

固相萃取 - 串联液质法测定重组人粒细胞刺激因子 注射液中氨苄青霉素残留*

魏伯平¹, 陈霞², 贺亚玲¹, 陈小泉¹, 袁军^{1**}, 王野¹

(1. 四川省食品药品检验所, 成都 610097; 2. 四川大学药学院, 成都 610041)

摘要 目的: 建立 SPE-LC-MS/MS 法测定重组人粒细胞刺激因子注射液中氨苄青霉素残留。方法: 选择阿莫西林为内标, 样品经过 HLB 固相萃取小柱净化、浓缩, 有效地去除杂质。采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-水(甲酸调 pH 3.1) 为流动相进行梯度洗脱。采用电喷雾离子源(ESI) 正离子模式, 多反应监测(MRM)。氨苄青霉素内标监测离子对的 *m/z* 分别为 350.0/106.1, 350.0/192.0 和 366.0/114.0, 366.0/208.0。结果: 氨苄青霉素浓度在 0.0442 ~ 3.5362 μg · L⁻¹ 范围内线性关系良好 (*r* = 0.9995), 最低定量限为 0.0442 μg · L⁻¹, 方法回收率在 101.1% ~ 106.7% 之间, 批内、批间 RSD 分别小于 5.8% 及 7.3%。结论: 本方法准确可靠, 重复性好, 灵敏度高, 适用于重组人粒细胞刺激因子注射液中氨苄青霉素残留检测。

关键词: 氨苄青霉素残留; 固相萃取; 串联三重四极杆液质; 重组人粒细胞刺激因子; 抗生素
中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)10-1905-06

Solid-phase extraction LC-MS/MS determination of ampicillin residue in recombinant human granulocyte colony-stimulating factor injection*

WEI Bo-ping¹, CHEN Xia², HE Ya-ling¹, CHEN Xiao-quan¹, YUAN Jun^{1**}, WANG Ye¹

(Sichuan Province Institute for Drug and Food Control, Chengdu 610097, China;

2. School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract Objective: To establish a solid-phase extraction-LC-MS/MS method for the determination of ampicillin residue in recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF). **Methods:** Using amoxicillin as the internal standard, the sample was purified and concentrated by a HLB solid-phase extraction column. Chromatographic separation was performed on a Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column with the mobile phase of acetonitrile-water (adjust pH to 3.1 with formic acid) by gradient elution. Electrospray ionization (ESI) source was applied and operated in positive mode, ampicillin and amoxicillin were detected on multiple reaction monitoring (MRM) mode by the transitions from the precursor to the production (*m/z* 350.0/106.1, 350.0/192.0 and 366.0/114.0, 366.0/208.0). **Results:** For ampicillin, calibration curve was linear in range from 0.0442 to 3.5362 μg · L⁻¹ (*r* = 0.9995), the limit of quantitation was 0.0442 μg · L⁻¹, the method recovery was between 101.1% ~ 106.7%, the RSDs of inter- and intra-day precisions were less than 5.8% and 7.3% respectively. **Conclusion:** This method is accurate, good reproducibility and sensitive for determination of ampicillin residue in rhG-CSF.

Key words: ampicillin residue; solid-phase extraction; LC-MS/MS; rhG-CSF; antibiotic

重组人粒细胞刺激因子 (recombinant human granulocyte colony stimulating factor, rhG-CSF) 注射液, 通用名是非格司亭 (英文: filgrastim), 是 1 种重

组蛋白质药物, 它是由高效表达人粒细胞集落刺激因子基因的大肠杆菌, 经发酵、分离和高度纯化后获得的重组人粒细胞刺激因子制成^[1], 主要用于治疗

* 国家科技支撑计划课题 (2008BAI54B07)

** 通讯作者 Tel: (028) 87877175; E-mail: cdyuanjun@yahoo.com.cn

因放疗、化疗引起的白细胞减少^[2]。其活性成分为 rHuG-CSF, 该品种已被中国药典 2010 年版三部收载。

根据中国药典 2010 年版三部的要求, 疫苗生产过程中不得添加青霉素或其他 β -内酰胺类抗生素^[1]。但 rhG-CSF 由于自身的特性, 在其菌种制备阶段, 加入了氨苄青霉素, 在最终产品中检测氨苄青霉素残留, 显然是非常必要的。

目前, 文献报道了青霉素类抗生素残留的分析方法, 多采用传统的生物测定法^[3,4]、免疫法^[5]和 HPLC 法^[6]等。中国药典 2010 年版三部收录的该品种检查项下氨苄青霉素残留检测方法为微生物法^[1], 虽然微生物法简便、成本低, 但其灵敏度和选择性较差, 最低检出限为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[7]。常规 HPLC 法往往仅适宜于测定比较纯的产物, 对于具有复杂组分的生物培养基中的抗生素, 特别是痕量的抗生素, 往往由于高背景干扰而难于定量分析^[8]。E. Verdon 等^[9]曾报道用柱前衍生-离子对高效液相色谱法测定牛奶中的异噁唑青霉素残留, 但前处理步骤过于复杂, 操作难于控制, 其准确性和选择性较差。D. M. Holstege^[10]等采用 LC-MS 测定了牛奶中 5 种 β -内酰胺类抗生素残留。Sonja Riediker 和 Yuko Ito 也用 LC-MS/MS 测定牛奶中的青霉素含量, 准确性较好, 但灵敏度不高, 其定量限为 $2 \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[11,12]。本品为重组蛋白质药物, 其保护液中含有较高浓度的醋酸钠盐和甘露醇成分, 均可对检测的灵敏度和特异性产生影响。本文借鉴各方法的优点, 建立固相萃取-串联液质联用法测定重组人粒细胞刺激因子注射液中氨苄青霉素残留。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 色谱系统: 岛津 SHIMADZU Prominence 系列高效液相色谱仪, 包括系统控制器 GBM-20A, 在线脱气机 DGU-20A₃, 二元泵 LC-20AD, 自动进样器 SIL-20A_{HT}, 柱温箱 CTO-20A。质谱系统: 美国 Applied Biosystems 公司 API3200 LC-MS/MS Systems 串联四极杆质谱仪, 包括电喷雾电离离子源 (ESI)、Analyst1.4.2 数据处理软件。其他: 固相萃取仪: Waters 固相萃取仪 (美国沃特世公司); 固相萃取小柱: Waters Oasis HLB Extraction Cartridge (30 mg: 1 mL), Agilent Bond ODS-C18 Cartridge (100 mg: 1 mL), Strata-X-C (60 mg: 3 mL); 十万分之一电子分析天: BP 211D, STARTORIUS; 冷冻高速离心机: 3K30, Sigma; 氮气浓缩仪: N-EVAP 111 NI-

TROGEN EVAPORATOR; 涡旋混匀仪: MS3 digital, IKA; 超纯水仪: Milli-Q (美国密理博公司)。

1.2 试剂 氨苄青霉素对照品 (含量 86.0%, 批号: 130410-200405) 和内标阿莫西林对照品 (含量 86.6%, 批号: 130409-200609) 由中国药品生物制品检定所提供。重组人粒细胞刺激因子注射液 10 批 (由成都生物制品研究所提供。A: $0.3 \text{ mL} \cdot \text{支}^{-1}$, 批号 200506A01, 200506A02, 200506A03; B: $0.6 \text{ mL} \cdot \text{支}^{-1}$, 批号 200506B01, 200506B02, 200506B03, 200903B01, 200903B02; C: $1.2 \text{ mL} \cdot \text{支}^{-1}$, 批号 200506C01, 200506C02)。乙腈为色谱纯试剂 (Merck 公司), 甲酸为色谱纯试剂 (Dikma 公司), 实验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱、质谱条件

色谱条件: 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ ($5 \mu\text{m} \ 4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$); 以乙腈为流动相 A, 水 (甲酸调 pH3.1) 为流动相 B, 梯度洗脱程序见表 1; 柱温: $35 \text{ }^\circ\text{C}$; 流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: $10 \mu\text{L}$ 。质谱条件见表 2。

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program

时间 (time) /min	流速 (flow rate) /mL · min ⁻¹	A 相 (phase) / % 水 (water) (pH 3.15)	B 相 (phase) / % 乙腈 (acetonitrile)
0.01	0.8	95	5
4.00	0.8	20	80
5.00	0.8	95	5
6.00	0.8	95	5

表 2 青霉素类药物在 ESI 正模式条件下的质谱条件参数

Tab 2 MS parameters of penicillins in ESI⁺

参数 (parameter)	氨苄青霉素 (ampicillin)	阿莫西林 (amoxicillin)
相对分子质量 (relative molecular mass)	349.1	365.1
母离子 (parent ions) (<i>m/z</i>)	350.0	366.0
定量离子 (quantitative ions) (<i>m/z</i>)	106.1	114.0
定性离子 (qualitative ions) (<i>m/z</i>)	192.0	208.0
碰撞电压 (collision energy) /V	22	28
碰撞池出口电压 (collision exit potential) /V	4.0	3.8
去簇电压 (declustering potential) /V	21	17
气帘气 (curtain gas) /MPa	0.2	0.2
碰撞气 (collision gas) /MPa	0.07	0.07
喷雾电压 (ionspray voltage) /V	5500	5500
温度 (temperature) /°C	500	500
雾化气 1 (gas 1) /MPa	0.4	0.4
雾化气 2 (gas 2) /MPa	0.4	0.4

2.2 溶液的配制

氨苄青霉素储备液及工作液: 精密称取氨苄青霉素对照品 10.28 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 以超纯水溶解并稀释至刻度, 即得氨苄青霉素(102.8 mg · L⁻¹) 液, 置 4 °C 冰箱中保存(2 周内使用)。临用前用初始流动相 [乙腈 - 水(5:95 v/v)] 稀释得所需浓度氨苄青霉素对照品溶液。

内标储备液及工作液: 精密称取阿莫西林对照品 10.03 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 以超纯水溶解并稀释至刻度, 即成内标(100.3 mg · L⁻¹) 储备液, 置 4 °C 冰箱中保存。临用前用初始流动相 [乙腈 - 水(5:95 v/v)] 稀释成浓度为 10.03 μg · L⁻¹ 的内标溶液。

2.3 样品前处理

于 5 mL 塑料离心管中分别精密加入 rhG - CSF 样品 2 mL, 内标(10.03 μg · L⁻¹) 100 μL, 涡旋混合 2 min, 作为上样溶液 A。

固相萃取流程: 先用 3 mL 甲醇活化小柱, 再用 3 mL 超纯水洗涤后, 转移上述上样溶液 A 通过固相萃取小柱。以超纯水 1 mL 洗涤小柱, 弃去洗脱液, 最后用乙腈 - 水(80:20) 3 mL 洗脱样品, 收集洗脱液于 40 °C 水浴中, 通氮气吹干, 残渣用初始流动相 [乙腈 - 水(5:95 v/v)] 100 μL 溶解, 涡旋 30 s, 经高速冷冻离心(15000 r · min⁻¹) 10 min 后, 转移上清液供 LC - MS/MS 分析测定用。

2.4 标准曲线、线性范围及定量限

精密量取空白 rhG - CSF 样品 2 mL 置 5 mL 塑料离心管中, 照“2.3”项下方法处理, 得空白残渣。精密加入不同浓度的氨苄青霉素对照品溶液及内标溶液各 100 μL, 配制成含氨苄青霉素浓度分别为 0.0442, 0.1362, 0.2651, 0.4420, 0.8841, 1.326, 1.7682, 3.5362 μg · L⁻¹ 的基质匹配系列对照品溶液, 取上清液进样 10 μL。记录氨苄青霉素和内标峰面积, 以两者比值 Y 对浓度 X 进行线性回归, 得线性方程为:

$$Y = 0.32X + 0.00448(1/X) \quad r = 0.9995$$

表明氨苄青霉素浓度在 0.0442 ~ 3.5362 μg · L⁻¹ 范围内线性关系良好。在信噪比 S/N = 10 的条件下, 氨苄青霉素最低定量浓度为 0.0442 μg · L⁻¹。

2.5 回收率和精密度 取空白 rhG - CSF 样品 2 mL 置 5 mL 塑料离心管中, 精密加入内标溶液及高, 中, 低 3 个浓度的氨苄青霉素对照品溶液(0.1362, 0.8841, 1.7682 μg · L⁻¹) 各 100 μL, 按照“2.3”项下方法处理, 每个浓度分别平行制备 5 份供试溶液。

以测得的峰面积(A)与相应浓度基质匹配对照品溶液峰面积(A₀)对比, 计算萃取回收率; 以基质匹配标准曲线测得量与氨苄青霉素加入量的比值计算方法回收率。同法测定, 计算日内 RSD; 连续 5 d 制备并测定, 计算日间 RSD, 结果分别见表 3 ~ 5。

表 3 氨苄青霉素萃取回收率试验结果(n = 5)

Tab 3 The extractive recovery of ampicillin in bland matrix

浓度 (concentration) /ng · mL ⁻¹	A	A ₀	萃取回收率 (extraction recovery) /%	平均值 (mean) /%	RSD /%
0.1326	288.43	473.15	60.96	56.27	10.12
	292.40		61.80		
	274.89		58.10		
	241.70		51.08		
0.8841	233.81	2579.20	49.42	59.76	6.11
	1504.90		58.35		
	1539.50		59.69		
	1621.80		62.88		
1.7682	1404.50	4889.90	54.45	71.02	6.17
	1635.90		63.43		
	3419.70		69.93		
	3742.55		76.54		
	3622.60		74.08		
	3192.45		65.29		
	3387.3		69.27		

表 4 氨苄青霉素方法回收率试验结果(n = 5)

Tab 4 The method recovery of ampicillin in bland matrix

加入量 (added) /ng	测得量 (determined) /ng	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (mean recovery) /%	RSD /%
0.01326	0.01370	103.33	106.7	6.14
0.01326	0.01388	104.67		
0.01326	0.01485	112.00		
0.01326	0.01521	114.67		
0.01326	0.01308	98.67	106.8	3.34
0.08841	0.09371	106.00		
0.08841	0.09636	109.00		
0.08841	0.09725	110.00		
0.08841	0.09548	108.00	101.1	5.92
0.08841	0.08929	101.00		
0.17682	0.16444	93.00		
0.17682	0.17063	96.50		
0.17682	0.18742	106.00	106.00	
0.17682	0.18742	106.00		
0.17682	0.18742	106.00		
0.17682	0.18389	104.00		

表5 日内、日间精密度试验结果 ($n = 5$)
Tab 5 The intra-day and inter-day precisions of ampicillin in bland matrix

	日内 (intra-day)			日间 (inter-day)		
	加入量 (added) / ng	0.01326	0.08841	1.7682	0.01326	0.08841
测得均值 (mean determined) / ng	0.01351	0.09467	1.8132	0.01392	0.08823	0.17911
RSD/%	4.61	5.79	4.64	7.32	7.26	6.64

2.6 基质效应考察 在应用 LC-MS/MS 法进行生物样品的测定时,可能会产生基质效应,应考察该效应。取空白 rhG-CSF 基质 2 mL 于 5 mL 塑料离心管中,按照“2.3”项下方法处理,所得空白残渣分别加入 0.1362, 0.8841, 1.7682 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 高、中、低 3 个浓度的氨苄青霉素对照品溶液 100 μL , 涡旋溶解后进样,每个浓度进行 5 样本分析。分别取上清液 10 μL 进样测定,记录峰面积(A)。另将相应浓度的工作液直接进样,记录峰面积(A_0),以 $(A_0 - A) / A_0$ 计算得到氨苄青霉素的基质效应。氨苄青霉素在高、中、低 3 个浓度的基质效应分别为 6.9%, 6.1%, 5.2%。结果表明本法存在一定基质效应,但对测定结果无明显影响。

3 方法应用

应用本文所建立的方法对成都生物制品研究所提供的 10 批重组人粒细胞刺激因子注射液中氨苄青霉素残留进行检测,尚未发现有阳性结果的样品。本文所建方法的最低定量浓度达到 0.0442 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,符合抗生素残留相关要求。

4 讨论

4.1 监测离子的选择 图 1 显示的是氨苄青霉素和内标阿莫西林在扫描范围 m/z 50 ~ 400 下得到的二级质谱图。氨苄青霉素母离子 $[M + H]^+ m/z$ 350 的主要碎片离子峰有 m/z 106, 160, 192, 174, 由于 m/z 106, 192 的灵敏度最高,且样品中没有干扰,故选用 m/z 106 和 192 作为氨苄青霉素的监测离子。内标阿莫西林母离子 $[M + H]^+ m/z$ 366 的主要碎片离子峰有 m/z 114, 134, 208, 255, 211, 因 m/z 114, 208 的灵敏度最高,且样品中没有干扰,故选择 m/z 114 和 208 作为阿莫西林的监测离子。图 2 显示的是本色谱条件下测定的典型色谱图,氨苄青霉素保留时间为 3.42 min,内标阿莫西林保留时间为 3.15 min。由图可知,空白 rhG-CSF 样品中的内源性物质不干扰其测定,说明该方法具有良好的专属性。

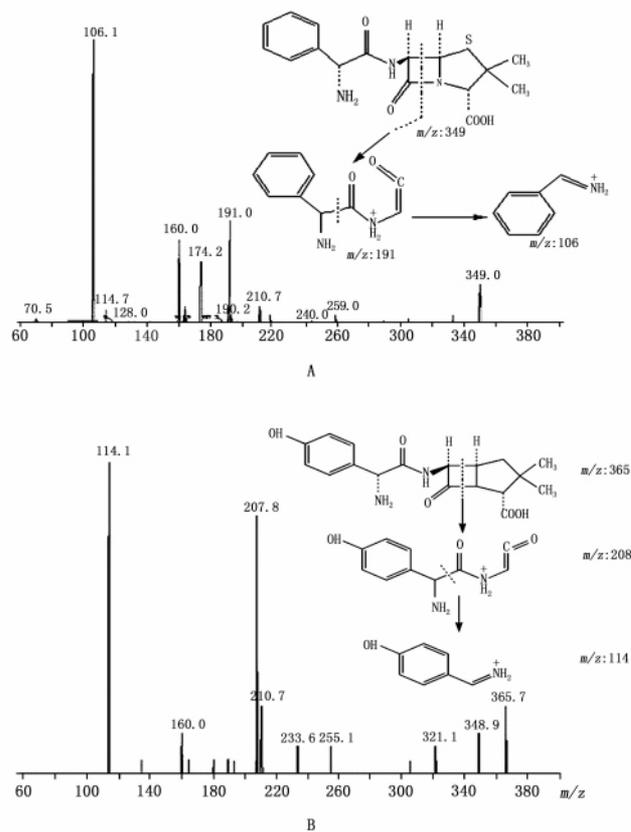


图1 氨苄青霉素 (A) 和内标阿莫西林 (B) 的二级质谱图
Fig 1 The second grade mass spectra of ampicillin (A) and internal standard amoxicillin (B)

4.2 内标的选择 阿莫西林与氨苄青霉素具有相似的化学结构,氨苄青霉素的 pK_a 值为 3.5, 7.3, 阿莫西林的 pK_a 值为 2.4, 7.4, 9.6。其酰胺侧链的碱性占主导地位,两者均易带上正电荷,均可采用正离子模式分析。两者的极性相似,其在固相萃取小柱上有相似的保留行为,使得两者的萃取回收率相近。由于两者的层析行为相近,使得其在色谱柱上的保留时间相近,且能完成分开。

4.3 样品预处理方法的选择和优化

4.3.1 直接沉淀蛋白法 试验比较了甲醇、乙腈、不同比例的乙腈-0.1% 甲酸的提取效果,但由于 rhG-CSF 样品的保护液中含有 10 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸钠及 5% 甘露醇,均留在沉淀蛋白后的上清液中无法除去,而不挥发性盐会干扰质谱测定,产生严重的基质抑制效应,故放弃此法。

4.3.2 液-液萃取法 试验考察了乙酸乙酯、丙酮、正己烷等有机溶剂的萃取回收率,效果都很差,三者的提取回收率均低于 10%。可能是因为氨苄青霉素和阿莫西林的极性较大,两者在水中的溶解度大于在有机溶剂中的溶解度。

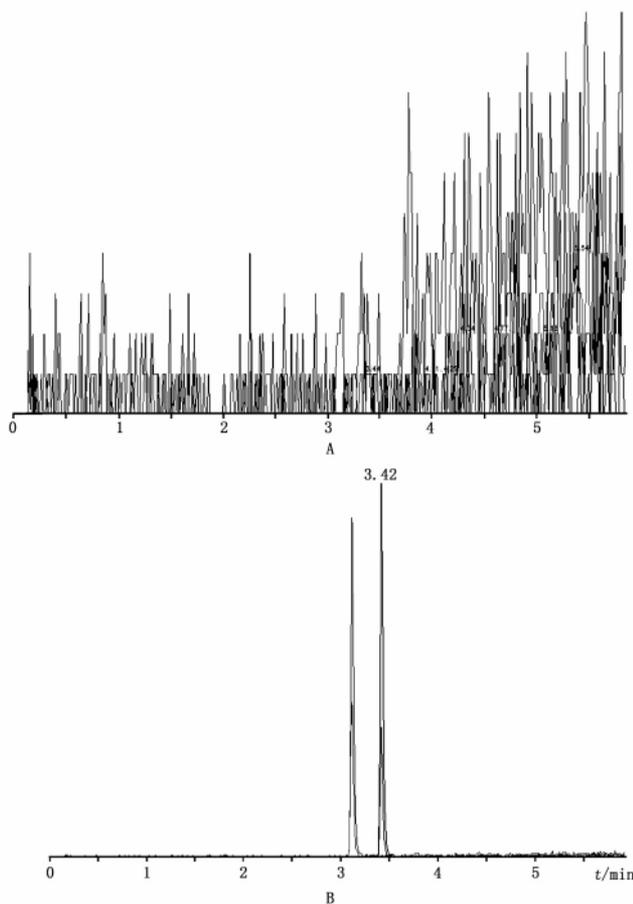


图2 空白基质 (A)、空白基质 + 氨苄青霉素 (3.42 min) + 内标 (3.15 min) (B) 色谱图

Fig 2 Chromatograms of blank matrix (A) blank matrix added ampicillin (3.42 min) and internal standard (3.15 min) (B)

4.3.3 固相萃取法

4.3.3.1 固相萃取小柱的选择

试验分别选用 Waters Oasis HLB 柱、Aglient Bond ODS - C₁₈ 柱及 Strata - X - C 柱对空白加样 rhG - CSF 样品的萃取效果进行了比较。结果见图 3, 由图 3 可知, HLB 柱对氨苄青霉素的萃取效果优于其他 2 种萃取柱。

4.3.3.2 洗脱剂的选择 分别选用乙腈、乙腈 - 水溶液洗脱, 结果表明乙腈 - 水溶液按适当比例混合洗脱时, 杂质干扰消除。试验考察了不同比例的乙腈 - 水洗脱对回收率的影响, 发现乙腈 - 水 (80:20) 对氨苄青霉素洗脱效果较理想。结果见图 4。

4.3.3.3 洗脱剂用量的选择 试验分别采用 2, 3, 4 mL 洗脱剂洗脱, 结果见图 5, 图表显示氨苄青霉素的回收率随体积变化影响较大, 当洗脱剂为 3 mL 时其回收率较高, 故选择 3 mL 洗脱剂。

4.4 流动相的优化 本文对甲醇 - 水、乙腈 - 水系

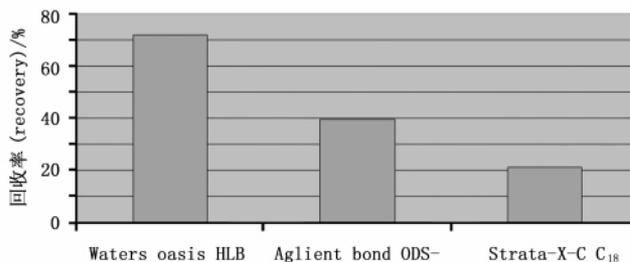


图3 不同固相小柱回收率结果

Fig 3 Recoveries of different SPE columns

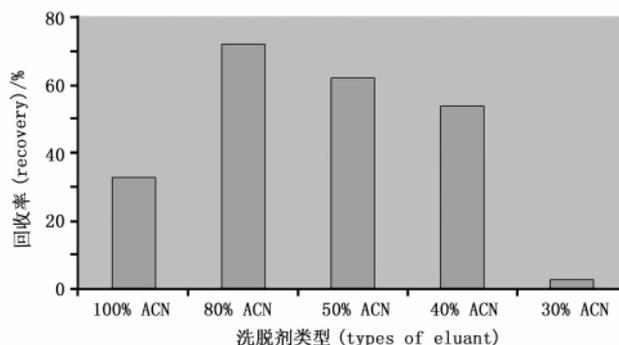


图4 不同洗脱剂回收率结果

Fig 4 Recoveries of different eluants

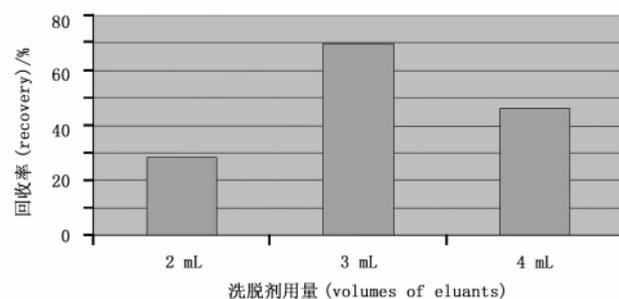


图5 不同洗脱剂用量回收率结果

Fig 5 Recoveries of different volumes eluants

统进行了考察, 发现在乙腈 - 水系统下, 待测成分的保留时间适当, 峰形较好, 因此选择乙腈 - 水系统作为流动相。流动相中加入甲酸可以明显改善峰形 (见图 6), 增加其离子化效率。且 pH 的调节对色谱峰峰形及方法的重现性均有较大的影响。当 pH 为 3.1 时, 待测药物峰形尖锐, 且响应最高。

5 结论

本方法通过对样品前处理条件的充分优化改进, 建立了同时适应于分析 rhG - CSF 样品中氨苄青霉素残留检测的固相萃取 - LC - MS/MS 方法。

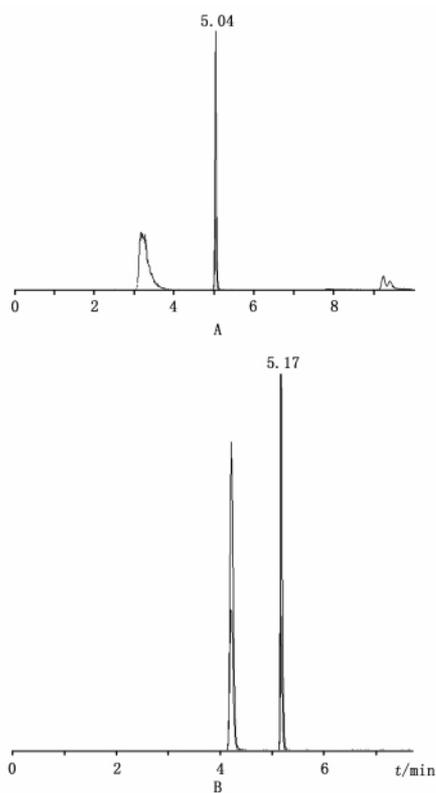


图6 以乙腈-水(A)、乙腈-甲酸水(B)为流动相的色谱图

Fig 6 Chromatograms of acetonitrile - water (A), acetonitrile - water added formic acid as mobile phase(B)

该方法具有快速、灵敏、稳定可靠等特征,为免疫制品中抗生素残留检测提供参考。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2010. Vol III(三部): 296
- 2 YANG Mei-hua(杨美花). RP-HPLC determination of principal agent in recombinant human granulocyte colony-stimulating factor injection (RP-HPLC法测定重组人粒细胞刺激因子注射液主药含量). *J Strait Pharm(海峡药学)* 2006, 18(5): 80

- 3 SONG Jie(宋杰), SONG Yan-qing(宋燕青), WANG Yong-xin(王勇鑫) *et al.* Microbiological method and its application in determination of allicetin remained(微生物法在检测牛奶中氯霉素残留的应用). *J Hebei Teach Univ (Nat Sci Ed)* (河北师范大学学报 自然科学版) 2005, 29(1): 85
- 4 LI Fa-mei(李发美). High-pressure Liquid-solid Chromatography Technology for Medical and Pharmacy(医药高效液相色谱技术). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社) 2000. 269
- 5 CHEN Fang(陈芳), WANG Jian-fang(王建芳), JIN Ya-ping(靳亚平). The detection of the penicillin remained in milk by method MTT(MTT法检测牛奶中青霉素残留). *J Northwest Agric(西北农业学报)* 2008, 17(6): 348
- 6 WANG Chao(王超), WANG Xing(王星). Determination of 5 penicillin residues in pork by high performance liquid chromatography with pre-column derivatization(柱前衍生高效液相色谱法测定猪肉中5种青霉素残留量). *Anal Chem(分析化学)* 2001, 29(7): 779
- 7 ChP(中国药典). 2010. Vol III(三部): Appendix(附录) 59
- 8 Mark AO, Paul G. Cummings and Sonya Kennedy-gabb. The use of deuterium oxide as a mobile phase for structural elucidation by HPLC/UV/ESI/MS. *Anal Chem* 2000, 72: 5070
- 9 Verdon E, Couedor P. Determination of isoxazoly penicillins residues in milk by ion-pair high-performance liquid chromatography after percolumn derivatization. *J Chromatogr B* 1998, 705: 71
- 10 Holstege DM, Puschner GB, Whitenead, *et al.* Screening and mass spectral confirmation of β -lactam antibiotic residues in milk using LC-MS/MS. *J Agric Food Chem* 2002, 50: 406
- 11 Sonja R, Richard HS. Simultaneous determination of five β -lactam antibiotic in bovine milk using liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2001, 73: 1614
- 12 Ito Y, Goto T, Oka H, *et al.* Application of ion-exchange cartridge clean-up in food analysis VI. Determination of six penicillins in bovine tissues by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2004, 1042: 107

(本文于2010年9月3日收到)

欢迎投稿

欢迎订阅

欢迎刊登广告