

# 鱼体重金属检测方法的研究进展

黄亮亮<sup>1,2</sup>, 吴志强<sup>1,2</sup>, 李艳红<sup>1,2</sup>, 朱召军<sup>2</sup>, 耿俊杰<sup>2</sup>, 黄德练<sup>2</sup>, 常涛<sup>2</sup> (1. 桂林理工大学, 广西矿冶与环境科学实验中心, 广西桂林 541004; 2. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 广西桂林 541004)

**摘要** 工业的快速发展使包括重金属在内的大量污染物进入水体, 从而导致水生生态系统遭受不同程度的破坏, 并加剧了水产品的重金属污染。因此, 对水产品重金属检测方法的研究迫在眉睫。介绍了鱼类重金属离子检测技术, 并讨论了现存重金属检测技术的优缺点和未来的发展方向, 以期筛选或研制出灵敏度更高、准确度更好、速度更快的检测方法提供依据。

**关键词** 重金属; 检测技术; 鱼类

**中图分类号** S931.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)14-06305-03

## Research Advance of Determination Methods of Heavy Metals in Fish

**HUANG Liang-liang et al** (Guangxi Scientific Experiment Centre of Mining, Metallurgy and Environment, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004)

**Abstract** The great amount of pollutants including heavy metals flow into water bodies with rapid development of industry, which result in degradation of aquatic ecosystems in different degrees and deterioration of heavy metals pollution in aquatic products. Therefore, it's extremely urgent to research in detection of heavy metals in aquatic products. Methods of heavy metals determination in fish were introduced, and the advantages and disadvantages of present heavy metal detection techniques and a new direction in the future were discussed, which aimed to screen out or establish more quickly, sensitively and accurately detection methods.

**Key words** Heavy metals; Detection techniques; Fish

随着社会工业化的快速发展, 进入环境介质(大气、水体和土壤)的有害重金属(铅、汞、镉、铬等)不断增加, 若超过正常范围则会引起环境的重金属污染。目前, 最引人关注的是汞、镉、铅、铬以及类金属砷等有显著生物毒性的重金属<sup>[1]</sup>, 主要通过污染食品、饮用水及空气等途径最终被人类吸收。鱼类是人类摄取蛋白的主要来源之一, 重金属可通过食物链在鱼体中富集从而导致鱼体重金属超标, 最终严重威胁人类健康, 如汞中毒将引起神经系统受损, 并可能引起肝炎、肾炎、尿毒症等; 铅中毒将引起贫血、记忆力减退、失眠、休克、损害肠胃、肾脏和生殖系统等<sup>[2-3]</sup>。研究表明, 目前我国很多地区鱼类重金属含量都严重超标<sup>[1,4]</sup>。因此, 鱼体重金属的检测对于评价鱼类的食用安全性至关重要。笔者综述了近几十年鱼类重金属检测的各种方法, 以期筛选或研制出灵敏度高、准确度好、效率高的检测方法提供依据。

### 1 样品预处理

一般而言, 鱼类样品的重金属以化合态存在, 在检测重金属含量前, 需要对鱼类样品进行预处理, 使其中的重金属以离子状态存在才能客观准确地分析。传统的预处理方法主要包括湿法消解和干灰化法<sup>[5]</sup>。湿法消解是在适量的鱼类样品中加入硝酸、高氯酸等氧化性强酸, 结合加热破坏有机物。在消解过程中, 该法易形成酸雾, 且存在爆炸的危险; 同时, 在消解过程中消耗大量的酸而可能引起较大的空白值。干灰化法是在高温灼烧下使有机物氧化分解, 剩余的无机物供测定。此方法能够降低污染, 但消化周期长、耗电多、被测成分易挥发损失; 坩埚有时对被测成分具有吸留作用, 降低回收率<sup>[6]</sup>。

微波消解作为样品分析的新技术, 具有消化样品能力强、速度快、消耗化学试剂少、金属元素不易挥发损失、污染小及空白值低等优势, 一次样品处理后可同时测定几种元素。顾佳丽分别采用高压密闭微波消解、干法灰化、湿法消解测定鱼类样品中的重金属含量发现微波消解测定标准样品的变异系数小, 准确度高, 空白值低, 回收率较高, 且所需的时间也较短<sup>[6]</sup>。刘丹赤和邵长明分别采用湿法、干法和微波消解法对鱼类消解后测量体内重金属含量, 结果表明微波消解法的鱼类样品重金属含量和回收率均高于干法和湿法, 并且省时、消解完全、污染少, 是鱼样消解较理想的方法<sup>[2]</sup>。

### 2 重金属的检测方法

重金属污染问题严重危害人体健康, 已成为环境污染的重点。因此, 重金属离子检测技术是重金属污染防治的基础。目前, 重金属检测技术包括原子吸收法、原子发射光谱法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子原子发射光谱法、电感耦合等离子质谱法、高效液相色谱法、酶分析法、免疫分析法、生物传感器法等。这些重金属检测技术均有各自的优缺点(表1), 根据待测样品的检测需求可选择最适合的检测方法。

**2.1 原子吸收光谱法** 原子吸收光谱法(Atomic absorption spectrophotometer, AAS)基于从光源发出的被测元素特征辐射通过元素的原子蒸气被其基态原子吸收, 根据辐射的减弱程度来测定元素含量的一种分析方法。Klavins 等用原子吸收光谱法检测拉托维亚湖中河鲈(*Perca fluviatilis*)不同组织中多种重金属元素(Cd、Cu、Co、Pb、Ni、Mn、Zn、Fe)的积累情况, 其中几种金属元素的检出限分别为: Cd (0.025 μg/L)、Cu (0.03 μg/L)、Pb (0.12 μg/L)、Zn (0.03 μg/L)、Co (0.020 μg/L)、Ni (0.020 μg/L)、Mn (0.015 μg/L)、Fe (0.10 μg/L), 且回收率为 88% ~ 110%<sup>[7]</sup>。Burger 和 Gochfeld 采用石墨原子吸收分光光度法(GF-AAS)测定经济鱼类

**基金项目** 广西重点实验室研究基金项目(桂科能 12012027); 广西自然科学基金创新团队项目(2011GXNSFF018003)。

**作者简介** 黄亮亮(1985-), 男, 江西九江人, 讲师, 博士, 从事流域生态学及鱼类学研究。

**收稿日期** 2013-03-03

体内重金属元素含量,待测金属元素的检测限分别为:As( $0.2 \text{ Mg/L}$ )、Ca( $0.1 \text{ }\mu\text{g/L}$ )、Cr( $1.0 \text{ }\mu\text{g/L}$ )、Pb( $2.0 \text{ }\mu\text{g/L}$ )、Mg( $1.0 \text{ }\mu\text{g/L}$ )、Se( $0.5 \text{ }\mu\text{g/L}$ )<sup>[8]</sup>。Sivaperumal 等采用原子吸收光谱法检测鱼类肌肉组织中 Cd、Pb、Hg、Cr、As、Zn、Cu、Co、Mn、Ni 和 Se 的含量分别  $0.07 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-6}$ 、 $0.07 \times 10^{-6} \sim 1.32 \times 10^{-6}$ 、 $0.05 \times 10^{-6} \sim 2.31 \times 10^{-6}$ 、 $0.05 \times 10^{-6} \sim 3.65 \times 10^{-6}$ 、 $0.1 \times 10^{-6} \sim 4.14 \times 10^{-6}$ 、 $0.6 \times 10^{-6} \sim 165 \times 10^{-6}$ 、 $0.15 \times 10^{-6} \sim 24 \times 10^{-6}$ 、 $0.02 \times 10^{-6} \sim 0.85 \times 10^{-6}$ 、 $0.08 \times 10^{-6} \sim 9.2 \times 10^{-6}$ 、 $0.032 \times 10^{-6} \sim 1.38 \times 10^{-6}$  和  $0.03 \times 10^{-6} \sim 1.35 \times 10^{-6}$ <sup>[9]</sup>。

表1 重金属检测方法的优缺点

检测方法	优点	缺点
原子吸收光谱法(AAS)	灵敏度高,选择性好,准确度高,适用范围广,干扰少和易于消除	操作繁琐,不利于多种元素的同时测定,复杂试样干扰比较严重,仪器昂贵
电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-AES)	分析速度快,干扰低。时间分布稳定,线性范围广,同时测定多种元素	设备昂贵,操作费用高
电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)	检测限低,动态范围宽,干扰少,分析精密度高,分析速度快,可进行多种元素的同时测定	仪器昂贵,样品的预处理繁琐,易受污染
原子荧光光谱法(AFS)	灵敏度高,选择性强,试样量少,方法简单	应用元素有限,范围不广泛,设备昂贵
X射线荧光光谱法(XFS)	分析速度快,前处理简单,分析元素范围广,谱线简单,光谱干扰少,成本低	设备结构复杂,费用高
高效液相色谱法(HPLC)	分辨率和灵敏度高,重复性好,速度快,定量精度高,应用范围广,可实现多元素同时测定	费用高,要用各种填料柱,容量小,分析生物大分子和无机离子困难,流动相消耗大且多数有毒
酶分析法	特异性强,操作简单,仪器设备简单、检测速度快	可测的重金属种类较少
酶联免疫检测法(ELISA)	检测速度较快、费用低廉、简单易携、高度的灵敏度、选择性和特异性	易出现假阳性
生物传感器法	特异的生物识别功能,选择性高,体积小,结果精确,方便快捷,成本低,抗干扰能力强,响应快,可重复使用	制作工艺困难,识别元件有限,难储存

**2.2 电感耦合等离子体发射光谱法** 电感耦合等离子体发射光谱(Inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, ICP-AES)是高频感应电流产生的高温将反应气加热、电离,利用元素发出的特征谱线进行测定谱线强度与重金属量成正比。电感耦合等离子体发射光谱法具有灵敏度高、干扰小、线性宽、可同时或顺序测定多种金属元素、可对高温金属元素快速分析的特点。但检测灵敏度较电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)略差,可用于除镉、汞等绝大部分金属元素的测定(表1)。Yilmaz 等用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)法测定2种鱼(*Leuciscus cephalus* 和 *Lepomis gibbosus*)体内重金属(Cd、Co、Cu、Fe、Mn、Ni、Pb、Zn)的含量,其回收率在91%~109%<sup>[10]</sup>。Tepe 利用电感耦合等离子体原子发射光谱检测了地中海和爱情海中8种鱼类肌肉和肝脏中重金属(Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Mg、Ni、Pb、Zn)的残留情况,结果表明各种金属元素在肌肉中的残留量为0.03~0.37、0.02~0.42、0.15~1.78、0.17~1.11、11.0~33.4、0.02~0.89、0.22~4.03、0.22~0.64和2.88~10.9 mg/kg<sup>[11]</sup>。

**2.3 电感耦合等离子体质谱法** 电感耦合等离子体质谱法(Inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)是将电感耦合等离子体与质谱联用,利用电感耦合等离子体使样品汽化,将待测金属分离出来,从而进入质谱进行测定。电感耦合等离子体质谱法可通过离子荷质比进行无机元素的定性分析、半定量分析、定量分析,同时进行多种元素及同位素的测定、可激光取样、氢化物发生、低压色谱、高效液相色谱、气相色谱、毛细管电泳等进样或分离技术联用,具有比原子吸收法更低的检测限,是痕量元素分析领域中最先进的方法,但其价格昂贵,易受污染,可用于除汞外的绝大多数重金属的测定。Ashoka 等采用 ICP-MS 方法测定并比较不同消解

方法对鱼类组织消解后重金属残留分析,测定40种金属元素,结果表明没有一种消解方法可以同时准确测定所有元素<sup>[12]</sup>。Yang 等采用 ICP-MS 方法检测西藏高原高山湖泊和拉萨河中鱼类重金属(Mn、Co、Ni、Cu、Zn、As、Se、Cd、Pb)的蓄积情况,回收率为80%~98.1%<sup>[13]</sup>。

**2.4 原子荧光法** 原子荧光光度法(Atomic fluorescence spectroscopy, AFS)是通过测量待测元素的原子蒸汽在辐射能激发下所产生荧光的发射强度来测定待测元素的一种分析方法。翟毓秀等使用 AFS-2201 型双道原子荧光光谱仪采用氢化物发生原子荧光法测定食品和饲料中的铅,其检出限为0.3  $\mu\text{g/L}$ ,线性范围为1.00~500  $\mu\text{g/L}$ ,回收率为87%~98%<sup>[14]</sup>。原子荧光光度法的检出限低于原子吸收法,谱线简单且干扰少,但线性范围较宽,应用元素有限,仅用于砷、铋、秘、硒、碲、锗、锡、铅、锌、锡、汞的分析。

**2.5 X射线荧光光谱法** X射线荧光光谱法(X-ray fluorescence spectrometer, XFS)是利用X射线与待测元素相互作用产生X射线荧光,然后对所产生的X射线荧光分光进行待测元素的定性和定量分析<sup>[15]</sup>。该方法的优点为:X射线的特征谱线来自原子内层电子的跃迁,谱线数目少,干扰少,容易鉴别,选择性高;另外,样品无需进行复杂的前处理(表1)<sup>[16]</sup>。目前,该方法主要用于土壤和植物如蔬菜等重金属的含量分析<sup>[17-18]</sup>。例如,张思冲等用X射线荧光光谱法测定沉积物中重金属的As、Cr、Cu、Pb、Zn的相对标准偏差分别为0.005%、0.006%、0.013%、0.003%和0.011%,结果表明X射线荧光法测定样品,不需对固体样品进行消化处理,操作简便,可以同时测定多种元素,效率较高,是一种非破坏性的分析方法,样品可重复利用<sup>[19]</sup>。因此,快速简便的X射线荧光光谱分析在水产品安全检测领域具有很好的应用前景。

**2.6 高效液相色谱法** 高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)是指痕量金属离子与有机试剂形成稳定的有色络合物,然后用 HPLC 进行分离,使用紫外-可见检测器进行检测,可实现多种元素的同时测定(表 1)。吡啶类试剂检测灵敏度高,能和多种金属元素生成稳定的络合物,是目前已广泛用于 HPLC 测定金属离子的衍生试剂。但络合试剂的选择有限,给 HPLC 的应用带来了局限性。吴献花等采用快速分离柱高效液相色谱法测定食品中重金属的含量,结果表明 Ni、Cu、Sn、Pb、Cd 和 Hg 的检测限分别为 3.4、4.3、2.2 ng/L,且该方法的相对标准偏差为 2.3% ~ 2.8%,回收率为 95% ~ 105%<sup>[20]</sup>;杨亚玲等采用固相萃取富集-高效液相色谱对三七、牛角天麻、无根藤和虫草中的铜、镍、锡、镉、铅和汞进行测定,检出限分别为  $1.8 \times 10^{-9}$ 、 $1.5 \times 10^{-12}$ 、 $2.2 \times 10^{-12}$ 、 $1.5 \times 10^{-12}$ 、 $1.8 \times 10^{-12}$  和  $2.2 \times 10^{-12}$ ,回收率分别为 98%、102%、103%、99%、96% 和 102%<sup>[21]</sup>。

**2.7 酶分析法** 近年来,酶已经被用于测定环境介质和食品中的衡量有害物质<sup>[22]</sup>。酶抑制法作为一种快速检测有害物质残留的方法,直接利用酶的抑制率可表示有害物质残留程度的高低,能在较短时间内快速、灵敏的筛选出大量超标样品。与传统方法相比,具有简便、快捷和成本低等优点(表 1)。Shukor 等结合酪蛋白-考马斯亮蓝研究木瓜蛋白酶检测重金属发现该方法对多种重金属较为敏感,如  $Hg^{2+}$ 、 $Ag^{+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  的  $IC_{50}$  分别为 0.39、0.40、2.16 和 2.11 mg/L,而对  $Cu^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  的最低检出限为 0.004 和 0.1 mg/L<sup>[23]</sup>。Shukor 等利用丝氨酸蛋白酶检测  $Hg^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  的  $IC_{50}$  分别为 5.78 和 16.38 mg/L,最低检测限分别为 0.06 和 1.06 mg/L<sup>[24]</sup>。

**2.8 酶联免疫检测法** 酶联免疫检测法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)的中心就是让抗体与酶复合物结合,然后通过显色来检测,具有高度的准确性、特异性、稳定性、适用范围宽、检测速度快及费用低等优点。重金属间接竞争 ELISA 免疫检测法是通过样品中的重金属离子与过量螯合剂形成溶解性的金属-螯合剂复合物抗原(溶解性抗原)与已经包被在酶标板上的金属-螯合剂-蛋白质复合物抗原(固化抗原)竞争抗体的抗原结合位点,添加酶标二抗和显色物质产生荧光信号,与标准曲线对照得到样品中的重金属离子浓度<sup>[25]</sup>。暨南大学分子免疫与抗体工程中心成功制备了重金属铜离子和铬离子单克隆抗体,并建立了间接竞争 ELISA 检测方法<sup>[26-27]</sup>。

**2.9 生物传感器** 生物传感器是由生物识别元件、信号转换装置、数据处理系统和显示系统结合起来的一套分析设备,能感受特定被测量并按照一定规律将其转换成可识别信号。近 20 年来,人们不断开发多种生物传感器用于测定水溶液中的毒性化合物,因此研制酶传感器来检测环境重金属已成为生物传感器的研究热点,主要包括酶传感器、特异性蛋白生物传感器和微生物传感器。目前,生物传感器已应用于环境监测和食品安全检测领域的重金属检测<sup>[28-29]</sup>。如连兰等研制的葡萄糖氧化酶生物传感器,利用重金属对葡萄糖氧化酶的抑制作用,检测  $Cu^{2+}$  和  $Hg^{2+}$ ,传感器的线性响应范

围分别为 5 ~ 40  $\mu\text{mol/L}$  和 2.5 ~ 22.5  $\mu\text{mol/L}$ ,最佳响应条件选择 pH 为 6.86,温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ <sup>[30]</sup>。Giardi 等利用重金属可以替代叶绿素分子中的  $Mg^{2+}$ ,并引起 pH 变化的特点开发了基于光合系统 II 的生物传感器,将藻细胞固定在 2% 琼脂中,通过检测 pH 的变化来测定重金属铬和镉的量<sup>[31]</sup>,此外,通过固定化技术将叶绿素体包埋在光交联的苯乙烯基吡啶乙醇中,用氧电极测定氧气量,可以在 g/L 浓度水平下检测到 Hg、Pb、Cd、Ni、Zn 和 Cu 等离子存在<sup>[32]</sup>。

### 3 展望

笔者综述了重金属检测的预处理技术及检测的传统方法(原子吸收光谱法、电感耦合等离子体发射光谱法、电感耦合等离子体质谱法等)和新发展起来的方法(酶分析法、酶联免疫检测法、生物传感器法)。目前,鱼体重金属检测的样品预处理主要采样湿法和微波消解法,检测方法偏向于传统的原子吸收光谱法、电感耦合等离子体发射光谱法和电感耦合等离子体质谱法等。新型方法目前主要应用于环境介质中重金属的原位监测和食品安全检测,此类方法因其具有速度较快、费用低廉、简单易携、具有高度的灵敏度和选择性等优点,将成为进出口食品检验部门、食品卫生部门、水产养殖和渔业检测部门等部门的首选方法。重金属新型检测方法(免疫检测法和生物传感器法)的成熟与普及将有利于我国食品的可持续发展和食品安全保障工作,具有良好的经济价值和社会效益,市场前景十分广阔。

### 参考文献

- [1] 陈红红,毋福海,黄丽玫,等.广州市市场食用鱼中 5 种重金属含量分析及评价[J].中国卫生检验杂志,2008,18(12):2736-2738.
- [2] 刘丹赤,邵长明.鱼体内重金属含量测定及其分布状况的研究[J].中国测试技术,2007,33(4):121-122,132.
- [3] 邹晓锦,仇荣亮,周小勇,等.大宝山矿区重金属污染对人体健康风险的研究[J].环境科学学报,2008,28(7):1406-1412.
- [4] 张磊.青岛市水产品汞污染初步研究[J].中国农学通报,2009,25(3):293-296.
- [5] 陈玲,赵建夫,仇雁翎,等.环境监测[M].北京:化工出版社,2003.
- [6] 顾佳丽.辽西地区食用鱼中重金属含量的测定及使用安全性评价[J].食品科学,2012,33(10):237-240.
- [7] KLAVINS M, POTAPOVICS O, RODINOV V. Heavy Metals in Fish from Lakes in Latvia; Concentrations and Trends of Changes[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2009, 82:96-100.
- [8] BURGER J, GOCHFELD M. Heavy metals in commercial fish in New Jersey[J]. Environmental Research, 2005, 99:403-412.
- [9] SIVAPERUMAL P, SANKAR T V, VISWANATHAN NAIR P G. Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards[J]. Food Chemistry, 2007, 102:612-620.
- [10] YILMAZ F, ÖZDEMİR N, DEMIRAK A, et al. Heavy metal levels in two fish species *Leuciscus cephalus* and *Lepomis gibbosus*[J]. Food Chemistry, 2007, 100(2):830-835.
- [11] TEPE Y. Metal concentrations in eight fish species from Aegean and Mediterranean Seas[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2009, 159(1/4):501-509.
- [12] ASHOKA S, PEAKE B M, BREMMER G, et al. Comparison of digestion methods for ICP-MS determination of trace elements in fish tissues[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 659:191-199.
- [13] YANG R Q, YAO T D, XU B Q, et al. Accumulation features of organochlorine pesticides and heavy metals in fish from high mountain lakes and Lhasa River in the Tibetan Plateau[J]. Environment International, 2007, 33:151-156.
- [14] 翟毓秀,赫林华.氢化物发生原子荧光光谱法测定食品和饲料中的铅[J].分析化学研究简报,2000,28(2):176-179.

的自然免疫<sup>[34]</sup>。以益生菌为代表的微生态制剂与病原微生物竞争营养和空间,产生抗微生物的条件、物质和多种酶等营养成分,从而全面提高禽类的机体免疫力;另外,微生态制剂与化学合成药、疫苗、中药等联合使用也是今后探讨的主要问题,因此微生态制剂在治疗禽类球虫病上无疑是一个重要的方向。

表 1 各类抗球虫病药物的缺点

药物类型	缺点
化学合成药	易产生抗药性,有药物残留
疫苗	影响因素多,不能广泛使用
中草药	起效慢,成分复杂,作用机理不明确

## 参考文献

- [1] SHIRLEY M W, SMITH A L, TOMLEY F M. The biology of avian Eimeria with an emphasis on their control by vaccination [J]. *Advances in Parasitology*, 2005, 60: 285 - 330.
- [2] 操继跃. 抗球虫药物研究进展与应用技术 [J]. *中国家禽*, 2009, 31(14): 1 - 4.
- [3] 狄庆峰. 抗球虫药地考唑酯的合成工艺研究 [D]. 上海: 华东理工大学, 2011.
- [4] 尚朋朋, 欧阳五庆, 傅晨, 等. 5% 地克珠利纳米乳对鸡球虫病的疗效研究 [J]. *西北农林科技大学学报*, 2011, 39(4): 19 - 23.
- [5] 杨娜, 曾明华, 吴丽君, 等. 三种抗球虫药对鸡球虫病的对比疗效 [J]. *中国兽医杂志*, 2012, 46(2): 16 - 18.
- [6] 丛涓涓, 王兴叶, 任万欣. 巨型艾美耳球虫杨凌株对三种抗球虫药物的抗药性研究 [J]. *动物医学进展*, 2012, 33(7): 60 - 62.
- [7] 李莎, 韩利方, 黄甜, 等. 妥曲珠利治疗鸡球虫病用药方案的优化 [J]. *中国动物传染病学报*, 2011, 19(6): 36 - 39.
- [8] KHAN S M, FRANKE-FAYARD B, MAIR G R, et al. Proteome analysis of separated male and female gametocytes reveals novel sex - specific plasmodium biology [J]. *Cell*, 2005, 121(5): 675 - 687.
- [9] 陈生龙. 球虫疫苗替代抗球虫药对肉用母鸡养殖效果的影响 [J]. *闽西职业技术学院学报*, 2008, 10(2): 91 - 93.
- [10] 华绍桂, 赖开喜, 谢德华, 等. 鸡球虫疫苗不同剂量免疫效果的临床比较 [J]. *畜牧与兽医*, 2010, 42(9): 88 - 89.
- [11] 陈汉忠, 韦英益, 李义平, 等. 强效艾美耳牌鸡球虫疫苗免疫效果的研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 2002, 24(6): 459 - 463.
- [12] 陈进喜, 陈汉忠, 谢婷, 等. 鸡球虫微囊型口服疫苗免疫效果的初步研究 [J]. *中国兽医杂志*, 2006, 40(6): 8 - 10.
- [13] 刘颖丽, 李建华, 郑君, 等. 鸡柔嫩艾美耳球虫 *EiMIC-2* 基因真核表达载体的构建及其在 Hela 细胞中的表达 [J]. *中国兽医学报*, 2011, 31

- (8): 1142 - 1146.
- [14] 王春风. 共生乳酸杆菌非抗性表达载体的构建及柔嫩艾美耳球虫 S07 基因的表达 [D]. 北京: 中国农业大学, 2001.
- [15] 陈汉忠, 李桂庆, 李致宝, 等. 中药与化学药物对鸡球虫病的疗效对比试验 [J]. *中国家禽*, 2004, 8(1): 22 - 24.
- [16] 李旭红, 刘毅. 中草药复方制剂抗鸡球虫效果的研究 [J]. *湖南农业科学*, 2009(5): 146 - 148.
- [17] 陈蒲丹, 刘娟. 青蒿及其提取物对鸡柔嫩艾美耳球虫的抑制作用 [J]. *中兽医医药杂志*, 2008(2): 24 - 26.
- [18] 王天奇, 董发明, 白喜婷, 等. 苦楝根煎剂对鸡盲肠球虫病的防治试验研究 [J]. *中兽医医药杂志*, 2004(1): 13 - 15.
- [19] 晋爱兰, 陈秀真, 张供领, 等. 中药和西药防治鸡球虫病的对比试验 [C] // 山东省畜牧兽医学会禽病学专业委员会第一届学术研讨会论文集. 泰安: [出版者不详], 2009: 273 - 276.
- [20] HEE J Y, JAE W N. Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella* [J]. *Veterinary Parasitology*, 2001, 96: 257 - 263.
- [21] 李佩国, 李蕴玉, 张香斋, 等. 联合用药对鸡球虫病的疗效试验 [J]. *河北科技师范学院学报*, 2004, 18(3): 12 - 14.
- [22] 张志杰, 李发弟, 汝应俊, 等. 植物精油和复合酶对肉仔鸡生产性能和球虫病防治的效果 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2011, 6(3): 16 - 21.
- [23] 蔡伟强. 中草药益生素复合制剂防治鸡球虫病效果观察 [J]. *中国兽医学杂志*, 2006(4): 11 - 14.
- [24] 谭文彪, 刘万萍, 全廷龙, 等. 用紫茎泽兰预防鸡球虫病 [J]. *西南林学院学报*, 2009, 29(3): 67 - 70.
- [25] 黄忠, 周响艳, 王建华, 等. 中草药益生素抗球虫联合制剂研制 [J]. *中国畜牧兽医*, 2001, 31(5): 7 - 9.
- [26] 龙建刚, 刘永红, 徐君, 等. 中药复方防治鸡球虫病的效果试验 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2011, 4(7): 133 - 135.
- [27] 顾有方, 郭广富, 陈会良. 5 株柔嫩艾美耳球虫对 4 种抗球虫药的抗药性 [J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 13(3): 185 - 189.
- [28] 金光明, 程从升, 顾有方, 等. 2 株柔嫩艾美耳球虫对 5 种抗球虫药的抗药性 [J]. *中国兽医学报*, 2002, 33(1): 40 - 42.
- [29] 许金俊, 陶建平, 彭金彪, 等. 柔嫩艾美耳球虫扬州分离株对 8 种抗球虫药的抗药性 [J]. *畜牧与兽医*, 2008, 40(1): 18 - 22.
- [30] 林青, 于三科, 张彦明. 柔嫩艾美耳球虫杨凌株对几种抗球虫药的抗药性研究 [J]. *中国农学通报*, 2005, 21(3): 45 - 47, 73.
- [31] 姚惠娟, 樊生超, 廖德年. 不同保存温度对鸡球虫疫苗免疫力的影响 [J]. *上海农业学报*, 2004, 20(3): 117 - 119.
- [32] 孙坚, 谢婷, 远立国, 等. 鸡球虫疫苗不同免疫方法的免疫效果试验 [J]. *养殖技术顾问*, 2009(2): 154 - 155.
- [33] 郝桂英, 古小彬, 周亿航, 等. 中药防治鸡球虫病的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(5): 1866 - 1867, 1888.
- [34] ALLEN P C, FETTERER R H. Advances in biology and immunobiology of eimeria species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2002, 15(1): 58 - 65.

(上接第 6307 页)

- [15] 刘燕德, 万常澜, 孙旭东, 等. X 射线荧光光谱技术在重金属检测中的应用 [J]. *激光与红外*, 2011, 41(6): 605 - 611.
- [16] 刘凤枝, 刘潇威. 土壤和固体废物检测分析技术 [M]. 北京: 化工出版社, 2007.
- [17] GE J H. Determination of 30 major and trace elements in soil samples by X-ray fluorescence spectrometry [J]. *Chemical Engineer*, 2009, 166(7): 44 - 48.
- [18] 辛术贞, 宋延静, 吕超, 等. 同步辐射 XRF 法分析温室油菜中微量元素的分布 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(2): 554 - 558.
- [19] 张思冲, 周晓聪, 叶花香, 等. X 射线荧光光谱法测定哈尔滨城郊菜地土壤重金属 [J]. *中国农学通报*, 2009, 25(13): 230 - 233.
- [20] 吴献花, 林洪, 李海涛, 等. 用快速分离柱高效液相色谱法测定食品中的重金属元素的研究 [J]. *食品科学*, 2005, 26(6): 218 - 220.
- [21] 杨亚玲, 杨国荣, 胡秋芬, 等. 固相萃取富集 - 高效液相色谱法测定 4 种中草药中的重金属元素 [J]. *药物分析杂志*, 2004, 24(4): 441 - 443.
- [22] 谢俊平, 卢新. 酶抑制法快速检测食品中重金属研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(8): 220 - 224.
- [23] SHUKOR M Y, BAHAROM N A, ABD F, et al. Development of a heavy metals enzymatic - based assay using papain [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 566(2): 283 - 289.
- [24] SHUKOR M Y, BAHAROM N A, MASDOR N A, et al. The development

- of an inhibitive determination method for zinc using a serine protease [J]. *Journal of Environmental Biology*, 2009, 30(1): 17 - 22.
- [25] BLAKED A, PAVOLOV R, YU H, et al. Antibodies and antibody-based assays for hexavalent uranium [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 444: 3 - 11.
- [26] 郭常伟, 唐勇, 向军俭, 等. 重金属铜离子单克隆抗体的制备及其间接竞争 ELISA 检测方法的建立 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2011, 24(6): 720 - 723.
- [27] 颜露, 唐勇, 向军俭, 等. 抗重金属  $\text{Cr}^{3+}$  单克隆抗体的制备及其应用 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2011, 27(4): 422 - 424.
- [28] 宋玉磊. 生物传感器在环境监测中的应用 [J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(21): 13098 - 13099, 13102.
- [29] 白冰, 赵玲, 王程程, 等. 生物传感器在检测食品品质及其质量安全中的应用 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2012, 3(5): 414 - 420.
- [30] 连兰, 伍林, 易德莲, 等. 葡萄糖生物传感器 [J]. *传感器世界*, 2004, 12(4): 6 - 8.
- [31] GIARDI M T, KOBLIZEK M, MASOJEDK J. Photosystem II - based biosensors for the detection of pollutants [J]. *Biosens Bioelectron*, 2001, 16(9/12): 1027 - 1033.
- [32] PRSTON S, COAD N, TOWNEND J, et al. Biosensing the acute toxicity of metal interactions: Are they additive, synergistic, or antagonistic? [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, 19(3): 775 - 780.