

## 基于荧光猝灭原理的光纤化学传感器定量分析模型的建立与应用

李伟<sup>a,b,c\*</sup> 陈坚<sup>c</sup> 相秉仁<sup>b</sup> 安登魁<sup>b</sup>

(<sup>a</sup> 厦门大学化学化工学院 现代分析科学教育部重点实验室 厦门 361005)

(<sup>b</sup> 中国药科大学分析计算中心 南京 210009)

(<sup>c</sup> 新疆医科大学药学院 乌鲁木齐 830054)

**摘要** 根据光纤化学传感器的结构与信号传输特征,推导并建立了适合于定量描述基于荧光猝灭原理的光纤化学传感器对待测物响应的非线性数学模型.以此为基础,为更加简捷、直观地反映响应信号与待测物浓度的函数关系,建立可线性化的回归方程,准确预报待测物的浓度,提出了多模型回归技术建立此类光纤化学传感器定量分析模型的方法.为验证定量分析模型的适用性,将该法应用于茈丁酸光纤化学传感器对甲硝唑、呋喃妥因和氧氟沙星等对待测物响应的最佳数学模型的选择之中.结果表明,所选的数学模型对各待测物在一定范围内的浓度都能进行准确的预报.

**关键词** 光导纤维,化学传感器,荧光猝灭,数学模型

## Quantitative Analysis Model for Fiber - Optic Chemical Sensors Based on Fluorescence Quenching for Analytes and Its Application

LI Wei<sup>a,b,c\*</sup> CHEN Jian<sup>c</sup> XIANG Bing - Ren<sup>b</sup> AN Deng - Kui<sup>b</sup>

(<sup>a</sup> *The Key Laboratory of Analytical Sciences of MOE and Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen, 361005*)

(<sup>b</sup> *Research Center for Computer Science and Analytical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing, 210009*)

(<sup>c</sup> *School of Pharmaceutical Science, Xinjiang Medical University, Wulumuqi, 830054*)

**Abstract** Because the fiber - optic chemical sensors based on the fluorescence quenching has an adjustable short distance from the membrane to the end of fiber optics, forming a space of microcell, a diminution of fluorescence is induced by inner filter effects, involving absorption of both excited light from the light source and emitted light from the membrane. If the absorption spectra of analytes overlap the fluorescence excitation and/or emission spectra of the fluoroprobe in the membrane, the quenching signal of the fiber - optic chemical sensors would be produced by the resonance energy transfer. In addition, dynamic quenching happens to some haloid, heavy metal compounds and aromatic nitro organic compounds. According to the structural characterization of the fiber - optic chemical sensors based on fluorescence quenching and the mechanism of fluorescence multiple quenching, a non - linear mathematical model was deduced and described for the quantitative analysis model for the fiber - optic chemical sensors. A multiple model regression technique for the quantitative analysis model was reported to provide rapidly and directly the relations between the response signal and the concentration of analytes and establish linear regression equation for predicting the concentration of analytes. The technique was applied to fit best mathematical model from the control samples of the therapeutic

\* E - mail : weili @xmu.edu.cn

收稿日期:2000 - 04 - 30,修回日期:2000 - 07 - 10,定稿日期:2000 - 09 - 10,国家自然科学基金(29775022)资助项目

(Received April 30,2000. Revised July 10,2000. Accepted September 10,2000)

drugs based on the response of fiber - optic chemical sensors , such as metronidazole , nitrofurantoin and ofloxacin. The pyrenebutyric acid was chosen as a fluorophore for constructing the fiber - optic chemical sensor to response the samples. The experimental results showed that these models had some good characteristics and gave an alternative method for establishing quantitative analysis models for the fiber - optic chemical sensors.

**Key words** fiber - optic , chemical sensors , fluorescence quenching , mathematics model

在光纤接触样品的一端装上膜传感器,以此作为传感层,当试样中的待测物质同固定化试剂相作用时,会引起传感层吸光度或荧光强度的变化,这种同待测物浓度有关的光信号变化再通过光纤传输到检测系统进行测量.人们将基于光谱辨识的待测物识别器引入光纤传感器的传感层中,借助其固有的响应专属性来提高传感器对待测物与干扰物的识别能力,这就导致了光纤化学传感器(fiber - optic chemical sensors, FOCS)的出现.基于荧光猝灭原理的 FOCS 对待测物具有较高的选择性、灵敏性、稳定性以及可逆性识别,因而倍受人们的青睐.

建立基于荧光猝灭原理的 FOCS 对待测物响应的定量分析模型,人们已做了多方面的探索. Yuan 等<sup>[1]</sup>在前人工作的基础上,总结了荧光分子的荧光强度与多种荧光猝灭因素间的关系,提出了基于荧光猝灭原理的 FOCS 对待测物响应的数学模型.但作者在探讨内过滤因素时,考虑了与纤芯半径、光纤半孔径角、光纤数值孔径相关的有效光径长度对猝灭响应的影响,而没有考虑在 FOCS 的实际应用中,传感膜与光纤端部间的距离在内过滤中所起的作用,限制了所建数学模型的适用范围.

在已有研究工作<sup>[2]</sup>的基础上,本文提出适合于定量描述基于荧光猝灭原理的 FOCS 对待测物响应的非线性数学模型和用多模型回归技术建立此类 FOCS 定量分析模型的方法.将此方法应用于多环芳烃化合物芘丁酸(pyrenebutyric acid, PBA) FOCS 对甲硝唑、呋喃妥因和氧氟沙星等待测物响应的最佳数学模型的建立之中,考察了模型的适用性.

## 1 理论部分

如果猝灭剂在分析波长范围内不产生荧光,则基于荧光猝灭原理的 FOCS 的响应信号与猝灭剂浓度之间的关系,可推导如下:

假设各种猝灭因素是相互独立,且体系中不包含静态猝灭因素.如图1所示,设以光强度为  $I_0$  的

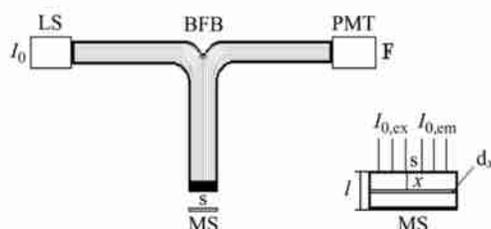


图1 基于荧光猝灭原理的 FOCS 结构示意图

LS—光源;BFB—分支光纤束;S—样品;  
MS—膜传感器;PMT—光电倍增管

Fig. 1 Schematic diagram of based on the fluorescence quenching fiber - optic chemical sensors manifold

LS—light source; BFB—fifurcated fiber bundle;  
S—sample; MS—membrane sensor; PMT—photomultiplier tube

激发光进入分支光纤入射端,通过猝灭剂浓度为  $[Q]$ ,光程长度为  $b$  的溶液,到达膜厚度  $l$ ,荧光物质浓度为  $C_0$  的传感膜,发出的荧光经过猝灭剂溶液,由检测系统测得的荧光强度为  $F$ .

根据 Beer - Lambert 定律、Stern - Volmer 方程和共振能量转移原理所表达的荧光猝灭信号与猝灭剂浓度之间的关系,采用与前文<sup>[2]</sup>相似的推导过程,得到

$$F_0/F = (1 + K_{sv}[Q]) (1 + K_f[Q]^2) \cdot e^{e_x b[Q]} e^{e_m b[Q]} \quad (1)$$

式中  $F_0$  与  $F$  分别为猝灭剂加入前、后所测得的荧光强度,  $K_{sv}$  称为 Stern - Volmer 猝灭常数,  $K_f$  是共振能量转移常数,  $e_x$  为猝灭剂对激发光的摩尔吸收系数,  $e_m$  为猝灭剂对发射光的摩尔吸收系数.

式(1)是基于荧光猝灭原理的 FOCS 对待测物响应的非线性数学模型,式中各项代表着不同的响应机理对荧光猝灭的贡献.若体系只受第一内过滤、第二内过滤、动态猝灭和共振能量转移中 1 种猝灭因素影响,则式(1)可分别表示为

$$F_0/F = e^{e_x b[Q]} \quad (2)$$

$$F_0/F = e^{e_m b[Q]} \quad (3)$$

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q] \quad (4)$$

$$F_0/F = 1 + K_f[Q]^2 \quad (5)$$

若体系受第一和第二内过滤 2 种猝灭因素影响,则  $K_{sv} = 0, K_f = 0$ ,代入式(1)得

$$F_0/F = e^{-e_{ex}b[Q] - e_{em}b[Q]} \quad (6)$$

体系一经确定,  $b$  就是常数,令,  $K_{if} = (e_{ex} + e_{em})b$  则

$$F_0/F = e^{-K_{if}[Q]} \quad (7)$$

若体系受动态猝灭和共振能量转移 2 种猝灭因素的影响,则  $e_{ex} = 0, e_{em} = 0$ ,代入式(1),令

$$X_1 = [Q], X_2 = [Q]^2, X_3 = [Q]^3,$$

整理后,得

$$F_0/F = 1 + K_{sv}X_1 + K_fX_2 + K_{sv}K_fX_3 \quad (8)$$

式(1)~式(8)表明,基于上述 1 种猝灭因素的 FOCS 定量分析模型都是可线性化的;某些猝灭因素的组合,如动态猝灭与共振能量转移,第一内过滤与第二内过滤所对应的数学模型也是可线性化的;在其它组合中其猝灭响应所对应的数学模型则是非线性的.这种非线性的函数关系将使定量分析模型的建立与分析结果的预报变得复杂化.

事实上,式(1)在稀溶液条件下通过对内过滤项  $e^{-e_{ex}b[Q]}e^{-e_{em}b[Q]}$  的近似处理可以转化为线性模型.令  $R = e^{-e_{ex}b[Q]}e^{-e_{em}b[Q]}$ ,则

$$R = e^{-K_{if}[Q]} \quad (9)$$

根据 Taylor 中值定理,得 Maclaurin 展开式

$$R = 1 + K_{if}[Q] + (K_{if}[Q])^2/2! + \dots + (K_{if}[Q])^n/n! + e^{-K_{if}[Q]}/(n+1)(K_{if}[Q])^{n+1} \quad (10)$$

于是得近似公式

$$R = 1 + K_{if}[Q] + (K_{if}[Q])^2/2! + \dots + (K_{if}[Q])^n/n! \quad (11)$$

如果  $K_{if}[Q] < 0.05$ ,则式(11)中除常数项以外的第二项及以后的各项可忽略不计,即

$$R = 1 + K_{if}[Q] \quad (12)$$

与式(9)相比,式(12)所得的相对误差

$$dR/R = 100(e^{-K_{if}[Q]} - 1 - K_{if}[Q])/e^{-K_{if}[Q]} = 0.12(\%)$$

因此对于稀溶液,式(1)可近似为

$$F_0/F = (1 + K_{sv}[Q])(1 + K_f[Q]^2)(1 + K_{if}[Q]) \quad (13)$$

在光谱分析中,对待测物测量误差的要求可适当放宽,如  $dR/R = 1\%$ ,则只要  $K_{if}[Q] < 0.15$ ,式(13)就可满足上述要求.展开式(13),整理后,得

$$F_0/F = 1 + (K_{if} + K_{sv})[Q] + (K_{if}K_{sv} + K_f)[Q]^2 + K_f(K_{if} + K_{sv})[Q]^3 + K_{sv}K_fK_{if}[Q]^4 \quad (14)$$

令  $b_0 = 1, b_1 = K_{if} + K_{sv}, b_2 = K_{if}K_{sv} + K_f,$

$$b_3 = K_f(K_{if} + K_{sv}), b_4 = K_fK_{sv}K_{if},$$

$$X_1 = [Q], X_2 = [Q]^2, X_3 = [Q]^3, X_4 = [Q]^4,$$

则

$$F_0/F = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 \quad (15)$$

式(15)虽然涵盖了主要的荧光猝灭因素,因其线性范围受猝灭剂浓度的限制,从模型优化的角度考虑,它适用于多种猝灭因素共存的稀溶液体系.

为获得适应性更加广泛的数学模型,本文采用多模型回归方法,根据猝灭因素可能出现的组合,将上述适用于具体情况的每一个最优回归方程,并作为总回归方程的一个供选模型,把实验数据代入总回归方程中,对每一个供选模型进行拟合,从中优选最佳数学模型作为该体系的定量分析模型.优选数学模型的基本原则是:一方面使实验数据尽可能多地位于所选择的函数曲线上,因此,若一函数能通过实验数据点数越多,该组响应数据按此函数拟合后,其复相关系数也就越近于 1;另一方面,数学模型要尽量简单化,在拟合优度允许的范围内,选择所含参数最少的回归方程.本文设计的程序是将式(7)作为一个模型,式(4),(5),(8),(15)合并为一个多元线性回归模型.前者采用加权线性回归方法,后者采用加权逐步回归方法,优选出最佳的回归方程.这样就完成了优选最佳数学模型用于 FOCS 对待测物响应的标准曲线回归方程的计算.

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

石英分支光纤(北京玻璃研究所);RF-540 型荧光分光光度计(日本 Shimadzu);DR-3 数据处理器(日本 Shimadzu);RDB-1B 型蠕动泵(江苏省仪表仪器总厂);TB-85 型恒温池(日本 Shimadzu).

茈丁酸(美国 Molecular Probes Inc.),醋酸纤维素(美国,Scientific Polymer Products Inc.),甲硝唑(天津河北制药厂,94545);吠喃妥因(新疆制药厂,920706);氧氟沙星(上海三维制药厂,9505004).

其它试剂均为分析纯,水为二次去离子水.

### 2.2 系统组成与响应原理

石英分支光纤的两个支端( $D = 2.5 \text{ mm}$ )分别耦合在荧光分光光度计的光源和检测器的光通道上;总端( $D = 4.5 \text{ mm}$ )与自制聚乙烯流通池( $10 \text{ mm} \times 4 \text{ mm i. d.}$ )连接;PBA 传感膜( $4 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ )被固定在与光纤端部相对应的位置;用聚四氟乙烯管( $D =$

1.0 mm)将流通池和蠕动泵相连(图2).循环系统的体积为0.80 mL.待测物随载液流经光纤探头时,引起PBA传感膜荧光强度的减弱,这一现象可由本文所建立的基于荧光猝灭原理的FOCS数学模型定量表达.

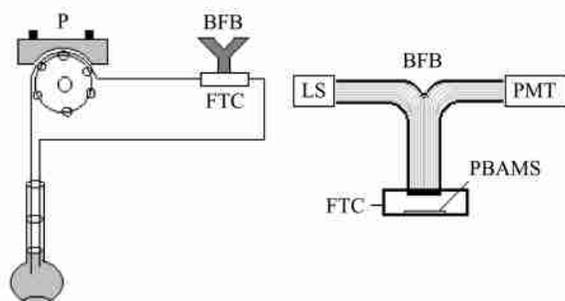


图2 耦合于流通池系统中的FOCS

P—蠕动泵;FTC—流通池;

PBAMS—芘丁酸膜传感器;(其他同图1)

Fig. 2 Schematic diagram of the flow-cell fiber-optic chemical sensors system

P—peristaltic pump; FTC—flow-through cell;

PBAMS—pyrenebutyric acid membrane sensor;

LS—light source; BFB—Bifurcated fiber bundle;

PMT—photomultiplier tube

将传感器耦合于流通池系统中,其作用有(1)避免溶液在传感膜与光纤探头夹层间的滞留,加速传质过程;(2)防止样品切换过程中带来的气泡影响;(3)防止因光纤的移动而造成的信号变异;(4)可实现自动化在线操作;(5)只需在流通池周围营造FOCS的避光环境,而不必对整个测定环境采取避光措施;(6)便于清洗与溶液间的切换.

### 2.3 PBA传感膜的制备、安装及其使用寿命

采用溶剂挥发铸膜法制备传感膜.将适量的固相支持剂三醋酸纤维素,增塑稳定剂磷酸三丁酯和分子探针PBA溶于二氧六环或四氢呋喃中,用旋涡混旋仪制成均匀溶液,将其倾倒在表面平滑的玻璃槽中,在良好的通风条件下,室温下放置48 h以上,待溶剂挥干后,即得厚度为0.01 mm的透明传感膜<sup>[3]</sup>.将制得的传感膜分割成小片,取其中一片固定在流通池与光纤探头相对应的位置.由于PBA与成膜材料三醋酸纤维素的疏水性,PBA是以分子的游离态形式存在于传感膜中<sup>[4]</sup>.

相关研究工作<sup>[5,6]</sup>表明,在流动状态下,连续观察PBA传感膜对空白水溶液的反应信号,记录10 h内的荧光强度,荧光强度除有轻微波动外(RSD =

2.1%,  $n = 20$ ),未出现明显的衰减;累计使用100 h后,PBA传感膜对空白水溶液和样品溶液的荧光强度同使用初期相比均下降了10%,但定量信息 $F_0/F$ 未发生明显变化.表明PBA传感膜对待测物的响应具有良好的稳定性和较长的使用寿命.

### 2.4 测定方法

按照药典<sup>[7]</sup>或文献报道的方法配制待测物系列溶液.将采样导管插入样品液,启动蠕动泵,在一定转速下传输溶液.待排尽流通池空气后,将出样导管插入样品液,样品即不间断地循环经过FOCS,数据处理记录处在稳定状态下的荧光强度 $F$ ;取出采样导管,待溶液排出后,将其插入空白溶剂中清洗,直到获得稳定的空白荧光信号 $F_0$ ;取出采样导管,用空气排尽溶剂,进行下一轮样品测定.

## 3 结果与讨论

### 3.1 光纤端部到传感膜之间距离的选择

式(1)表明,基于荧光猝灭原理的FOCS用于待测物的测定,应保证光纤端部与传感膜之间有足够的空间,以得到尽可能高的灵敏度.因为荧光信号受内过滤影响所产生的的变化就是驻留在这一空间的样品引起的.在一定范围内光纤端部到传感膜之间的距离越长,则由猝灭剂引起的内过滤效应就越强.但是荧光响应的灵敏度又受出射光纤横截面积的制约,光纤端部到传感膜之间的距离越长,则荧光到达出射光纤探头的光密度就越小,响应的灵敏度也随之下降.受上述两种相互制约因素的影响,光纤端部到传感膜之间就存在着一个最佳距离,这个距离所对应的响应灵敏度最高.

启动蠕动泵,将空白溶液充满流通池,旋转并上下移动流通池与光纤端部的相对位置,在测试条件下,当记录仪显示的荧光强度最大时,将两者固定起来,这时传感膜与光纤端部的距离即为所选的最佳距离.

### 3.2 定量分析模型的建立

3.2.1 在线监测兔脑脊液中甲硝唑浓度的标准曲线的建立<sup>[5]</sup> 以人工脑脊液(120 mmol/L NaCl, 3 mmol/L KCl, 20 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 1.2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 1.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>和0.25 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)为溶剂配制含甲硝唑(Metronidazole, MTZ) 2.0 μg/mL ~ 100 μg/mL的系列溶液.在本仪器系统中,测得荧光光谱,以及发射峰位处空白荧光强度 $F_0$ 与各浓度下荧光强度 $F$ 的比值( $n = 6$ ),根据多模型回归原理,

优选最佳定量分析模型. 求出线性回归方程

$$\lg(F_0/F) = -2.36 \times 10^{-3} + 4.45 \times 10^{-3}([Q]),$$

$$R = 0.9998 \quad (16)$$

3.2.2 在线监测呋喃妥因肠溶片体外溶出度标准曲线的建立<sup>[8]</sup> 以人工肠液(磷酸盐缓冲液, pH = 7.2)为溶剂配制含呋喃妥因(nitrofurantoin, NFT) 2.0 μg/mL ~ 60 μg/mL 的系列溶液, 在本仪器系统中, 样品液在(37 ± 0.5) 下获得荧光光谱, 以及发射峰位处空白荧光强度  $F_0$  与各浓度下的荧光强度  $F$  的比值 ( $n = 6$ ), 根据多模型回归原理, 得到两组较优的回归方程

$$F_0/F = 0.9626 + 0.03112[Q], R = 0.9985 \quad (17)$$

$$F_0/F = 0.9820 + 0.02854[Q] + 1.055 \times 10^{-6}[Q]^3,$$

$$R = 1.0000 \quad (18)$$

按照优选数学模型的基本原则, 本文将式(17)作为 NFT 的定量分析模型. 实验研究<sup>[2]</sup>表明 PBAMS 对 NFT 的响应主要是基于内过滤效应, 动态猝灭和共振能量转移. 从表面上看, 式(17)满足 Stern - Volmer 方程, 体系中仅存在动态猝灭因素; 从实际中考察, 式(17)是对式(18)的一种近似表达. 提示基于多种猝灭因素的 FOCS 定量分析模型的表达式有可能与单一猝灭因素的表达式相近. 在荧光猝灭因素的分析与机理探讨中应关注这种可能性.

3.2.3 在线监测氧氟沙星片体外溶出度标准曲线的建立<sup>[8]</sup> 以人工胃液(0.1 mol/L 盐酸溶液)为溶剂配制含氧氟沙星(ofloxacin, OXC) 2.0 μg/mL ~ 150 μg/mL 的系列溶液, 在本仪器系统中, 样品液在(37 ± 0.5) 下获得荧光光谱, 以及发射峰位处空白荧光强度  $F_0$  与各浓度下的荧光强度  $F$  的比值 ( $n = 6$ ), 根据多模型回归原理, 得到两组较优的回归方程

$$\lg(F_0/F) = 0.0146 + 0.0114[Q], R = 0.9963 \quad (19)$$

$$F_0/F = 1.0233 + 0.0104[Q] + 1.02 \times 10^{-4}[Q]^2,$$

$$R = 0.9999 \quad (20)$$

按照优选数学模型的基本原则, 本文将式(19)作为 OXC 的定量分析模型.

### 3.3 定量分析模型的评价

称取 MTZ, NFT, OXC 适量, 分别用相应的空白溶液配制成不同浓度的溶液, 在连有试液循环装置的 FOCS 系统中, 用与上述建模过程相同的条件进行测定, 由建立的定量分析模型预报待测物的浓度. 结果(表 1)表明三种待测物定量分析模型的预测值与理论值基本一致, 最大相对误差分别为 2.7 % ,

4.0 % 和 5.0 % , 预报的准确性符合各自的测定要求.

表 1 MTZ, NFT 和 OXC 定量分析模型的预测值

$C_p$ ( $n = 6, x \pm s$ ), 理论值  $C_T$  及其相对误差 RE

Table. 1 The predicting value and their relative errors (%) of the equation of linear calibration for MTZ, NFT, OXC ( $n = 6, x \pm s$ )

$C_T$ (μg/mL)	$C_p$ (μg/mL)	RE/ (%)
MTZ		
5.0	5.1 ± 0.1	2.0
10.0	9.8 ± 0.3	2.0
30.0	29.2 ± 0.9	2.7
60.0	61.5 ± 2.1	2.5
80.0	78.2 ± 2.5	2.3
NFT		
5.0	5.2 ± 0.1	4.0
10.0	9.7 ± 0.3	3.0
20.0	19.5 ± 0.4	2.5
30.0	29.2 ± 0.6	2.7
40.0	39.3 ± 0.5	1.8
OXC		
10.0	10.5 ± 0.2	5.0
30.0	28.9 ± 1.1	3.7
50.0	50.2 ± 1.1	0.4
80.0	79.4 ± 1.7	0.8
100.0	96.1 ± 2.1	3.9

$$n \text{ 样本数}; x \text{ 均数}; s \text{ 标准偏差}; RE(\%) = \frac{|C_p - C_T|}{C_T} \times 100 \text{ EMBED}$$

Eq. 3;  $n$ : number of samples;  $x$  mean,  $s$ : SD, relative errors (%): EMBED Eq. 3

## 4 结论

在定量分析中, 待测物浓度与响应信号间的线性定量关系仅适用于特定条件下的线性范围. 为提高定量分析模型的适用性和稳定性, 采用多模型回归技术是一种行之有效的方法. 对于复杂体系中待测物的测定和多组分样品的同时分析, 尤其是当多种猝灭剂同时存在时, 采用多元校正和多元分辨的方法, 特别是人工神经网络技术, 是 FOCS 解决此类建模问题、克服待测物之间交叉干扰的一个重要途径<sup>[9]</sup>.

## References

- 1 Yuan ,P. ;Walt ,D. R. *Anal. Chem.* ,**1987** ,*59* ,2391.
- 2 Li ,W. ;Chen J. ;Xiang ,B. - R. ;An ,D. - K. *Chem. J. Chin. Univ.* ,**2000** ,*21* ,358 (in Chinese) .
- 3 Chen J. ;Seitz ,W. R. *Anal. Chim. Acta* ,**1990** ,*237* ,265.
- 4 Ishiji ,T. ;Kaneko ,M. *Analyst* ,**1995** ,*120* ,1633.
- 5 Li ,W. ;Chen J. *Anal. Chim. Acta* ,**1996** ,*331* ,103.
- 6 Chen J. ;Li ,W. ;Yan ,C. ;Yuan L. - M. ;Guo J. - L. ;Zhuo ,X. - J. *Science in China ( Series C)* ,**1997** ,*40* ,414.
- 7 Pharmacopoeia Committee of the Ministry of Public Health ,“ *The Chinese Pharmacopoeia* ”,Beijing, The People 's Public Health Press of China ,**1995** (in Chinese) .
- 8 Li ,W. , *Ph. D. Thesis* ,China Pharmaceutical University ,Nanjing ,**1998** (in Chinese) .
- 9 Li ,W. ;Chen ,J. ;Xiang ,B. - R. ;An ,D. - K. ;*Anal. Chim. Acta* ,**2000** ,*408* ,39.

(Ed. SHEN Hong)

(DONG Hua - Zhen)

www.cnki.net