, 魏肖鹏, 等. 近红外法测定豆浆蛋白质、脂肪和可溶性固形物含量[J]. 中国粮油学报, 2015, 30(10): 123-126.
- [15] NCT Mariani, RCD Costa, KMGD Lima, et al. Predicting soluble solid content in intact jaboticaba [Myrciaria jaboticaba (Vell.) O. Berg] fruit using near-infrared spectroscopy and chemometrics[J]. Food Chemistry, 2014, 159(11): 458-462.
- [16] WANG Dong-ni, LARS Norgaard, MORTEN Morup. Non-linear calibration models for near infrared spectroscopy[J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 813(2): 1-14.
- [17] SHI Ji-yong, ZOU Xiao-bo, HUANG Xiao-wei, et al. Rapid detecting total acid content and classifying different types of vinegar based on near infrared spectroscopy and least-squares support vector machine[J]. Food Chemistry, 2013, 2(1): 192-199.
- [18] 张令标, 何建国, 刘贵珊, 等. 基于可见/近红外高光谱成像技术的番茄表面农药残留无损检测[J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 82-85.
- [19] 付秋娟, 杜咏梅, 常爱霞, 等. 烤烟叶片身份和结构与化学成分的关系及其近红外模型研究[J]. 中国烟草学报, 2009, 15(6): 41-43.
- [9] 吁继承. 用银明胶络合剂测定酒中氰化物[J]. 食品科学, 1989(1): 42-44.
- [10] 周裕敏, 田衍, 张萍. 流动注射安培法测定水中总氰化物[J]. 理化检验: 化学分册, 2014, 50(10): 1 317-1 318.
- [11] 杨俊, 陈亿展, 孟令兵, 等. 氰化物纸片快速测定食品中的氰化物[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(10): 2 325-2 327.
- [12] GIURIATI C, CAVALLI S, GORNI A, et al. Ion chromatographic determination of sulfide and cyanide in real matrices by using pulsed amperometric detection on a silver electrode[J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1 023(1): 105-112.
- [13] 王书源, 李忠海, 付湘晋, 等. 高荧光 CdTe 量子点荧光探针测定 Cu^{2+} [J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 125-129.
- [14] 李玉美, 班睿, 谢兵, 等. 量子点在食品安全检测中的应用研究[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(1): 222-230.
- [15] 李萌立, 李忠海, 李节, 等. 量子点荧光探针技术在食源性致病细菌检测中的应用[J]. 食品与机械, 2013, 29(5): 241-244.
- [16] AL-SABHA T N, AL-KAREMY NM. The use of 7,7',8,8'-tetracyanoquinodimethane for the spectrophotometric determination of some primary amines application to real water samples [J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2013, 2 013(1): 1-8.
- [17] LA Ming, HAO Yuan-qiang, WANG Zhao-yang, et al. Selective and sensitive detection of cyanide based on the displacement strategy using a water-soluble fluorescent probe[J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2016, 2016(1): 1-6.
- [18] HAO Yuan-qiang, CHEN Wan-song, Wang Li-qiang. A retrievable, water-soluble and biocompatible fluorescent probe for recognition of Cu(II) and sulfide based on a peptide receptor[J]. Talanta, 2015, 143(23): 307-314.
- [19] ZHOU Bin-bin, LI Chun-lan, LIU You-nian, et al. Ferrocene tripeptide Gly-Pro-Arg conjugates: synthesis and inhibitory effects on alzheimer's $\text{A}\beta_{1-42}$ fibrillogenesis and $\text{A}\beta$ -induced cytotoxicity in vitro [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2013, 21(11): 395-402.
- [20] GEE H-C, LEE C-H, JEONGY-H, et al. Highly sensitive and selective cyanide detection via Cu^{2+} complex ligand exchange [J]. Chem. Commun., 2011, 47(43): 11 963-11 965.
- [21] JUNG H S, HAN J H, KIMZ H, et al. Coumarin-Cu(II) ensemble-based cyanide sensing chemodosimeter[J]. Org. Lett., 2011, 13(19): 5 056-5 059.

(上接第 47 页)