



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103487539 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 01

(21) 申请号 201310317195. 8

(22) 申请日 2013. 07. 26

(71) 申请人 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所

地址 510610 广东省广州市天河区东莞庄一横路 133 号

(72) 发明人 李丽 杨琼 邢东旭 李庆荣
肖阳 叶明强

(74) 专利代理机构 广州知友专利商标代理有限公司 44104

代理人 宣国华 马赞斋

(51) Int. Cl.

G01N 30/88 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页 附图8页

(54) 发明名称

利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及代谢物含量的方法

(57) 摘要

本发明公开一种利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及代谢物的含量的方法,包括以下步骤:(1) 取家蚕血淋巴进行提取,获得供试样品溶液;(2) 测定阿苯达唑及其代谢物标准品的标准分析数据;(3) 按步骤(2)方法,取步骤(1)中的供试样品溶液注入超快速液相色谱仪,进行分离分析,并用三重四级杆质谱仪检测物质信号,获得供试样品的分析数据;(4) 将步骤(3)获得的供试样品的分析数据与阿苯达唑及其代谢物的色谱分析数据进行比对,即可对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行快速定性、定量测定。

1. 一种利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的含量的方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 取家蚕血淋巴进行提取,获得供试样品溶液;

(2) 配制一系列不同浓度的阿苯达唑及其代谢物的混合标准溶液,分别注入超快速液相色谱仪,进行分离分析,并用三重四级杆质谱仪检测物质离子信号,获得阿苯达唑及其代谢物的标准分析数据;

(3) 按步骤(2)方法,取步骤(1)中的供试样品溶液注入超快速液相色谱仪,进行分离分析,并用三重四级杆质谱仪检测物质信号,获得供试样品的分析数据;

(4) 将步骤(3)获得的供试样品的分析数据与阿苯达唑及其代谢物的色谱分析数据进行比对,即可对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行定性和定量。

2. 根据权利要求1所述的利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的含量的方法,其特征在于,所述步骤(1)的具体操作为:取家蚕血淋巴在提取前进行涡旋振荡处理,在涡旋振荡处理后,以乙腈和乙酸乙酯的混合液为提取液,按家蚕血淋巴与提取液体积比为1:5~1:8进行混合,涡旋振荡3~10 min,然后通过离心分离上清液,采用上述方法对残渣重复提取一次,合并上清液,离心、过滤,获得供试样品溶液。

3. 根据权利要求1所述的利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的含量的方法,其特征在于,所述步骤(2)和(3)中超快速液相色谱仪的色谱条件为:色谱柱:Agilent ZORBAX C18,4.6×100 mm,3.0 μm;柱温40℃;流动相:乙腈:0.005 mol/L 甲酸=80%:20%~90%:10%,等梯度洗脱;进样量10 μL;流速0.1000~0.2000 mL/min。

4. 根据权利要求1所述的利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的含量的方法,其特征在于,所述步骤(2)和(3)中三重四级杆质谱仪检测条件为:电离方式:ESI(+);多重反应监测质谱扫描模式;雾化气:6.00~8.00 psi,气帘气23.00~26.00 psi,碰撞气:3.00~6.00 psi,离子化温度:500.00~600.00℃,喷雾电压:5000.00~6000.00 V,射入电压:8.00~12.00 V,碰撞室射出电压:8.00~12.00 V。

5. 根据权利要求1所述的利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的含量的方法,其特征在于,所述步骤(2)的一系列不同浓度的阿苯达唑及其代谢物混合标准溶液分别为阿苯达唑及其代谢物浓度为5 μg/L、62.5 μg/L、125 μg/L、250 μg/L、625 μg/L和1250 μg/L的阿苯达唑及其代谢物混合标准溶液。

6. 根据权利要求1所述的利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的含量的方法,其特征在于,所述步骤(2)和步骤(3)中的分析数据包括阿苯达唑及其代谢物的保留时间、峰面积以及离子碎片质谱检测结果;在所述步骤(2)中,以获得的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标来制作阿苯达唑及其代谢物相应的标准曲线,并得到阿苯达唑及其代谢物相应的回归方程;在所述步骤(4)中,比对供试样品与标准品的保留时间和离子碎片质谱检测结果,对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行定性,将阿苯达唑及其代谢物的峰面积数据代入各自相应的回归方程中以计算物质含量,对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行定量。

利用超快速液相色谱 - 串联三重四级杆质谱测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及代谢物含量的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及阿苯达唑及其代谢物的含量的测定方法,尤其涉及一种利用超快速液相色谱 - 串联三重四级杆质谱 (UFLC-MS/MS) 测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及代谢物的含量的方法。

背景技术

[0002] 中国是蚕桑的原产地,具有 5 000 多年的历史,素有“东方丝国”的美称。蚕丝及其丝绸制品是我国主要的出口创汇产品,其产销量约占世界总量的 70%,是我国唯一可垄断世界贸易市场的出口商品。

[0003] 蚕种生产是蚕桑产业的基础。家蚕微粒子病是对蚕种生产具毁灭性的传染性疫病,因其具有胚种传染能力成为了世界产丝国的检疫对象。近二十余年来,家蚕微粒子病在我国呈全国流行趋势,淘汰超毒蚕种量达数百万张,经济损失惨重。药物治疗是目前家蚕微粒子病的最有效的防治手段之一。在家蚕微粒子病的药物治疗方面,国内学者开展了大量研究,其中在生产上大面积推广应用的是我所研制的多菌灵粉。为了获得更高效、低毒的家蚕微粒子病治疗药物材料,我们经筛选获得了治疗效果理想的药物材料阿苯达唑(也称丙硫咪唑)。

[0004] 阿苯达唑(albendazole, ABZ)是苯并咪唑类药物中驱虫谱较广,杀虫作用最强的一种驱虫高效低毒药物,已被广泛应用于人体医学、畜禽养殖、水产养殖等多个领域。其在体内代谢为亚砷类或砷类后,抑制寄生虫对葡萄糖的吸收,导致虫体糖原耗竭,或抑制延胡索酸还原酶系统,阻碍 ATP 产生,使寄生虫无法存活和繁殖。阿苯达唑在体内迅速代谢为阿苯达唑亚砷(albendazole sulphoxide, ABZSO),其为代谢产物,也是药效的主要活性成分;进而转化为阿苯达唑砷(albendazole sulphone, ABZSO₂),最终生成阿苯达唑-2-氨基砷(albendazole amino sulphone, ABZSO₂-NH₂)。早在 20 世纪 80 年代初,国外已有对不同生物材料中阿苯达唑及其代谢物残留量测定方法的研究报道,Alvinerie 和 Galtier (1984) 利用正向高效液相色谱实现了绵羊血浆中阿苯达唑及其两种代谢物的同时测定,但其未能检测到 ABZSO₂-NH₂,且使用的 UV 检测器灵敏度较低,仅达十万分之一级别。同样利用高效液相色谱,Lanchote 等(1998)仅对 ABZSO 及其对应体和 ABZSO₂ 做了检测,所采用地荧光检测器的灵敏度比前者高了一个数量级。到了 21 世纪初,国内外在人体医学、畜禽养殖、水产养殖等多领域对各种生物组织材料中丙硫咪唑或苯并咪唑类物质测定方法的研究报道也逐渐丰富起来。如免疫分析法、毛细管电泳法、气-质联用法,液-质联用法等。Prochazkova 等(2000)利用非水性的毛细管电泳法和普通的 HPLC 两种方法对比测定人体血液中的阿苯达唑含量,发现二者的检测效果相当。Kitzman 等(2002)利用 C18 固相萃取柱对含阿苯达唑的人体血样在 HPLC 上机前进行萃取,能有效祛除杂质、排除干扰。Mottier 等(2003)也利用固相萃取柱、反向 HPLC 技术同时对绵羊、牛等绦虫寄主体内的苯并咪唑类药物含量进行了测定。Batzias 和 Delis (2004)利用反向液相色谱,荧光检测器实现了对

绵羊血浆阿苯达唑代谢物含量准确测定。高效液相色谱法虽然应用较为广泛,但也存在明显不足,样品处理过程比较繁琐,耗时长,易受杂质干扰。最近几年,随着现代色谱技术的快速发展,国内外陆续报道了利用超高效液相、质谱以及超快速液相色谱-质谱联用技术等测定生物组织中农药残留的研究,很大程度地使得该方法在生物材料农药含量的测定上发挥了其针对性强,灵敏度高和检测速率快的优越性。然而,相对于人或畜禽动物而言,家蚕体积较小,血淋巴采样相对困难,而且取样量受限制、药物浓度低,加上无机盐、脂质、蛋白质、自身代谢物等内源性物质干扰,对家蚕组织材料的检测提出更高要求,以上方法均不适用于家蚕组织中药物的检测。目前,尚未见针对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物含量同时进行准确性、定量研究的相关报道。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱(UFLC-MS/MS)测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及代谢物的含量的方法,该方法可以对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行同时快速定性、定量测定。

[0006] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的:一种利用超快速液相色谱-串联三重四级杆质谱(UFLC-MS/MS)测定家蚕血淋巴中阿苯达唑及代谢物的含量的方法,包括以下步骤:

(1) 取家蚕血淋巴进行提取,获得供试样品溶液;

(2) 配制一系列不同浓度的阿苯达唑及其代谢物的混合标准溶液,分别注入超快速液相色谱仪,进行分离分析,并用三重四级杆质谱仪检测物质离子信号,获得阿苯达唑及其代谢物的标准分析数据;

(3) 按步骤(2)方法,取步骤(1)中的供试样品溶液注入超快速液相色谱仪,进行分离分析,并用三重四级杆质谱仪检测物质信号,获得供试样品的分析数据;

(4) 将步骤(3)获得的供试样品的分析数据与阿苯达唑及其代谢物的色谱分析数据进行比对,即可对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行定性和定量。

[0007] 所述步骤(1)的具体操作为:取家蚕血淋巴在提取前进行涡旋振荡处理,在涡旋振荡处理后,以乙腈和乙酸乙酯的混合液为提取液,按家蚕血淋巴与提取液体积比为1:5~1:8进行混合,涡旋振荡3~10 min,然后通过离心分离上清液,对残渣重复提取一次,合并上清液,离心、膜滤,获得供试样品溶液。

[0008] 本发明所述步骤(2)和(3)中超快速液相色谱仪的色谱条件为:色谱柱:Agilent ZORBAX C18(4.6×100 mm,3.0 μm);柱温40℃;流动相:乙腈:0.005 mol/L甲酸(V:V)=80%:20%~90%:10%,等梯度洗脱;进样量10 μL;流速0.1000~0.2000 mL/min。

[0009] 本发明所述步骤(2)和(3)中三重四级杆质谱仪检测条件为:电离方式:ESI(+);多重反应监测质谱扫描模式(MRM);雾化气(NEB):6.00~8.00 psi,气帘气(CUR)23.00~26.00 psi,碰撞气(CAD):3.00~6.00 psi,离子化温度(TEM):500.00~600.00℃,喷雾电压(IS):5000.00~6000.00 V,射入电压(EP):8.00~12.00 V,碰撞室射出电压(CXP):8.00~12.00 V。

[0010] 作为本发明的一个实施方式,所述步骤(2)的一系列不同浓度的阿苯达唑及其代谢物混合标准溶液分别为阿苯达唑及其代谢物浓度为5 μg/L、62.5 μg/L、125 μg/L、250

$\mu\text{g/L}$ 、 $625\ \mu\text{g/L}$ 和 $1\ 250\ \mu\text{g/L}$ 的阿苯达唑及其代谢物混合标准溶液。

[0011] 本发明所述的分析数据包括阿苯达唑及其代谢物的保留时间、峰面积以及离子碎片质谱检测结果等。在所述步骤 (2) 中,以获得的峰面积为纵坐标,浓度为横坐标来绘制阿苯达唑及其代谢物相应的标准曲线,并得到阿苯达唑及其代谢物相应的回归方程:ABZ:PAR= $3.7242 \times 10^6 C + 3.4938 \times 10^4$, $R^2=0.9927$;ABZSO:PAR= $6.4613 \times 10^5 C - 4.8495 \times 10^3$, $R^2 = 0.9905$;ABZSO₂:PAR= $1.0269 \times 10^6 C + 89.1365$, $R^2=0.9972$;ABZSO₂-NH₂:PAR= $1.5396 \times 10^6 C - 8.4586 \times 10^3$, $R^2=0.9966$ 。在所述步骤 (4) 中,比对供试样品与标准品的保留时间和离子碎片质谱检测结果,对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行定性,将阿苯达唑及其代谢物的峰面积数据代入各自相应的回归方程中以计算物质含量,即可对家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物进行定量。

[0012] 本发明与现有技术相比具有以下优点:

本发明采用超快速液相色谱分析样品,8 min之内即可完成一个供试品溶液分析;同时采用串联四级杆质谱MRM监测方式,选择性好、灵敏度高,且能排除复杂本底中其它成分的干扰,避免了前处理带来的误差,两者结合轻易实现了家蚕血淋巴中阿苯达唑及其代谢物的快速定性、定量检测,且明显优于HPLC法及液相色谱-离子阱质谱法。

附图说明

[0013] 图 1-1 是混合标准品(A)中ABZ离子色谱图;
图 1-2 是 2 供试样品(A')中ABZ离子色谱图;
图 2-1 是混合标准品(B)中ABZSO离子色谱图;
图 2-2 是供试样品(B')中ABZSO离子色谱图;
图 3-1 是混合标准品(C)中ABZSO₂离子色谱图;
图 3-2 是供试样品(C')中ABZSO₂离子色谱图;
图 4-1 是混合标准品(D)中ABZSO₂-NH₂离子色谱图;
图 4-2 是供试样品(D')中ABZSO₂-NH₂离子色谱图;
图 5 是混合标准液的质谱扫描图。

具体实施方式

[0014] 材料和方法

1.1 仪器和试剂

超快速液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(UFLC-MS/MS)(日本岛津、美国AB SCIEX公司)、超声波清洗机(SB-5200 DT), Milli-Q超纯水设备(美国Millipore公司), Sigma 3k 15离心机,电子分析天平,涡漩混合器(德国IKA公司),0.22 μm 微孔PTFE滤膜(天津市津腾实验设备有限公司),医用一次性无菌注射器等。

[0015] ABZ(99.0%)和ABZSO₂(98.3%)标准品均购自Dr. Ehrenstorfer GmbH, Germany; ABZSO($\geq 98\%$)和ABZSO₂-NH₂(98%)分别购自Sigma-Aldrich, USA和Alfa Aesar, USA。乙腈、甲醇等为色谱纯,分别购自Thermo Fisher Scientific和Oceanpak alexative chemical., Ltd,其余试剂为分析纯级别。

[0016] 标样和供试样品准备

1.2.1 试验处理

试验设 3 个重复的试验区 and 1 个空白区, 每区 250 头, 五龄起蚕饲食喂食用 2000 mg/L 阿苯达唑溶液浸泡过的桑叶一次之后续以正常桑, 空白区喂食正常桑。添食药桑后 2 小时起, 每次每区随机取 30 头蚕, 从尾角处取血淋巴混合为一个供试样品, 共取样 5 次, 每次取样后立即置于 -20 °C 冰箱中保存备用。

[0017] 1.2.2 样品制备

供试样品溶液制备: 家蚕血淋巴样品在提取之前涡旋振荡 1 min, 提取液采用乙腈: 乙酸乙酯 = 5 : 1 的混合液。取 1 mL 家蚕血淋巴样品, 加入 5 mL 提取液, 涡旋振荡 10 min; 分离出残渣加入 2 mL 提取液再重复提取一次; 合并上清液, 在 10 000 r/min 条件下高速离心 5 min, 滤液上机前过 0.22 μm 微孔 PTFE 滤膜, 得到供试样品溶液。

[0018] 阴性样品溶液的制备: 将空白试验区家蚕取得的血淋巴按上述方法制备。

[0019] 1.2.3 标准储备液制备

试验以外标法进行定性定量。精确称取 ABZ、ABZSO、ABZSO₂、ABZSO₂-NH₂ 标准品各 0.01 g, 用乙腈避光振荡溶解, 制成 20 mg/L 的混合标准储备液, 置于 4°C 冰箱备用。测定时以不同浓度梯度的阿苯达唑、阿苯达唑亚砷、阿苯达唑砷、阿苯达唑-2-氨基砷标准品绘制标准曲线。

[0020] 条件参数

1.3.1 液相色谱条件

液相色谱仪为岛津 Prominence UFLC (ULTRA FAST LIQUID CHROMATOGRAPH), 色谱柱: Agilent ZORBAX C18 (4.6×100 mm, 3.0 μm); 柱温 40°C; 流动相: 乙腈: 0.005 mol/L 甲酸 (V : V) = (85% : 15%), 等梯度洗脱; 进样量 10 μL; 流速 0.2 000 mL/min。

[0021] 质谱条件

质谱仪为 API 4000 MS/MS (AB SCIEX, USA), 三重四极杆质谱; 电离方式: ESI (+); 多重反应监测质谱扫描模式 (MRM); 雾化气 (NEB): 7.00 psi, 气帘气 (CUR) 25.00 psi, 碰撞气 (CAD): 5.00 psi, 离子化温度 (TEM): 550.00 °C, 喷雾电压 (IS): 5500.00 V, 射入电压 (EP): 10.00 V, 碰撞室射出电压 (CXP): 10.00 V。阿苯达唑及其代谢物在 ESI (+) [M+H]⁺ 的 MRM 模式下的质谱参数见表 1。

表1 阿苯达唑及其代谢物的质谱参数

组分名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	去簇电压 DP (V)	碰撞能 CE (eV)	聚焦电压 FP (V)
阿苯达唑	266.100→191.100	266.100→234.100	131.00	45	190
	266.100→234.100			28	
阿苯达唑亚砷	282.200→191.100	282.200→208.100	128.00	54	170
	282.200→208.100			34	
阿苯达唑砷	298.200→224.100	298.200→159.100	142.00	38	185
	298.200→159.100			52	230
阿苯达唑-2-氨基砷	240.200→133.100	240.200→133.100	180.00	43	190
	240.200→198.000			27	

1.4 数据统计分析

利用 Analyst 分析软件对液质谱信号数据进行分析、物质峰面积的自动积分、质谱图谱图的生成；利用 Microsoft Office Excel 2003 对数据进行物质含量计算、线性回归分析、标准相对偏差的计算等统计分析。

[0023] 方法验证

2.1 定性分析

125 $\mu\text{g/L}$ 混合标准溶液、家蚕血淋巴供试样品溶液分别进样 10 μL ，所得 UFLC-MS/MS 定量离子重构离子质量色谱图见图 1-1 ~ 图 4-2，混合标准溶液离子扫描质谱见图 5。在选定的色谱条件下，待测物 ABZ、ABZSO、ABZSO₂、ABZSO₂-NH₂ 的色谱峰保留时间分别为 2.45、2.01、2.02、2.27 min，供试样品中的各待测物与混合标准品的保留时间基本一致。峰形良好，周围杂质峰干扰可忽略。待测物的定性离子对的重构离子色谱峰的信噪比 $S/N \geq 3$ ，定量离子对的重构离子色谱峰的信噪比 $S/N \geq 10$ ；此外，各定性离子对的相对离子丰度值符合欧盟有关质谱定性的要求(表 2)(欧洲共同体委员会, 2002)，至此可判断供试样品中含有阿苯达唑及其代谢物；反之，则样品不含此化学物质。

[0024] 定量分析

对家蚕血淋巴供试样品中含有的阿苯达唑及其代谢物，分别按其定量离子对 (m/z) (参见表 1) 的峰面积进行含量计算。方法学研究如下：

2.2.1 线性关系

将 20 mg/L 的混合标准储备液配置成浓度分别为 5 $\mu\text{g/L}$ 、62.5 $\mu\text{g/L}$ 、125 $\mu\text{g/L}$ 、250 $\mu\text{g/L}$ 、625 $\mu\text{g/L}$ 、1 250 $\mu\text{g/L}$ 的标准曲线样品，将所测得的峰面积 (peak area ratio, PAR) 和浓度 (C , $\mu\text{g/L}$) 进行线性回归分析，得到 ABZ、ABZSO、ABZSO₂、ABZSO₂-NH₂ 标准溶液回归方程分别为：ABZ : PAR = $3.7242 \times 10^6 C + 3.4938 \times 10^4$, $R^2 = 0.9927$ ；ABZSO : PAR = $6.4613 \times 10^5 C - 4.8495 \times 10^3$, $R^2 = 0.9905$ ；ABZSO₂ : PAR = $1.0269 \times 10^6 C + 89.1365$, $R^2 = 0.9972$ ；ABZSO₂-NH₂ : PAR = $1.5396 \times 10^6 C - 8.4586 \times 10^3$, $R^2 = 0.9966$ ，均呈良好的线性关系。

[0025] 2.2.2 检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)

当进样量为 10 μL ， $S/N=3$ 时，ABZ、ABZSO、ABZSO₂、ABZSO₂-NH₂ 的 LOD 分别为 0.39 ng/mL、5.00 ng/mL、0.23 ng/mL、1.78 ng/mL；当进样量为 10 μL ， $S/N=10$ 时，LOQ 分别为 1.32 ng/mL、16.67 ng/mL、0.76 ng/mL、5.94 ng/mL。

[0026] 2.2.3 重复性——精密度试验

将 125 $\mu\text{g/L}$ 、625 $\mu\text{g/L}$ 、1 250 $\mu\text{g/L}$ 三种浓度的混合标准溶液和供试样品各重复进样 6 次，各自保留时间和峰面积的 RSDs 见表 3。试验结果表明，本方法具有良好的重现性。

表 3 重复性试验结果 (n=6)

	ABZ		ABZSO		ABZSO ₂		ABZSO ₂ -NH ₂	
	保留时间 RSDs	峰面积 RSDs	保留时间 RSDs	峰面积 RSDs	保留时间 RSDs	峰面积 RSDs	保留时间 RSDs	峰面积 RSDs
125 μg/L 混合 标样	2.1%	2.8%	2.4%	1.3%	2.3%	4.4%	2.8%	1.7%
625 μg/L 混合 标样	2.8%	5.6%	4.3%	4.2%	4.7%	2.9%	5.3%	8.6%
1250 μg/L 混 合标样	3.8%	2.1%	3.0%	3.3%	2.9%	2.9%	3.3%	5.0%
蚕血供试样品	2.8%	2.1%	2.3%	3.3%	2.2%	2.9%	2.8%	5.0%

[0027] 2.2.4 回收率——准确度试验

取由 1.2.2 制得的阴性蚕血淋巴样品 6 份 (各 0.5 mL), 各精密加入浓度为 625 μg/L 的阿苯达唑及其代谢物混合标准品 0.5 mL, 涡旋混匀, 过 0.22 μm 有机微孔滤膜, 进样测定。ABZ、ABZSO、ABZSO₂、ABZSO₂-NH₂ 的回收率分别为 81.60%~95.16%、76.88%~84.31%、87.39%~99.86%、73.25%~76.47%; RSD 分别为: 5.26%、3.61%、4.65%、1.67%。详情见表 4。

表 4 回收率试验结果 (n=6)

目标物质	编号	取样量 (mL)	含量(μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSDs (%)
ABZ	1	1	0	0.625	0.510	81.60%	90.47%	5.26%
	2	1	0	0.625	0.568	90.87%		
	3	1	0	0.625	0.584	93.45%		
	4	1	0	0.625	0.576	92.16%		
	5	1	0	0.625	0.595	95.16%		
	6	1	0	0.625	0.560	89.58%		
ABZSO	1	1	0	0.625	0.508	81.34%	79.40%	3.61%
	2	1	0	0.625	0.481	76.88%		
	3	1	0	0.625	0.491	78.62%		
	4	1	0	0.625	0.620	84.31%		
	5	1	0	0.625	0.485	77.63%		
	6	1	0	0.625	0.485	77.63%		
ABZSO ₂	1	1	0	0.625	0.599	95.81%	94.38%	4.65%
	2	1	0	0.625	0.610	97.52%		
	3	1	0	0.625	0.576	92.22%		
	4	1	0	0.625	0.584	93.47%		
	5	1	0	0.625	0.546	87.39%		
	6	1	0	0.625	0.624	99.86%		
ABZSO ₂ -NH ₂	1	1	0	0.625	0.478	76.47%	75.26%	1.67%
	2	1	0	0.625	0.471	75.33%		
	3	1	0	0.625	0.475	76.06%		
	4	1	0	0.625	0.464	74.29%		
	5	1	0	0.625	0.476	76.16%		
	6	1	0	0.625	0.458	73.25%		

[0028] 本发明可用其他的不违背本发明的精神或主要特征的具体形式来概述。本发明的上述实施例都只能认为是对本发明的说明而不是限制, 凡是依据本发明的实质技术对以上

实施例所作的任何细微修改、等同变化与修饰,均属于本发明技术方案的范围内。

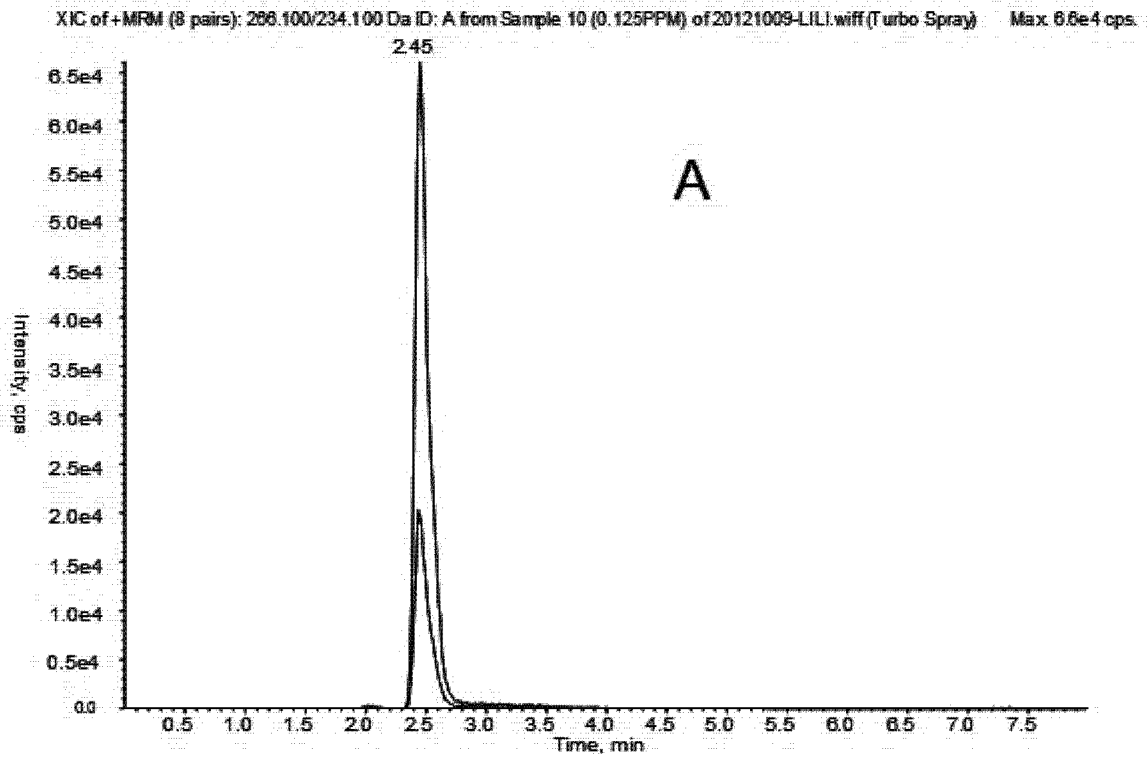


图 1-1

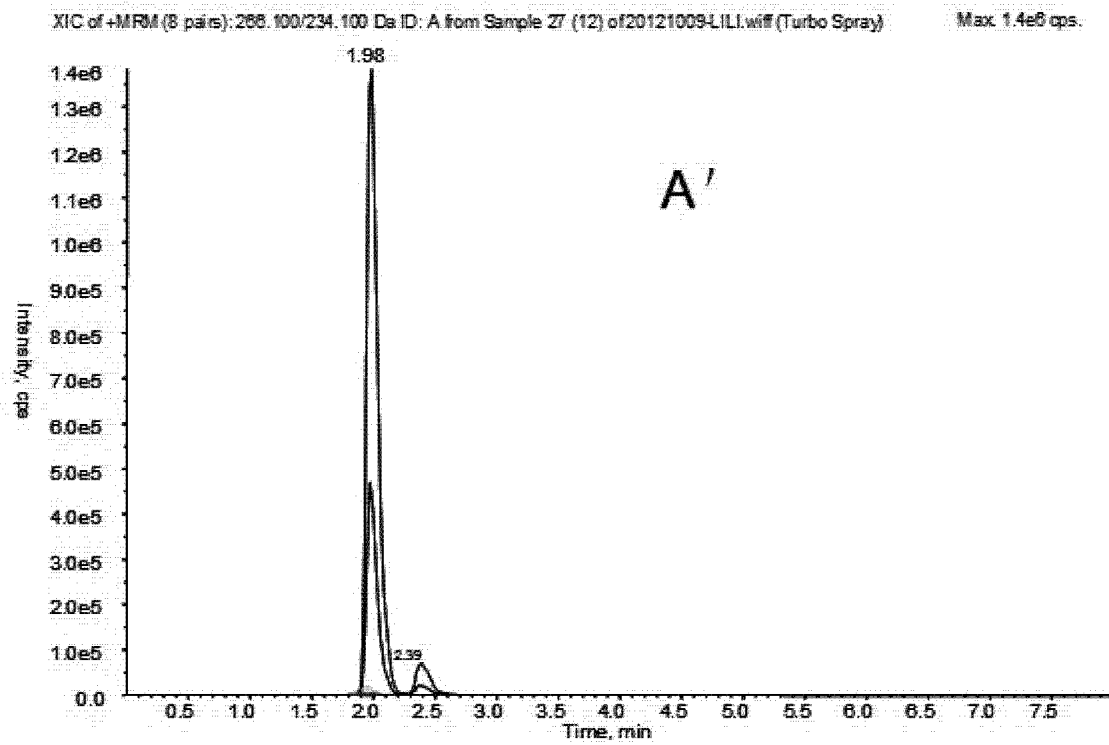


图 1-2

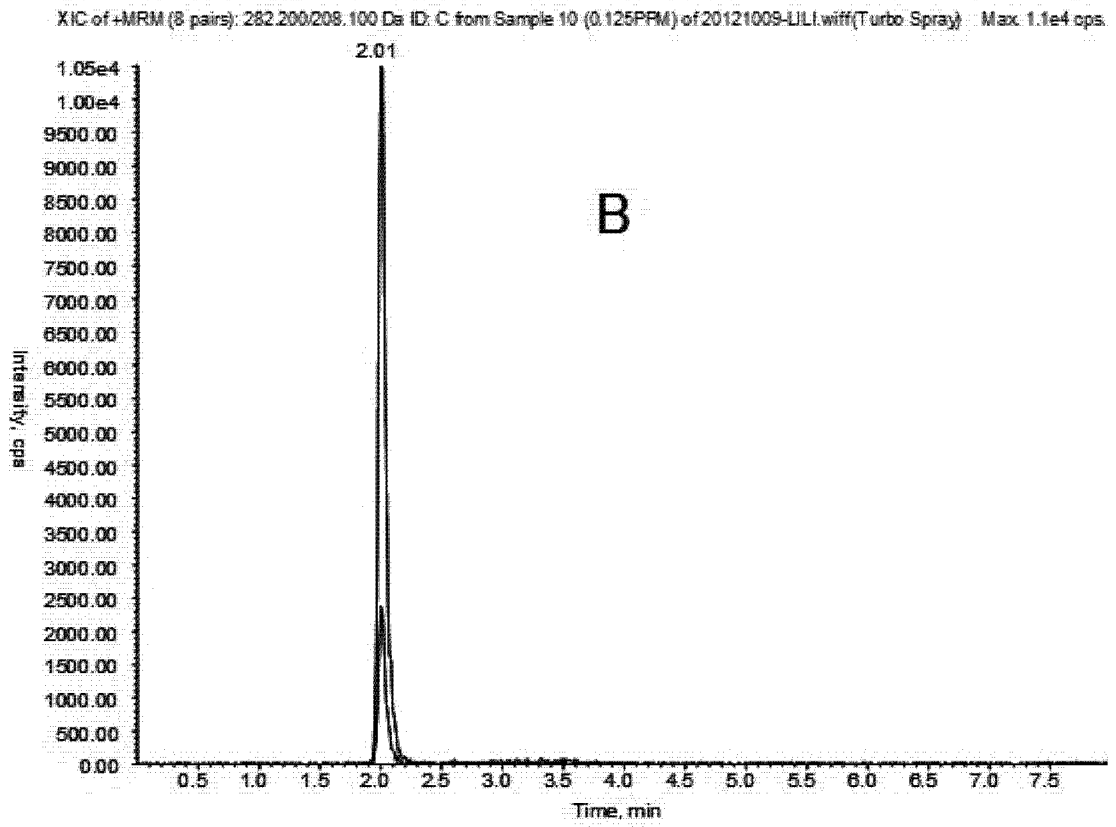


图 2-1

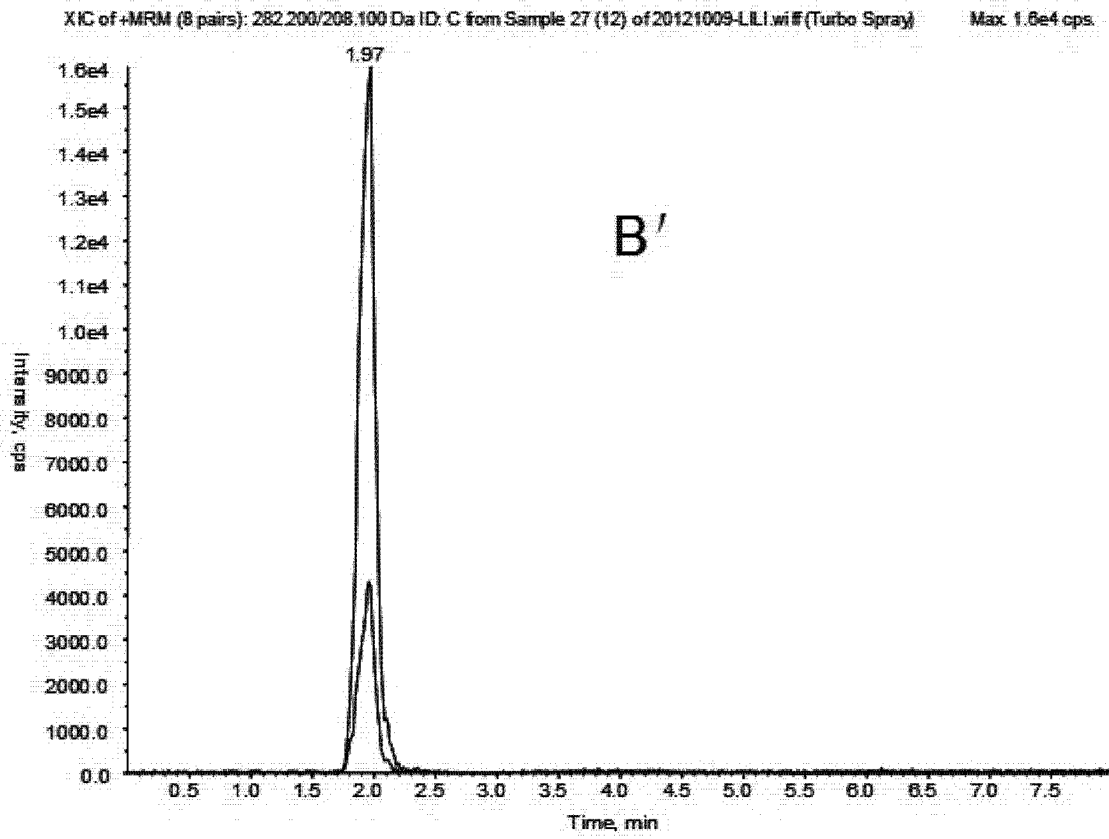


图 2-2

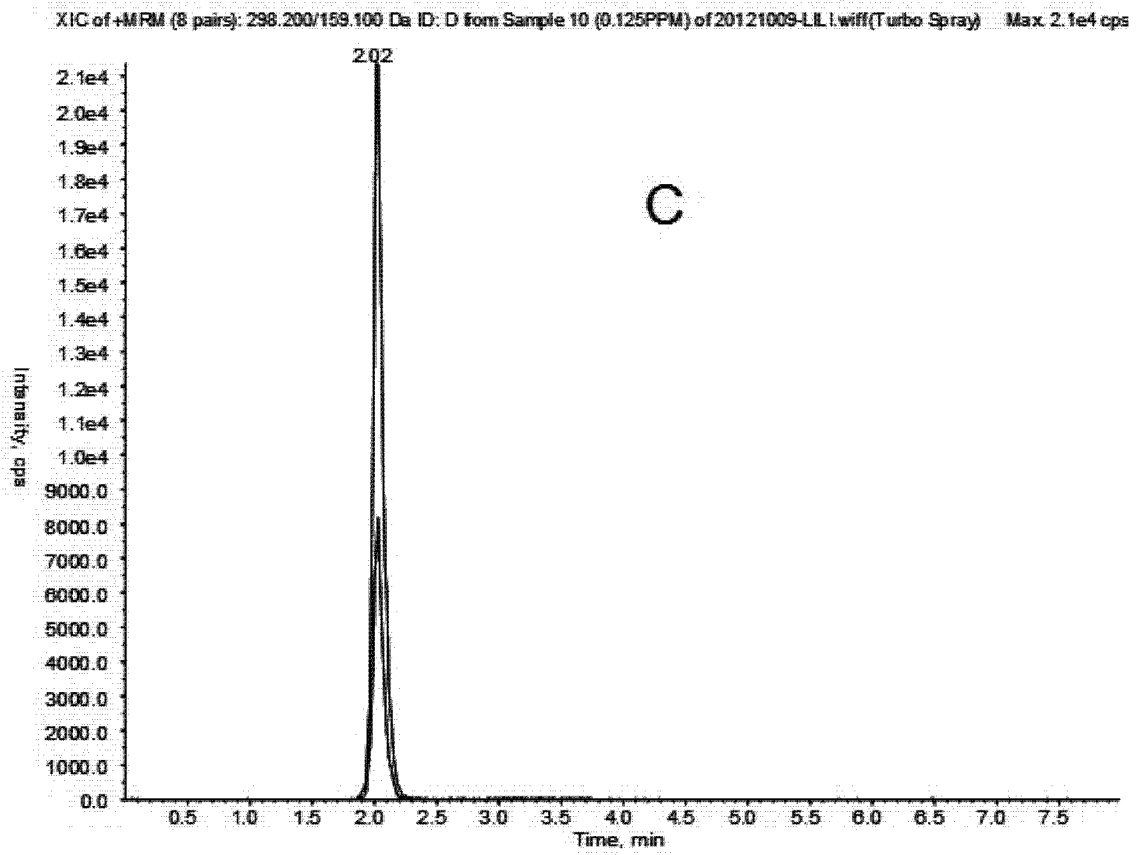


图 3-1

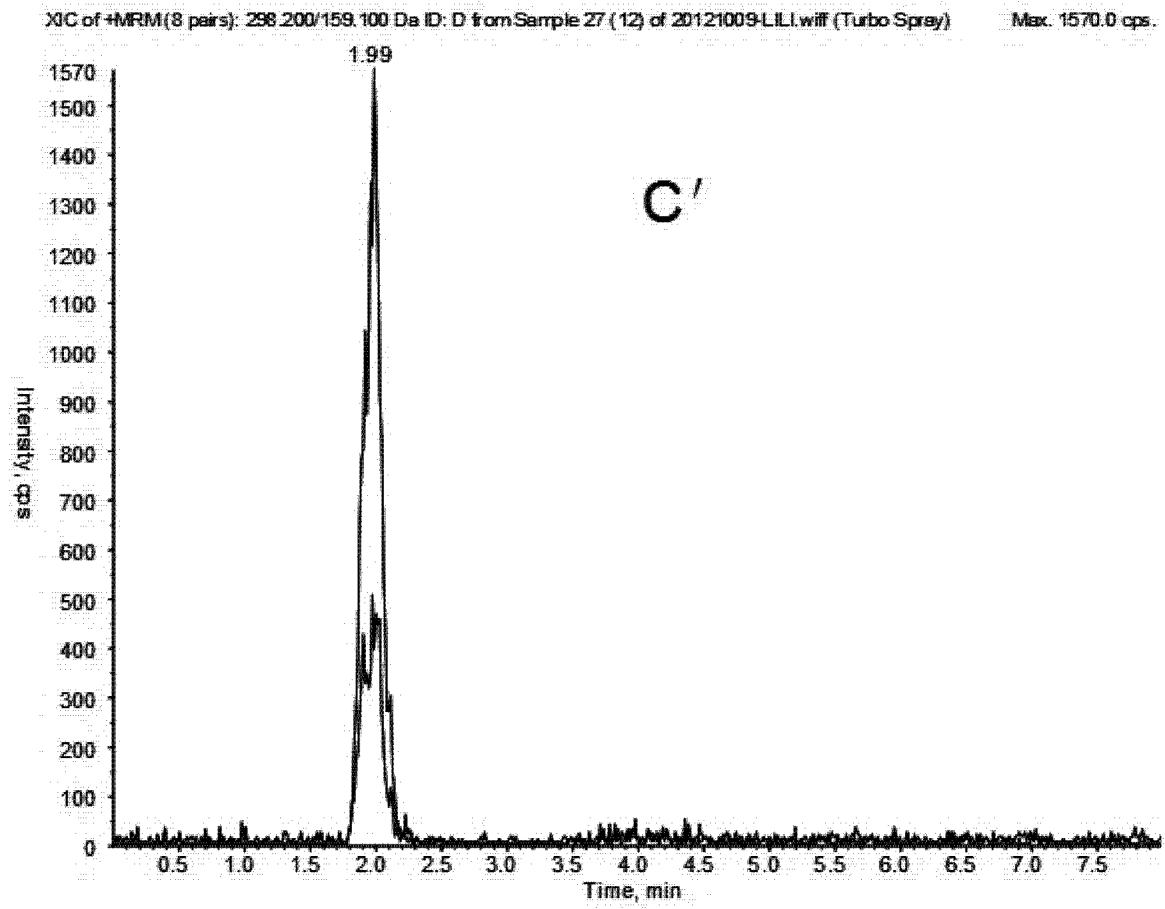


图 3-2

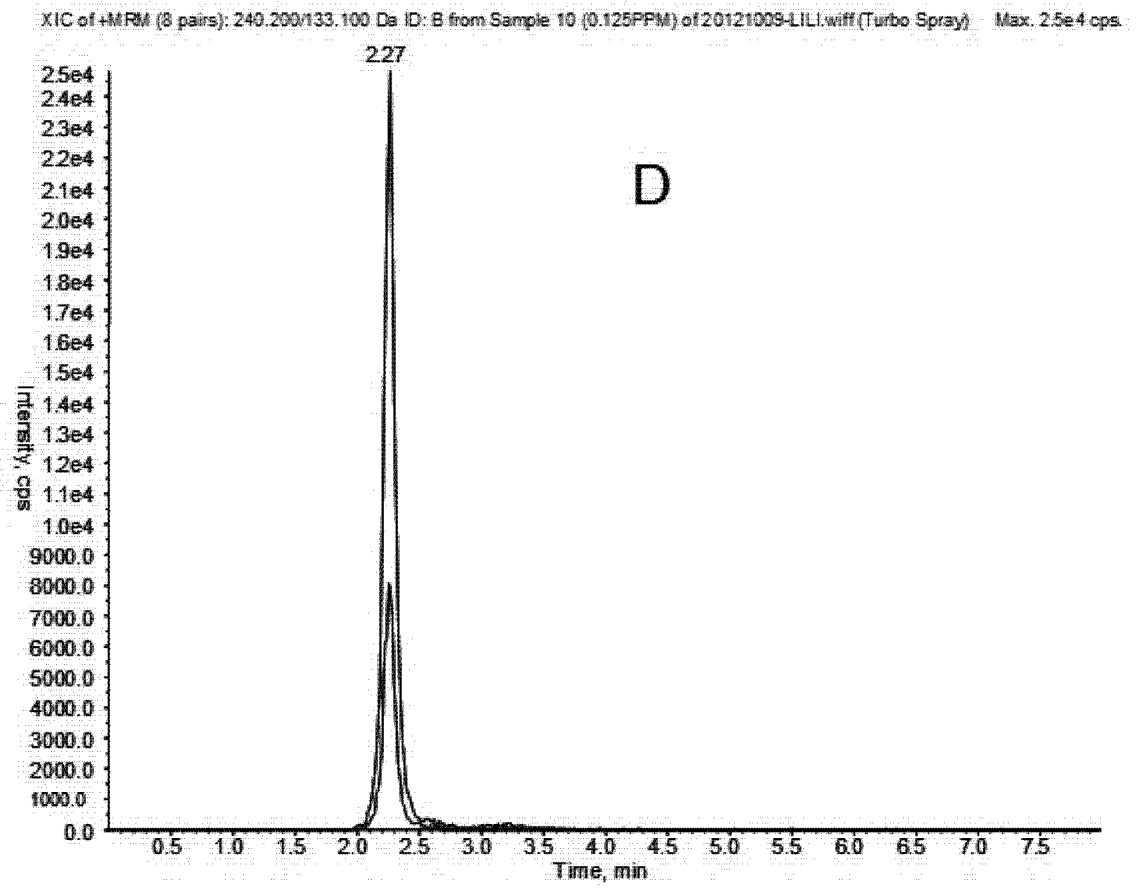


图 4-1

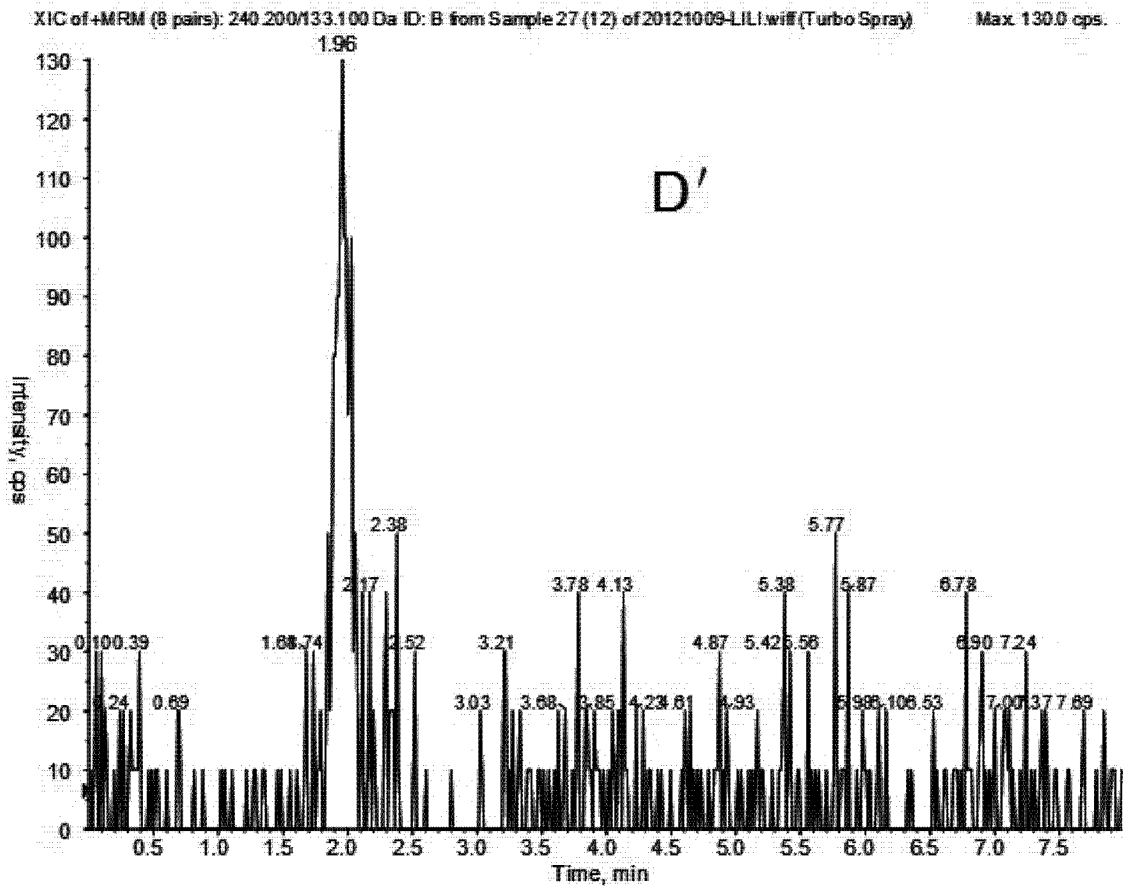


图 4-2

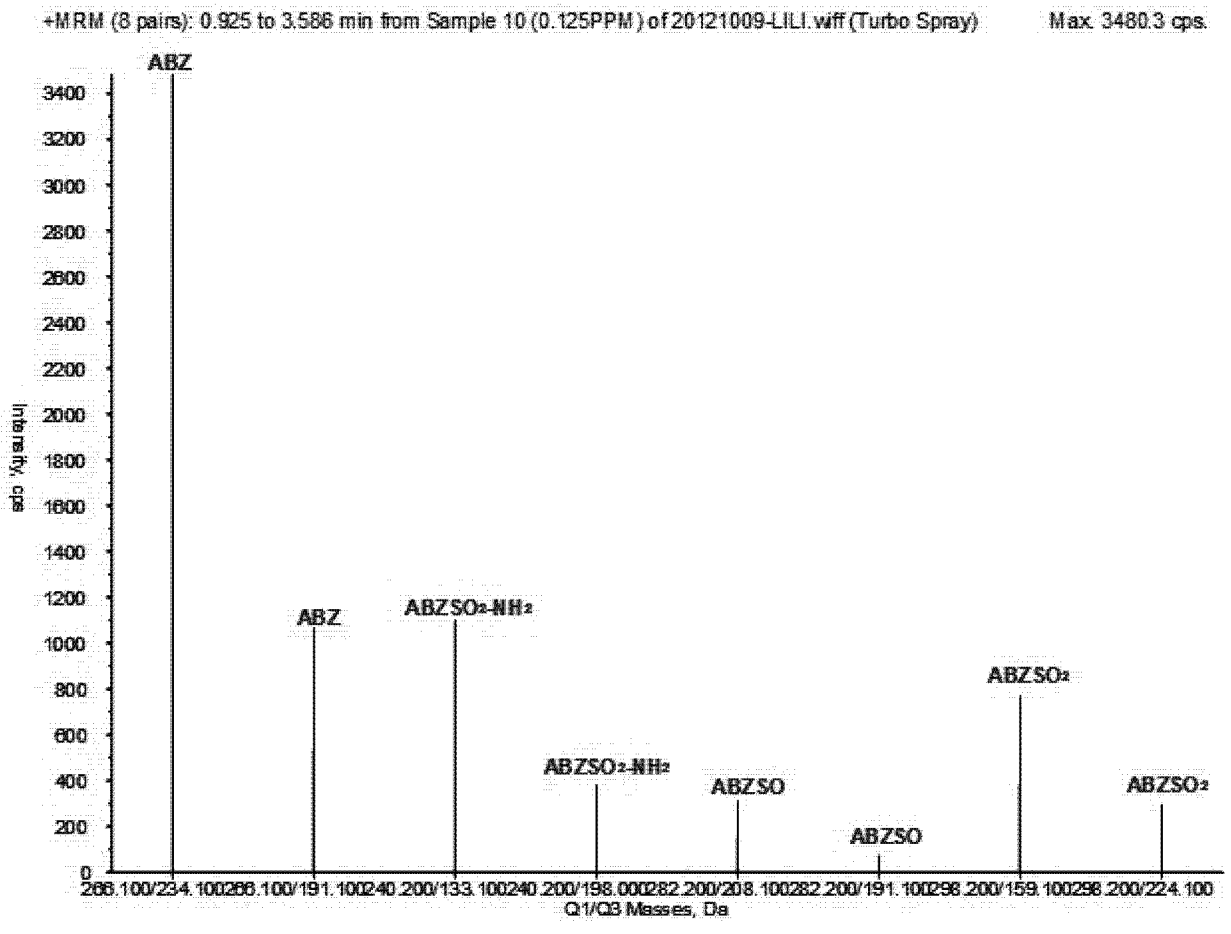


图 5