

## 以液相層析串聯質譜儀快速檢測尿液中 14 種抗生素

辜哲輝、鄭至歲、沈立言、詹長權、袁子軒、陳柔安、胡焯淳

### 摘要

本研究是開發一個檢測尿液中同時測定 14 種抗生素的方法，檢測的抗生素是參考國內使用量較大的抗生素，以及食品相關的檢測中經常檢測出的抗生素。本研究開發了一個以 SPE 作為前處理，接著以 LC-MS/MS 進行分析的檢測方法，並且探討多個 SPE 的參數之後，包含了進樣時的 pH 值，以及清洗時所使用的清洗液。此方法藉由清洗 SPE 管，降低了基質效應，同時處理了性質廣泛的待測物。接著以 LC-MS/MS 進行分析，使用含有 1 mL L<sup>-1</sup> 甲酸和 0.4 g L<sup>-1</sup> 乙酸銨的水以及甲醇作為移動相，以 C8 管柱進行層析。並將此方法應用於孩童尿液樣品檢測。在 100 個樣品中，其中以 Doxycycline 及 Trimethoprim 這兩個抗生素的檢出頻率特別的高。

**關鍵詞：** 抗生素、液相層析串聯質譜儀、固相萃取、尿液

---

辜哲輝，國立台東大學應用科學系。E-mail: ben90247@kimo.com

鄭至歲，國立台東大學應用科學系。E-mail: a98765432100011@gmail.com

沈立言，國立台灣大學食品科技研究所教授。E-mail: lysheen@ntu.edu.tw

詹長權，國立台灣大學公共衛生學院職業醫學與工業衛生研究所教授。E-mail: ccchan@ntu.edu.tw

袁子軒，國立台灣大學公共衛生學院職業醫學與工業衛生研究所助理教授。E-mail: thyuan@ntu.edu.tw

陳柔安，國立台灣大學食品科技研究所。E-mail: annnjump@gmail.com

胡焯淳，國立台東大學應用科學系教授。E-mail: cchu@ntu.edu.tw

## **Fast and quantitative determination of 14 antibiotics in urine by LC-MS/MS**

Che-Hui Ku & Chih-Wei Cheng & Li-Yan Shen & Chang-Cyuan Jhan & Zih-Syuan Yuan & Rou-An Chen & Cho-Chun Hu

### **Abstract**

In this study, a method for detecting 14 antibiotics in urine sample was developed. The antibiotics were usually used in medical propose. The solid phase extraction (SPE) method was used as the sample purification and the LC-MS/MS was used as the analytic method. We investigated the pH of sample as well as the wash solution of SPE. The C8 column was chosen to separate the analyte. The mobile phase of liquid chromatography was water and methanol both containing 1 mL L<sup>-1</sup> of formic acid and 0.4 g L<sup>-1</sup> ammonium acetate. Moreover, this method was applied to detect the urine sample from children. According to the result, The Doxycycline and Trimethoprim were usually detected in 100 urine samples.

**Keywords:** antibiotics, LC-MS/MS, SPE, urine

---

Che-Hui Ku, Department of Applied Science, Nation Taitung University. E-mail: ben90247@kimo.com

Chih-Wei Cheng, Department of Applied Science, Nation Taitung University. E-mail: a98765432100011@gmail.com

Li-Yan Shen, Professor, Institute of Food Science and Technology, Nation Taiwan University. E-mail: lysheen@ntu.edu.tw

Chang-Cyuan Jhan, Professor, Institute of Occupational Medicine and Industrial Hygiene, National Taiwan University. E-mail: ccchan@ntu.edu.tw

Zih-Syuan Yuan, Assistant Professor, Institute of Occupational Medicine and Industrial Hygiene, National Taiwan University. E-mail: thyuan@ntu.edu.tw

Rou-An Chen, Institute of Food Science and Technology, Nation Taiwan University. E-mail: annnjump@gmail.com

Cho-Chun Hu, Professor, Department of Applied Science, Nation Taitung University. E-mail: cchu@nttu.edu.tw

## 壹、前言

1928 年人類發現第一個抗生素 Penicillin，開啟了人類對於抗生素的研究。接著在 1942 年因應戰爭的需求，Penicillin 以及磺胺類抗生素被用於治療受傷的士兵，提高了傷兵的生存率，展現了抗生素強大的作用。

現在抗生素已經成為醫學上不可或缺的藥物，醫生將它們用於治療以及預防疾病。而對於畜牧業而言，抗生素也是用來治療及預防動物疾病的重要工具。在現代畜牧業許多種抗生素會被添加於飼料當中，這些抗生素除了防止動物生病外，也有一些抗生素能提升動物的生長速率以及換肉率，像是抗球蟲類的藥物以及部分的大環內脂類藥物。因為人們會食用這些畜牧產品，所以必須藉由法規的方式規範這些抗生素的使用，以防人們攝取過多的抗生素。並且畜牧業這些使用抗生素的行為，會導致抗生素藉由動物的排泄物(Chiesa, Nobile, Panseri, & Arioli, 2017)排放至環境中，這需要密切觀察後續的影響。

在生活中除了醫療行為外，還有許多機會攝取到抗生素，像是食用畜牧產品(Matabudul, Conway, Lumley, & Sumar, 2001; J. Wang, 2004)，或是接觸到環境中殘留的抗生素，也有可能食用的農產品在生產過程中有吸收到抗生素，這些都可能攝取到微量的抗生素。大部分的畜牧業產品所使用的抗生素有法律規範，以法律訂出 MRL(maximal residue level) 的方式控管從畜牧業產品攝取到的抗生素。但是這些法律是參考各種抗生素的毒性所制定的，在文獻中有指出微量的抗生素會影響體內腸道中菌落的種類與平衡，可能造成肥胖、腸胃失調甚至憂鬱症等，以及攝取抗生素可能會造成抗藥性。所以歐盟已經禁止畜牧業在飼料中添加抗生素，而大多數的國家並無這個規定。本研究要開發一個方法檢測兒童尿液中所含有的抗生素，用於評估兒童的抗生素攝取量，在未來用於抗生素對於健康影響的研究。

SPE (Solid Phase Extraction)是一個有效去除樣品中鹽類的方法，但不管是哪種 SPE 管柱，都很難對應廣泛的待測物。所以在同時檢測較多待測物時，回收率以及基質效應會不理想。並且在使用 SPE 的過程中並不會稀釋樣品，而且還有機會濃縮樣品，所以能有比較好的偵測極限。

本研究開發了一個快速且靈敏的檢測方法，檢測尿液中的抗生素。尿液會先經過改良過的 SPE 方法進行前處理，得到檢液後以 LC-MS/MS 進行偵測。這個優化後的 SPE 方法以不同的溶劑進行清洗，這方式改善了較高極性的抗生素以及其他抗生素的基質效應無法兼顧的問題，並且在方法確效中得到了可以接受的結果。本方法也檢測了孩童的尿液樣品，並且在尿液中檢測出目標抗生素，證明此方法是可以在尿液樣品中這到抗生素的。本方法未來要應用於檢測孩童尿液中的抗生素，提供抗生素與健康影響相關研究的檢測工具。

## 貳、文獻回顧

2018 年 David S. Wishart 團隊以簡單的衍生化搭配 LC-MS/MS 檢測血清中的兒茶酚胺。在前處理的部分，以 Phenyl isothiocyanate 進行衍生化，再離心過濾後即可上機偵測。在真實樣品中，可以偵測到這 8 種待測物，濃度也符合健康人的正常值 (Zheng, Mandal, & Wishart, 2018)。

2018 年 Katalin Lányi 團隊以 LC-MS/MS 測量在牛奶裡的抗生素對於加熱時的熱降解速率。此實驗將牛奶添加不同濃度的抗生素後煮沸，並且依照煮沸的時間觀察抗生素熱降解的比例。結論是類似結構的抗生素不一定有相同的降解率，而這些熱降解的數據與過去藥物的研究相近，認為牛奶基質並不會嚴重影響熱降解速率。此實驗指出抗生素會熱降解，但是並沒有確認降解後的產物是否具有藥物的活性，所以加熱是否可以避免過敏以及抗藥性的問題是無法確認的 (László, Lányi, & Laczay, 2018)。

2017 年 Maria Beatriz A. Gloria 團隊以 LC-MS/MS 檢測魚類裡的 40 種抗生素。魚類樣品會經過三氯乙酸的水溶液萃取接著離心後取上清液過濾，就可以上機偵測，此方法檢測能力符合法規需求。在方法確效的部分，確定大部分目標分析物的檢測能力可以高於法規要求的一半。在真實樣品的部分，檢測了 193 個養殖魚類樣品，其中約有 15% 的樣品呈陽性反應，證明了此方法可以用於魚肉中抗生素的檢測 (Guidi et al., 2017)。

2018 年 Thomas BESSAIRE 團隊以 QuEChERS 以及 LC-MS/MS 快速篩選食品樣品是否含有過量的 23 種  $\beta$ -內醯胺類抗生素。首先樣品以鹼性的緩衝溶液處理後，以 QuEChERS 的方法萃取，之後濃縮並置換溶劑後，即可上機偵測。並且比較樣品以及有添加標準品的樣品所得到的訊號，快速篩選出可能含有過量目標待測物的樣品，以利於後續的檢測 (Bessaire et al., 2018)。

2017 年 Meng Chen 教授團隊以一個簡單且快速的前處理方式，以及 LC-MS/MS 檢測了雞蛋中九種類 64 支的抗生素。首先雞蛋樣品會加入 90% ACN 以及 EDTA 在超音波震盪 15 分鐘後離心取上清液，其中 EDTA 會螯合樣品中的金屬離子，使容易與金屬離子錯合的抗生素比較沒有錯合的現象，使得容易與金屬螯合的抗生素萃取效率大幅度的提升。在淨化的過程中，有別於傳統的 SPE，是用離心的方式進行淨化，與 SPE 比較有一個相近甚至更好的效果，而在避免基質效應的部分，64 支抗生素中有 32 支的基質效應小於 20% (K. Wang, Lin, Huang, & Chen, 2017)。

## 參、材料與方法

### 一、藥品

Penicillin G potassium salt、Cephalexin、Chlortetracycline hydrochloride、Doxycycline monohydrate、Oxytetracycline、Florfenicol、Tilmicosin、Lincomycin、Salinomycin、Monensin sodium salt hydrate、Tiamulin、Sulfamethazine、Sulfamethoxazole、Trimethoprim、NH<sub>4</sub>F 以及醋酸銨購自美國 Sigma-Aldrich 公司

### 二、LC-MS/MS 的設定

本研究使用 LC-MS 8060 (Shimadzu, Japan)，使用的移動相 A 為含有 0.4 g / L 醋酸銨以及 1 mL / L 甲酸的水溶液，移動相 B 為 0.4 g / L 醋酸銨以及 1 mL / L 甲酸的甲醇溶液。樣品注射量為 3  $\mu$ L，並且同時注射 20  $\mu$ L 的氟化銨水溶液(0.1M)。流速設定為 0.35 mL / min，流洗條件是以 5% 移動相 B 流洗 3 分鐘，接著在 2 分鐘內將移動相 B 濃度提升至 95% 並維持 4 分鐘，再以 5% 的移動相 B 平衡 3 分鐘，完成後即可進行下一個樣品分析。單一樣品包含再平衡的總流洗時間為 12 分鐘。質譜儀使用多重反應監測(multiple reaction monitoring, MRM)進行檢測，離子化器使用電噴灑游離法 (Electrospray Ionization, ESI)。

### 三、樣品前處理

尿液樣品取樣後分裝在 2 mL 的離心管保存在 -20 $^{\circ}$ C 的冰箱中，使用前解凍後以 3000 rpm 離心 10 分鐘後取上層液進行前處理。在這冷凍的過程中會使一部份尿液中的蛋白質以及其他固體成分聚集成更大的顆粒，再以離心的方式去除這些蛋白質以及其他固體成分。

此方法是先將 1 mL 離心過的尿液樣品放入 1.5 mL 離心管中並且添加標準品溶液，接著添加 100  $\mu$ L EDTA(0.1M)以及 100  $\mu$ L 醋酸銨緩衝溶液(0.5M pH=5.4)，均勻混和後將這混和液加載到以 1 mL 甲醇以及 3 mL H<sub>2</sub>O 活化過的 HLB 管柱，接著離心管以 1 mL 的 H<sub>2</sub>O 沖洗殘留的混和液，並且將沖洗液加載至 HLB 管柱。清洗的部分使用 3 mL 5% MeOH 進行清洗去除鹽類，接著丟棄進樣以及清洗時流出的廢液。最後使用 2 mL 的甲醇洗脫 HLB 管柱內剩下的抗生素，並且收集到 15 mL 離心管中。離心管內的溶液都在 50  $^{\circ}$ C 下以溫和氣流吹乾，並且都以 0.5 mL 50% 甲醇水溶液回溶並且過濾後，上機進行偵測。

## 肆、結果與討論

### 一、質譜儀的條件探討

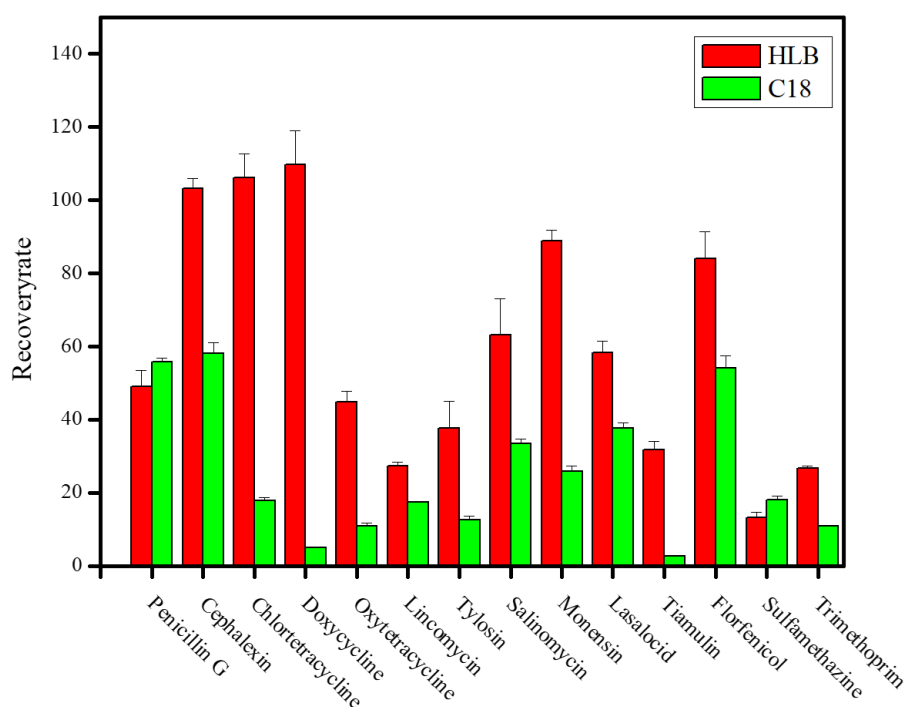
我們將各個抗生素分別注入質譜系統，確認了各抗生素的母離子，並且與文獻比對後，再進行擊碎並挑選使用的子離子。最後使用的參數表示在表二。

### 二、各個抗生素所使用的 MRM 參數。

| Antibiotics       | RT   | Precursor ion | Product ion(CE)                   |
|-------------------|------|---------------|-----------------------------------|
| Penicillin G      | 4.72 | 335.0         | 160*(-15) 176(-13)                |
| Cephalexin        | 3.78 | 348.2         | 158*(-10) 140(-25)                |
| Chlortetracycline | 4.33 | 479.2         | 444*(-22) 154(-26)                |
| Doxycycline       | 4.54 | 445.0         | 428*(-20) 267.1(-36) 321(-31)     |
| Oxytetracycline   | 3.9  | 461.2         | 426*(-20) 380.7(-26) 201(-34)     |
| Lincomycin        | 3.71 | 407.3         | 359.2*(-18) 126.1(-28)            |
| Tylosin           | 4.86 | 916.7         | 174*(-41) 100.8(-52)              |
| Salinomycin       | 6.74 | 773.7         | 431.2*(-53) 531.1(-45)            |
| Monensin          | 6.45 | 693.5         | 675.3*(-38) 501.3(-55) 461.2(-52) |
| Lasalocid         | 6.33 | 613.5         | 377.2*(-39) 359.3(-39)            |
| Tiamulin          | 4.86 | 494.4         | 192.1*(-20) 118.9(-39)            |
| Florfenicol       | 4.02 | 356.2         | 336*(10) 185.2(20)                |
| Sulfamethazine    | 3.77 | 279.1         | 186.2*(-17) 124.1(-23)            |
| Trimethoprim      | 3.67 | 291.2         | 230.2*(-25) 261(-26)              |

## 二、HLB 管柱與 C18

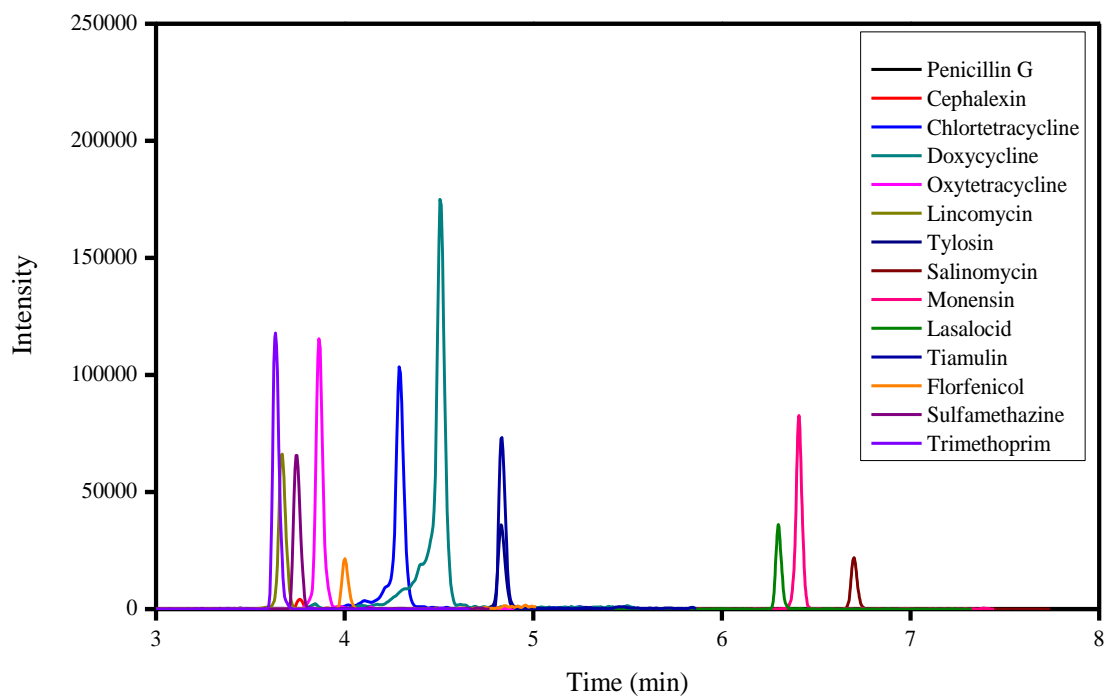
我們將傳統的 C18 SPE 與我們使用的 HLB SPE 進行比較，發現大多數的待測物以 C18 管柱處理後所得到的回收率低於使用 HLB 管柱處理時的回收率，並且我們也觀察到在使用 C18 處理過後的樣品會有乳白色的雜質。所以我們認為我們使用的 HLB 管柱比起 C18 管柱還要適合用於處理尿液樣品中的這些待測物。



圖一、HLB 與 C18 管柱的比較。

## 三、液相層析的條件探討

我們探討了液相層析時所使用的管柱，我們比較了 C18 與 C8 的兩種管柱。我們發現兩種管柱的層析能力沒有太大的差異，但是使用 C18 管柱時最後一個待測物的滯留時間比起使用 C8 時多了 3 分鐘。為了節省分析所消耗的時間，我們選用 C8 管柱，使用的法得到的層析圖表示在圖二。



圖二、14 種抗生素的層析圖。



#### 四、儀器的檢測能力

我們探討了此方法的檢測能力(表三)，我們探討了各個抗生素的標準檢量線的線性範圍，以及 LOD 和 LOQ。其中標準檢量線的相關係數皆大於 0.995，各個抗生素的 LOQ 介於 0.005~0.25  $\mu\text{g}/\text{L}$  之間，而 LOD 介於 0.0017~0.0833  $\mu\text{g}/\text{L}$  之間。

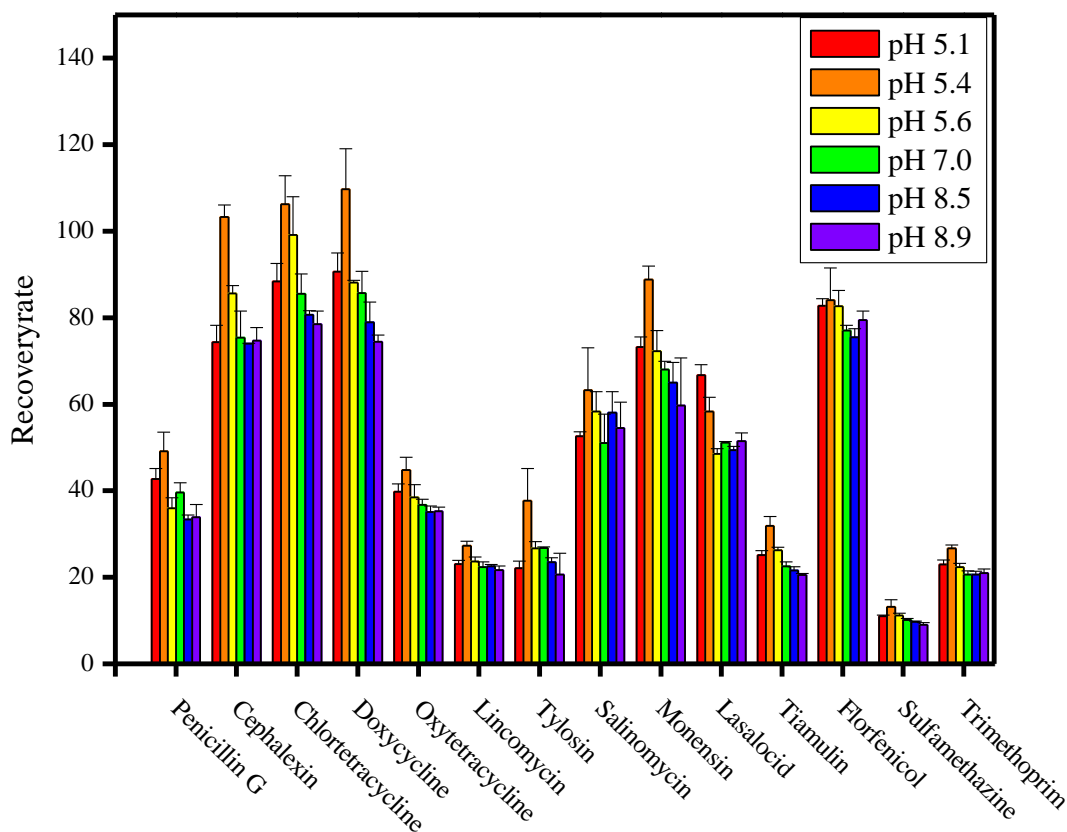
表三、各個抗生素的線性範圍、相關係數、LOQ 以及 LOD。(單位為  $\mu\text{g}/\text{L}$ )

| Antibiotics       | linear range | R <sup>2</sup> | LOQ   | LOD    |
|-------------------|--------------|----------------|-------|--------|
| Penicillin G      | 0.5~30       | 0.995          | 0.5   | 0.167  |
| Cephalexin        | 0.25~30      | 0.997          | 0.25  | 0.0833 |
| Chlortetracycline | 0.25~25      | 0.999          | 0.25  | 0.0833 |
| Doxycycline       | 0.5~25       | 0.996          | 0.5   | 0.167  |
| Oxytetracycline   | 0.05~30      | 0.997          | 0.05  | 0.025  |
| Lincomycin        | 0.025~30     | 0.999          | 0.025 | 0.0083 |
| Tylosin           | 0.075~30     | 0.995          | 0.075 | 0.025  |
| Salinomycin       | 0.05~30      | 0.998          | 0.05  | 0.0167 |
| Monensin          | 0.1~30       | 0.999          | 0.1   | 0.033  |
| Lasalocid         | 0.025~25     | 0.998          | 0.025 | 0.0083 |
| Tiamulin          | 0.005~30     | 0.996          | 0.005 | 0.0017 |
| Florfenicol       | 0.75~30      | 0.997          | 0.75  | 0.25   |
| Sulfamethazine    | 0.05~30      | 0.996          | 0.05  | 0.0167 |
| Trimethoprim      | 0.025~30     | 0.996          | 0.025 | 0.0083 |

#### 五、進樣時條件的探討

我們使用 hydrophilic-lipophilic-balanced (HLB) 的 SPE 管柱來做為尿液樣品前處理所使用的管柱，HLB 管柱是以疏水作用力來吸附待測物，此方法可以有效的清除樣品中的鹽類。因為 HLB 管柱是使用疏水作用力吸附待測物，而待測物的疏水性可能會因為樣品的 pH 值不同，造成待測物在離子態以及分子態之間轉換。所以固定樣品進入 SPE 時的 pH 值，所以我們在樣品添加緩衝液後才加載至 HLB 的管柱。

我們探討了以不同 pH 值的緩衝液與樣品混和後與回收率之間的影響(圖三)，從圖中可以發現，在使用偏酸的緩衝液時有比較好的回收率，所以我們選用 pH 為 5.4 的緩衝液。

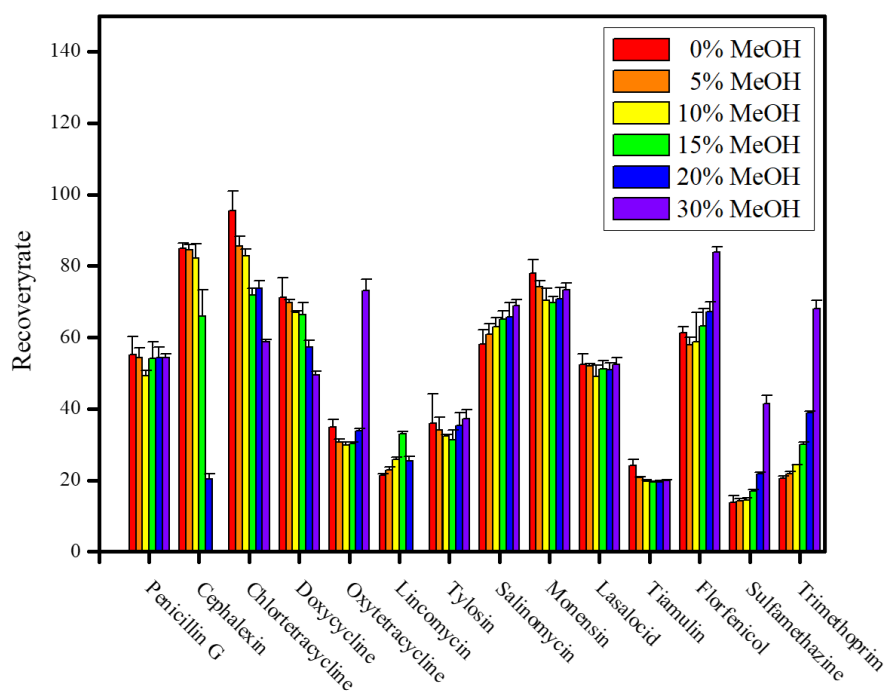


圖三、pH 值對於回收率的影響。

而在樣品加載至 HLB 管柱時，待測物可能也會受到樣品中金屬離子的影響，造成回收率的下降。所以我們在樣品中添加 EDTA 的水溶液，以此避免樣品裡金屬離子的干擾。

#### 六、清洗時條件的探討

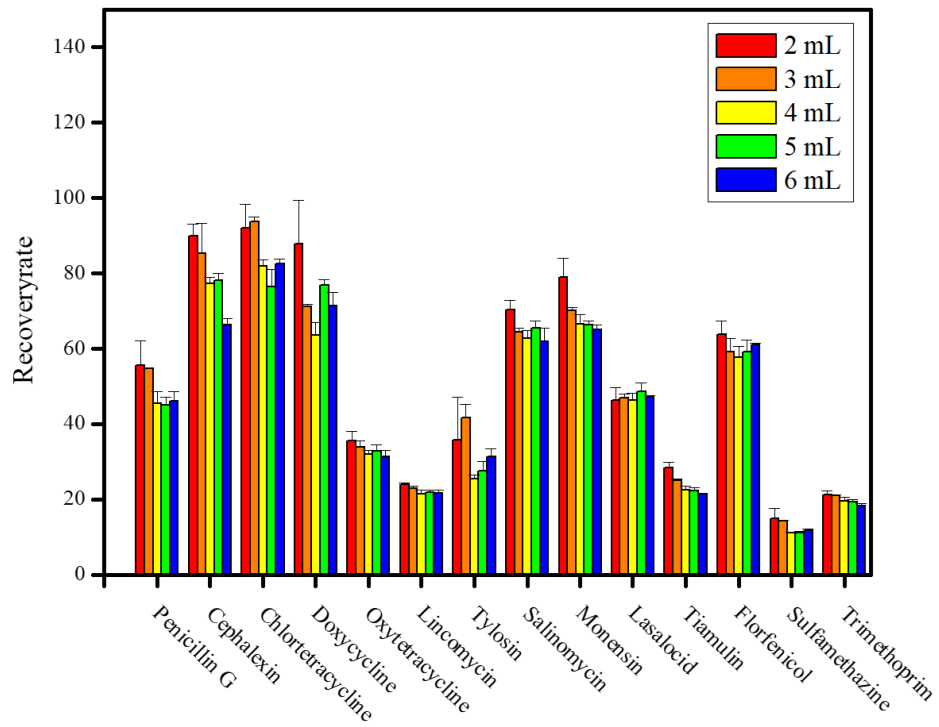
清洗的步驟是以溶劑通過 SPE 管柱，在這過程中可以有效的清除樣品中的鹽類。隨著溶劑的選擇，在清洗的過程中也可以清除樣品中的其他雜質，但是清洗時也有可能使待測物直接被洗出 SPE 管柱，造成待測物檢測不到。所以我們需要探討清洗流程的參數，我們探討了以不同甲醇比例的甲醇水溶液以及水進行清洗與回收率之間的影響。這個探討的結果表示在圖三，從結果發現大部分的待測物在使用 5% 的甲醇水溶液有較好的回收率。有一些待測物在較高比例的甲醇水溶液進行清洗時有較好的回收率(Oxytetracycline, Florfenicol, Trimethoprim)，但是有些待測物在使用較高比例的甲醇進行清洗時回收率會降低至 0%。這是因為這些待測物在清洗階段就被洗出了 SPE 管柱，所以才會使回收率為 0%，我們最後選擇 5% 的甲醇作為清洗時左使用的溶劑。



圖三、不同比例的甲醇水溶液對回收率的影響。

### 七、洗脫時條件的探討

我們探討了洗脫時所使用的參數，我們以不同體積的甲醇進行洗脫並觀察回收率的變化(圖四)。我們發現在使用較少體積的甲醇時回收率較高，而使用體積較多的甲醇時回收率反而較低。這可能是因為當洗脫液體積較多時，在後續吹乾回溶的過程容易有損失，所以造成回收率下降，最後我們使用 2 mL 的甲醇進行洗脫。最後我們所使用的 SPE 方法表示在圖五。



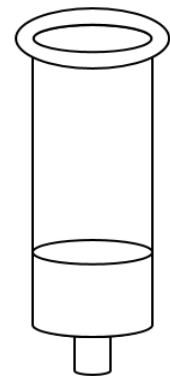
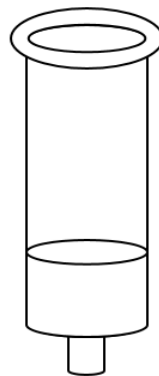
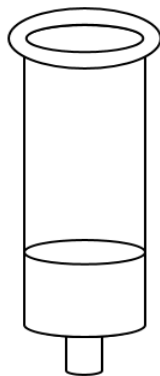
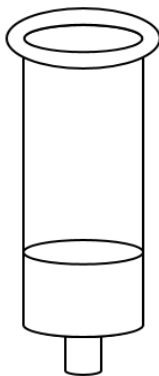
圖四、洗脫時使用不同體積的甲醇與回收率的影響

Condition :  
1 mL H<sub>2</sub>O  
1 mL MeOH

Loading :  
1 mL sample  
0.1 mL buffer  
0.1 mL EDTA

Washing :  
3 mL  
5% MeOH

Elution:  
2 mL MeOH



圖五、優化條件後的 SPE 方法。

## 八、檢測學童尿液樣品中抗生素

我們將此方法檢測了 100 個學童的尿液樣品，其結果表示在表四。在這 100 個學童尿液樣品中有 61 個驗出目標待測物，其中 Doxycycline 及 Trimethoprim 的檢出頻率特別的高。Trimethoprim 是只能用於動物的抗生素，在畜牧業中會添加於飼料之中，所以這些學童很可能是透過食用畜牧業產品的方式攝取到 Trimethoprim。但是不管是攝取到這些待測物的原因還是攝取這些待測物是否會對健康產生影響，都需要更大量的數據以及後續的研究才能有結論，這也是我們後續的研究目標。

表四、100 個學童尿液中檢測到的待測物。(  $\mu\text{g L}^{-1}$  )

| antibiotics       | n (%) | percentile |       |       |       |        | max    |
|-------------------|-------|------------|-------|-------|-------|--------|--------|
|                   |       | 50th       | 75th  | 90th  | 95th  | 99th   |        |
| Penicillin G      | 2     | -          | -     | -     | -     | 0.322  | 0.482  |
| Cephalexin        | 2     | -          | -     | -     | -     | 5.380  | 8.04   |
| Chlortetracycline | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Doxycycline       | 36    | -          | 0.310 | 1.835 | 2.719 | 10.659 | 1953   |
| Oxytetracycline   | 5     | -          | -     | -     | -     | 0.315  | 0.449  |
| Lincomycin        | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Tylosin           | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Salinomycin       | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Monensin          | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Lasalocid         | 1     | -          | -     | -     | -     | -      | 0.008  |
| Tiamulin          | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Florfenicol       | 1     | -          | -     | -     | -     | -      | 2.981  |
| Sulfamethazine    | -     | -          | -     | -     | -     | -      | -      |
| Trimethoprim      | 38    | -          | 0.063 | 0.240 | 0.294 | 7.953  | 16.447 |

## 伍、結論

這這個研究中我們開發了一個檢測尿液中 14 種抗生素的分析方法。此方法是使用 HLB SPE 進行樣品的前處理，之後以 LC-MS/MS 進行分析，其中我們優化了 HLB SPE 的多種參數。最後我們得到了一個快速且有效的檢測方法，並且將此方法檢測 100 個學童尿液後，發現有 61 個學童的尿液中含有抗生素，並且 Doxycycline 及 Trimethoprim 的檢出頻率特別的高。未來我們要繼續相關的研究，探討人們攝取這些抗生素與健康之間的影響。

## 參考文獻

- Bessaire, T., Mujahid, C., Beck, A., Tarres, A., Savoy, M.-C., Woo, P.-M., . . .  
Desmarchelier, A. (2018). Screening of 23  $\beta$ -lactams in foodstuffs by LC-MS/MS using an alkaline QuEChERS-like extraction. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 35(4), 661-673. doi: 10.1080/19440049.2018.1426891
- Chiesa, L. M., Nobile, M., Panseri, S., & Arioli, F. (2017). Antibiotic use in heavy pigs: comparison between urine and muscle samples from food chain animals analysed by HPLC-MS/MS. *Food chemistry*, 235, 111-118. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.04.184
- Guidi, L. R., Santos, F. A., Ribeiro, A. C. S., Fernandes, C., Silva, L. H., & Gloria, M. B. A. (2017). A simple, fast and sensitive screening LC-ESI-MS/MS method for antibiotics in fish. *Talanta*, 163, 85-93. doi: 10.1016/j.talanta.2016.10.089
- Li, W., Shen, H., Hong, Y., Zhang, Y., Yuan, F., & Zhang, F. (2016). Simultaneous determination of 22 cephalosporins drug residues in pork muscle using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1022, 298-307. doi: 10.1016/j.jchromb.2016.04.026
- László, N., Lányi, K., & Laczay, P. (2018). LC-MS study of the heat degradation of veterinary antibiotics in raw milk after boiling. *Food chemistry*, 267, 178-186. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.11.041
- Matabudul, D. K., Conway, B., Lumley, I., & Sumar, S. (2001). The simultaneous determination of the ionophore antibiotics in animal tissues and eggs by tandem electrospray LC-MS-MS. *Food chemistry*, 75(3), 345-354. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00174-1
- Wang, J. (2004). Determination of five macrolide antibiotic residues in honey by LC-ESI-MS and LC-ESI-MS/MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(2), 171-181. doi: 10.1021/jf034823u
- Wang, K., Lin, K., Huang, X., & Chen, M. (2017). A simple and fast extraction method for the determination of multiclass antibiotics in eggs using LC-MS/MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(24), 5064-5073. doi: 10.1021/acs.jafc.7b01777
- Zheng, J., Mandal, R., & Wishart, D. S. (2018). A sensitive, high-throughput Lc-ms/ms method for measuring catecholamines in low volume serum. *Analytica chimica acta*, 1037, 159-167. doi: 10.1080/19440049.2018.1426891