

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2019.03.013

液相色谱-串联质谱法测定虾饲料中7种真菌毒素

施琦^{1,2}, 杨嘉丽¹, 王雅玲^{2*}, 廖建萌^{2,3}, 郑景娇^{1,2}, 孙力军²

- (1. 广东省湛江市质量计量监督检测所 国家海产品质量监督检验中心(湛江), 广东 湛江 524096;
2. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东普通高等学校水产品
深加工重点实验室, 广东 湛江 524088; 3. 湛江市食品药品检验所, 广东 湛江 524022)

摘要: 建立了虾饲料中黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)、黄曲霉毒素 M₁ (AFM₁)、T-2 毒素 (T-2)、HT-2 毒素 (HT-2)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON)、赭曲霉毒素 A (OTA) 和玉米赤霉烯酮 (ZEN) 的液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 同时检测方法。样品中加入 15 mL 乙腈-水 (体积比 4:1) 和 10 mL 乙腈饱和正己烷, 涡旋混匀, 超声提取, MycoSpin™400 多毒素净化柱净化后上机测定。采用 Hypersil Gold (150 mm × 2.1 mm, 5 μm) 色谱柱进行分离, 以甲醇-水 (含 0.03% 氨水) 为流动相梯度洗脱, 在电喷雾电离模式下正、负离子同时扫描检测, 基质匹配外标法定量。在优化条件下, 7 种真菌毒素的线性相关系数 (r^2) 均大于 0.991, 检出限为 1.83 ~ 12.63 μg/kg。在高、中、低 3 个加标水平下, 各目标毒素的回收率为 87.5% ~ 116%, 相对标准偏差为 2.4% ~ 18%。该法可为水产饲料中多种真菌毒素的同时检测提供参考。

关键词: 真菌毒素; 液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS); 饲料

中图分类号: O657.7; O656.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)03-0334-05

Determination of 7 Mycotoxins in Shrimp Feed by Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

SHI Qi^{1,2}, YANG Jia-li¹, WANG Ya-ling^{2*}, LIAO Jian-meng^{2,3}, ZHENG Jing-jiao^{1,2}, SUN Li-jun²

- (1. National Marine Products Quality Supervision & Inspection Center, Zhanjiang Institute of Supervision & Test on Quality & Measure, Zhanjiang 524096, China; 2. Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;
3. Zhanjiang Institute for Food & Drug Control, Zhanjiang 524022, China)

Abstract: A liquid chromatography-tandem mass spectrometric (LC-MS/MS) method was developed for the quantitative determination of aflatoxin B₁ (AFB₁), aflatoxin M₁ (AFM₁), T-2 toxin (T-2), HT-2 toxin (HT-2), deoxynivalenol (DON), ochratoxin A (OTA) and zearalenone (ZEN) in shrimp feed. Samples were extracted with 15 mL acetonitrile-water (4:1, by volume), and degreased with 10 mL acetonitrile-saturated hexane. The extract was cleaned up with a MycoSpin™400 multitoxin LC-MS/MS clean-up column. The target compounds were separated on an Hypersil Gold (150 mm × 2.1 mm, 5 μm) chromatographic column by gradient elution with methanol-water containing 0.03% ammonia as mobile phase, and analyzed simultaneously by electron spray ionization mass spectrometry in positive or negative ion mode, and quantified by the matrix-matched external standard method. Under the optimized conditions, there were good linearities for the analytes in corresponding concentration range with their correlation coefficients (r^2) more than 0.991. The limits of detection (LOD) ranged from 1.83 μg/kg to 12.63 μg/kg. Average recoveries for the target mycotoxins at high, medium and low spiked levels ranged from 87.5% to 116% with relative standard deviations of 2.4% - 18%. The developed method could provide a reference for the simultaneous determination of mycotoxins in aquatic feeds.

Key words: mycotoxin; liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); feed

收稿日期: 2018-08-30; 修回日期: 2018-10-13

基金项目: 广东省质量技术监督局科技项目 (2016zz04); 国家自然科学基金面上项目 (31371777, 31871898)

* 通讯作者: 王雅玲, 博士, 教授, 研究方向: 真菌毒素危害与控制, E-mail: wangylchina@163.com

真菌毒素是由产毒真菌产生的一类对人类有害的次级代谢产物,目前已报道的真菌毒素有400余种^[1-2]。粮食和饲料是真菌毒素污染的重灾区,而饲料被真菌污染的可能性更大^[3]。随着水产养殖业的竞争日益激烈,水产饲料中的植物性蛋白原料比例增加^[4],增大了水产饲料被真菌毒素污染的风险。由于真菌毒素不易被加工工艺和高温所破坏,所以一旦被污染,水产饲料中的真菌毒素可能通过食物链传递给人体,导致人体内DNA、RNA、蛋白质、各种酶类的合成被抑制以及细胞结构被破坏^[5-6],从而威胁人类健康。因此,从水产养殖源头监控水产饲料中真菌毒素的污染情况可为水产品的食用安全提供保障。

黄曲霉毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、T-2毒素、HT-2毒素、赭曲霉毒素和玉米赤霉烯酮均是饲料中常见且各国重点监控和关注的真菌毒素^[3,7-9]。我国标准中明确规定了其中5种毒素(黄曲霉毒素B₁、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、T-2毒素、赭曲霉毒素A和玉米赤霉烯酮)的限量和检测方法标准,为饲料中真菌毒素的监管提供了指导^[10-13]。但我国GB 13078-2017《饲料卫生标准》中采用不同方法检测几种真菌毒素,操作复杂,耗时长,监管效率低。因此,建立省时、省力且定性定量准确的真菌毒素同时检测方法显得尤为重要。现有真菌毒素的检测方法可分为生物测定法、化学分析法及仪器分析法。其中生物测定法耗时长,且无法准确定量,现已很少使用。化学分析法对设备要求不高,但精确度低,操作复杂。仪器分析法是目前应用最广泛的分析方法,主要有气相色谱法、液相色谱法、气相色谱或液相色谱与质谱联用法。其中,气相色谱法和液相色谱法需对真菌毒素进行衍生,步骤繁琐;而色谱与质谱联用技术前处理操作简单,且定性更准确可靠,成为真菌毒素分析的前沿方法。本研究采用高效液相色谱-质谱联用技术(LC-MS/MS)首次建立了虾饲料中7种真菌毒素的同时检测方法,优化了仪器条件,采用电喷雾模式下正负离子同时扫描,各化合物均能获得较高的离子化效率;利用真菌毒素多毒素净化柱去除杂质并结合基质加标曲线定量方法,有效降低了基质效应。本方法的建立为水产饲料中真菌毒素的快速定量检测提供了参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum Access 液相色谱-质谱联用仪(Thermo Fisher公司);XS205电子分析天平(Mettler Toledo公司);HU-3120B可温控超声波提取器(天津恒奥科技发展有限公司);VTX-3000L旋涡混合器(Vortex公司);Multi Reax旋涡振荡器、Hei-VAP Value G3旋转蒸发仪(Heidolph公司);离心机(上海安亭科学仪器厂)。

标准品:黄曲霉毒素B₁(AFB₁,纯度98%)、玉米赤霉烯酮(ZEN,纯度99.7%)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON,纯度95%)购于o2si公司,黄曲霉毒素M₁(AFM₁,纯度≥98%)、HT-2毒素(HT-2,纯度≥98%)、赭曲霉毒素A(OTA,纯度>98%)购于Pribolab公司,T-2毒素(T-2,纯度≥98%)购于TRC公司;甲醇(天津四友精细化学品有限公司)、乙腈(JHD公司)均为色谱纯;实验用水为超纯水(由arium 611VF超纯水机制备);其余试剂均为国产分析纯。

1.2 标准溶液的配制

精密称取T-2毒素标准品10.0 mg(精确至0.01 mg)于50 mL容量瓶中,用乙腈溶解后定容,混匀后得20 mg/L的单标储备液。精密移取1.0 mL其余5种毒素标准品至10 mL容量瓶,用乙腈定容后得液态标准品单标储备液,质量浓度分别为AFB₁ 2.5 mg/L,AFM₁ 1.0 mg/L,ZEN 5.0 mg/L,DON 20.0 mg/L,HT-2 10.0 mg/L,OTA 10.0 mg/L。储备液均置于棕色瓶中,于-18℃冰箱保存。临用时精密移取适量单标储备液于10 mL容量瓶,用甲醇定容,得到7种毒素的混合标准储备液,其中AFB₁和AFM₁的质量浓度为100 μg/L,OTA和T-2为500 μg/L,DON、HT-2和ZEN为1 000 μg/L。

1.3 样品前处理

1.3.1 提取 精确称取粉碎的饲料样品2.0 g(精确至0.01 g)于50 mL离心管中,加入15 mL乙腈-水(体积比4:1)和10 mL乙腈饱和正己烷,涡旋混匀后超声20 min。4 000 r/min离心10 min,收集中间乙腈层,在残渣中加入15 mL乙腈-水(4:1)重复提取1次,合并乙腈层,旋转蒸发至近干,残液用含5%乙酸的乙腈-水(1:1)定容至5 mL。

1.3.2 净化 取 750 μL 提取后定容溶液, 用 MycoSpinTM400 多毒素净化柱净化, 收集滤液上机检测。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil Gold (150 mm \times 2.1 mm, 5 μm); 流速: 250 $\mu\text{L}/\text{min}$; 进样量: 10 μL ; 流动相: A 为甲醇, B 为水(含 0.03% 氨水)。梯度洗脱条件: 0~1 min, 5% A; 1~4 min, 5%~95% A; 4~7 min, 95% A; 7~7.1 min, 95%~5% A; 7.1~12 min, 5% A。

1.4.2 质谱条件 离子化模式: ESI^+ 和 ESI^- ; 扫描模式: 选择反应监测(SRM); 喷雾电压: 4 000 V; 鞘气压力: 2.41×10^5 Pa; 辅助气流量: 2.1 L/min; 毛细管温度: 350 $^\circ\text{C}$; 碰撞压力: 0.2 Pa。7 种毒素的质谱参数见表 1。

表 1 选择反应监测模式下 7 种毒素的质谱参数
Table 1 MS/MS conditions for 7 mycotoxins on SRM mode

Compound	Parent ion(m/z)	Daughter ion(m/z)	Collision energy(eV)	Ionization mode
AFB ₁ (黄曲霉毒素 B ₁)	313.0	241.1, 285.1	37, 23	ESI^+
AFM ₁ (黄曲霉毒素 M ₁)	328.7	258.7, 272.9	23, 23	ESI^+
T-2(T-2 毒素)	484.2	215.0, 245.0	17, 14	ESI^+
HT-2(HT-2 毒素)	442.2	245.0, 262.9	20, 13	ESI^+
DON(脱氧雪腐镰刀菌烯醇)	295.0	247.0, 265.0	12, 14	ESI^-
OTA(赭曲霉毒素 A)	402.0	167.1, 357.8	40, 23	ESI^-
ZEN(玉米赤霉烯酮)	317.0	174.8, 273.1	27, 22	ESI^-

2 结果与讨论

2.1 前处理条件的优化

2.1.1 提取溶剂的选择 前期实验建立的水产品中 T-2 与 HT-2 毒素的检测方法^[14]采用乙酸乙酯作提取试剂, 但由于饲料基质较复杂, 脂肪含量相对较大, 本实验选择粘度较小、稳定性好且溶解性能高的乙腈作为提取试剂, 比较了乙腈、乙腈-水(4:1)和乙腈-水(1:1)作为提取试剂的提取效果(图 1)。结果显示, T-2 和 HT-2 以乙腈提取时效果最好, 其余 5 种毒素以乙腈-水(4:1)提取时效果最好。综合考虑, 选择乙腈-水(4:1)作为提取试剂。

2.1.2 净化方式的选择 实验对比了 C₁₈ 固相萃取小柱、HLB 固相萃取小柱和 MycoSpinTM400 多毒素净化柱的净化效果, 发现采用 C₁₈ 柱净化时 HT-2 和 DON 的回收率较低(分别为 55.0%、19.0%), 其他 5 种毒素的回收率为 68.5%~127%, 7 种毒素的相对标准偏差(RSD)为 5.4%~24%; 用 HLB 柱净化时有 4 种毒素的回收率低于 60%, 7 种毒素的 RSD 为 13%~23%; 而 MycoSpinTM400 多毒素净化柱的净化效果总体较好, 回收率为 64.3%~101%, RSD 为 5.1%~13%, 满足检测要求。因此, 实验选择 MycoSpinTM400 多毒素净化柱。

2.2 仪器条件的优化

实验对比了甲醇-乙酸铵(含 0.1% 甲酸)、甲醇-水、乙腈-水、甲醇-水(含 0.1% 甲酸)、甲醇-水(含 0.03% 氨水)和乙腈-水(含 0.03% 氨水)作为流动相时 7 种毒素的分离效果。结果表明, 以甲醇-乙酸铵(含 0.1% 甲酸)为流动相时, 因 T-2 与 HT-2 均易与 NH_4^+ 结合形成 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ 加合离子, 所以这两种毒素的质谱响应更稳定, 但 DON 的响应值降低, 这是由于其易与 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$ 和 CH_2COO^- 结合形成加合离子, 且其加合离子形成的子离子不稳定。实验发现流动相中加入少量氨水能增强质谱离子化效率, 7 种毒素均能获得较好的响应值。而相比于乙腈, 以甲醇作有机相时 HT-2 和

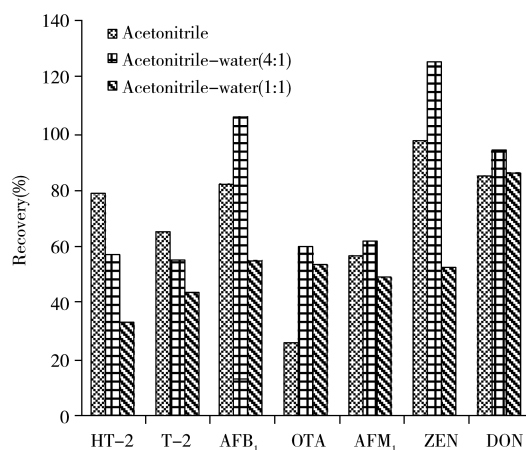


图 1 不同提取溶剂对虾饲料中真菌毒素的提取效率
Fig. 1 Extraction efficiencies of different solvents for mycotoxins in shrimp feed

DON 的响应较高,因此最终选择甲醇-水(含 0.03% 氨水)为流动相。

对质谱条件进行优化,通过全扫描发现 AFB₁、AFM₁、T-2 和 HT-2 在 ESI⁺ 模式下响应较高, AFB₁ 和 AFM₁ 形成 [M+1]⁺ 准分子离子峰, T-2 与 HT-2 形成 [M+NH₄]⁺ 准分子离子峰。DON、ZEN 和 OTA 在 ESI⁻ 模式下响应较高,均形成 [M-1]⁺ 准分子离子峰。通过二级质谱扫描获得各分子离子峰的子离子,选择丰度较高的两个子离子作为辅助定性及定量离子,通过对采集母离子及其 2 个子离子获得的总离子流图进行积分后定量。优化的质谱条件见“1.4.2”。

2.3 基质效应的考察

基质效应(ME)是影响 LC-MS/MS 定量分析准确性的重要因素^[15]。本实验通过比较标准溶液和加标空白样品中目标物的响应值来考察基质效应,计算公式为 $ME = (\text{空白基质标样的响应值}/\text{纯溶剂标样的响应值} - 1) \times 100\%$, ME 为正值表示存在基质增强效应,负值则表示存在基质抑制效应^[16]。在空白样品中加入中等浓度的标准溶液(AFB₁、AFM₁ 为 25 μg/kg, T-2、OTA 为 125 μg/kg, DON、HT-2、ZEN 为 250 μg/kg)考察基质效应,结果显示有 4 种毒素的 ME 值超过 20%,表明基质效应对定量检测具有显著影响^[17]。为了定量更加准确,选择基质加标法绘制标准曲线。

2.4 方法验证

2.4.1 选择性 按照 GB/T 27417-2017 规定,所建立的方法应具有一定选择性^[18]。本实验通过对比空白样品与空白加标样品的出峰情况确认方法的选择性。空白样品与加标样品按照本方法处理后上机测定,结果显示目标毒素出峰区域无干扰,方法具有良好的选择性(图 2)。

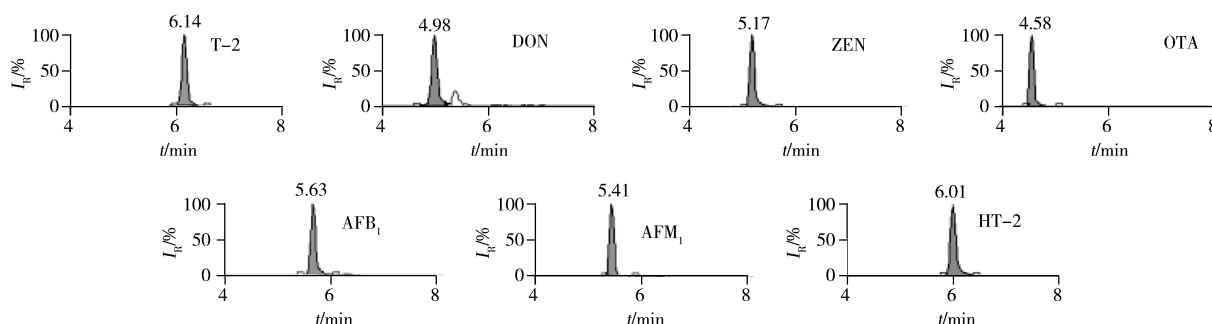


图2 空白加标虾饲料中真菌毒素的 SRM 离子流图

Fig. 2 SRM ion chromatograms of mycotoxins in spiked blank shrimp feed sample

AFB₁ and AFM₁ spiked 5 μg/kg; T-2 and OTA spiked 25 μg/kg; DON, HT-2 and ZEN spiked 50 μg/kg

2.4.2 线性关系 本实验采用基质匹配法绘制标准曲线使定量更加准确^[19]。在空白样品中加入不同质量浓度的混合标准溶液,采用本方法处理后上机测定。以 7 种毒素的质量浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线,结果显示在一定浓度范围内 7 种毒素均呈良好的线性关系,相关系数(r^2)均大于 0.991(表 2)。

表 2 7 种真菌毒素的线性范围、相关系数(r^2)、检出限、定量下限、回收率及相对标准偏差
Table 2 Linear ranges, correlation coefficients(r^2), LODs, LOQs, recoveries and RSDs of 7 mycotoxins

Compound	Linear range (μg/L)	r^2	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)	Added (μg/kg)	Recovery (%)	RSD (%)
AFB ₁	1~20	0.996 2	5.04	15.12	5, 25, 50	97.9, 93.7, 99.9	18, 14, 4.1
AFM ₁	1~20	0.993 5	1.83	5.49	5, 25, 50	104, 87.5, 116	3.2, 8.7, 9.8
T-2	5~100	0.998 9	5.48	16.44	25, 125, 500	110, 88.9, 92.3	2.4, 13, 11
HT-2	10~200	0.996 4	8.25	24.75	50, 250, 500	99.0, 92.3, 98.1	14, 14, 8.8
DON	10~200	0.993 6	12.63	37.89	50, 250, 500	105, 102, 94.0	15, 12, 10
OTA	5~100	0.991 3	5.19	15.57	25, 125, 500	95.2, 92.1, 90.3	12, 11, 7.2
ZEN	10~200	0.999 2	5.87	17.61	50, 250, 500	89.1, 109, 92.6	13, 12, 9.2

2.4.3 检出限与定量下限 采用本方法对低浓度加标的空白样品测定 10 次,检测结果的标准偏差为 s ,以样品空白值 + 4.65 s 为检出限(LOD)^[18];以 3 倍 LOD 作为定量下限(LOQ)。计算得到 7 种毒素的 LOD 为 1.83~12.63 μg/kg, LOQ 为 5.49~37.89 μg/kg(表 2),完全满足 GB 13078-2017 的限值要求(AFB₁ 20 μg/kg, OTA 100 μg/kg, ZEN 500 μg/kg, T-2 500 μg/kg, DON 3 000 μg/kg)^[10]。

2.4.4 回收率与相对标准偏差 在空白样品中分别添加3个浓度水平的标准溶液,每个浓度平行测定3次,计算回收率及RSD。由表2可知,7种毒素的回收率为87.5%~116%,RSD为2.4%~18%,满足GB/T 27417-2017^[18]的要求。

2.5 实际样品的测定

采用该方法测定了26个虾饲料样品,7种毒素均有检出,其中AFB₁的检出率为46.2%,含量为5.89~667 μg/kg;AFM₁的检出率为23.1%,含量为1.92~3.08 μg/kg;T-2的检出率为15.4%,含量为448~4250 μg/kg;HT-2的检出率为65.4%,含量为8.90~13.72 μg/kg;OTA的检出率为53.8%,含量为14.6~44.6 μg/kg;DON的检出率为57.7%,含量为69.9~563 μg/kg;ZEN的检出率为30.8%,含量为8.90~30.0 μg/kg。

3 结 论

本研究建立了虾饲料中7种真菌毒素的LC-MS/MS同时检测方法,并对样品前处理和仪器条件进行了优化。方法简单易操作,定性定量准确,节省了检测时间,且选择性好,定量下限远低于我国饲料标准限值要求,回收率及精密度均满足GB/T 27417-2017的要求。此方法的建立可为水产饲料中多种真菌毒素的同时快速检测提供参考。

参考文献:

- [1] Hussein H S, Brasel J M. *Toxicology*, **2001**, 167(2): 101-134.
- [2] Marin S, Ramos A J, Cano-Sancho G, Sanchez V. *Food Chem. Toxicol.*, **2013**, 60: 218-237.
- [3] Shi H T, Li S L, Bai Y Y, Prates L L, Lei Y G, Yu P Q. *Food Control*, **2018**, 91: 202-215.
- [4] Bi S Y, Wang Y L, Wang X B, Liu X Y, Zhu Z Q, Zhu H, Wang B Z. *J. Anhui Agric. Sci.* (毕思远, 王雅玲, 王小博, 刘晓燕, 朱志强, 朱海, 王炳志. 安徽农业科学), **2017**, 45(21): 92-95, 98.
- [5] Me Z. *J. Saudi Chem. Soc.*, **2011**, 15(2): 129-144.
- [6] Sun L, Huo J L, Cui W G, Chu X G. *Food Sci.* (孙利, 霍江莲, 崔维刚, 储晓刚. 食品科学), **2013**, 34(19): 367-375.
- [7] Eskola M, Altieri A, Galobart J. *World Mycotoxin Journal*, **2018**, 11(2): 1-14.
- [8] Gruber-Dorninger C, Jenkins T, Schatzmayr G. *World Mycotoxin Journal*, **2018**, 11(3): 369-383.
- [9] Chen R. *China Feed*(陈茹. 中国饲料), **2013**, (17): 38-42.
- [10] GB 13078-2017. Hygienical Standard for Feeds. National Standards of the People's Republic of China(饲料卫生标准. 中华人民共和国国家标准).
- [11] GB/T 30956-2014. Determination of Deoxynivalenol in Feeds - High Performance Liquid Chromatography with Immunoaffinity Column Clean-up. National Standards of the People's Republic of China(饲料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法. 中华人民共和国国家标准).
- [12] GB/T 30957-2014. Determination of Ochratoxin A in Feeds - High Performance Liquid Chromatography with Immunoaffinity Column Clean-up. National Standards of the People's Republic of China(饲料中赭曲霉毒素A的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法. 中华人民共和国国家标准).
- [13] NY/T 2071-2011. Determination of Aflatoxins, Zearalenone and T-2 in Feeds - Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry. Agricultural Industry Standards of the People's Republic of China(饲料中黄曲霉毒素、玉米赤霉烯酮和T-2毒素的测定 液相色谱-串联质谱法. 中华人民共和国农业行业标准).
- [14] Wang X B, Shi Q, Wang Y L, Liao J M, Liu Y, Wu Y S, Gao P, Li J R. *Food Sci.* (王小博, 施琦, 王雅玲, 廖建萌, 刘阳, 吴移山, 高平, 励建荣. 食品科学), **2016**, 37(24): 164-169.
- [15] Sun W H, Yang H, Cao Z Y, Ma Y N, Qin M L, Chai S S, Chen M X. *J. Instrum. Anal.* (孙伟华, 杨欢, 曹赵云, 马有宁, 秦美玲, 柴爽爽, 陈铭学. 分析测试学报), **2017**, 36(1): 47-53.
- [16] Wei Y J, Feng M, Huang J, Zhu Z Y, He J, Shen J R, He Z H, Qin X, Ding T. *J. Instrum. Anal.* (魏云计, 冯民, 黄娟, 朱臻怡, 何健, 沈金荣, 何正和, 秦娴, 丁涛. 分析测试学报), **2018**, 37(6): 729-733.
- [17] Zhang X N, Nie J Y, Yan Z, Cheng Y, Wang Y J. *J. Instrum. Anal.* (张晓男, 聂继云, 闫震, 程杨, 王玉娇. 分析测试学报), **2017**, 36(5): 588-594.
- [18] GB/T 27417-2017. Conformity Assessment - Guidance on Validation and Verification of Chemical Analytical Methods. National Standards of the People's Republic of China(合格评定化学分析方法确认和验证指南. 中华人民共和国国家标准).
- [19] Peng X J, Zeng L Z, Wu C C, Liang W H. *J. Instrum. Anal.* (彭晓俊, 曾丽珠, 伍长春, 梁伟华. 分析测试学报), **2017**, 36(6): 738-743.