



新型荧光定量模型用于湘江水中铅离子的检测

doi:10.3969/j.issn.1674-7100.2019.02.003

刘存唐英
陈瑶 汤建新

湖南工业大学
生命科学与化学学院
湖南 株洲 412007

摘要:富G序列 AGRO100 核酸探针与荧光染料硫磺素 T (ThT) 和 N-甲基吡啶二丙酸 IX (NMM) 结合后,随着铅离子的加入 ThT 和 NMM 的荧光强度会发生相对变化,从而建立了用于铅离子定量分析的、免标记的广义比率型荧光传感方法。将该方法与新型荧光定量模型 (QFM) 相结合,分析 4 个不同地段湘江水中铅离子的浓度。研究表明:广义比率型荧光探针结合 QFM,能够准确定量分析 4 个不同地段湘江水中铅离子的浓度,该分析结果与电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 得到的结果基本一致,加标回收率均在 91%~108% 的范围内。

关键词:湘江水; 铅离子; 比率型探针; 荧光定量模型

中图分类号: O652.7

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2019)02-0014-07

引文格式: 刘存,唐英,陈瑶,等. 新型荧光定量模型用于湘江水中铅离子的检测 [J]. 包装学报, 2019, 11(2): 14-20.

1 研究背景

随着经济的不断发展,伴随而来的水质污染已成为人们不可忽视的问题。水中铅 (Pb) 含量的测定是水质检验的重要指标之一。因为铅的无机形式不能被降解,其最终积累在水和食物中,被人类摄取,这将对人类造成巨大危害^[1-3]。另外儿童铅中毒的概率要比成年人的高^[4],其原因与儿童正处在生长发育阶段,许多器官尚不成熟,解毒功能不完善,对铅较敏感,以及接触机会较多有关。一般饮用水中含铅量的安全界限是 100 $\mu\text{g/L}$ 。在我国生活饮用水铅的质量浓度不能超过 10 $\mu\text{g/L}$,后来又进一步规定自来水中可

接受的铅最大质量浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 。研究表明:如果饮用水中铅离子质量浓度接近 50 $\mu\text{g/L}$,那么人的血样中铅的质量浓度约为 30 $\mu\text{g/L}$ 。对婴幼儿,平均血铅质量浓度不宜超过 15 $\mu\text{g/L}$ 。小孩的血铅超标一般不会有明显症状,但是会影响其智力,包括说话能力、记忆力和注意力等^[5]。

因此,建立一种准确简单快速测定水中铅含量的方法是环境监测的一种必要。目前,分析研究工作者已经研究出一系列的检测铅离子的方法,主要有分光光度法^[6]、电化学分析方法^[7]、原子吸收分光光度法^[8]、电感耦合等离子体发射光谱法^[9-10]、电感耦合等离子体质谱法^[11-13]等。虽然这些方法能够

收稿日期: 2019-01-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21705044, 21804040), 湖南大学化学生物传感与计量学国家重点实验室开放基金课题资助项目 (2017021), 湖南工业大学“绿色包装与安全”专项研究基金资助项目 (2017ZBLY14)

作者简介: 刘存 (1993-), 女, 河南漯河人, 湖南工业大学硕士生, 主要研究方向为生物传感,
E-mail: cunliu@aliyun.com

通信作者: 陈瑶 (1987-), 女, 湖南湘潭人, 湖南工业大学讲师, 博士, 主要从事化学计量学和浑浊体系光谱校正分析等方面的教学与研究, E-mail: chenyaoy717@hnu.edu.cn

准确测量铅离子的含量, 但当铅离子含量非常低, 或者待测环境和生物样本的基质比较复杂时, 就需要对样本进行有效的分离和富集等较为繁杂的前处理或预处理。通常这些前处理或预处理过程都比较费时、费力、费成本, 并且还会对环境造成一定的污染。显然这不适应于日常快速原位定量分析实际样本中铅离子的含量。因此, 目前仍然迫切需要研发简单、灵敏且具有低成本效益的铅离子检测方法。

化学传感器能够较好地满足以上几个要求。近年来, 有较多设计和使用化学传感器来检测铅离子含量的报道^[14-16]。其中荧光生物传感器的检测方法具有简单且灵敏度高优点, 但目前报道的方法多是增强型或淬灭型荧光生物传感器。这类方法在复杂体系中容易受到背景干扰而使其荧光信号发生变化, 从而使定量分析结果有一定的偏差。另外, 有报道应用比率型荧光探针^[17-18]的方法, 该方法能够在一定的范围内消除背景对目标荧光信号的干扰, 从而提高定量分析结果的准确度。但现有的比率型探针较少, 需要根据目标物合成对应的比率型荧光探针, 这在很大程度上限制了它的广泛应用。

基于比率型荧光探针的优点, 本研究利用富G序列AGRO100核酸探针与荧光染料硫磺素T (thioflavine T, ThT) 和N-甲基卟啉二丙酸IX (N-methyl mesoporphyrin IX, NMM) 之间会随着铅离子的加入而使得它们的荧光信号发生相对变化。即随着铅离子的加入, ThT 荧光信号减弱而NMM的荧光信号增强, 基于两个荧光染料荧光强度的相对变化——强度比率变化, 建立了广义比率型荧光传感器, 用于湘江水中铅离子浓度的检测。由于湘江水中含有较多种类的重金属和微生物, 这些物质对荧光光谱会产生一定的干扰, 从而造成所测荧光信号与样本中目标物的浓度之间的关系不再具有简单的线性关系。因此本研究将广义比率型荧光传感器与新型荧光定量模型 (quantitative fluorescence model, QFM)^[19]相结合, 从而成功实现了湘江水中铅离子的准确定量分析。

2 实验部分

2.1 试剂和化学药品

所有溶剂和试剂均为分析纯, 不需要进一步的纯化处理。三羟甲基氨基甲烷 (tris(hydroxymethyl) methyl aminomethane, Tris, 质量分数为99.9%)、

Pb(NO₃)₂、硫磺素T, 均购于阿拉丁试剂有限公司; N-甲基卟啉二丙酸IX购于百灵威科技有限公司; 汞、钙、铜、锰、锌、镍、镉、铝、镁、铬、铁的标准溶液, 均购于国家有色金属及电子材料分析测试中心; 核酸探针AGRO100购于上海生工生物工程有限公司, 其序列为5'-GGTGGTGGTGGTTGTGGTGGTGGTGG-3'; 湘江水样品采自湖南省长沙市湘江河段; 整个实验用水均为超纯水 (18.2 MΩ·cm⁻¹), 由中国重庆艾科浦的超纯水仪提供。

2.2 样本的制备

1) 试剂的配制 探针AGRO100先以6 000 r/min的转速离心2 min, 然后加入适量的灭菌水配制成1 μmol/L的AGRO100工作液。准确称取0.003 2 g ThT, 加入适量的超纯水溶解并稀释到100 μmol/L。准确称取0.005 8 g NMM, 加入适量的超纯水溶解并稀释到10 μmol/L。准确称取0.605 5 g Tris, 加入适量的超纯水溶解, 再用乙酸调节其pH至7.0, 最后用超纯水定容到50 mL容量瓶中, 得到100 mmol/L pH为7.0的Tris-Ac缓冲溶液。

2) 铅离子标准样本的配制 准确称取0.003 3 g Pb(NO₃)₂, 加入适量的超纯水配制成207.2 μg/L Pb²⁺储备液; 然后用超纯水稀释, 配制成质量浓度分别为4.14, 10.36, 51.80, 103.60, 155.40, 310.80, 414.40, 518.00, 621.60 μg/L的9个Pb²⁺标准溶液。取40 μL 1 μmol/L AGRO100和10 μL 100 μmol/L ThT混合, 反应5 min后, 加入20 μL 10 μmol/L NMM、20 μL不同质量浓度的Pb²⁺标准溶液和20 μL Tris-Ac缓冲溶液, 最后加入超纯水, 使其总体积为200 μL, 得到9个Pb²⁺标准样本。混合均匀后, 继续反应30 min, 然后进行荧光检测。9个Pb²⁺标准样本中, 校正样的质量浓度分别为0.41, 1.04, 5.18, 31.08, 44.14, 62.16 μg/L, 验证样的质量浓度分别为10.36, 15.54, 51.80 μg/L。

3) 湘江水实际样本的配制 取40 μL 1 μmol/L AGRO100和10 μL 100 μmol/L ThT混合, 反应5 min后, 加入20 μL 10 μmol/L NMM、20 μL不同地段的湘江水、20 μL不同质量浓度的Pb²⁺标准溶液和20 μL Tris-Ac缓冲溶液, 最后加入超纯水, 使其总体积为200 μL, 制备成湘江水实际样本^[20]。混合均匀后, 继续反应30 min, 进行荧光检测。湘江水实际样本中, 加入的Pb²⁺标准溶液质量浓度分别为0, 5.18, 15.54, 31.08 μg/L。

2.3 仪器参数设置

FS5 稳态荧光光谱仪产于英国爱丁堡仪器公司, 激发波长为 400 nm, 发射光谱的扫描范围为 450~650 nm, 间隔为 1 nm, 激发和发射狭缝宽度分别为 5 nm 和 3 nm。每个样本重复扫描 3 次。

2.4 数据分析

在 9 个不同质量浓度的 Pb^{2+} 标准样本中, 选取 6 个样本作为校正集, 其余 3 个样本作为验证集, 用校正集和验证集建立荧光定量模型 (QFM); 然后将 4 个地段的湘江水样本及其加标样本共 16 个样本作为预测集; 最后应用 QFM 定量分析预测集中 Pb^{2+} 的质量浓度。采用预测均方根误差 ($\sqrt{\sum_{i=1}^N (c_i - \hat{c}_i)^2 / N}$, 其中 c_i 和 \hat{c}_i 分别表示第 i 个预测样本中, Pb^{2+} 的真实含量和预测结果) 和平均相对预测误差 ($\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |(c_i - \hat{c}_i) / c_i| \times 100\%$) 评估 QFM 的定量分析性能。

2.5 实验原理

本研究设计了一种广义比率型免标记的荧光探针用于 Pb^{2+} 的检测, 其原理图如图 1 所示。

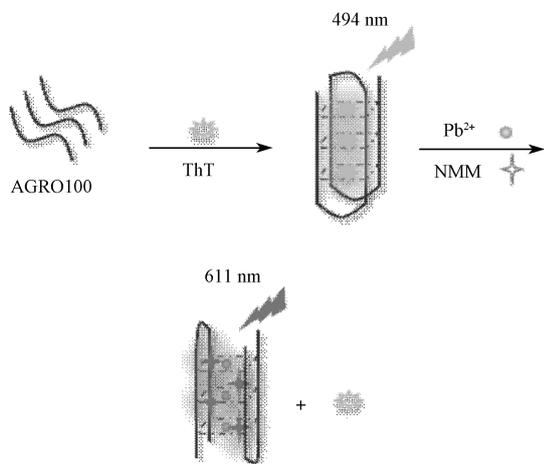


图 1 广义比率型探针检测 Pb^{2+} 的示意图

Fig. 1 Schematic representation for the detection of Pb^{2+} based on generalized ratiometric fluorescent probe

荧光染料硫磺素 T (ThT) 自身的荧光信号很弱, 但与功能核酸 AGRO100 相互作用后, 可以形成 G-四链体结构, 使得 ThT 在 494 nm 处的荧光信号急剧增强; 而荧光染料 N-甲基吡啶二丙酸 IX (NMM) 自身的荧光信号也较弱, 并且它不能与 AGRO100 结合, 但 NMM 与 G-四链体能发生强烈的相互作用。在 AGRO100 和 ThT 的体系中加入 NMM, 会使得 ThT 荧光信号稍有减弱, 而 NMM 的荧光信号会增

强; 但是当加入一定量 Pb^{2+} 后, AGRO100 可以与 Pb^{2+} 形成更稳定的 G-四链体结构, 可以把 ThT 染料从 AGRO100 上挤出去, 使得体系中 NMM 能与更稳定的 G-四链体结构发生更好的作用, 其在 611 nm 处的荧光信号大幅度增强, 而 ThT 在 494 nm 处的荧光信号显著下降, 如图 2 所示。因此, 可以用此强度比率变化的方法实现对 Pb^{2+} 的检测。

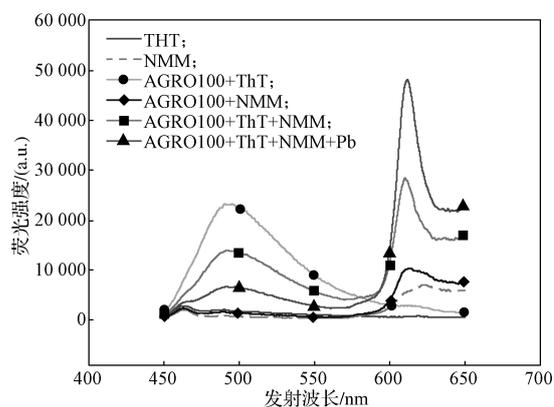


图 2 ThT、NMM 及其混合物的荧光光谱图

Fig. 2 The fluorescence emission spectra of ThT, NMM and mixtures with other substances

3 结果与讨论

3.1 荧光染料浓度的优化

荧光体系的荧光强度与实验条件有直接关系, 包括 AGRO100、ThT 和 NMM 的浓度。为了实现对 Pb^{2+} 高灵敏度的检测, 首先选定 AGRO100 与 ThT 的浓度。因为 AGRO100 和 ThT 浓度过高, 会影响 Pb^{2+} 与 AGRO100 的相互作用; 它们的浓度过低又会减弱对 Pb^{2+} 的响应。综合考虑选定 AGRO100 的浓度为 200 nmol/L, ThT 的浓度为 5 μ mol/L。然后在 200 nmol/L AGRO100 和 5 μ mol/L ThT 的体系中, 考察 NMM 浓度。因为 NMM 会与 G-四链体发生强烈的相互作用, 在无 Pb^{2+} 时, 它也会影响 ThT 的荧光信号, 所以要确定 NMM 的浓度, 就需要考察在不同 NMM 浓度时, 体系在 494 nm 和 611 nm 处荧光强度比值的变化, 变化幅度最大的说明对 Pb^{2+} 感应最好, 灵敏度高。图 3 给出了不同 NMM 浓度下, 不加 Pb^{2+} 与加 207.2 μ g/L Pb^{2+} 时, 体系在 494 nm 和 611 nm 处荧光强度的比值。从图 3 可以看出, 在 494 nm 和 611 nm 处荧光强度的比值随着 Pb^{2+} 的加入变化较大的是 NMM 浓度为 1 μ mol/L 的体系, 其变化比值约为 2.8 倍。因此选择 1 μ mol/L 的 NMM 为最佳浓度。

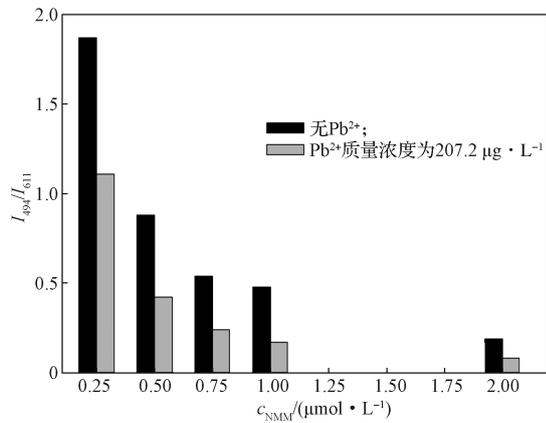


图3 不同浓度的NMM和 Pb^{2+} 对体系荧光强度比值(I_{494}/I_{611})的影响

Fig. 3 Intensity ratio I_{494}/I_{611} versus the concentration of NMM with and without Pb^{2+}

3.2 广义比率型探针选择性的考察

为验证广义比率型荧光探针对 Pb^{2+} 的选择性,在AGRO100、ThT和NMM体系中加入了一些常见的金属离子,如 Hg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Al^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} ,它们的质量浓度均为 $50.00 \mu g/L$,考察它们对 Pb^{2+} 广义比率型荧光探针的响应情况。在实验过程中,各种其它金属离子的测定条件都和 Pb^{2+} 的检测条件一致,其结果如图4所示。

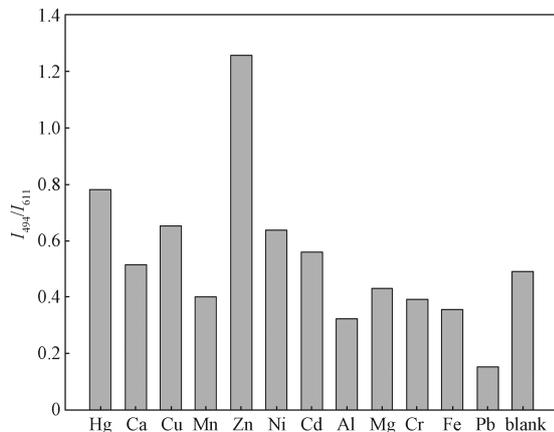


图4 广义比率型探针检测 Pb^{2+} 选择性图

Fig. 4 The selectivity of the proposed method for Pb^{2+} detection

从图4可看出,探针对质量浓度为 $33.15 \mu g/L$ Pb^{2+} 在494 nm和611 nm处荧光强度的比值是最小的,探针对其它金属离子荧光强度的比值远高于 Pb^{2+} 的,且它们的荧光强度比值基本和背景信号差不多,这说明该探针对 Pb^{2+} 有较高的选择性。从图4还可

看出, Al^{3+} 和 Fe^{3+} 对 Pb^{2+} 的检测稍有干扰,可能是因为 Al^{3+} 和 Fe^{3+} 的质量浓度较大对染料的荧光有一定的淬灭作用。这也说明复杂体系存在背景对体系待测物质的荧光信号有干扰,但这种干扰可以用荧光定量模型(QFM)予以消除,因此,后续实际样品中 Pb^{2+} 的检测需要将探针与QFM结合,以实现湘江水中铅离子浓度的准确预测。

3.3 湘江水中铅离子的定量分析

在494 nm和611 nm处,样本荧光强度的比值与 Pb^{2+} 质量浓度的关系如图5所示,其中内嵌图为 Pb^{2+} 质量浓度在 $0\sim 3.30 \mu g/L$ 范围内的局部放大图。

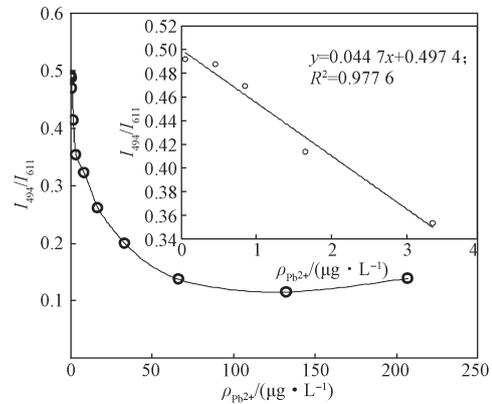


图5 样本荧光强度比值(I_{494}/I_{611})与 Pb^{2+} 质量浓度的关系曲线

Fig. 5 Intensity ratio I_{494}/I_{611} versus the concentration of Pb^{2+}

由图5可知,在494 nm和611 nm处,随着 Pb^{2+} 质量浓度的增加,样本荧光强度的比值先逐渐减小,当 Pb^{2+} 质量浓度较大时,其比值发生转变,有增大的趋势,说明反应体系中ThT的荧光信号逐渐减弱,NMM的荧光信号逐渐增强。当 Pb^{2+} 质量浓度超过 $100 \mu g/L$ 时,在494 nm和611 nm处荧光强度的比值随着 Pb^{2+} 质量浓度的增加变化比较平缓,说明该反应体系对 Pb^{2+} 的响应已经达到了饱和状态。另外 Pb^{2+} 质量浓度在 $0\sim 66.30 \mu g/L$ 范围内,在494 nm和611 nm处荧光强度的比值与 Pb^{2+} 的浓度并没有良好的线性关系。只有在小范围,即 Pb^{2+} 质量浓度为 $0\sim 3.30 \mu g/L$ 的范围内,荧光强度比值与 Pb^{2+} 质量浓度具有较好的线性关系,其线性相关系数为0.9776。

荧光定量模型(QFM)能够处理非线性的数据。图6为QFM对铅离子标准样本中校正集和验证集的 Pb^{2+} 质量浓度($0.41\sim 62.16 \mu g/L$)的预测结果。QFM能够同时准确预测校正集和验证集中 Pb^{2+} 质量浓度,

并且3个相同Pb²⁺质量浓度的样本预测值波动较小。QFM对验证样本的预测均方根误差和平均相对误差分别为0.98 μg/L和2.8%。此外,应用QFM预测三次背景的背景浓度值,然后求得三次浓度值的标准偏差,最后将其标准偏差分别乘以3.3和10,即得到该方法的检测限和定量限分别为0.04 μg/L和0.11 μg/L。上述实验结果表明,广义比率型荧光探针结合QFM能够准确定量分析超纯水样本中Pb²⁺的含量。

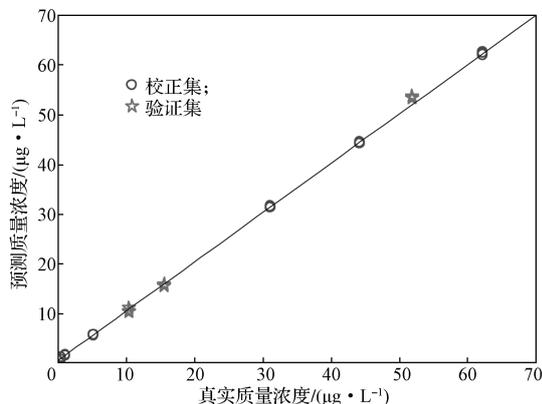


图6 QFM对铅离子标准样本中校正集和验证集Pb²⁺质量浓度的预测结果

Fig. 6 Mass concentrations of Pb²⁺ in both the calibration and validation samples predicted of the QFM

因此,可以利用广义比率型荧光探针与QFM模型相结合对真实环境水样中Pb²⁺含量进行定量检测,即利用超纯水配制的Pb²⁺标准溶液作为校正集和验证集,并利用它们的荧光光谱建立QFM模型,再利用该模型来预测4个不同地段的湘江水中Pb²⁺含量。表1列出了QFM模型对4个不同地段(A、B、C、D)湘江水中Pb²⁺质量浓度的定量分析结果。所获得的结果令人满意,其加标回收率均在91%~108%之间。

另外,为验证QFM模型对4个不同地段湘江水样本中Pb²⁺含量分析结果的准确性,同时应用安捷伦7700X系列电感耦合等离子体质谱仪(inductively coupled plasma massspectrometry, ICP-MS)对这4个不同地段(A、B、C、D)湘江水中Pb²⁺质量浓度进行了分析,检测出Pb²⁺质量浓度分别为0.50, 3.47, 0.68, 0.21 μg/L,这与QFM模型得到的结果(Pb²⁺质量浓度分别为0.49, 3.41, 0.71, 0.20 μg/L)基本一致,说明QFM模型得到结果的准确度可媲美于ICP-MS。综合以上实验结果,表明广义比率型荧光探针结合QFM模型能够快速准确地定量分析湘

江水中Pb²⁺的含量。

表1 QFM模型对4个不同地段湘江水中Pb²⁺质量浓度的预测结果

Table 1 The mass concentrations of Pb²⁺ in four different sections of Xiang River determined by fluorescence spectroscopy in combination with QFM

水样	加入Pb ²⁺ 的质量浓度/(μg·L ⁻¹)	预测Pb ²⁺ 的质量浓度/(μg·L ⁻¹)	加标回收率/%
A	0	0.49	
	5.18	5.22	91.4
	15.54	15.95	99.5
	31.08	32.73	103.7
B	0	3.41	
	5.18	8.70	102.1
	15.54	20.10	107.4
	31.08	34.52	100.1
C	0	0.71	
	5.18	5.82	98.7
	15.54	15.94	98.0
	31.08	31.89	100.3
D	0	0.20	
	5.18	5.33	99.0
	15.54	15.96	101.4
	31.08	31.37	100.3

4 结论

在富G序列AGRO100核酸探针与荧光染料硫磺素T(ThT)和N-甲基吡啶二丙酸IX(NMM)的体系中,随着铅离子的加入,ThT荧光信号逐渐减弱,而NMM的荧光信号相应增强,基于ThT和NMM两个荧光染料荧光强度的比率变化,建立了一种广义比率型荧光传感器,用于铅离子含量的检测。然后将广义比率型荧光探针结合新型荧光定量模型(QFM)定量分析湘江水中铅离子的含量。该方法具有简单、灵敏度高且检测成本低等优点。实验结果表明:建立在超纯水配制的Pb²⁺标准溶液作为校正集和验证集的荧光光谱数据上的QFM模型,能够准确预测4个不同地段的湘江水中铅离子含量。该方法测得4个不同地段的湘江水中铅离子质量浓度分别为0.49, 3.41, 0.71, 0.20 μg/L,其加标回收率均在91%~108%之间,与ICP-MS检测得到的结果基本一致。另外,该方法对铅离子的检测限和定量限分别为0.04 μg/L和0.11 μg/L。因此,广义比率型荧光探针与QFM模型相结合,能快速、低成本、高灵敏度和高选择性地定量检测湘江水中的铅离子含量。

参考文献:

- [1] CHEN H Y, TENG Y G, LU S J, et al. Contamination Features and Health Risk of Soil Heavy Metals in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 512/513: 143-153.
- [2] 肖承坤. 我国铅污染现状分析[J]. *环境与可持续发展*, 2017(5): 91-92.
XIAO Chengkun. Analysis of Present Situation About Lead Pollution in China[J]. *Environment and Sustainable Development*, 2017(5): 91-92.
- [3] 马聪兴, 张金艳, 张桂斌, 等. 2013年北京市某企业周边环境铅污染现状调查与评价[J]. *职业与健康*, 2015, 31(8): 1071-1073.
MA Congxing, ZHANG Jinyan, ZHANG Guibin, et al. Investigation and Evaluation on Level of Lead Pollution Around a Factory in Beijing in 2013[J]. *Occup and Health*, 2015, 31(8): 1071-1073.
- [4] MONASTERO R, VACCHI-SUZZI C, MARSIT C, et al. Expression of Genes Involved in Stress, Toxicity, Inflammation, and Autoimmunity in Relation to Cadmium, Mercury, and Lead in Human Blood: A Pilot Study[J]. *Toxics*, 2018, 6(3): 35-43.
- [5] SANKHLA M S, KUMARI M, NANDAN M, et al. Heavy Metals Contamination in Water and Their Hazardous Effect on Human Health-A Review[J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2016, 5(10): 759-766.
- [6] 何春晓. 分光光度法测定水中铅的含量[J]. *山东化工*, 2018, 47(18): 62-63, 67.
HE Chunxiao. Determination of Lead in Water by Spectrophotometry[J]. *Shandong Chemical Industry*, 2018, 47(18): 62-63, 67.
- [7] 慕鹏涛, 沈庆峰, 俞小花, 等. 阳极溶出伏安法测定氯化锌-氯化铵电解制锌体系中铅和镉[J]. *冶金分析*, 2016, 36(4): 17-22.
MU Pengtao, SHEN Qingfeng, YU Xiaohua, et al. Determination of Lead and Cadmium in Zinc Chloride-Ammonium Chloride Electrolyte System by Anodic Stripping Voltammetry[J]. *Metallurgical Analysis*, 2016, 36(4): 17-22.
- [8] 何义, 杜海英, 李成, 等. 分散液-液微萃取: 石墨炉原子吸收光谱法测定茶叶中的痕量铅[J]. *河北农业大学学报*, 2015, 38(4): 125-129.
HE Yi, DU Haiying, LI Cheng, et al. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for Separation/Preconcentration and Determination of Lead by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry in Tea Samples[J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2015, 38(4): 125-129.
- [9] 白桥, 任小菊. ICP-AES技术及其应用研究[J]. *广东化工*, 2017, 44(17): 97-98, 83.
BAI Qiao, REN Xiaoju. Research on ICP-AES Technology and Its Application[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2017, 44(17): 97-98, 83.
- [10] 魏雅娟, 吴雪英, 江荆, 等. 微波消解-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定银精矿中铅锌铜砷铋镉[J]. *冶金分析*, 2018, 38(5): 47-53.
WEI Yajuan, WU Xueying, JIANG Jing, et al. Determination of Lead Zinc, Copper, Arsenic, Antimony, Bismuth and Cadmium in Silver Concentrate by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry After Microwave Digestion[J]. *Metallurgical Analysis*, 2018, 38(5): 47-53.
- [11] 王慧, 毛翠. ICP-MS在检测水中重金属元素的应用研究[J]. *现代盐化工*, 2016, 43(2): 28-29.
WANG Hui, MAO Cui. The Plication of ICP-MS in Detecting Heavy Metals in Water Research[J]. *Modern Salt and Chemical Industry*, 2016, 43(2): 28-29.
- [12] 金志明, 于贵森. ICP-MS法测定地下水及地表水中的11种金属元素[J]. *中国环境管理干部学院学报*, 2017, 27(6): 87-90.
JIN Zhiming, YU Guisen. Determination of 11 Metallic Elements in Groundwater and Surface Water by ICP-MS[J]. *Journal of Environmental Management College of China*, 2017, 27(6): 87-90.
- [13] 梁秋仪, 陈鉴祥, 梁永祥, 等. 佛山市南海城区环境空气中铅污染现状分析研究[J]. *环境科学与管理*, 2016, 41(4): 141-143.
LIANG Qiuyi, CHEN Jianxiang, LIANG Yongxiang, et al. Analysis of Lead Air Contamination in Urban Area of Nanhai District of Foshan City[J]. *Environmental Science and Management*, 2016, 41(4): 141-143.
- [14] ZHU Q, LIU L, XING Y, et al. Duplex Functional G-Quadruplex/NMM Fluorescent Probe for Label-Free Detection of Lead (II) and Mercury(II) Ions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 355(15): 50-55.
- [15] NIU X F, ZHONG Y B, CHEN R, et al. A "Turn-on" Fluorescence Sensor for Pb²⁺ Detection Based on Graphene Quantum Dots and Gold Nanoparticles[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 255(2): 1577-1581.
- [16] CHEN Y, LI H H, GAO T, et al. Selection of DNA Aptamers for the Development of Light-up Biosensor to Detect Pb(II)[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*,

- 2018, 254(1): 214–221.
- [17] LOAS A, LIPPARD S J. Direct Ratiometric Detection of Nitric Oxide with Cu(II)-Based Fluorescent Probes[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2017, 5: 8929–8933.
- [18] CHEN Y C, ZHU C C, CEN J J, et al. Ratiometric Detection of pH Fluctuation in Mitochondria with a New Fluorescein/Cyanine Hybrid Sensor[J]. *Chemical Science*, 2015, 6(5): 3187–3194.
- [19] CHEN Z P, XIONG S, ZUO Q, et al. Quantitative Analysis Based on Spectral Shape Deformation A Review of the Theory and Its Applications[J]. *Journal of Chemometrics*, 2018, 32(11): e2913.
- [20] 陈建, 周俊驰, 胡旷成, 等. 湘江长沙段重金属分布特征及污染评价 [J]. *湖南农业科学*, 2018(3): 63–66.
- CHEN Jian, ZHOU Junchi, HU Kuangcheng, et al. Distribution Characteristics and Pollution Evaluation of Heavy Metals in Changsha Section of Xiangjiang River[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2018(3): 63–66.

(责任编辑: 邓光辉)

Detection of Pb^{2+} in Xiang River Using New Quantitative Fluorescence Model

LIU Cun, TANG Ying, CHEN Yao, TANG Jianxin

(College of Life Sciences and Chemistry, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: A label-free generalized ratiometric fluorescence sensing method for quantitative analysis of Pb^{2+} was designed based on the interaction between the G-rich sequence AGRO100 nucleic acid probe, the fluorescence dyes thioflavin T (ThT) and N-methylporphyrin dipropionic acid IX (NMM) with the addition of Pb^{2+} . Simultaneously, this method combined with quantitative fluorescence model (QFM) was used to analyze the concentration of Pb^{2+} in four different sections of Xiang River. The results showed that the generalized ratiometric fluorescent probe combined with QFM was accurate in quantitative analysis of Pb^{2+} in four different sections of Xiang River. The quantitative analysis results obtained by the proposed method were basically consistent with those obtained by ICP-MS analysis. The recoveries of standard addition were all in the range of 91%~108% for the concentrations of Pb^{2+} in different water samples.

Keywords: Xiang River; Pb(II) ion; ratio probe; quantitative fluorescence model