

QuEChERS 前处理结合 HPLC - Q - TOF/MS 非靶向快速筛查凉茶中的非法添加物

曾广丰^{1,2}, 谢建军^{1,2*}, 王志元^{1,2}, 陈峰^{1,2}, 李菊^{1,2}

(1. 广东检验检疫技术中心, 广东 广州 510623; 2. 广东省动植物与食品进出口
技术措施研究重点实验室, 广东 广州 510623)

摘要: 建立了 QuEChERS 法净化, 结合高效液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱法 (HPLC - Q - TOF/MS) 非靶向快速筛查凉茶中未知非法添加物的方法。凉茶中的非法添加物经 0.5% 乙酸 - 乙腈提取, 氨丙基粉净化, C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) 分离, HPLC - Q - TOF/MS 测定。利用 8 种质控化合物建立的筛查方法检出限为 2.0 ~ 10 μg/kg, 定量下限为 5.0 ~ 25 μg/kg。3 个不同加标水平的平均回收率为 75.8% ~ 95.6%, RSD (n = 6) 为 2.1% ~ 6.5%。在该定量方法基础上利用目标化合物特征离子的精确质量数、同位素匹配、二级碎片信息进行数据库匹配, 无标准品情况下非靶向筛查非法添加物。结果表明, 该方法无需标准品即可快速筛查凉茶中的非法添加西药, 能应用于凉茶样品的实际筛查。应用该方法对 50 份散装凉茶样品进行测定, 其中 10 份凉茶样品检出对乙酰氨基酚, 含量为 4.14 ~ 2188 mg/kg。该方法快速、准确、分析通量高, 可为凉茶中非法添加物的快速筛查和质量控制提供重要依据。

关键词: QuEChERS 法; 高效液相色谱 - 四极杆 - 飞行时间质谱 (HPLC - Q - TOF/MS); 非靶向; 凉茶; 非法添加物

中图分类号: O657.63; S571.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2019)04-0429-06

Non-target Screening of Illegal Additive Residues in Herbal Teas by High Performance Liquid Chromatography - Quadrupole - Time-of-Flight Mass Spectrometry with QuEChERS Purification

ZENG Guang-feng^{1,2}, XIE Jian-jun^{1,2*}, WANG Zhi-yuan^{1,2}, CHEN Feng^{1,2}, LI Ju^{1,2}

(1. Inspection & Quarantine Technology Center of Guangdong, Guangzhou 510623, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Import and Export Technical Measures of Animal, Plant and Food, Guangzhou 510623, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography - quadrupole - time-of-flight mass spectrometric (HPLC - Q - TOF/MS) method with a modified QuEChERS purification was developed for the rapid screening of unknown illegal additive residues in herbal teas. The target compounds in samples were extracted with 0.5% acetic acid - acetonitrile, cleaned with NH₂ sorbent and separated on a C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), then determined by HPLC - Q - TOF/MS. The detection limits and the quantitation limits for 8 control drugs were in the ranges of 2.0 - 10 μg/kg and 5.0 - 25 μg/kg, respectively. The average recoveries for the samples at three spiked levels ranged from 75.8% to 95.6%, with RSD (n = 6) of 2.1% - 6.5%. Moreover, the acquired data were compared with the library using the accurate mass, isotopic distribution, fragmentation information to screen illegal additive residues in herbal teas without reference standards. The developed method was used in the determination of 50 herbal tea samples. Results showed that paracetamol was detected in 10 samples, with content range of 4.14 - 2188 mg/kg. This method is efficient, sensitive and accurate, and could meet the requirement for rapid screening of unknown illegal additive residues in herbal teas.

Key words: QuEChERS; high performance liquid chromatography – quadrupole – time-of-flight mass spectrometry (HPLC – Q – TOF/MS); non-target screening; herbal tea; illegal additive residues

凉茶是岭南人民根据本地的水土和气象等特性,在预防疾病与保健养生的过程中,用独特的研制方法将天然中草药熬制成一种具有清热解毒、利津祛火、防治常病等功能的植物性饮料^[1-2]。自2006年广东凉茶成功列入首批国家级非物质文化遗产以来,凉茶产业发展迅猛,市场竞争激烈。一些不法商家受利益驱使,为增强疗效,抢占市场,在自制凉茶中非法添加解热镇痛和止咳西药。消费者饮用此类凉茶可能会产生严重肝肾毒性。

目前凉茶中违禁化学药物的检测方法主要包括薄层色谱法^[3-4]、高效液相色谱法^[5-6]和液相色谱-质谱联用法^[7-8]等。上述凉茶中非法添加成分的分析方法是针对已知目标成分的分析,需有相应的标准品。色谱类设备和基于四极杆型质量分析器的质谱由于灵敏度和分辨率低,只能用于数量不多的已知目标物检测^[9-11]。如果需要对非靶向目标物进行定性检测,则需要借助分辨率更高的质谱分析技术^[12-14]。四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF/MS)是一种可以快速区分和鉴定凉茶中非法添加物的有效方法,在一级质谱中可确定目标物分子量,再通过二级质谱得到各化合物的不同碎片信息,结合HPLC中的保留时间信息,并与文献或标准品对照从而确定化合物的结构^[15-16]。本文以凉茶作为研究基质,结合QuEChERS前处理技术,采用HPLC-Q-TOF/MS对凉茶中的非法添加物进行无标准品非靶向快速定性筛查。该方法分析速度快、通量高,可为凉茶中非法添加物的快速筛查和质量控制提供重要的方法依据。

1 实验部分

1.1 药品及试剂

对乙酰氨基酚、盐酸苯海拉明、双氯芬酸钠、马来酸氯苯那敏(纯度大于99.0%,德国Dr. Ehrestorfor,购自安谱公司);罂粟碱、那可丁、可待因、蒂巴因、可待因-D3(纯度大于99.0%,CNW,购自安谱公司);乙腈、甲酸(HPLC级,美国Thermo Fisher公司);氯化钠、柠檬酸钠、柠檬酸氢二钠、无水硫酸镁、中性氧化铝(Al-N)、氨丙基粉(NH₂)、石墨化炭黑(GCB)、N-丙基乙二胺(PSA)、硅胶粉、碱性氧化铝(Al-B)、硅胶键合十八烷基(C₁₈)均购自安谱公司。实验用水为Milli-Q超纯水。

1.2 仪器与设备

TripleTOF™ 5600 高分辨质谱仪(美国AB SCIEX公司);岛津LC-20AD液相色谱系统(日本岛津公司);Milli-Q Advantage A10超纯水系统(法国Merck Millipore公司)。

1.3 样品收集与前处理

凉茶样品分别购于散装凉茶零售店,包括口腔茶、咽喉茶、感冒茶、止咳茶、清热降火茶等。

准确称取5g凉茶样品于50mL聚丙烯塑料离心管中,加入10mL0.5%乙酸乙腈,涡旋振荡1min后加入4.0gMgSO₄、0.5g柠檬酸钠、0.5g柠檬酸氢二钠和1.0gNaCl,涡旋振荡提取5min,于10000r/min离心5min,吸收上清液1mL于装有75mg氨丙基粉的2mL离心管中涡旋振荡1min,于12000r/min离心10min,上清液过0.22μm有机滤膜,滤液供HPLC-Q-TOF/MS测定。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱: Waters BEH C₁₈ 色谱柱(100mm×2.1mm, 1.7μm); 流动相: A为0.1%(体积分数)甲酸, B为乙腈, 梯度洗脱: 0~10min, 5%~90%B; 10~13min, 90%~100%B; 13~16min, 100%B; 16~17min, 100%~5%B; 17~20min, 5%B; 流速: 0.5mL/min; 进样量5μL; 柱温: 40℃。

1.4.2 质谱条件 离子源: ESI和APCI复合源; APCI源连接ABSciex公司自动校正系统(CDS), 每10个样品自动校正1次, 校正液流速0.35mL/min; 一级TOF/MS扫描精确质量范围: 100~1000Da; 数据采集时间: 100ms; 二级IDA-MS扫描精确质量范围: 50~1000Da; 高灵敏模式; 数据采集时间: 50ms; 信号阈值: 100cps; IDA实验每循环采集6次数据, 动态背景减法扣除。源内参数见表1。

表1 TOF-IDA-MS 模式的质谱参数
Table 1 MS parameters of TOF-IDA-MS

Ion mode	Curtain gas: N ₂ (kPa)	Ion spray voltage floating (V)	Ion temperature (°C)	Ion source gas 1: N ₂ (kPa)	Ion source gas 2: N ₂ (kPa)	Declustering potential (V)	Collision energy (eV)
Positive	275.8	5 500	600	379.2	379.2	90	20, 35, 50
Negative	241.3	-4 500	500	310.3	310.3	-90	-25, -40, -55

1.5 筛查方法

样液的高分辨质谱信息由 ABSciex 公司的 Analyst TF 1.6 软件采集, 并采用 PeakView 2.0 软件对实际样品中的非法添加物进行筛查。通过查阅文献, 得到常见的解热镇痛和止咳西药的化合物列表, 并导入数据分析软件中。然后设置相应的检索参数: 精确质量偏差范围为 $\pm 1 \times 10^{-5}$, 保留时间限定范围为 ± 0.2 min, 离子化模式设定为 +H 模式。用软件计算化合物的实测值与理论值的偏差, 通过分子离子的精确质量偏差、同位素分布、同位素比例及保留时间进行综合分析, 并给出相应的检索匹配得分值, 对于检索结果中精确质量数、同位素比值和二级碎片匹配得分值大于 80 的化合物, 本方法确认其为检出非法添加物。

2 结果与讨论

2.1 非靶向快速筛查非法添加物的质控方法

为确保筛查结果的准确性, 本实验挑选 8 种非法添加物进行质控实验。选择的非法添加物包括解热镇痛类西药和止咳平喘类西药: 对乙酰氨基酚、马来酸氯苯那敏、双氯芬酸钠、盐酸苯海拉明、蒂巴因、罂粟碱、那可丁、可待因。选择的 8 种质控化合物极性跨度大、出峰时间分散, 离子化模式同时包括正负离子模型, 能够有效监控非靶向筛查过程中整体实验条件的稳定性, 确保筛查结果稳定可靠。8 种质控化合物分别在“1.5”条件下进行实验, 优化前处理和仪器检测条件。

2.1.1 质谱检测模式选择 由于对乙酰氨基酚、盐酸苯海拉明、马来酸氯苯那敏、可待因、罂粟碱、蒂巴因和那可丁在 ESI⁺ 模式下分子离子峰具有更高的响应, 信号更稳定, 故选择正离子模式检测, 其分子离子峰为 $[M+H]^+$; 双氯芬酸钠的分子结构中含有 Na⁺, 在 ESI⁻ 模式下可获得较高响应, 故选择负离子模式检测, 其分子离子峰为 $[M-Na]^-$ 。Triple TOF 5600 型系统中配置的复合离子源有电喷雾离子源和大气压化学电离源两种, 本研究选择电喷雾离子源作为检测离子源, 大气压化学电离源作为校正离子源。

2.1.2 吸附剂的种类与用量 考察了 Al-N、NH₂、GCB、PSA、Si 和 C₁₈ 吸附剂的净化效果及吸附剂的最佳用量, 结果如图 1 所示。当各吸附剂用量均为 100 mg 时, NH₂ 粉对 8 种目标化合物的吸附最小, 回收率为 86.8%~100%; 而其它吸附剂对目标化合物的影响较大, 个别化合物的回收率低于 65%。同时, 考察了不同用量的 NH₂ 粉对 8 种质控化合物吸附情况的影响。当 NH₂ 粉的用量为 75 mg 时, 8 种目标化合物的吸附最小, 回收率为 89.8%~100%; 随着 NH₂ 粉用量的增加, 双氯芬酸钠的回收率逐渐降低, 当 NH₂ 粉用量为 175 mg 时, 回收率只有 44.2%。因此, 最终选用 NH₂ 粉作为吸附剂, 其最佳用量为 75 mg, 此时可获得较好的净化效果。

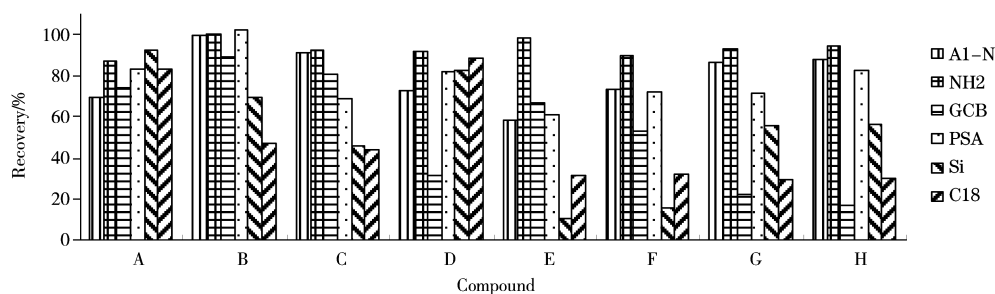


图1 不同吸附剂对 8 种质控化合物回收率的影响

Fig. 1 Effects of different sorbents on recoveries of 8 compounds

A: paracetamol, B: diphenhydramine, C: chlorphenamine maleate, D: diclofenac sodium, E: codeine, F: thebaine, G: noscapine, H: papaverine

2.1.3 质控化合物的定性定量依据 本研究选择8种非法添加物作为目标分析对照物质,对8个目标化合物进行HPLC-Q-TOF/MS分析,以获得目标化合物的高分辨质谱数据信息;根据一级TOF/MS和二级IDA-MS质谱信息定性定量分析目标化合物。8个目标化合物的定性定量分析质谱数据见表2。

表2 8种非法添加物的高分辨质谱数据
Table 2 Mass fragmentations of 8 compounds analyzed by IDA-MS

Compound	Formula	Ion mode	Theoretical (<i>m/z</i>)	Experimental (<i>m/z</i>)	Error ($10^{-6} m/z$)
Paracetamol(对乙酰氨基酚)	C ₈ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	152.070 61	152.070 53	-0.5
Diphenhydramine(苯海拉明)	C ₁₇ H ₂₁ NO	[M+H] ⁺	256.169 59	256.169 70	0.4
Diclofenac sodium(双氯芬酸钠)	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NO ₂ Na	[M-Na] ⁻	294.008 31	294.008 36	0.2
Chlorphenamine maleate(马来酸氯苯那敏)	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₂	[M+H] ⁺	275.130 95	275.131 20	0.9
Papaverine(罂粟碱)	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	[M+H] ⁺	340.154 33	340.154 61	0.8
Noscapine(那可丁)	C ₂₂ H ₂₃ NO ₇	[M+H] ⁺	414.154 73	414.155 08	0.9
Codeine(可待因)	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	[M+H] ⁺	300.159 42	300.159 17	-0.8
Thebaine(蒂巴因)	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	[M+H] ⁺	312.159 42	312.159 17	-0.8

2.1.4 质控非法添加物定量曲线的建立 样品中8种非法添加物的含量,根据目标化合物的一级TOF/MS高分辨质谱信息进行分析。可待因用内标法定量,其它化合物用外标法定量。首先利用HPLC-Q-TOF/MS获得目标化合物的离子流色谱图,8种目标化合物配制成混合标准溶液,稀释成系列不同质量浓度,检测后获得目标化合物的校正曲线以及线性范围(见表3);同时以3倍信噪比和10倍信噪比为依据,确定方法的检出限与定量下限。8种目标化合物的高分辨提取离子流图见图2。结果表明,校准曲线的相关系数(r^2)均不小于0.999 0,检出限为2.0~10 μg/kg,定量下限为5.0~25 μg/kg,相关参数见表3。由质控非法添加物的定量分析结果可知,本方法的检出限低、灵敏度高,可用于非靶向非法添加物的快速筛查。

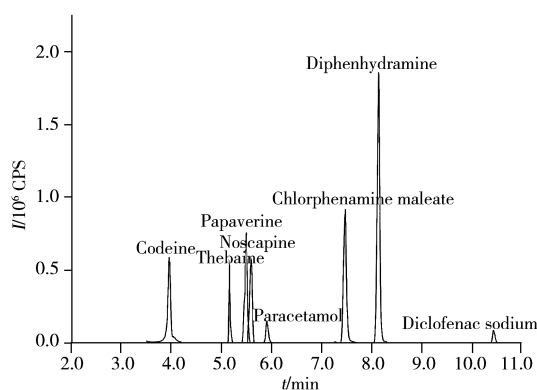


图2 8种质控化合物的提取离子流色谱图
Fig. 2 Extracted ion chromatogram of 8 compounds

表3 8种化合物的线性范围、相关系数(r^2)、检出限与定量下限
Table 3 Linear ranges, correlation coefficients(r^2), LODs and LOQs of 8 compounds

Compound	Linear range(μg/L)	Regression equation	r^2	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)
Paracetamol	1~200	$y = 321.21x + 351.76$	0.999 8	3.0	10
Diphenhydramine	1~200	$y = 8\ 638.4x + 321\ 99$	0.999 4	2.0	5.0
Diclofenac sodium	1~200	$y = 1\ 611.7x + 730.15$	0.999 2	3.0	10
Chlorphenamine maleate	1~200	$y = 5\ 672.2x + 22\ 067$	0.999 0	2.0	5.0
Papaverine	1~100	$y = 27\ 658x + 55\ 483$	0.999 3	3.0	10
Noscapine	1~100	$y = 18\ 634x + 39\ 491$	0.999 6	3.0	10
Codeine	5~500	$y = 0.002\ 57x - 0.011\ 42$	0.999 2	10	25
Thebaine	1~100	$y = 15\ 657x - 27\ 322$	0.999 6	3.0	10

2.1.5 质控化合物的精密度 对检测为阴性的感冒茶基质进行加标回收实验。添加3个不同浓度水平的标准溶液,按实验方法进行测定,每个浓度水平做6份平行样品,其平均回收率和相对标准偏差(RSD)结果见表4。由表4可知,样品的平均回收率为75.8%~95.6%,RSD为2.1%~6.5%,方法的精密度及准确度良好,可用于非靶向非法添加物残留的快速筛查。

表4 8种质控化合物的平均回收率及相对标准偏差($n=6$)
Table 4 Average recoveries and relative standard deviations of 8 compounds($n=6$)

Analyte	Spiked ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Average recovery (%)	RSD (%)
Paracetamol	10.0, 20.0, 100	75.8, 80.9, 87.1	3.2, 2.6, 2.7
Diphenhydramine	10.0, 20.0, 100	81.5, 82.3, 92.9	2.9, 4.4, 2.6
Diclofenac sodium	10.0, 20.0, 100	81.8, 84.4, 90.2	2.6, 3.6, 3.7
Chlorphenamine maleate	10.0, 20.0, 100	82.1, 91.3, 90.2	2.7, 5.4, 3.4
Papaverine	10.0, 20.0, 100	87.6, 92.4, 88.1	4.1, 6.5, 3.7
Noscapine	10.0, 20.0, 100	91.4, 92.5, 91.4	2.8, 5.1, 2.4
Codeine	25.0, 50.0, 250	91.9, 93.9, 95.6	5.0, 5.2, 3.6
Thebaine	10.0, 20.0, 100	82.6, 85.4, 83.1	2.1, 4.0, 3.0

2.2 非靶向非法添加物残留的快速筛查流程

基于“2.1”的优化结果可知,本方法的筛查技术稳定性好、灵敏度高,可扩展到解热镇痛类西药和止咳类西药的非靶向筛查。自建高分辨数据库是实现非靶向筛查的基础,PeakView 2.0软件是进行化合物信息数据存储以及归类的专业软件。将关注的解热镇痛类西药和止咳类西药的分子式导入PeakView 2.0构成筛查数据库。样品经前处理后供HPLC-Q-TOF/MS测定。采集的一级质谱图包含化合物的精确质量数和分子式。使用一级谱图对筛查出的可疑非法添加物进行一级同位素分布和母离子精确质量数匹配分析。如果一级谱图信息匹配,再对二级碎片丰度比和精确质量数等信息进行匹配。通过ChemDraw Ultra 12.0软件绘制可疑成分的结构式,并将其导入PeakView 2.0软件,将结构与二级碎片进行匹配,并结合相应的检索匹配得分值判断目标化合物是否检出。以对乙酰氨基酚筛查为例,建立非靶向筛查非法添加西药的分析方法,筛查流程图见图3:将对乙酰氨基酚分子式导入PeakView 2.0中,并定义离子化模式为 $[M+H]^+$,得到的一级高分辨精确质量数和同位素比例见图3A。调用其二级质谱图,结合其结构式进行结构与二级精确质量数的匹配。匹配结果见图3B,对乙酰氨基酚的3个主要碎片均与结构完全匹配,3个碎片的精确质量数误差小于0.001 Da,因此可判定为检出。本文所建立凉茶中的非法添加物非靶向筛查技术完全满足方法学要求。

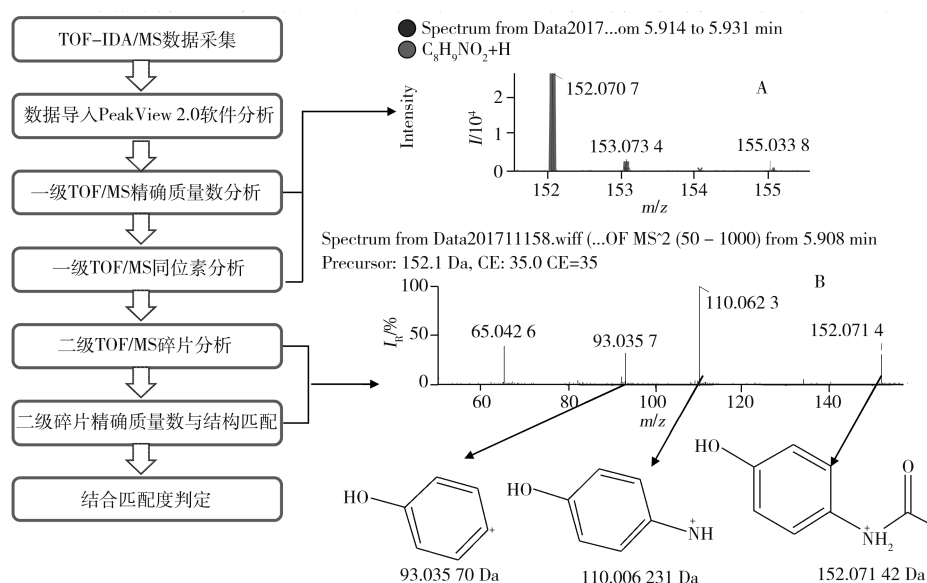


图3 对乙酰氨基酚的定性筛查图示

Fig. 3 Qualitative screening flow chart of paracetamol

2.3 实际样品的筛查

采取建立的筛查方法对市售的50份散装凉茶样品进行测定。首先使用“1.5”所建立的方法对样品进行筛查,如定性检出非法添加物,再进行定量分析。检测结果表明,共有10份凉茶样品检出对乙酰氨基酚,其中3份口腔茶的检出量分别为21.5、4.43、6.11 mg/kg;2份咽喉茶的检出量分别为5.38、4.14 mg/kg;1份感冒茶的检出量为5.66 mg/kg;1份止咳茶的检出量为4.59 mg/kg;1份润肺

止咳茶的检出量为 26.7 mg/kg; 2 份特效感冒茶的检出量分别为 2 188、1 519 mg/kg。

3 结 论

本文利用 QuEChERS/HPLC-Q-TOF/MS 建立了凉茶中非法添加物的非靶向筛查方法。通过添加 8 种化合物作为质控化合物, 优化了 QuEChERS 方法对凉茶样品的前处理条件。采用软件对数据进行处理, 无需对照标准品, 通过对目标化合物母离子的精确质量数、同位素比例等信息进行比对, 并结合二级碎片谱图与结构匹配技术即可同时筛查和确认凉茶中的多种非法添加物残留。本方法的建立可为凉茶中非法添加西药的快速筛查和质量控制提供技术依据。

参考文献:

- [1] Deng J W, Fan C L, Yang Y Y, Yang Y Y. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, 56: 928-936.
- [2] Wang P, Xiao G S, Zhang Y S, Guo M M, Tan W L. *Food Sci. Technol.* (王萍, 肖更生, 张友胜, 郭鸣鸣, 谭文乐. 食品科技), **2010**, (2): 77-80.
- [3] Xie J Z, Wei Q, Jiao Y, Xie T, Zhu Q L, Liu X H, Zou L H. *Strait Pharm. J.* (谢集照, 韦倩, 焦杨, 谢婷, 朱秋莲, 刘向红, 邹录惠. 海峡药学), **2015**, 27(4): 55-59.
- [4] Xie W H, Chen S Q, Chen W M, Sun S H, Wang Q H. *Guangdong Chem. Ind.* (谢文辉, 陈少渠, 陈伟美, 孙树豪, 王庆华. 广东化工), **2013**, 40(1): 104, 113.
- [5] Wen J X, Chen L, Lai Y H, Lei Y. *J. Instrum. Anal.* (温家欣, 陈林, 赖宇红, 雷毅. 分析测试学报), **2016**, 35(3): 285-291.
- [6] He W B, He Z M, Pan Z W. *Chin. Pharm. Affairs* (何文斌, 何作民, 潘志文. 中国药事), **2011**, 25(2): 126-128, 183.
- [7] Jiang Q, Wang Q, Luo D. *Guangdong Chem. Ind.* (江琦, 王邱, 罗丹. 广东化工), **2018**, 45(9): 225-227.
- [8] Han W Q, Wang B, Wu C S, Wu H Q, Wu Y L, Luo H Y. *Chin. J. Anal. Chem.* (韩婉清, 王斌, 吴楚森, 吴惠勤, 吴玉玺, 罗海英. 分析化学), **2016**, 44(10): 1584-1592.
- [9] Song N N, Zhang K M, Liu X H, Sang T, Sun Y, Teng N Y. *Chin. J. Chromatogr.* (宋宁宁, 张科明, 刘向红, 桑彤, 孙煜, 滕南雁. 色谱), **2015**, 33(10): 1026-1031.
- [10] Du B W, Jonathan M, Katherine T P, Alexander D, Andrew J, Jenifer K M, Nathaniel L, Joel E. *Royal. Soc. Chem.*, **2017**, 19: 1185-1196.
- [11] Elbashir A A, Aboul H Y. *Biomed. Chromatogr.*, **2018**, 32: e4038.
- [12] Yu L, Song W, Lü Y N, Zhao M Y, Zhou F F, Hu Y Y, Zheng P. *Chin. J. Chromatogr.* (余璐, 宋伟, 吕亚宁, 赵暮雨, 周芳芳, 胡艳云, 郑平. 色谱), **2015**, 33(6): 597-612.
- [13] Peng X, Zhao Z Y, Kang J, Wang Z B, Chang Q Y, Fan C L, Pang G F, Lü M L. *Chin. J. Anal. Lab.* (彭兴, 赵志远, 康健, 王志斌, 常巧英, 范春林, 庞国芳, 吕美玲. 分析实验室), **2014**, 33(3): 282-291.
- [14] Guo B, Wang M L, Liu Y Y, Zhou J, Dai H, Huang Z Q, Shen L L, Zhang Q S, Chen B. *J. Agric. Food Chem.*, **2015**, 63(31): 6954-6967.
- [15] Fu Y Q, Zhang Y H, Zhou Z H, Lu X, Lin X H, Zhao C X, Xu G W. *Anal. Chem.*, **2018**, 90(14): 8454-8461.
- [16] Fu Y Q, Zhou Z H, Kong H W, Lu X, Zhao X J, Chen Y H, Chen J, Wu Z M, Xu Z L, Zhao C X, Xu G W. *Anal. Chem.*, **2016**, 88(17): 8870-8877.

(责任编辑: 龙秀芬)