

基于 LC-MS/MS 法建立快速检测 8 种氨基糖苷类抗生素的方法

孙晓龙¹, 杨青², 王洪波³, 刘颖^{1*} (1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 首药控股(北京)股份有限公司, 北京 100195; 3. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003)

摘要:目的 应用液质谱联用(LC-MS/MS)检索数据库技术建立卡那霉素、庆大霉素 C1、庆大霉素 C1a、庆大霉素 C2、妥布霉素、新霉素、异帕米星、依替米星 8 种氨基糖苷类抗生素(aminoglycoside antibiotics, AGs)的快速检测方法。方法 采用 Shiseido PC HILIC(2.0 mm × 100 mm, 3 μm)色谱柱对 8 种 AGs 进行分离, 体积分数 0.5% 甲酸水溶液-0.1% 甲酸乙腈溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.4 mL · min⁻¹; 采用多重反应监测(MRM)扫描建立 8 种 AGs 的筛查方法; 采用碰撞能量扩展(CES)功能和增强子离子(EPI)扫描模式采集 8 种 AGs 的典型质谱图, 添加到已经建立的抗生素检索质谱库中。结果 所建立的方法专属性强, 灵敏度高, 10 min 即可实现对 8 种 AGs 的初筛和定性分析。应用该方法对 3 批 INSA 胰岛素产品中的卡那霉素残留进行了监测, 3 批样品中均未检测到卡那霉素, 其残留量小于检出限 0.05 ng · mg⁻¹。结论 本研究应用液质联用检索数据库技术建立的 8 种 AGs 的检测方法可以对痕量 AGs 进行快速筛查和准确定性。

关键词:氨基糖苷类抗生素; 液相色谱-串联质谱法; 亲水相互作用色谱; 检索数据库; 定性分析; 定量分析

doi: 10.11669/cpj.2024.15.011 中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)15-1438-07

Rapid Detection of Eight Aminoglycoside Antibiotics by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

SUN Xiaolong¹, YANG Qing², WANG Hongbo³, LIU Ying^{1*} (1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. Shouyao Holdings (Beijing) Co., Ltd, Beijing 100195, China; 3. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for simultaneous determination of 8 aminoglycoside antibiotics (AGs) including kanamycin, gentamycin C1, gentamycin C2, gentamycin C1a, tobramycin, neomycin, isepamicin and etimicin by LC-MS/MS with instant library searching. **METHODS** Eight AGs were separated by Shiseido PC HILIC (2.0 mm × 100 mm, 3 μm) column, with 0.5% formic acid aqueous solution-0.1% formic acid acetonitrile solution as mobile phase and 0.4 mL · min⁻¹ of flow rate, and procedure of the gradient elution was performed. The screening method of 8 AGs was established by the scanning mode of multiple reaction monitoring (MRM). Typical mass spectrograms of 8 AGs were collected by collision energy expansion (CES) function and enhanced ion (EPI) scanning mode, and added them to the already established mass spectral library of antibiotics searching. **RESULTS** The established method has the advantages of short analysis time, strong specificity and high sensitivity. The screening and qualitative analysis of 8 AGs can be realized within 10 min. Three batches of the INSA insulin product were detected by this method, and kanamycin that was less than the detection limit of 0.05 ng · mg⁻¹ were not detected in above samples. **CONCLUSION** In this study, the detection method of 8 AGs established by LC-MS/MS with instant library searching can quickly screen and accurately determine trace AGs.

KEY WORDS: aminoglycoside antibiotics; liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); hydrophilic interaction chromatography (HILIC); instant library searching; quantitative analysis; qualitative analysis

氨基糖苷类抗生素(aminoglycoside antibiotics, AGs)是在 20 世纪 40 年代被发现的, AGs 家族起源于 Schatz 和 Waksman 发现的从天然产物中分离得到的链霉素^[1]。链霉素诞生后, 大多数 AGs 在与链霉素密切相关的次级代谢物的混合物中被发现, 通过对天然来源的 AGs 进行结构修饰又得到了一系

列半合成衍生物^[2]。AGs 是通过氧桥和氨基醇相连的苷类抗生素, 其结构中含有许多氨基和羟基, 大多数为强极性化合物, 在临床中用于治疗细菌感染性疾病。

目前, 国内外药典中主要采用薄层色谱(thin-layer chromatography, TLC)法和高效液相色谱(high

基金项目:中国食品药品检定研究院关键技术研究基金项目资助(GJJS-2022-9-1)

作者简介:孙晓龙, 男, 硕士研究生 研究方向: 药物分析与药物质量控制; 杨青, 女, 硕士 研究方向: 药物分析与药物质量控制。孙晓龙与杨青为共同第一作者 * **通讯作者:**刘颖, 女, 博士, 研究员 研究方向: 药物分析与药物质量控制 Tel: (010)67872233-8312

pressure liquid chromatography, HPLC)法进行 AGs 药品的质量控制, HPLC 法常用的检测器有紫外(ultra-violet, UV)检测器、蒸发光散射检测器(evaporative light-scattering detector, ELSD)、脉冲安培检测器(pulse amperometric detector, PAD)^[3], 值得注意的是使用 HPLC-UV 法时需采用衍生化方法为 AGs 引入生色团, 以利于检测。由于 AGs 良好的抗菌作用, 它也被用于其他领域, 如在疫苗等生物制品的生产中常会加入少量 AGs 防止细菌感染^[4-5], 但是要对其添加量进行严格控制, 并进行检测。由于传统 HPLC 法的灵敏度限制, 无法对痕量 AGs 进行准确定性和定量分析。液质联用(LC-MS/MS)分析技术具有灵敏度高、检测限低、专属性强的特点, 已成为痕量抗生素检测常用的分析手段^[6-8], 它可同时分析多种药物^[9-12]。质谱数据库是筛查、检索和定性分析未知化合物的有力工具, 目前被广泛应用的有美国国家标准与技术研究院(NIST)库^[13]和日本有机物光谱数据库(SDBS)^[14]。因此, LC-MS/MS 检索数据库技术, 已被应用于农药残留、药物滥用和毒物分析领域^[15-17]。该技术可对未知化合物同时进行定性筛查, 缩短分析时间, 减少对照品的使用。

本研究采用亲水相互作用色谱(hydrophilic interaction chromatography, HILIC)模式与质谱联用建立了庆大霉素、新霉素、卡那霉素三大家族及其半合成衍生物中具有代表性的共 8 种 AGs 的 LC-MS/MS 质谱检索数据, 填补了本实验室建立的包含 124 种抗生素的 LC-MS/MS 检索数据库中 AGs 的空缺, 且所建立的方法具有可扩展性, 在后续应用过程中可根据需要添加其他 AGs, 为非法添加和残留 AGs 的检测提供有力的技术支撑。

1 仪器与试剂

AB Sciex 6500 Qtrap 质谱仪(美国 AB Sciex 公司); 20AT 高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); CP225D 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); TP 600 超声波清洗仪(天鹏电子新技术有限公司); Milli-Q Reference 超纯水制备仪(美国 Merck Millipore 公司)。

甲醇(批号: 203512)、乙腈(批号: 204433)和甲酸(批号: 202674)(质谱纯, 美国 Fisher 公司); 氨水(批号: STBJ2608, 分析纯, 美国 Sigma 公司); 卡那霉素(批号: 130307-201417, 含量: 67.9%)、庆大霉素(批号: 130326-201716, 每毫克相当于 637 庆大霉素单位, 含量: C1 15.9%, C1a 15.2%, C2 16.9%)、妥布霉素(批号: 130527-200402, 含量: 91.4%)、新霉

素(批号: 130309-201512, 每毫克相当于 652 单位)、异帕米星(批号: 130594-201401, 含量: 70.9%)、依替米星(批号: 130365-200702, 每毫克相当于 567 单位)对照品和标准物质(中国食品药品检定研究院); INSA 胰岛素的空白对照及其样品均由某生物医药公司研发生产。

2 方法与结果

2.1 LC-MS/MS 方法

2.1.1 色谱方法的建立 AGs 是通过氧桥和氨基醇相连的苷类抗生素, 其结构中含有许多氨基和羟基, 大多数为强极性化合物, 在普通反相 C₁₈ 色谱柱几乎不保留。而在 HILIC 模式下, 该类化合物具有更好的保留^[18-19], 因此本研究选择 HILIC 色谱柱对 8 种 AGs 进行检测。本实验采用 8 种 AGs 的混合标准溶液进行液相条件的优化, 初步采用乙腈-水为流动相进行优化, 通过调节流动相比例、流速、柱温和柱长考察各色谱峰的保留时间、峰形和灵敏度, 最终采用 Shiseido PC HILIC (2.0 mm × 100 mm, 3 μm) 色谱柱分离 8 种 AGs。为了进一步提高检测的灵敏度和改善峰形, 在水相分别加入了体积分数 0.1%、0.3%、0.5% 和 0.7% 甲酸, 结果发现随着甲酸浓度的增加, 各目标抗生素的峰形不断尖锐, 但浓度太高时灵敏度反而降低。因此, 最终选择体积分数 0.5% 甲酸水溶液为流动相 A, 体积分数 0.1% 甲酸乙腈溶液为流动相 B。

综上, 液相分离采用 Shiseido PC HILIC (2.1 mm × 100 mm, 3 μm) 色谱柱, 流动相: 体积分数 0.5% 甲酸水溶液为流动相 A; 体积分数 0.1% 甲酸乙腈溶液为流动相 B, 按照表 1 进行梯度洗脱, 流速 0.4 mL · min⁻¹, 柱温 40 °C, 进样量 10 μL。

表 1 高效液相色谱(HPLC)检测氨基糖苷类抗生素(AGs)的梯度洗脱程序

Tab. 1 HPLC gradient elution procedure for the detection of aminoglycoside antibiotics (AGs)

t/min	Mobile phase A/%	Mobile phase B/%
0.1	30	70
1	95	5
3	99	1
4	99	1
5.1	70	30
6	30	70
10	30	70

注: 流动相 A - 体积分数 0.5% 甲酸水溶液; 流动相 B - 体积分数 0.1% 甲酸乙腈溶液。

Note: mobile phase A - 0.5% formic acid aqueous solution; mobile phase B - 0.1% formic acid acetonitrile solution.

2.1.2 质谱方法 质谱测定采用电喷雾 (ESI) 电离源, 在正离子模式下进行多反应监测 (MRM) 扫描。电喷雾电压为 5.5 kV, 离子化温度为 500 °C, 雾化气、辅助气和气帘气压力分别为 275.8、275.8、172.4 kPa, 碰撞气电压为 6 V, 进口电压 10 V, 出口电压 11 V。增强子离子扫描 (EPI) 模式下, 扫描速度为 $10\,000 \cdot \text{s}^{-1}$, 碰撞能量为 35 eV, 碰撞能量扩展 (CES) 为 15 eV。在信息关联采集, MRM 响应值大于 1 000 CPS 即触发 EPI 扫描。

2.2 对照品溶液的制备

分别准确称取适量的卡那霉素、庆大霉素 (包含庆大霉素 C1、庆大霉素 C1a、庆大霉素 C2)、妥布霉素、新霉素、异帕米星、依替米星对照品, 用水溶解并稀释, 得到浓度约为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 6 种对照品储备液。

分别精密量取 6 种储备液一定量, 采用体积分数 0.1% 甲酸甲醇-水 (体积比 1:1) 稀释, 制成浓度为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 或 $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的工作溶液。

精密量取每种储备液 0.1 mL 混合, 置于 10 mL 量瓶中, 加水定容到刻度, 进一步用水稀释制成浓度为 $100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 AGs 混合标准溶液。

2.3 高通量筛查方法的建立

MRM 扫描是质谱检测常用的分析方法, 具有特异性强、灵敏度高、准确性高、重现性好和线性动态范围宽的优点。通常 1 次扫描可以检测上百种化合物, 达到高通量的筛查目的。首先要确定待测化合物的特异性母离子, 然后将选定的母离子进行碰撞诱导 (collision-induced), 最后选择特异性子离子进行质谱信号的采集, 并对每个待测化合物的试验参数进行手动优化, 以确定最佳的去簇电压 (declustering potential, DP)、碰撞能 (collision energy, CE) 和碰撞室出口电压 (collision cell exit potential, CXP) 参数值。表 2 列出了 8 种待测化合物的离子通道和 MRM 最佳参数值。按照“2.1”项下优化的液相和质谱方法, 将“2.2”中的 8 种 AGs 混合标准溶液注入液质联用仪进行分析, 得到 8 种 AGs 的色谱图 (图 1) 和保留时间 (表 2)。8 种化合物的离子通道不同, 所以不需要在色谱上完全分开, 就可以准确定性和定量。图 2 为分别提取的 8 种 AGs 的色谱图。

2.4 质谱检索数据库的建立

6500Qtrap 系统是将串联四级杆和离子阱结合在一起在一起的质谱系统, 其 Q3 能够实现四级杆扫描和离子阱扫描的快速转换, 从而同时获得 MRM 和 EPI

数据。本研究的目的是获得 8 种 AGs 的典型 EPI 质谱图, 保存到实验室已经建立的抗生素质谱检索数据库中。实验中应用碰撞能量扩展功能 (CES), 在 1 次扫描中完成在 3 个不同碰撞能量下 EPI 质谱图的采集, 最终给出 3 张谱图的平均谱图, 这样经过 1 次扫描就能够同时得到待测化合物从高质量数到低质量数的典型质谱图^[20]。

取“2.2”项下每种抗生素工作溶液 $10 \mu\text{L}$, 逐个注入液质联用仪, 采集每种抗生素的典型质谱图 (图 3), 将每种抗生素的名称、分子式和标准化图谱存储在计算机 Library (Analyst version 1.6.2) 中, 完成 8 种 AGs 液质联用检索数据库的建立。

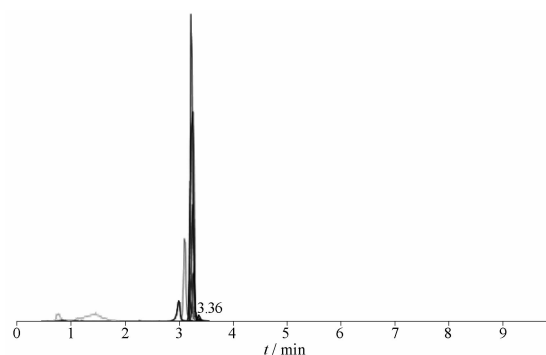


图 1 8 种 AGs 的多反应检测 (MRM) 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of eight AGs

表 2 AGs 的 MRM 最优参数和保留时间

Tab. 2 MRM parameters and retention time for each drug for AGs

Medicine	m/z (Parent ion)	m/z (Daughter ion)	DP /V	CE /V	t_R /min
Kanamycin	485	163	21	30	3.11
Gentamicin C1	478	322	161	19	3.23
Gentamicin C1a	450	322	134	18	3.25
Gentamicin C2	464	160	141	28	3.25
Tobramycin	468	324	40	20	3.27
Neomycin	615	161	195	38	3.37
Isepamicin	570	411	133	23	3.00
Etimicin	478	350	160	19	3.23

2.5 方法的应用

2.5.1 初筛和定性 在实际应用过程中, 首先应用所建立的 8 种 AGs 的 MRM 高通量筛选方法筛选样品中可能含有的 AGs。进而执行 EPI 扫描, EPI 扫描和 MRM 筛选之间通过结合信息关联采集 (information association collection, IDA) 连接, 即当 MRM 筛选的化合物信号强度达到 IDA 所设定的阈值时, EPI 扫描会被触发, 从而获得化合物的

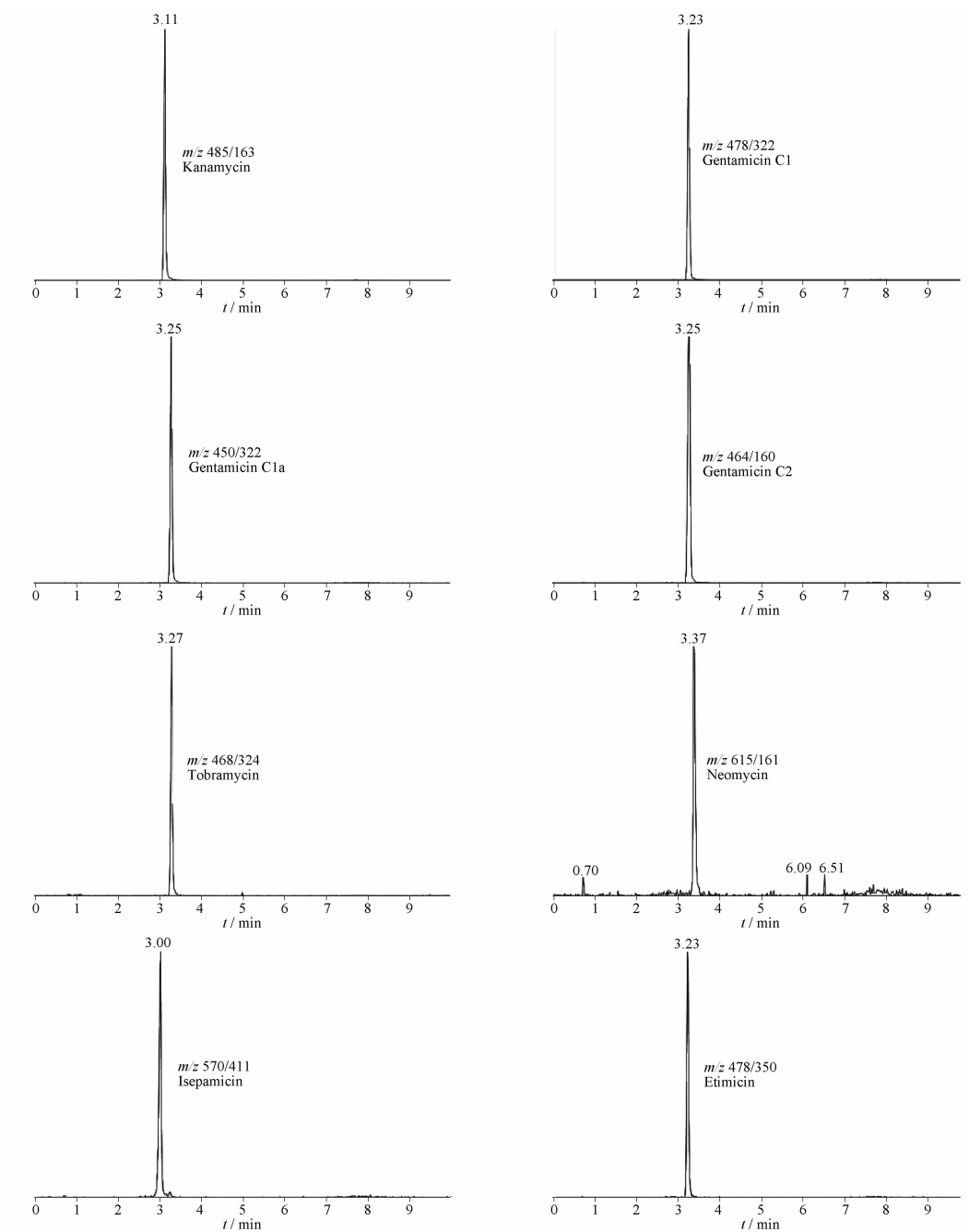


图2 8种AGs的提取色谱图

Fig. 2 Extracted chromatograms of the 8 Ags

质谱图^[20]。最后将得到的质谱图在所建的质谱库中进行检索,完成化合物的定性。本研究按照上述分析流程对某生物医药公司生产的3批INSA胰岛素产品进行检测,该产品在生产时为控制微生物使用了卡那霉素,并在生产的最后阶段进行了抗生素的清除。检测结果表明,所建立的数据库能够准确筛查并确认INSA胰岛素中的卡那霉素(图4),且该INSA胰岛素中卡那霉素的残留低于定量限。

2.5.2 定量测定 应用所建立的MRM高通量方法中卡那霉素的检测方法可以对INSA胰岛素产品中的卡那霉素进行定量测定,定量方法如下。

样品前处理:精密称取INSA胰岛素20 mg,向其中加入氨水进行蛋白质沉淀,涡旋15 s,在 $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,离心30 min。取上清液注入液质联用仪分析。

方法学验证:①检出限、定量限、线性范围,

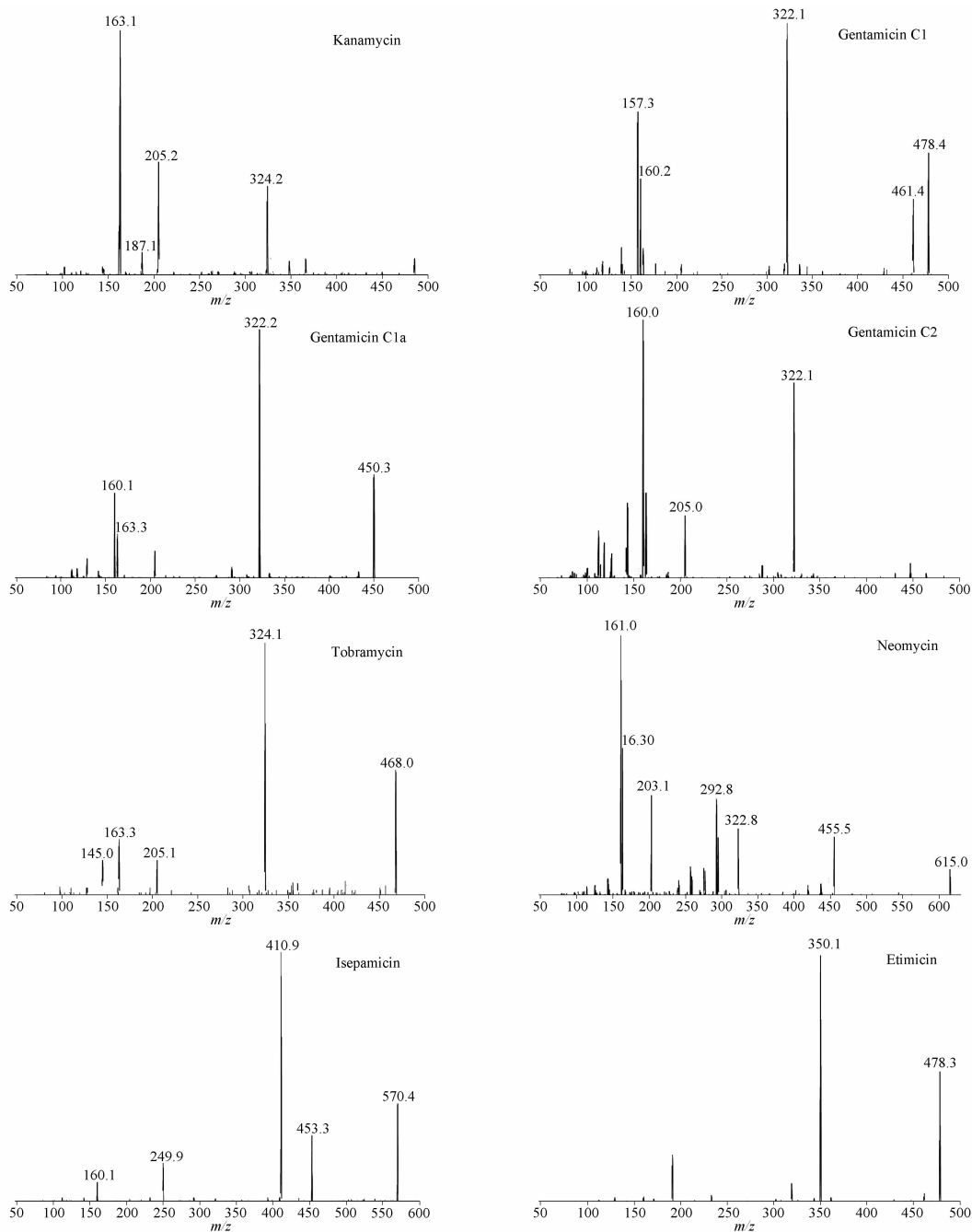
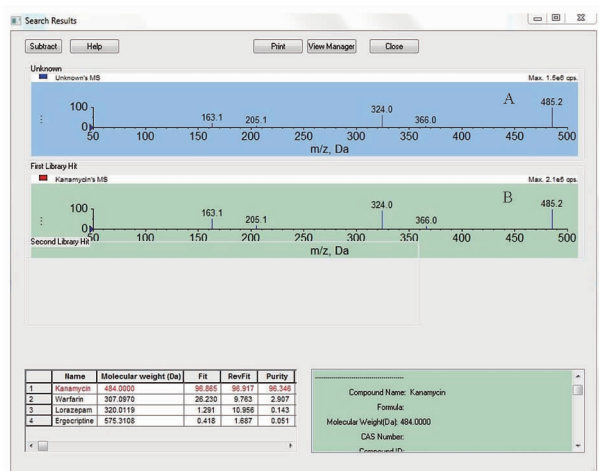


图3 8种AGs的典型质谱图

Fig. 3 Typical mass spectrograph of the 8 AGs

在INSA胰岛素的空白基质中配制卡那霉素浓度为0.5、0.1、0.05 ng · mL⁻¹的样品,按照样品前处理方法进行前处理,然后注入液质联用仪分析,以信噪比(S/N)为3:1判定检出限(LOD),以信噪比(S/N)为10:1判定定量限(LOQ)。在空白基质中配制浓度为2.5、5、10、25、50、100、200 ng · mL⁻¹标准样品,按上述前处理方法处理后进样分析,以相关系数*r*衡量线性相关性。结果表明:卡那霉素的LOD为0.05 ng · mg⁻¹,LOQ为0.1 ng · mg⁻¹,卡那霉素在

2.5 ~ 200 ng · mg⁻¹范围内,回归方程为 $Y = 5.96 \times 10^3 X - 3.17 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)。②精密度与准确度,在INSA胰岛素的空白基质中加入2 mL质量浓度为5、50、100 ng · mL⁻¹的标准溶液,每种浓度平行配制3份。按照样品前处理方法进行前处理,然后注入液质联用仪分析。结果表明,3种不同浓度的卡那霉素标准溶液(5、50、100 ng · mL⁻¹)在INSA胰岛素空白基质中的精密度相对标准偏差(RSD)小于1%,准确度范围在99% ~ 102%,见表3。



A - 未知化合物 EPI 质谱图谱; B - 已知标准图谱。
A - EPI spectrum of the unknown compound; B - standard mass spectral data.

图 4 液质联用检索数据库检测卡那霉素的结果

Fig. 4 Identification of kanamycin by library searching

③回收率, 将 INSA 胰岛素的空白基质先按照样品前处理方法进行前处理, 然后精密量取 1 mL 空白提取液, 向其中加入 10 μL 的 3 种不同浓度的卡那霉素标准溶液, 制得卡那霉素质量浓度分别为 5、50、

100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照溶液, 每种浓度平行配制 3 份, 作为对照溶液; 按照“②”配制方法, 制得质量浓度为 5、50、100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 加标样品溶液。比较对照溶液和样品溶液的峰面积的比值, 计算 3 种不同浓度下卡那霉素回收率, 结果表明, 卡那霉素回收率范围在 97% ~ 99%, 见表 3。④基质效应, 按照“②”的方法配制 3 种不同浓度的加标样品溶液, 每种浓度各 3 份; 将不含 INSA 胰岛素的卡那霉素标准溶液 (5、50、100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) 按照样品前处理的方法进行处理, 制得对照溶液。比较样品溶液与对照溶液在液质联用的响应, 计算不同浓度下卡那霉素的基质效应。结果表明, 基质效应在 -20% ~ 20%, 见表 3, 可忽略不计, 认为 INSA 胰岛素中的基质对卡那霉素没有明显的增强或是抑制效应。⑤稳定性, 将加标溶液 (5、50、100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) 放置 4 $^{\circ}\text{C}$, 分别检测 3 种不同浓度的样品在 0、3、6、9、12 h 的稳定性, 结果显示: 卡那霉素极不稳定, 在放置 3 h 时, 样品就开始轻微地降解; 当放置 6 h 时, 样品的降解率就已经达到近 20%, 见表 4。因此, 卡那霉素的使用过程应临用新制。

表 3 INSA 胰岛素中卡那霉素检测方法的验证。 $n = 3, \bar{x} \pm s$

Tab. 3 Verification of the method for detecting kanamycin in biological product A. $n = 3, \bar{x} \pm s$

ρ (Theoretical) / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	ρ (Measured) / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%			
		Precision	Accuracy	Recovery	Matrix effect
5	5.00 \pm 0.04	0.71	100.25	98.14	-8.12
50	50.77 \pm 0.38	0.74	101.33	98.14	-6.44
100	99.67 \pm 0.12	0.12	99.67	97.14	-10.52

表 4 4 $^{\circ}\text{C}$ 下卡那霉素在空白基质中 12 h 的稳定性

Tab. 4 Stability of kanamycin in blank matrix stored for 12 h at 4 $^{\circ}\text{C}$

t/h	ρ (Measured) / $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$		
	5 ¹⁾	50 ¹⁾	100 ¹⁾
0	4.96	50.1	98.7
3	4.64	49.5	95.8
6	4.08	41.2	83.9
9	3.87	40.5	81.6
12	3.64	38.1	68.9

注: ¹⁾ - 理论值。

Note: ¹⁾ - Theoretical value.

样品测定: 采用上述已验证的方法测定 INSA 胰岛素中的卡那霉素, 结果显示, 该生物医药公司的 3 批 INSA 胰岛素中卡那霉素残留量小于检出限 0.05 $\text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

3 讨论

本实验采用 HILIC 色谱柱增强 AGs 在色谱柱上的保留行为, 应用 LC-MS/MS 检索数据技术建立了能够同时检测 8 种 AGs 的定性方法。本研究所建立的方法检测时间短, 专属性强且灵敏度高, 在 10 min 内即可实现 8 种 AGs 的筛查和定性分析, 避免假阳性结果。与传统的检测方法相比, 该法可同时检测多种 AGs, 而且可以根据不同的需要添加其他 AGs 到该质谱检索数据库中。本研究针对 AGs 建立的液质联用检索数据库可用于生物制品、动物性食物、环境样品和其他样品中痕量 AGs 的检测, 为其质量与安全提供了保障, 同时也为政策的制定和监管提供有效的技术支持。

REFERENCES

[1] SCHATZ A, BUGLE E, WAKSMAN S A. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and

- gram-negative bacteria[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1944, 55(1): 66-69.
- [2] WU J H, LIU P Y. The past and present of aminoglycoside antibiotics [J]. *Chin J Antibiot* (中国抗生素杂志), 2019, 44(11):1275-1282.
- [3] MENG F, ZHOU X H, YUAN Y Z. Development of detection technologies for aminoglycoside antibiotics[J]. *Pharm Clin Res* (药学与临床研究), 2022, 30(5):441-446.
- [4] XU C X, GU C L, FANG Y, *et al.* Application of antibiotics and the methods for their determination in biological products [J]. *World Notes Antibiot* (国外医药抗生素分册), 2017, 38(4):179-183,189.
- [5] YANG X, ZENG X W, LIU Y, *et al.* Detection of the residual content of kanamycin and gentamicin in live attenuated japanese encephalitis vaccine with ELISA method[J]. *Prog Microbiol Immunol* (微生物学免疫学进展), 2010, 38(3):28-31.
- [6] YANG Q, TIAN Y, JIANG Z Q, *et al.* Application of liquid-mass spectrometry in antibiotic analysis[J]. *Chin J Drug Eval* (中国药物评价), 2022, 39(2):113-118.
- [7] SONG X, ZHOU T, LI J, *et al.* Determination of macrolide antibiotics residues in pork using molecularly imprinted dispersive solid - phase extraction coupled with LC-MS/MS [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(5): 1138-1148.
- [8] DO T C M V, NGUYEN D Q, NGUYEN T D, *et al.* Development and validation of a LC-MS/MS method for determination of multi-class antibiotic residues in aquaculture and river waters, and photocatalytic degradation of antibiotics by TiO₂ nanomaterials[J]. *Catalysts*, 2020, 10(3): 356.
- [9] CHAN C L, WAI H K F, WU P, *et al.* A universal LC-MS/MS method for simultaneous detection of antibiotic residues in animal and environmental samples[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(7): 845. DOI: 10. 3390/antibiotics11070845.
- [10] LIU Y, ZHANG J, HU C. Validated LC-MS/MS method for simultaneous analysis of 21 cephalosporins in zebrafish for a drug toxicity study[J]. *Anal Biochem*, 2018, 558: 28-34.
- [11] YANG Q, LIU Y, JIANG Z, *et al.* Multi-residue method for the detection of 40 β -lactam-antibiotics in vaccines by LC-MS/MS [J]. *Anal Biochem*, 2021, 631: 114299. DOI: 10. 1016/j. ab. 2021. 114299.
- [12] LIU Y, UBOH C E, LI X, *et al.* Validated LC-MS-MS method for simultaneous analysis of 17 barbiturates in horse plasma for doping control[J]. *J Anal Toxicol*, 2017, 41(5): 431-440.
- [13] LEMMON E W, HUBER M L, MCLINDEN M O. NIST standard reference database 23: reference fluid thermodynamic and transport properties-REFPROP, version 10. 0 [EB/OL]. Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology (NIST), 2018 (2023-11-04) [2023-12-12]. <https://www.nist.gov/srd/refprop>.
- [14] SAITO T, KINUGASA S. Development and release of a spectral database for organic compounds – key to the continual services and success of a large-scale database [J]. *Synthesiol Eng Ed*, 2011, 4(1): 35-44.
- [15] PANG G F, FAN C L, CHANG Q Y, *et al.* Screening of 485 pesticide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry based on TOF accurate mass database and QTOF spectrum library[J]. *J AOAC Int*, 2018, 101(4): 1156-1182.
- [16] LIU Y, UBOH C E, SOMA L R, *et al.* Efficient use of retention time for the analysis of 302 drugs in equine plasma by liquid chromatography-MS/MS with scheduled multiple reaction monitoring and instant library searching for doping control [J]. *Anal Chem*, 2011, 83(17): 6834-6841.
- [17] ZHAO-YONG L, JUN-HUI C, XIN L, *et al.* Rapid screening and identification of paralytic shellfish poisoning toxins in red tide algae using hydrophilic interaction liquid chromatography-high resolution mass spectrometry with an accurate-mass database[J]. *Fresenius J Anal Chem*, 2013, 41(7): 979-985.
- [18] ERKMEN C, GEBREHIWOT W H, USLU B. Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC): latest applications in the pharmaceutical researches [J]. *Curr Pharm Anal*, 2021, 17(3): 316-345.
- [19] ZHANG Q, YANG F Q, GE L, *et al.* Recent applications of hydrophilic interaction liquid chromatography in pharmaceutical analysis[J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(1): 49-80.
- [20] LIU Y, ZHANG F, CHANG Y, *et al.* Determination of 17 adulteration of drugs in anti-acne cosmetics by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with instant library searching [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2017, 37(9): 1693-1700.

(收稿日期:2023-12-22)