

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2015.06.009

盐析辅助均相液液萃取/分散固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法测定蜂蜜中新烟碱类农药残留

王东^{1,2}, 侯传金^{1*}, 赵尔成², 贾春虹²

(1. 大连工业大学 轻工与化学工程学院, 辽宁 大连 116034; 2. 北京市农林科学院 植物保护环境保护研究所, 北京 100097)

摘要:以盐析辅助均相液液萃取结合分散固相萃取作为前处理方法,建立了超高效液相色谱串联质谱快速检测蜂蜜中吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺、噻虫啉、啶虫脒及氯噻啉6种新烟碱类农药残留的分析方法。样品用乙腈提取,氯化钠盐析分层,提取液经分散固相萃取法净化,采用超高效液相色谱串联质谱检测器进行分析。考察了萃取剂种类、体积及氯化钠质量对萃取效率的影响,评估了在优化实验条件下的基质效应和方法性能。结果表明:除吡虫啉外,其余5种新烟碱类农药的基质效应均大于10%。6种新烟碱类农药在0.2~100 μg/L范围内线性关系良好,相关系数(r^2)为0.998 1~0.999 7。加标浓度为1.0~50.0 μg/kg时,6种新烟碱类农药的加标回收率为77.0%~106%,相对标准偏差为2.4%~19.8%。方法的检出限为0.2~0.4 μg/kg,定量下限为1.0 μg/kg。该方法前处理简单,分析时间短,准确度和灵敏度高,重现性好,适用于蜂蜜中6种新烟碱类农药微量残留的快速测定。

关键词:盐析;均相液液萃取;分散固相萃取;超高效液相色谱串联质谱法;新烟碱类农药;残留;蜂蜜
中图分类号:O657.6;S896.1 文献标识码:A 文章编号:1004-4957(2015)06-0681-05

Determination of Neonicotinoid Residues in Honey by Ultra Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry Combined with Salting-out Homogeneous Liquid – Liquid Extraction and Dispersive Solid-phase Extraction

WANG Dong^{1,2}, HOU Chuan-jin^{1*}, ZHAO Er-cheng², JIA Chun-hong²

(1. School of Light Industry and Chemical Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;
2. Institute of Plant Protection and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100097, China)

Abstract: An ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometric (UPLC – MS/MS) method was developed for the determination of six neonicotinoid pesticides (including imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin, thiacloprid, acetamiprid and imidaclothiz) residues in honey by using salting-out homogeneous liquid – liquid extraction (SHLLE) and dispersive solid-phase extraction (d – SPE) as sample preparation method. The samples were extracted with acetonitrile, and acetonitrile phase was separated from sample solution through salting-out phenomenon with sodium chloride. The acetonitrile solution was purified by dispersive solid-phase extraction with 0.22 μm filter membrane. The analytes were analyzed by ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry. Factors affecting the extraction efficiency were investigated, such as type and volume of extraction solvent and weight of sodium chloride. The performance of this method and matrix effects were evaluated under the optimal conditions. The results indicated that except for imidacloprid, the matrix effects of the rest neonicotinoid pesticides were more than 10%. The calibration curves for six

收稿日期: 2014-11-04; 修回日期: 2014-12-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31301694); 北京市农林科学院青年基金项目(QNJJ201310)

* 通讯作者: 侯传金, 博士, 副教授, 研究方向: 不对称催化合成, Tel: 13591820319, E-mail: houcj@dlpu.edu.cn

pesticides were linear in the range of 0.2 – 100 $\mu\text{g/L}$ with correlation coefficients (r^2) of 0.998 1 – 0.999 7. The recoveries of six pesticides at three spiked levels of 1.0, 5.0, 50.0 $\mu\text{g/kg}$ were in the range of 77.0% – 106% , with relative standard deviations of 2.4% – 19.8% . The limits of detection for this proposed method were in the range of 0.2 – 0.4 $\mu\text{g/kg}$ and the limit of quantitation were all 1.0 $\mu\text{g/kg}$. With the advantages of simple pretreatment, short analysis time, high accuracy, high sensitivity and good reproducibility, the developed method is suitable for the determination of six neonicotinoid pesticide residues in honey.

Key words: salting-out; homogeneous liquid – liquid extraction; dispersive solid-phase extraction; ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (UPLC – MS/MS); neonicotinoid pesticide; residue; honey

蜂蜜是一种高营养价值的天然甜味物质, 广泛应用于食品行业, 其质量安全直接关系人体健康。蜜源植物和蜜蜂体内的农药残留可能导致蜂蜜受到污染, 从而威胁人体健康^[1-2]。新烟碱类农药是新型高效、低毒的广谱性杀虫剂, 广泛应用于水稻、玉米、南瓜等作物的害虫防治。随着新烟碱类农药残留问题日益突出^[3-5], 蜂蜜中新烟碱类农药残留逐渐引起人们的关注, 欧盟规定蜂蜜中新烟碱类农药的最大残留限量 (MRLs) 为 10~200 $\mu\text{g/kg}$ ^[6-7]。目前蜂蜜中新烟碱类农药残留检测常用的前处理技术有分散液液微萃取 (DLLME)^[8]、固相萃取 (SPE)^[9] 和 QuEChERS^[10] 等。其中 DLLME 常需高毒的有机试剂, 对人体伤害大; SPE 费时、费力且有机试剂耗量大; QuEChERS 灵敏度差且需大量有机试剂。此外, 新烟碱类杀虫剂具有较好的内吸活性, 在水中的溶解度很高, 如吡虫啉在水中的溶解度为 0.51 g/L, 因此新烟碱类杀虫剂不适合用传统的液相微萃取技术来萃取。Jovanov 等^[11] 使用 DLLME 技术萃取蜂蜜中的新烟碱类杀虫剂, 萃取溶剂的消耗体积为 2 mL, 而传统的 DLLME 技术消耗萃取溶剂仅为几十微升。因此, 简单、快速、成本低且环境友好的蜂蜜样品前处理技术是未来的发展趋势。

盐析辅助均相液液萃取 (SHLLE)^[12] 的原理是利用有机萃取剂与样品水溶液形成均匀混合溶液, 通过加入盐析剂使萃取剂与样品水溶液分层, 目标分析物被萃取富集到有机相。影响 SHLLE 萃取效率的关键因素是有机萃取剂和盐析剂的种类及相应的量, 常用萃取剂为乙腈、丙酮和甲醇等水溶性、环境友好型有机试剂, 常用盐析剂为氯化钠等。SHLLE 是一种操作简单、快速、萃取效率高且环境友好的前处理技术, 目前在水、血浆等样品检测中已有应用^[13-15], 但在蜂蜜样品农药残留检测中的应用鲜有报道。分散固相萃取 (d-SPE)^[16] 是 2003 年由美国农业部开发的一种新型的预处理方法, 其操作简便、成本低、有机溶剂消耗小且净化效果较好, 适合用作多种农药残留分析的净化方法。本文以乙腈为萃取剂, 盐析辅助均相液液萃取结合分散固相萃取法净化, 以超高效液相色谱串联质谱检测器检测, 建立了一种快速、高效且环境友好的检测蜂蜜中 6 种新烟碱类农药残留的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱串联质谱联用仪 (UPLC – MS/MS) 包括 Waters ACQUITY 超高效液相色谱系统和 Waters XEVO TQD 三重四极杆质谱仪 (美国 Waters 公司), Vortex QL – 901 涡旋仪 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司), TDZ5 – WS 台式低速离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司), 5415 D 高速离心机 (德国 Eppendorf 公司), 15 mL 聚四氟乙烯离心管, 0.22 μm 有机微孔滤膜。乙腈 (色谱纯, 迪马公司), 甲酸 (>98%, J&K 公司), 氯化钠、无水硫酸镁 (分析纯, 北京化工厂), 40 μm 乙二胺-N-丙基硅烷 (PSA, 博纳艾杰尔科技有限公司), 超纯水 (Milli-Q 纯水机制备)。

吡虫啉、噻虫嗪、噻虫胺、噻虫啉、啉虫脒和氯噻啉的标准储备液 (>98%, 100 $\mu\text{g/mL}$, 农业部环境保护科研监测所), 蜂蜜样品购自当地某大型超市。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制 将 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液用水稀释至 10 $\mu\text{g/mL}$, 分别吸取适量该溶液混合, 用水稀释成 1 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准储备液, 置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内保存。

1.2.2 样品前处理 准确称取 1.5 g 蜂蜜样品至 15 mL 离心管中, 加入 3 mL 水, 涡旋至形成均匀样

品溶液。加入 2 mL 乙腈, 涡旋 30 s, 使乙腈与样品溶液完全互溶。加入 0.7 g 氯化钠至混合溶液中, 涡旋 1 min 使之充分溶解, 以 4 500 r/min 转速离心 5 min 使乙腈相与样品溶液完全分层, 乙腈相悬浮在上层。取 1 mL 乙腈相至 2 mL 含 150 mg 无水硫酸镁和 50 mg PSA 的离心管中, 振荡 30 s 后以 14 000 rcf 转速离心 2 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜后置于进样瓶, 待测。

1.2.3 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm), 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$ 。流动相: A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~4.5 min, 90%~50% A; 4.5~5.0 min, 50%~90% A; 5.0~5.2 min, 90% A。流速为 0.3 mL/min, 进样体积为 3 μL 。

1.2.4 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 正离子采集模式, 多反应监测模式(MRM)。毛细管电压: 3.2 kV; 离子源温度: 150 $^{\circ}\text{C}$; 去溶剂气(N_2)温度: 350 $^{\circ}\text{C}$, 去溶剂气流速: 550 L/h; 锥孔气流速(N_2): 40 L/h; 碰撞气: 氩气。数据处理软件: MassLynx v 4.1。其它质谱参数见表 1。

表 1 6 种新烟碱类农药的质谱检测参数
Table 1 MS/MS parameters of six neonicotinoid pesticides

Pesticide	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)	Cone voltage/V	Collision voltage/V
Thiacloprid(噻虫啉)	253.0	126.0*, 90.1	38, 38	18, 40
Acetamiprid(啉虫脒)	223.1	126.0*, 56.0	34, 34	18, 14
Imidacloprid(吡虫啉)	256.0	175.0*, 209.1	28, 28	18, 10
Clothianidin(噻虫胺)	250.0	168.9*, 131.9	24, 24	15, 18
Thiamethoxam(噻虫嗪)	292.0	211.0*, 132.0	22, 22	13, 18
Imidaclothiz(氯噻啉)	262.0	181.0*, 122.2	26, 26	15, 28

* quantitative ion

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 色谱条件优化 实验采用的 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm)为 UPLC 分离中的通用型色谱柱, 柱内径和填料粒径小, 分离度高, 适用于多残留分析。新烟碱类化合物在乙腈-水体系中的响应值较高, 而在水中加入甲酸能在一定程度上提升化合物的响应值, 因为甲酸可提高待测物在正离子电喷雾离子源中的离子化效率, 进而提高灵敏度。因此实验选用 0.1% 甲酸水-乙腈体系作为流动相。又由于分析物较多, 蜂蜜基质成分复杂, 实验采用梯度洗脱进行分析, 以缩短出峰时间, 并有效地去除色谱柱中残留的杂质。具体 UPLC 条件见“1.2.3”。

2.1.2 质谱条件优化 新烟碱类化合物在选定条件下能产生 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 离子, 且响应较好。仪器在电喷雾正离子采集模式(ESI+)和多反应监测模式(MRM)下自动调谐优化质谱参数, 结果见表 1。

2.2 SHLLE 方法的优化

2.2.1 萃取溶剂的选择 萃取剂是影响萃取效率的关键因素, SHLLE 使用的萃取剂需满足以下要求:

①与水互溶且密度小于水; ②对目标分析物的萃取效率高; ③在盐的存在下能快速与水溶液分层, 富集目标分析物。实验考察了乙腈、丙酮和甲醇作为萃取剂的性能。结果表明: 当样品溶液中氯化钠饱和时(约 20% 氯化钠, 蜂蜜中各种基质如糖类等也起一定盐析作用), 2 mL 乙腈能快速与样品溶液分层, 2 mL 丙酮分层不明显, 而 2 mL 甲醇则完全未出现分层现象, 可能是由于甲醇在水中的溶解度太大。综合考虑, 本实验选择乙腈作为萃取剂。

2.2.2 萃取剂体积的选择 为了考察萃取剂体积对萃取后萃取剂与样品溶液的分层效果(富集效应)、萃取效率及方法重现性的影响, 在 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标水平下使用不同体积乙腈作为萃取剂, 分别在

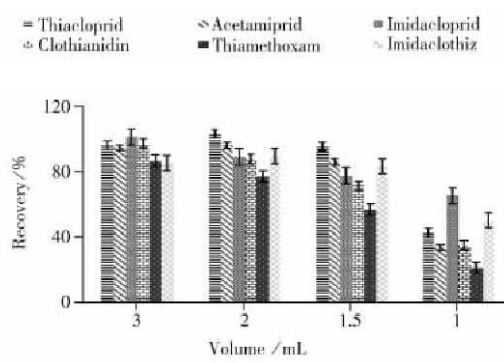


图 1 SHLLE 萃取溶剂(乙腈)体积的影响
Fig. 1 Influence of extraction solvent (acetonitrile) volume in SHLLE
sodium chloride: 0.7 g; water volume: 3 mL;
spiked level: 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

非饱和氯化钠样品溶液(0.3 g 氯化钠)和饱和氯化钠样品溶液(0.7 g 氯化钠, 图1)条件下对样品中6种新烟碱类农药进行萃取实验。结果显示:氯化钠质量恒定时,随着乙腈体积增加(1, 1.5, 2, 3 mL),萃取分层后乙腈相的体积增加(0.1, 0.7, 1.3, 2.5 mL),方法富集倍数降低;当乙腈体积在1~2 mL间递增时,目标化合物的平均回收率整体呈递增趋势,当乙腈体积在2~3 mL间递增时,目标化合物的平均回收率几乎不变。综合考虑,选择萃取剂乙腈的体积为2 mL。

2.2.3 氯化钠质量的选择 盐的量决定了乙腈与样品水溶液能否快速分层及分层后乙腈相的体积,即氯化钠的质量影响方法的富集效应和萃取效率。实验考察了乙腈体积为2 mL,氯化钠质量为0~0.8 g时,10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标水平下方法的回收率。结果发现,当氯化钠质量在0~0.7 g范围内递增时,萃取后乙腈相体积增大,目标化合物的平均回收率显著增加;当氯化钠质量在0.7~0.8 g范围内递增时,目标化合物的平均回收率增加缓慢,可能由于此时氯化钠在样品水溶液中已经饱和,萃取后乙腈相体积几乎不再增加。因此综合考虑,选择氯化钠的质量为0.7 g。

2.3 基质效应

分别用蜂蜜空白提取液和纯溶剂配制10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和80 $\mu\text{g}/\text{L}$ 两个浓度点,在优化实验条件下比较其响应值(峰面积),考察基质效应。结果显示,蜂蜜基质中噻虫啉、啉虫脒和噻虫胺的基质效应值分别为33.2%, 10.1%和18.2%,吡虫啉、噻虫嗪和氯噻啉的基质效应值分别为-2.7%, -20.7%和-11.4%。除吡虫啉外,其余5种新烟碱类农药的基质效应(增强或抑制)均大于10%,其中蜂蜜基质对噻虫啉、啉虫脒和噻虫胺表现出基质增强效应,对噻虫嗪和氯噻啉表现出基质抑制效应,说明6种新烟碱类农药在蜂蜜样品中的基质效应不可忽视。为降低基质效应的影响,本实验采用基质匹配标准曲线定量。

2.4 方法性能评估

2.4.1 线性关系与灵敏度 以空白基质作为溶剂配制0.2~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内的系列浓度混合基质标准溶液,按“1.2.3”和“1.2.4”实验条件进行测定,以所得分析物的峰面积(Y)对其浓度(X , $\mu\text{g}/\text{L}$)作标准曲线,结果如表2所示。6种新烟碱类农药在0.2~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数(r^2)为0.998 1~0.999 7;方法的检出限(LOD,以信噪比 $S/N=3$ 计)为0.2~0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量下限($S/N=10$)为1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结果表明,该方法线性关系良好,检出限和定量下限低,灵敏度高,适用于蜂蜜中微量新烟碱类农药残留的检测。

表2 6种新烟碱类农药的线性范围、线性方程、相关系数(r^2)和方法检出限
Table 2 Linear ranges, linear equations and correlation coefficients(r^2) for six neonicotinoid pesticides and detection limits for the method

Pesticide	Linear range $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	Linear equation	r^2	LOD $w/(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
Thiacloprid	0.2~100	$Y=304.2X+189.8$	0.999 3	0.4
Acetamiprid	0.2~100	$Y=192.6X+92.84$	0.999 7	0.2
Imidacloprid	0.2~100	$Y=43.04X-3.120$	0.999 0	0.2
Clothianidin	0.2~100	$Y=39.98X-7.770$	0.999 7	0.4
Thiamethoxam	0.2~100	$Y=35.90X-14.58$	0.999 3	0.2
Imidaclothiz	0.2~100	$Y=62.77X+15.82$	0.998 1	0.2

Y : peak area; X : mass concentration, $\mu\text{g}/\text{L}$

2.4.2 准确度与精密度 分别在蜂蜜样品中添加3个水平的新烟碱类农药混合标准溶液,每个加标水平做5个重复,按实验方法进行样品处理及检测分析,回收率及相对标准偏差如表3所示。当蜂蜜样品的加标浓度为1.0, 5.0, 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,6种新烟碱类农药的加标回收率为77.0%~106%,相对标准偏差(RSD, $n=5$)为2.4%~19.8%。方法准确度和精密度均符合农药残留分析要求。

2.5 与文献方法的比较

表4为本方法与蜂蜜中新烟碱类农药残留检测已有方法的比较,由表4可知,本方法的萃取剂采用乙腈,低毒且用量少,更安全且环境友好;方法回收率高,LOD低,更准确、灵敏,可作为蜂蜜中微量新烟碱类农药残留检测的主要方法。

表3 蜂蜜样品中6种新烟碱类农药的加标回收率和相对标准偏差

Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations(RSD) of six neonicotinoid pesticides in honey sample

Pesticide	Spiked 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		Spiked 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		Spiked 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	Recovery $R/\%$	RSD $s_r/\%$	Recovery $R/\%$	RSD $s_r/\%$	Recovery $R/\%$	RSD $s_r/\%$
Thiacloprid	91.0	13.4	103	3.4	104	2.4
Acetamiprid	99.1	19.5	98.0	8.8	90.8	5.8
Imidacloprid	98.0	18.9	91.0	16.5	81.2	2.6
Clothianidin	106	19.8	83.8	12.6	86.3	4.5
Thiamethoxam	98.8	15.5	100	4.7	77.0	15.0
Imidaclothiz	78.3	18.4	90.7	18.6	93.6	4.9

表4 本方法与蜂蜜中新烟碱类农药残留其他检测方法的比较

Table 4 Comparison of this method with other methods for determination of neonicotinoid pesticides in honey

Pretreatment method	Detection method	Type and volume of extraction solvent	Recovery $R/\%$	LOD $w/(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	Reference
DLLME	LC-MS/MS	Dichloromethane(二氯甲烷)/2 mL	74.3~114	0.5~1.0	[11]
DLLME	LC-MS/MS	Dichloromethane(二氯甲烷)/2 mL	69.2~113	0.5~1.5	[8]
QuEChERS	LC-MS/MS	Acetonitrile(乙腈)/10 mL	71.8~94.9	1.0~2.5	[8]
SHLLE/d-SPE	UPLC-MS/MS	Acetonitrile(乙腈)/2 mL	77.0~106	0.2~0.4	This method

2.6 实际样品分析

从本地某大型超市购买10种蜂蜜样品,利用所建立方法进行检测分析,结果均未检出上述6种新烟碱类农药残留。

3 结论

本文建立了一种以盐析辅助均相液液萃取与分散固相萃取净化相结合作为前处理技术,超高效液相色谱串联质谱检测器快速测定蜂蜜中6种新烟碱类农药残留的分析方法。该方法前处理技术综合了液液萃取与分散固相萃取的优点,具有简单、快速、有机溶剂用量少的优点。方法的准确度和灵敏度高,线性和重复性好,与已有文献相比,更适用于复杂组分蜂蜜中微量新烟碱类农药残留的快速检测。

参考文献:

- [1] Gu X Z, Li X D, Zhong Y Y, Mao S J. *China J. Exp. Tradit. Med. Formulae*(顾雪竹,李先端,钟银燕,毛淑杰.中国实验方剂学杂志), **2007**, 1(6): 70-72.
- [2] Wang X X, Cheng X J, Xu W S, Luo J J. *Guangxi Agric. Sci.* (王新雄,成秀娟,徐伟松,罗建军.广西农业科学), **2008**, 39(5): 700-704.
- [3] Luo C, Wan K, Ding C H, Deng Y C, Wang F H. *J. Instrum. Anal.* (骆冲,万凯,丁晨红,邓义才,王富华.分析测试学报), **2014**, 33(6): 698-702.
- [4] Xie W, Qian Y, Ding H Y, Chen X M, Xi J Y, Jiang X Y. *Chin. J. Anal. Chem.* (谢文,钱艳,丁慧瑛,陈笑梅,奚君阳,蒋晓英.分析化学), **2009**, 37(4): 495-499.
- [5] Hou R Y, Bian H Z, Zhao X X, Hu Y F, Su T, Wang X H, Wan X C. *J. Instrum. Anal.* (侯如燕,卞红正,赵秀霞,胡祎芳,苏婷,王孝辉,宛晓春.分析测试学报), **2011**, 30(1): 58-63.
- [6] Zhang M F, Fan J Y, Zhang H W. *World Pesticide*(张梅凤,范金勇,张宏伟.世界农药), **2009**, 31(1): 22-25.
- [7] EU Pesticides Database. [2014.09.16] <http://ec.europa.eu/sanco-pesticides/public/index.cfm>.
- [8] Jovanov P, Guzsány V, Franko M, Lazić S, Sakač M, Milovanović I, Nedeljković N. *Food Res. Int.*, **2014**, 55: 11-19.
- [9] Dively G P, Kame A. *J. Agric. Food Chem.*, **2012**, 60: 4449-4456.
- [10] Stoner K A, Eitzer B D. *Plos One*, **2012**, 7(6): e39114.
- [11] Jovanov P, Guzsány V, Franko M, Lazić S, Sakač M, Šarić B, Banjac V. *Talanta*, **2013**, 111: 125-133.
- [12] Farajzadeh M A, Sheykhzadeh S, Khorram P. *J. Sep. Sci.*, **2013**, 365: 939-946.
- [13] Ebrahimzadeh H, Yamini Y, Kamarei F, Shariati S. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 594: 93-100.
- [14] Hassan J, Farahani A, Shamsipur M, Damerchili F. *J. Hazard. Mater.*, **2010**, 184: 869-871.
- [15] Zhao F J, Tang H, Zhang Q H, Yang J, Davey A K, Wang J P. *J. Chromatogr. B*, **2012**, 881/882: 119-125.
- [16] Zhao X M, Dong Y, Wang H S. *Chin. J. Health Lab. Technol.* (赵祥梅,董英,王和生.中国卫生检验杂志), **2008**, 18(5): 952-954.