

Determination of Tetracycline Hydrochloride in Food Samples by Carbon Dots Based on Fluorescence Inner Filter Effects

Bin Zheng, Lanlan Zhang, Bingqian Hu, Wen Lei, Minmin Yan, Jinzhi Liu, Qingyuan Li, Feihong Huang, Weiwei Sun, Guoqiang Xiang

School of Chemistry and Chemical Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou Henan

Email: xianggq@126.com

Received: Mar. 5th, 2019; accepted: Mar. 19th, 2019; published: Mar. 26th, 2019

Abstract

In the present work, a selective and sensitive method for detecting tetracycline hydrochloride (TC) using manganese doped carbon quantum dots (Mn-CDs) was developed. The Mn-CDs were prepared via a simple hydrothermal method using 1-(2-pyridinylazo)-2-naphthalenol (PAN) and MnCl₂ as precursors. Because of the strong characteristic absorption of TC at 360 nm, which has good spectral overlap with the emission peak of Mn-CDs, the fluorescence intensity of Mn-CDs at 360 nm was linearly quenched in the presence of TC in the concentration range of 1 - 200 μM. The developing assay based on an inner filter effect (IFE) mechanism for detecting TC is selective, convenient, and shows that the as-prepared Mn-CDs have application prospects for simple and specific analytical chemistry.

Keywords

Carbon Dots, Inner Filter Effect, Tetracycline Hydrochloride, Food Samples

基于内滤效应的碳量子点荧光探针测定食品中盐酸四环素

郑彬, 张兰兰, 胡冰倩, 雷雯, 严民民, 柳金枝, 李清媛, 黄飞宏, 孙巍巍, 向国强

河南工业大学化学化工学院, 河南 郑州

Email: xianggq@126.com

文章引用: 郑彬, 张兰兰, 胡冰倩, 雷雯, 严民民, 柳金枝, 李清媛, 黄飞宏, 孙巍巍, 向国强. 基于内滤效应的碳量子点荧光探针测定食品中盐酸四环素[J]. 自然科学, 2019, 7(2): 72-79. DOI: 10.12677/ojns.2019.72012

收稿日期：2019年3月5日；录用日期：2019年3月19日；发布日期：2019年3月26日

摘要

以1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚(PAN)和MnCl₂为原料，通过水热法制备了Mn掺杂碳量子点(Mn-CDs)。所制备的Mn-CDs的发射光谱与四环素(TC)的吸收光谱有较好的重叠，当有TC存在的条件下，Mn-CDs的荧光强度(360 nm)被猝灭，且荧光猝灭的程度与TC的浓度(1~200 μM)呈线性关系。TC对Mn-CDs荧光猝灭的机理是内滤作用，所建立的分析方法具有较高的选择性，并成功应用于动物肉样品中TC的测定。

关键词

碳量子点，内滤效应，盐酸四环素，食品样品

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

四环素(Tetracycline, TC)是由放线菌属产生或半合成的一种广谱抗生素，对许多革兰氏阴性菌及阳性菌等具有很好的抗菌活性，在农畜牧业上广泛用于兽药和饲料添加剂[1]。其中盐酸四环素是四环素族中最常用的抗生素。近年来因其滥用而导致肉类和奶类食品中抗生素残留，并且造成了食品安全问题。研究表明，长期食用含有四环素残留的食品会导致人体出现过敏、致癌、过敏菌株等副作用[2]。因此很多国家已经限制使用四环素，并对动物源性食品中四环素的残留限量作了严格规定，美国 FDA 规定四环素在牛奶中的残留限量小于 80 μg·L⁻¹ [3]；国际卫生组织和欧盟规定在牛奶中的最大残留限量为 100 μg·L⁻¹ [4]。目前检测盐酸四环素的常用方法有：高效液相色谱法(HPLC) [5] [6] [7]、荧光法[8]、酶联免疫法(ELISA) [9]、表面等离子体共振法[10] [11]等一系列方法。虽然这些方法能够精确测量大多样品中抗生素的含量，但存在费力、费时、费钱，仪器设备昂贵，灵敏性差等问题。因此建立快速、简便、灵敏的四环素残留检测方法，对保障食品安全具有重要意义。

近年来，碳量子点(Carbon dots, CDs)由于优良的荧光性质和良好生物相容性，在荧光传感分析中受到了广泛关注[12] [13] [14] [15]。CDs 不但保持了碳材料本身的绿色环保、原料广泛、易修饰、制备成本低等优良性能，同时又具备发光波长可调、光稳定性好、色饱和强度高、双光子吸收面积大等独有优势，因而在光电器件领域和生物探针、光催化、细胞成像、化学传感等领域展现出广泛的应用前景[16] [17] [18]。近年来，人们更重视开发非共价偶联的荧光传感体系。构建非共价偶联荧光传感体系的一个常用方法是内滤效应。内滤效应本是荧光分析法中一个内在的误差来源，但近年来基于该效应成功构建了许多荧光传感体系[19] [20] [21] [22]。利用内滤效应构建荧光传感体系需要吸光体和荧光体两种光活性物质，若吸光体的吸收光谱和荧光体的激发或发射光谱有效重叠，则吸光体可以调节荧光体的荧光发射光谱。该法由于将吸光体的吸收信号转变为荧光信号，从而显著提高了方法的灵敏度。

基于荧光内滤效应，以四环素为吸光体、Mn 掺杂碳量子点为荧光体构建非共价偶联荧光传感体系，建立了一种测定食品中盐酸四环素的荧光分析法。该方法操作简单、选择性好、灵敏度高，已成功应用于实际样品的检测。

2. 实验部分

2.1. 试剂和仪器

SHIMADZU RF-6000 荧光光谱仪(SHIMADZU, 日本); 透射电镜仪(JEM-2011, 日本); 电子天平(BS224S, 上海赛多利斯天平公司); pH 计(PHS-3C, 上海精密科学仪器公司)。

1-(2-吡啶偶氮)-2-萘酚(PAN), 盐酸四环素(AR, Aladdin), 乙二胺四乙酸二钠(EDTA, AR, 国药集团化学试剂有限公司), 三氯乙酸(AR, 国药集团化学试剂有限公司); 各种金属盐均购于 Aladdin 公司, 均为分析纯(AR)或更高纯度实验用水为二次蒸馏水。

2.2. Mn 掺杂碳量子点(Mn-CDs)的制备

参考文献[23]的方法制备 Mn 掺杂碳量子点(Mn-CDs), 将 PAN (49.8 mg) 和 MnCl₂ (79.2 mg) 加入到 10 mL 无水乙醇中, 搅拌混匀后转移到水热反应釜(60 mL), 将反应釜置于烘箱中反应(180°C, 4 h)。反应结束后, 自然冷却至室温, 向所得溶液中加入超纯水(20 mL), 通过离心分离(11,000 rpm, 30 min), 去除不溶物。所得的水溶液经过冷冻干燥后, 即得到 Mn-CDs 粉末。采用同样的方法, 在上述制备过程中不加入 MnCl₂ 则可得到未掺杂 Mn 的碳量子点(PCDs)粉末。所制备的 Mn-CDs 和 PCDs 粉末重新分散到超纯水中, 分别得到浓度为 0.25 g·L⁻¹ 的溶液用于后续实验。

2.3. 实验方法

在 10 mL 的具塞刻度试管里依次加入 1.0 mL Mn-CDs (0.25 g·L⁻¹) 溶液、5.0 mL LB-R 缓冲液(pH 6.0)和一定体积的盐酸四环素标准溶液(或样品溶液), 用超纯水定容至刻度并摇匀。在激发波长 300 nm 条件下(激发和发射狭缝均为 10 nm), 分别测定空白溶液(不加入盐酸四环素或样品溶液)和测试溶液(加入 TC)在发射波长 360 nm 处的荧光强度(分别用 I₀ 和 I 表示)。计算 lg(I₀/I)。

2.4. 样品处理

本实验所用动物肉样品(鸡肉, 鲫鱼肉, 鸭肉), 均购于当地超市(郑州, 中原区)。分别称取出 5.0 g 粉碎样品, 置于具塞聚丙烯离心管中, 加入 20 mL 的 0.1 mol·L⁻¹ Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲溶液(pH 4.0), 振荡 20 min, 高速离心(10000 rpm、20 min), 用 0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液待测。

3. 结果与讨论

3.1. Mn-CDs 的表征

图 1(a)给出了所制备的 Mn-CDs 的 TEM 图。由图 1(a)可以看出, 制备的 Mn-CDs 近似球形, 窄粒径分布和较好的分散性。采用 FT-IR 对所制备的 Mn-CDs 和 PCDs 进行了表征, 结果如图 1(b)所示。从图 1(b)可以看出, 与 PCDs 的 FT-IR 图相比, Mn-CDs 的 FT-IR 图中一些典型的官能团的吸收峰(如 C=N, 吡啶 C-H, C=C)明显减弱, 这可能是由于 Mn 离子与吡啶 N 配位结合所导致。

3.2. Mn-CDs 的光谱性质

图 2(a)为 Mn-CDs 和 PCDs 的紫外 - 可见吸收光谱图, 从图可以看出, PCDs 的吸收峰位于 290 nm 处, 而 Mn-CDs 的吸收峰略有红移, 达到 300 nm。289 nm 是 n-π*跃迁的典型吸收带, Mn-CDs 的吸收峰红移可能是由于 Mn···O 配位键的形成。图 2(b)和图 2(c)是 Mn-CDs 的荧光光谱图, 在不同的激发波长(图 2(b), 250~350 nm, 图 2(c) 350~410 nm)条件下, 荧光发射峰从 330 nm 红移至 460 nm, 表现出明显的激发波长依赖性。当激发波长为 300 nm 时, Mn-CDs 在 360 nm 处有最大荧光发射峰。以硫酸喹啉(0.05 M,

激发波长为 360 nm, 荧光量子效率为 0.54)为参考标准, 测得 Mn-CDs 的荧光量子效率为 0.83。

同时也考察了 pH 对 Mn-CDs 的荧光强度的影响, 结果如图 2(d)所示。从图可以看出, Mn-CDs 在酸性条件下的荧光强度明显强于碱性条件下的荧光强度, 在 pH 2~4 和 pH 7~11 范围内, Mn-CDs 的荧光强度基本保持不变。

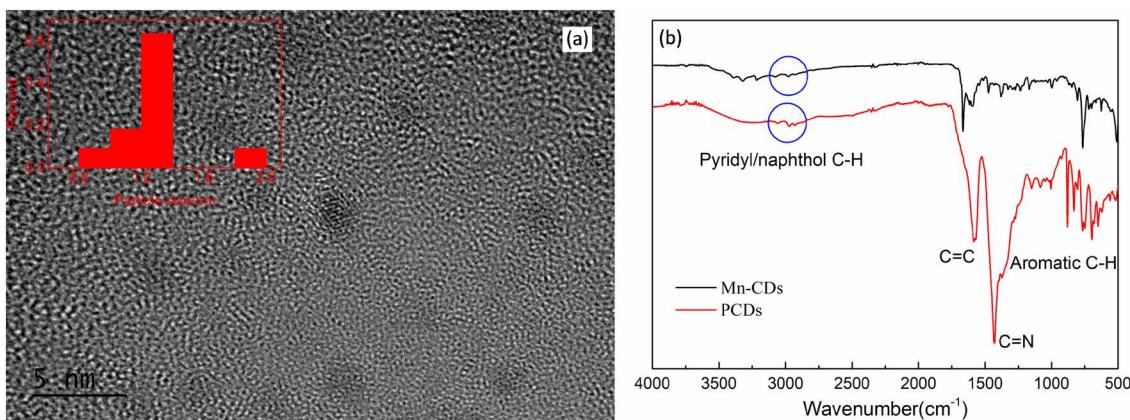


Figure 1. Characterization of CDs ((a) Typical TEM of the prepared Mn-CDs. (b) FT-IR spectra of the prepared Mn-CDs and PCDs)

图 1. Mn 掺杂碳量子点(Mn-CDs)的表征((a) TEM; (b) Mn-CDs 和 PCDs 的 FT-IR 光谱图)

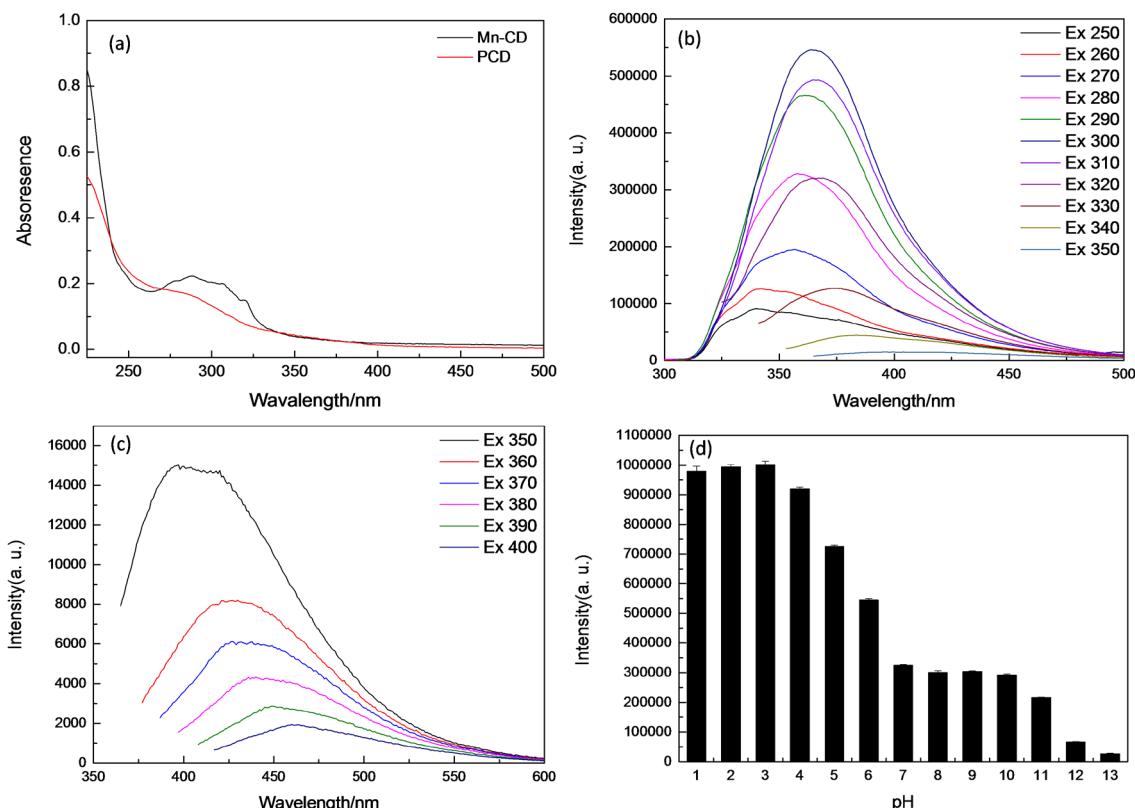


Figure 2. (a) UV-vis absorption spectra of prepared Mn-CDs and PCDs. Emission spectra of Mn-CDs at excitation wavelengths from (b) 250~350 nm and (c) 350~400 nm. (d) Effects of pH on fluorescence intensity of the Mn-CDs

图 2. (a) Mn-CDs 和 PCDs 的紫外 - 可见吸收光谱。Mn-CDs 的荧光发射光谱; (b) 激发波长范围 250~350 nm 和(c) 激发波长范围 350~400 nm。 (d) pH 对 Mn-CDs 荧光强度的影响

3.3. TC 对 Mn-CDs 的荧光内滤效应

在 pH6 的条件下, TC 在 360 nm 处具有明显的吸收峰, 与 Mn-CDs 的荧光发射峰具有较大的重叠(图 3(a)), 这表明 Mn-CDs 和 TC 之间可能发生共振能量转移(FRET)或者内滤作用(IFE)。在一定量的 Mn-CDs 溶液中, 分别加入不同浓度的 TC 标准溶液(1~200 μM), 依次扫描体系的荧光光谱, 结果如图 3(b)所示。从图可以看出, 随着 TC 浓度的增加, Mn-CDs 的荧光发射峰逐渐降低。加入和不加入 TC 时 Mn-CDs 的荧光强度分别为 I 和 I_0 , 则 $\lg(I_0/I)$ 与 TC 浓度(C, μM)之间具有良好的线性关系。线性方程为($\log(I_0/I) = 0.01535C + 0.01236$)。基于此建立的 TC 分析方法的检出限为 0.08 μM, 相对标准偏差为 2.1% (c = 100 μM)。

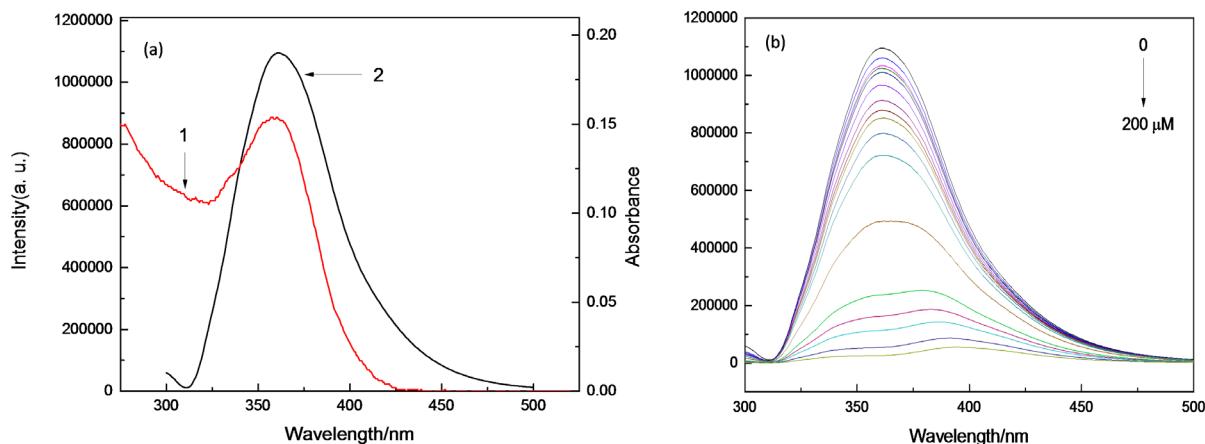


Figure 3. (a) UV-Vis absorption spectra of TC (curve 1) and the fluorescence emission spectra of Mn-CDs (curve 2). (b) Fluorescence responses of the Mn-CDs in the presence of different concentrations of TC (1~200 μM)
图 3. (a) 盐酸四环素的紫外 - 可见吸收光谱(曲线 1)和 Mn-CDs 的荧光发射光谱(曲线 2); (b) 体系中存在不同浓度的 TC 时, Mn-CDs 的荧光响应曲线(1~200 μM)

为了进一步确定 Mn-CDs 与 TC 之间的作用机理, 测定 Mn-CDs 在荧光猝灭前后的荧光寿命变化是鉴别荧光猝灭机理最直接的手段, 测定结果表明, Mn-CDs 的荧光寿命为 6.24 ns; 加入 TC 后 Mn-CDs 的荧光寿命为 6.25 ns, 这表明, Mn-CDs 在加入 TC 前后, 其荧光寿命并未发生明显变化。因此, 可以排除 Mn-CDs 与 TC 之间的 FRET 作用。

为了证明 Mn-CDs 与 TC 之间的内滤作用(IFE), 参考文献[24] [25]提出的数学模型对 Mn-CDs 的荧光进行了光谱校正, 校正方法可以用如下式子表示:

$$\frac{I_{corr}}{I_{obse}} = 10^{(A_{ex,x} + A_{em,y})}$$

等式中, x 和 y 分别代表测量过程中激发光束和发射光束的光程, A_{ex} 和 A_{em} 分别表示在所对应的激发波长和发射波长处所对应的紫外吸光度。Mn-CDs 与 TC 直接混合后, 迅速进行 UV-vis 吸收光谱的测定, 实验条件如与图 3(b)一致。如图 4, CDs 和 FITC 混合后的 UV-vis 吸收光谱, 通过上式对 Mn-CDs 的荧光强度进行校正, 结果显示校正之后 Mn-CDs 的实际荧光强度在加入不同量 TC 后强度基本保持不变, 因此可以确定 Mn-CDs 荧光的猝灭是由于加入 TC 后 Mn-CDs 和 TC 之间 IFE 作用引起。

3.4. Mn-CDs 荧光探针的选择性

在优化的实验条件下, 考察了常见的共存物质对荧光探针的影响。图 5(a)给出一系列有机共存物(100 μM)分别与 TC (10 μM)共存于 Mn-CDs 体系中时, 共存体系与 Mn-CDs-TC 体系的荧光强度没有明显差别,

这表明共存物对 Mn-CDs-TC 体系没有明显的影响。图 5(b)则考察了不同金属离子(100 μM)分别与 TC (10 μM)共存于 Mn-CDs 体系中时,除了 Fe^{3+} 离子外,其他金属离子共存体系与 Mn-CDs-TC 体系的荧光强度没有明显差别;而当 Fe^{3+} 离子降低至 10 μM 时,共存体系与 Mn-CDs-TC 体系的荧光强度具有良好的一致性。因此,Mn-CDs 作为 TC 的荧光探针具有良好的选择性。

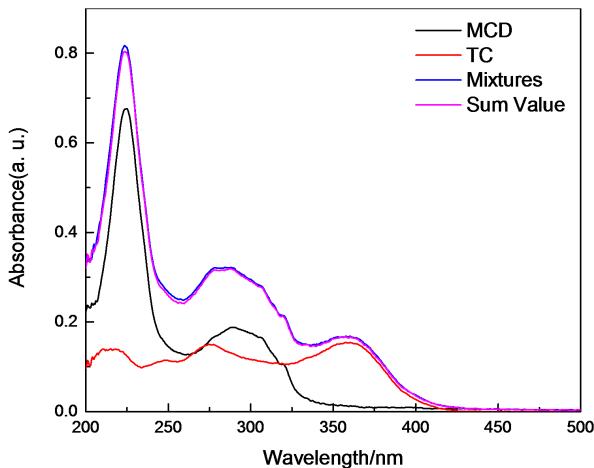


Figure 4. UV-vis absorption spectra of Mn-CDs, TC, Mn-CDs-TC mixtures and the sum value of absorbance of Mn-CDs and TC

图 4. Mn-CDs, TC 和 Mn-CDs-TC 混合体系的紫外 - 可见吸收光谱; Mn-CDs 和 TC 的吸收光谱的加和曲线

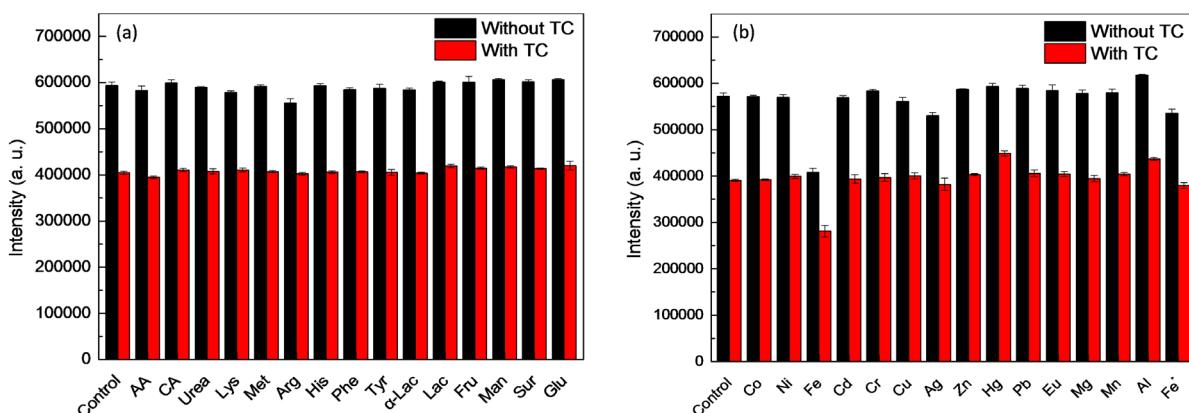


Figure 5. Interferences of (a) amino acids and (b) metal ions in BR buffer (pH 6.0). Concentrations of TC, amino acids, and metal ions are 100 μM (10 μM for substances indicated with *)

图 5. 干扰实验(a) 氨基酸; (b) 金属离子。(BR 缓冲液, pH 6.0, TC, 氨基酸和金属离子的浓度: 100 μM , 其中带有*浓度为 10 μM)

4. 实际样品分析

将本方法应用于鸡肉、鲫鱼肉和鸭肉样品中 TC 的测定。采用标准曲线法对提取液中 TC 含量进行了测定,并做了加入回收实验,回收率在 102.1%~115.1%之间(见表 1)。

5. 结论

以 PAN 和 MnCl_2 为原料,一步水热法制备了 Mn 掺杂 CDs。以所制备 Mn-CDs 为荧光探针,构建了

基于内滤效应(IFE)的 TC 荧光分析新方法。该方法的检出限为 0.012 μM, 线性范围为 1~200 μM。该方法成功应用于动物源食品中 TC 的残留分析。

Table 1. Determination of TC in animal meat samples (n = 3, mean ± SD, μg/g)

表 1. 动物肉样品中 TC 含量的测定(n = 3, mean ± SD, μg/g)

| Samples | Added value | Determined value | Recovery (%) |
|-----------|-------------|------------------|--------------|
| | 0 | - | - |
| chicken | 19.2 | 20.6 ± 0.2 | 107.3% |
| | 96.5 | 101.8 ± 2.1 | 105.5% |
| | 0 | - | - |
| Carp meat | 19.2 | 19.6 ± 0.4 | 102.1% |
| | 96.5 | 102.7 ± 1.6 | 106.4% |
| | 0 | - | - |
| Duckmeat | 19.2 | 22.1 ± 0.2 | 115.1% |
| | 96.5 | 104.1 ± 1.7 | 104.7% |

基金项目

河南工业大学学科教融合项目。

参考文献

- [1] Tan, H., Ma, C., Song, Y., et al. (2013) Determination of Tetracycline in Milk by Using Nucleotide/Lanthanide Coordination Polymer-Based Ternary Complex. *Biosensors and Bioelectronics*, **50**, 447-452. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.07.011>
- [2] Huang, X., Liu, C., Li, K., et al. (2013) Occurrence and Distribution of Veterinary Antibiotics and Tetracycline Resistance Genes in Farmland Soils around Swine Feedlots in Fujian Province, China. *Environmental Science and Pollution Research*, **20**, 9066-9074. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1905-5>
- [3] (2003) The Code of Federal Regulations, Title 21, Part 556, Section 152, 500, and 720. US Government Printing Office, Washington DC.
- [4] (2009) Commission Regulation (EU) No 37/2010. Official Journal of the European Union L.
- [5] Hussien, E.M. (2014) Development and Validation of an HPLC Method for Tetracycline-Related USP Monographs. *Biomedical Chromatography*, **28**, 1278-1283. <https://doi.org/10.1002/bmc.3161>
- [6] Song, J., Zhang, Z.H., Zhang, Y.Q., et al. (2014) Ionic Liquid Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Combined with High Performance Liquid Chromatography for Determination of Tetracycline Drugs in Eggs. *Analytical Methods*, **6**, 6459-6466. <https://doi.org/10.1039/C4AY01079E>
- [7] 罗庆, 孙丽娜, 胡筱敏. 固相萃取-高效液相色谱法测定畜禽粪便中罗红霉素和 3 种四环素类抗生素[J]. 分析试验室, 2014, 33(8): 885-888.
- [8] Li, X., Li, C. and Chen, L. (2015) Preparation of Multifunctional Magnetic-Fluorescent Nanocomposites for Analysis of Tetracycline Hydrochloride. *New Journal of Chemistry*, **39**, 9976-9982. <https://doi.org/10.1039/C5NJ01365H>
- [9] 檀尊社, 陆恒, 邵伟, 等. 胶体金免疫层析法快速检测水产品中四环素类药物残留[J]. 西北农业学报, 2010, 19(8): 32-37.
- [10] 陈玲, 万宇平, 邵兵, 等. 牛奶中 β-内酰胺和四环素类抗生素二联检测试纸条的初步研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(7): 776-783.
- [11] Choma, I. (2000) TLC Determination of Tetracyclines in Milk. *Journal of Planar Chromatography*, **13**, 261-265.
- [12] Zu, F., Yan, F., Bai, Z., et al. (2017) The Quenching of the Fluorescence of Carbon Dots: A Review on Mechanisms and Applications. *Microchimica Acta*, **184**, 1899-1914. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2318-9>
- [13] Song-Ling, Y.E., Huang, J.J., Lin, L., et al. (2017) Preparation of Carbon Dots and Their Application in Food Analysis

- as Signal Probe. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **45**, 1571-1581.
[https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(17\)61045-4](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(17)61045-4)
- [14] Shereema, R.M., Rao, T.P., Sameer Kumar, V.B., et al. (2018) Individual and Simultaneous Electrochemical Determination of Metanil Yellow and Curcumin on Carbon Quantum Dots Based Glassy Carbon Electrode. *Materials Science & Engineering C*, **93**, 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.07.055>
- [15] Mintz, K., Waideley, E., Zhou, Y., et al. (2018) Carbon Dots and Gold Nanoparticles Based Immunoassay for Detection of Alpha-L-Fucosidase. *Analytica Chimica Acta*, **1041**, 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.08.055>
- [16] Shi, W., Li, X. and Ma, H. (2012) A Tunable Ratiometric pH Sensor Based on Carbon Nanodots for the Quantitative Measurement of the Intracellular pH of Whole Cells. *Angewandte Chemie-International Edition*, **51**, 6432-6435. <https://doi.org/10.1002/anie.201202533>
- [17] Wu, P. and Yan, X.P. (2013) Doped Quantum Dots for Chemo/Biosensing and Bioimaging. *Chemical Society Reviews*, **42**, 5489-5521. <https://doi.org/10.1039/c3cs60017c>
- [18] Gao, X., Du, C., Zhuang, Z., et al. (2016) Carbon Quantum Dot-Based Nanoprobes for Metal Ion Detection. *Journal of Materials Chemistry C*, **4**, 6927-6945. <https://doi.org/10.1039/C6TC02055K>
- [19] Na, W., Liu, H., Wang, M., et al. (2017) A Boronic Acid Based Glucose Assay Based on the Suppression of the Inner Filter Effect of Gold Nanoparticles on the Orange Fluorescence of Graphene Oxide Quantum Dots. *Microchimica Acta*, **184**, 1463-1470. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2090-x>
- [20] Ding, P., Xin, X., Zhao, L., et al. (2017) On-off-On Fluorescent Oligomer as a Chemosensor for the Detection of Manganese (VII), Sulfur (II) and Aldehydes Based on the Inner Filter Effect. *RSC Advances*, **7**, 3051-3058. <https://doi.org/10.1039/C6RA25583C>
- [21] Mao, M., Tian, T., He, Y., et al. (2017) Inner Filter Effect Based Fluorometric Determination of the Activity of Alkaline Phosphatase by Using Carbon Dots Codoped with Boron and Nitrogen. *Microchimica Acta*, **185**, 17. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2541-4>
- [22] 耿凤华, 王永祥, 丁秀云, 等. 基于内滤效应的信号增强型诺氟沙星荧光分析法[J]. 分析测试学报, 2012, 31(2): 195-199.
- [23] Wang, Y., Zhang, Y., Jia, M., et al. (2015) Functionalization of Carbonaceous Nanodots from Mn(II)-Coordinating Functional Knots. *Chemistry*, **21**, 14843-14850. <https://doi.org/10.1002/chem.201502463>
- [24] Qun, G. and Kenny, J.E. (2009) Improvement of Inner Filter Effect Correction Based on Determination of Effective Geometric Parameters Using a Conventional Fluorimeter. *Analytical Chemistry*, **81**, 420-426. <https://doi.org/10.1021/ac801676j>
- [25] Liu, H., Xu, C., Bai, Y., et al. (2017) Interaction between Fluorescein Isothiocyanate and Carbon Dots: Inner Filter Effect and Fluorescence Resonance Energy Transfer. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **171**, 311-316. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.08.018>

Hans 汉斯

知网检索的两种方式：

1. 打开知网首页 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
 下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN: 2330-1724，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
 左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
 期刊邮箱：ojns@hanspub.org