

实验技术与方法

免疫亲和固相萃取-液相色谱串联质谱测定乳制品中的
11种氨基糖苷类药物刘育形^{1,2}, 白艳梅³, 谢瑞龙³, 陈容^{1,2}, 张晶^{1,2}, 杨奕², 李翠枝³(1. 中国医科大学公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110001; 2. 北京市疾病预防控制中心
食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013; 3. 内蒙古伊利事业
集团有限公司质量部, 内蒙古呼和浩特 010080)

摘要:目的 建立液奶和乳粉中11种氨基糖苷类药物(壮观霉素、双氢链霉素、潮霉素B、链霉素、庆大霉素C1、阿米卡星、庆大霉素C2、卡那霉素、庆大霉素C1a、妥布霉素和安普霉素)残留的高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)检测方法。方法 乳制品样品经1%乙酸水溶液提取、免疫亲和小柱富集净化,5%甲酸乙腈洗脱后用HPLC-MS/MS法进行测定,乙腈和0.5%甲酸水为流动相,BEH Amide色谱柱分离,基质匹配曲线法定量分析。结果 11种氨基糖苷类抗生素在5~500 μg/L浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数(r)均大于0.99;液奶和奶粉中目标药物的定量限分别为3和10 μg/kg;平均回收率范围为65.12%~105.95%,相对标准偏差(RSD)为0.85%~19.12%。结论 该方法操作简单,具有良好的选择性、灵敏度和重现性,可用于乳制品中11种氨基糖苷类药物的同时检测。

关键词:氨基糖苷类抗生素;免疫亲和柱;乳制品;高效液相色谱-串联质谱

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2022)02-0240-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.02.008

**Determination of 11 aminoglycosides residues in dairy products by liquid chromatography
tandem mass spectrometry after immunoaffinity SPE**LIU Yuxing^{1,2}, BAI Yanmei³, XIE Ruilong³, CHEN Rong^{1,2}, ZHANG Jing^{1,2}, YANG Yi², LI Cuizhi³(1. School of Public Health, China Medical University, Liaoning Shenyang 110001,
China; 2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food
Poisoning, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China
3. Inner Mongolia Yili Industrial Group Co. Ltd., Inner Mongolia Hohhot 010080, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of 11 aminoglycosides antibiotics (spectinomycin, dihydrostreptomycin, hygromycin B, streptomycin, gentamicin C1, amikacin, gentamicin C2, kanamycin, gentamicin C1a, tobramycin and apramycin) in liquid milk and milk powder samples by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The dairy products were extracted by water containing 1% acetic acid, concentrated and purified by the immunoaffinity cartridges, and then analyzed by HPLC-MS/MS. A BEH Amide column was used for the separation of target drugs as well as acetonitrile and water containing 0.5% formic acid used as the mobile phase. Matrix matched calibration was applied in the quantitation. **Results** The calibration curves achieved good linearity in the range of 5-500 μg/L with the correlation coefficients (r) greater than 0.99; the quantification limits of AGs in liquid milk and powder were 3 and 10 μg/kg, respectively. The average recovery ranged from 65.12% to 105.95% with relative standard deviations (RSD) ranged from 0.85% to 19.12%. **Conclusion** This method presented good selectivity, high sensitivity and simple operation, which was suitable for the determination of 11 aminoglycoside antibiotics in dairy products.

Key words: Aminoglycosides antibiotics; immunoaffinity column; dairy products; HPLC-MS/MS

收稿日期:2021-10-08

基金项目:国家重点研发计划(2017YFC1601605)

作者简介:刘育形 女 硕士生 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: 473488566@qq.com

通信作者:张晶 女 副研究员 研究方向为食品检测 E-mail: brightjing@163.com

氨基糖苷类化合物(Aminoglycosides, AGs)是由氨基糖与氨基环醇通过氧桥连接而成的一大类苷类抗生素,可阻碍细菌蛋白质的合成从而抑制细菌的生长和繁殖,对多种革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有显著的抗菌效果^[1-2]。这类药物价格低廉、抗菌谱广,被广泛应用于禽兽养殖过程中,可作为生长促进剂添加在饲料中。但氨基糖苷类药物具有明显的毒副作用,比如神经肌肉传导阻滞,肠道功能损害以及耳毒性、肾毒性等^[3-4],并且 AGs 会在生物组织中富集因此残留时间较长。为了保护消费者健康,欧盟已经禁止将 AGs 作为畜禽促生长添加剂使用,我国也对 AGs 的残留进行了严格控制。《GB 31650—2019 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》规定了动物性食品中 AGs 的最大残留限量为 100~9 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其中牛奶中链霉素、双氢链霉素、庆大霉素和壮观霉素的 MRL 均为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前 AGs 主要的检测方法有酶联免疫法(Enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)、液相色谱法和液相色谱-串联质谱法(Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)等^[5-7],其中 LC-MS/MS 法是动物性食品残留分析使用最广泛的方法。由于 AGs 是一类强极性的碱性药物,在传统的反相色谱柱很难保留,通常需要在流动相中加入离子对试剂来增强化合物保留^[8-9]。然而,离子对试剂的使用会衍生出质谱不兼容、产生离子抑制效应等问题。近年来,亲水型色谱柱(Hydrophilic interaction chromatography, HILIC)被证实可以改善 AGs 的色谱行为^[10-11]。另一方面,动物性食品中 AGs 的富集净化通常使用离子对试剂结合反相固相萃取,或者离子交换固相萃取来实现,但这些方法存在操作复杂、稳定性差等问题。免疫亲和固相萃取是一种高特异性和高选择性的前处理方法,在食品中生物毒素等痕量污染物的分析中具有广泛应用^[12-15]。本文以链霉素、双氢链霉素、安普霉素、阿米卡星、卡那霉素、庆大霉素 C1、C2、C1a、妥布霉素、壮观霉素和潮霉素 B 等 11 种 AGs 药物为研究对象,基于免疫亲和固相萃取富集净化结合 LC-MS/MS 技术建立了液奶和乳粉中的检测方法,为乳制品中 AGs 的残留监控提供了技术手段。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

UPLC Xevo TQ-XS 液相色谱三重四极杆质谱仪(美国沃特世公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);Allegra X-30R Centrifuge 冷冻离心机(美国

Beckman 公司);Whatman GFC 47 mm 玻璃纤维滤纸(英国 Whatman 公司);AGs 免疫亲和柱(3 mL, 2 000 ng, 北京美正生物公司)。

氨基糖苷类抗生素混合标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)包含壮观霉素、卡那霉素、妥布霉素、潮霉素 B、链霉素、双氢链霉素、阿米卡星、庆大霉素 C1、庆大霉素 C2、庆大霉素 C1a 11 种物质(天津阿尔塔公司);冰乙酸、盐酸、氢氧化钠、乙二胺四乙酸二钠盐(分析纯,北京百灵威科技有限公司);甲醇、乙腈(LC-MS 级美国 Honeywell 公司);甲酸(纯度 98%,北京百灵威科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

称取 5 g(精确到 0.01 g)液奶样品或 1 g(精确到 0.01 g)乳粉样品于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 10 mL 1% 乙酸水溶液和 50 mg 乙二胺四乙酸二钠盐,涡旋混匀 30 s,超声提取 20 min,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 9 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至一新的 50 mL 离心管中,用 4 mol/L NaOH 溶液调节 pH 6~8,再用玻璃纤维滤纸过滤至另一干净的离心管中。将 AGs 免疫亲和小柱从冷藏室取出,去掉柱盖和堵头,置于固相萃取装置上,待小柱保存液流出,取样品提取液上柱,上样完毕后用 6 mL 水淋洗小柱,再用 1 mL 5% 甲酸乙腈溶液洗脱小柱,收集洗脱液于聚丙烯样品瓶中,LC-MS/MS 测定。

1.2.2 标准溶液的配制

移取 0.5 mL 混合标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)于 10 mL 聚丙烯刻度管中,用超纯水定容至刻度,稀释成浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准中间液。用乙腈或空白基质溶液配制 AGs 标准工作液,浓度分别为 5、10、25、50、100、250 和 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的混合标准工作液,置于聚丙烯进样小瓶中,现用现配。

1.2.3 液相色谱参考条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH Amide(1.7 μm , 2.1 mm \times 150 mm);流动相 A:乙腈,流动相 B:0.5% 甲酸水溶液;流速:0.45 mL/min;进样量:5 μL ;柱温 40 $^{\circ}\text{C}$;梯度洗脱程序为:0~0.5 min,90% A;0.5~1.5 min,90%~50% A;1.5~4.0 min,50%~40% A;4.0~8.0 min,40% A;8.0~8.5 min,40%~90% A;8.5~10.5 min,90% A,运行时间 10.5 min。

1.2.4 质谱仪参考条件

离子源:电喷雾离子源(ESI);扫描方式:正离子扫描;毛细管电压:3 kV;检测方式:多反应监测(Multiple reaction monitoring, MRM)扫描模式;源温度:150 $^{\circ}\text{C}$;雾化气温度:400 $^{\circ}\text{C}$;雾化气流速:800 L/h。11 种 AGs 的质谱分析参数见表 1。

表1 11种AGs的主要质谱分析参数
Table 1 MRM acquisition parameters of 11 AGs

| 序号 | 药物名称 | 英文名称 | 保留时间/min | 母离子/(m/z) | 子离子/(m/z) | 锥孔电压/V | 碰撞能量/eV |
|----|---------|---------------------|----------|-----------|------------------|--------|---------|
| 1 | 壮观霉素 | Spectinomycin | 2.75 | 333.1 | 140 [*] | 30 | 25 |
| | | | | | 98 | | 25 |
| 2 | 双氢链霉素 | Dihydrostreptomycin | 3.36 | 584.3 | 263 [*] | 55 | 30 |
| | | | | | 246 | | 40 |
| | | | | | 177 [*] | | 30 |
| 3 | 潮霉素B | Hygromycin B | 3.40 | 528.3 | 352 | 42 | 24 |
| | | | | | 263 [*] | | 30 |
| | | | | | 157 [*] | | 24 |
| 4 | 链霉素 | Streptomycin | 3.43 | 582.3 | 264 | 55 | 40 |
| | | | | | 157 [*] | | 24 |
| | | | | | 322 | | 15 |
| 5 | 庆大霉素C1 | Gentamycin C1 | 3.87 | 478.2 | 322 | 30 | 15 |
| | | | | | 163 [*] | | 30 |
| | | | | | 324 | | 22 |
| 6 | 阿米卡星 | Amikacin | 3.92 | 586.3 | 322 [*] | 30 | 25 |
| | | | | | 160 | | 24 |
| | | | | | 324 [*] | | 25 |
| 7 | 庆大霉素C2 | Gentamycin C2 | 3.98 | 464.2 | 164 | 25 | 15 |
| | | | | | 322 [*] | | 22 |
| | | | | | 160 | | 15 |
| 8 | 卡那霉素 | Kanamycin | 3.98 | 485.2 | 322 [*] | 30 | 22 |
| | | | | | 160 | | 15 |
| | | | | | 163 [*] | | 25 |
| 9 | 庆大霉素C1a | Gentamycin C1a | 4.07 | 450.2 | 160 | 30 | 15 |
| | | | | | 322 [*] | | 22 |
| | | | | | 163 [*] | | 25 |
| 10 | 妥布霉素 | Tobramycin | 4.30 | 468.3 | 324 | 32 | 15 |
| | | | | | 217 [*] | | 32 |
| | | | | | 378 | | 22 |

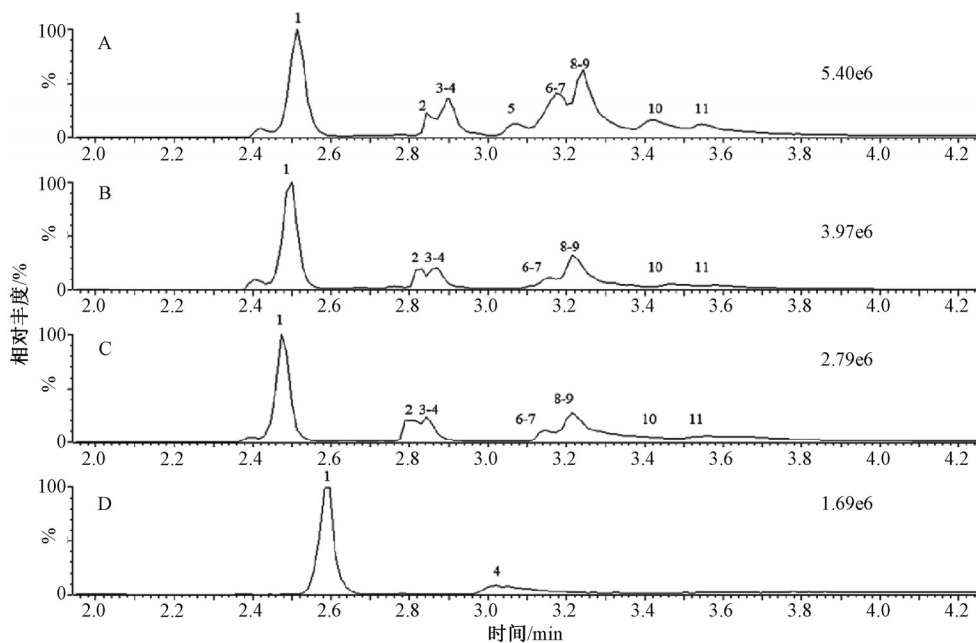
注:^{*}为定量离子

2 结果

2.1 色谱条件的优化

AGs是以氨基环醇与氨基糖缩合而成的苷,具有很强的极性和亲水性。为了使这类化合物在反相色谱柱上获得较好的保留,通常需要在流动相中加入诸如三氟乙酸、七氟丁酸等离子对试剂^[8-9,16]。然而,这些离子对试剂的使用会造成设备管路残

留、基质抑制、柱寿命缩短等问题,使得AGs的分析成为检测人员面临的挑战之一。近年来,HILIC色谱柱常被用于AGs的分析,如刘雪红等^[17]用Cortecs HILIC色谱柱分析牛奶中的7种AGs,获得了良好的峰形。在此,我们选择了ACQUITY UPLC BEH Amide色谱柱,该柱在亚乙基桥杂化的高纯硅胶颗粒上键合了酰胺基,与普通的HILIC柱相比具有更



注:A:0.5%甲酸水-乙腈;B:0.2%甲酸水-乙腈;C:0.1%甲酸水-乙腈;D:含5 mmol/L乙酸铵0.5%甲酸水-乙腈;目标物质序号同表1

图1 不同流动相下11种AGs的总离子流图

Figure 1 Total ion chromatograms of 11 AGs using different mobile phase

高的稳定性。

考察了乙腈作为有机相,纯水作为水相对AGs的分析效果,发现使用乙腈-水体系时AGs灵敏度很低。甲酸有利于改善峰形,促进目标物的离子化,因此我们选择在水相中加入甲酸以提高检测方法的灵敏度,并对其浓度进行了优化。图1给出了0.1%、0.2%和0.5%甲酸水作为流动相时的总离子流色谱图。可见甲酸浓度从0.1%增加至0.5%,11种AGs药物的灵敏度均明显提高并且分离改善。考虑到Amide柱子对酸的耐受限度,流动相水相中加入0.5%的甲酸。MORENO-GONZÁLEZ等^[18]

在流动相水相中加入2 mmol/L的乙酸铵,10种AGs均能得到很好分离且响应值较高,因此在本次实验中我们也尝试在0.5%的甲酸水流动相体系中加入5 mmol/L乙酸铵,实验结果如图1D显示,乙酸铵的加入后只有壮观霉素和链霉素出峰,且峰形展宽,壮观霉素响应值降至不加乙酸铵时的30%左右,说明乙酸铵不适于BEH Amide色谱柱对氨基糖苷类药物的分析。优化色谱条件后的11种AGs药物的定量离子的MRM谱图(图2),11种AGs均能得到较好分离。

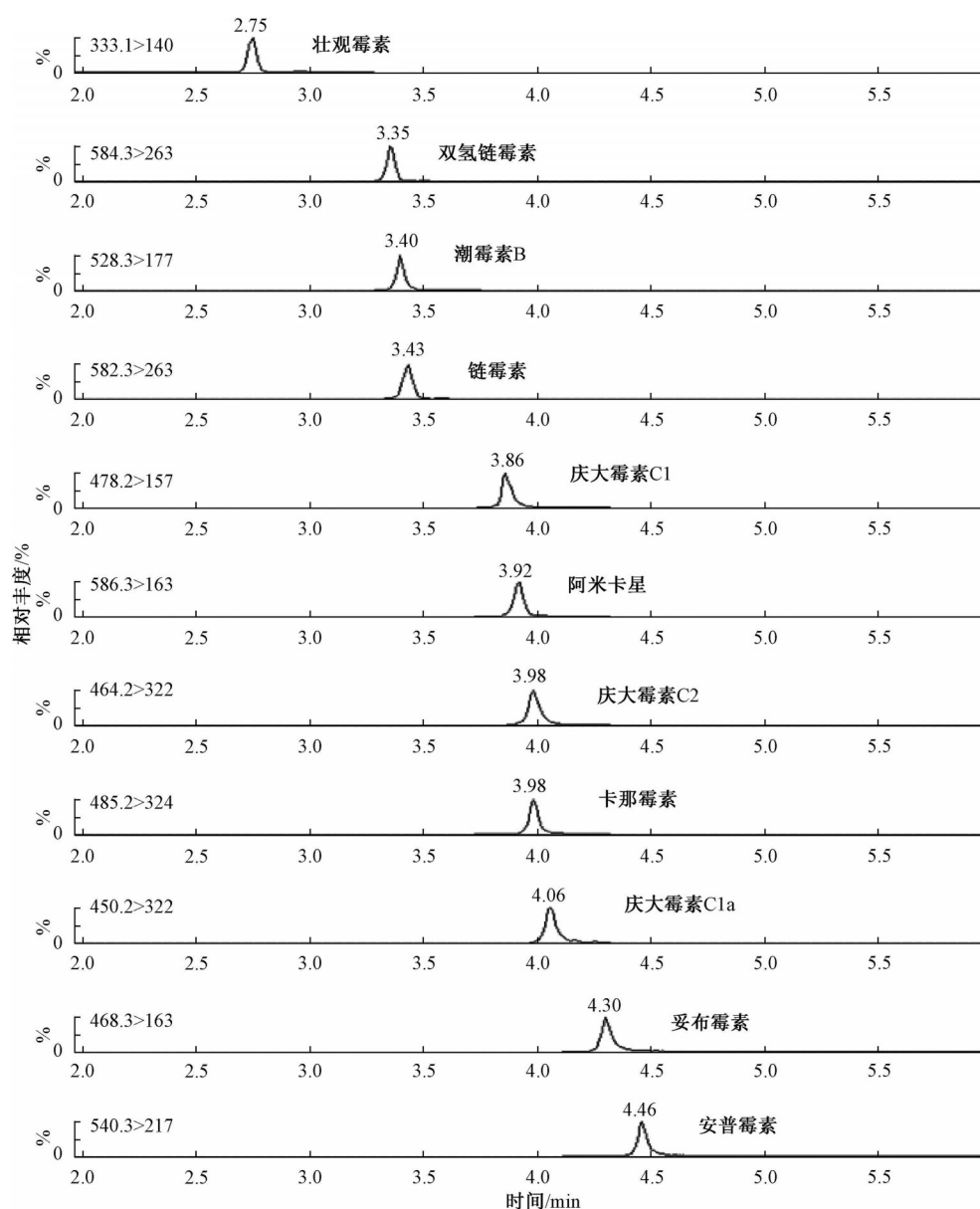


图2 11种AGs的MRM谱图

Figure 2 MRM chromatograms of 11 AGs

2.2 样品前处理条件的优化

2.2.1 提取溶液的选择

动物性食品中的AGs提取通常使用三氯乙酸溶液、乙酸铵溶液、磷酸缓冲液等^[19-21]。由于乳制品

成分复杂,含有大量蛋白质和脂质等干扰物质,因此根据AGs的性质,为了达到较好的蛋白沉淀效果,本研究比较了使用三氯乙酸缓冲溶液和乙酸溶液提取,结果表明乙酸能有效提取AGs药物,沉淀

乳制品的蛋白质和脂质等干扰物质,减少基质效应的影响。使用乙酸作为提取溶液时后续调节 pH 操作更为简单、方便。此外,考虑到三氯乙酸刺激性较强、毒性较大,本实验选择 1% 乙酸水溶液作为提取剂。

2.2.2 富集净化方法的选择

目前对于 AGs 的富集净化,较常使用的仍是反相或离子交换固相萃取^[16,18,22-23]。此外,分子印迹小柱因具有高特异性高选择性的优点,其在 AGs 检测中也有少量应用^[21,24],但可能存在模板分子的本底污染等问题。本研究采用免疫亲和固相萃取柱对乳制品提取液进行净化,样品经过提取后缓慢通过免疫亲和小柱,目标药物与柱体内的抗体发生特异性结合,之后淋洗去除没有被结合的其他干扰物,再针对性地洗脱目标物质,配合 LC-MS/MS 分析,

提高检测方法的特异性和准确度。

通常情况下,有机溶剂能破坏免疫亲和柱抗体与目标物质的特异性结合,但是实验发现使用纯乙腈洗脱时 11 种 AGs 的回收效果不理想,其中壮观霉素和潮霉素 B 几乎没有回收,其余 9 种目标物的回收率均低于 17%。为了提高洗脱效率,我们在乙腈中加入了不同浓度的甲酸,分别是 0.5%、1%、2%、5% 和 10%。结果如图 3 所示,随着洗脱液中甲酸含量从 0.5% 增加至 5%,目标物质的回收率随甲酸含量增加而增高,但甲酸含量进一步增加至 10% 时,部分物质的回收率有所下降,如壮观霉素、双氢链霉素、潮霉素 B、安普霉素等,这可能是因为高浓度的酸会对目标物产生信号抑制的缘故。所以最终选择 1 mL 含 5% 甲酸的乙腈作为洗脱液。

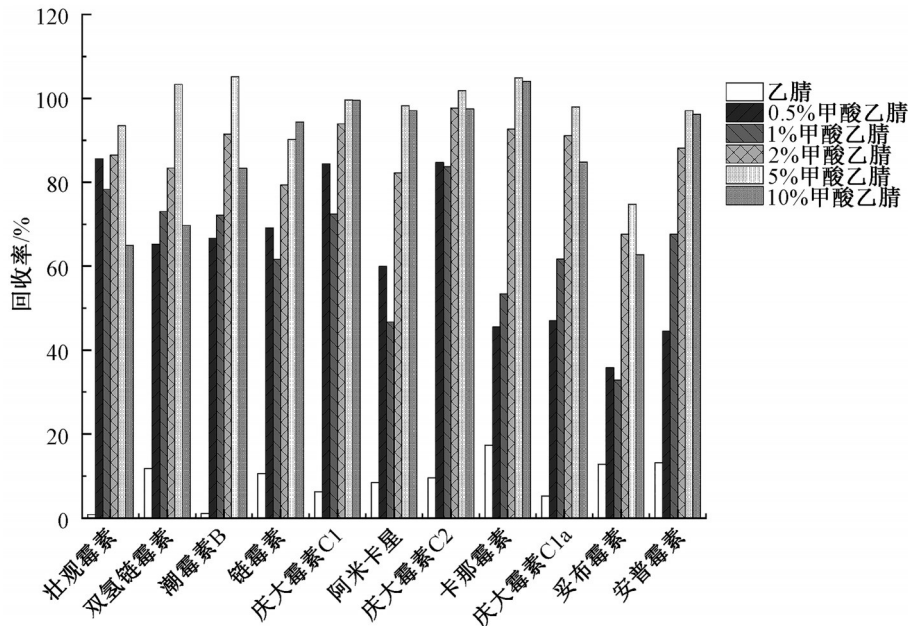


图3 免疫亲和柱使用不同洗脱液时 AGs 的回收率比较

Figure 3 Recoveries of 11 AGs using different eluent upon the immunoaffinity cartridges

2.3 方法学确证

2.3.1 方法的线性范围和定量限

由于 11 种 AGs 药物性质特殊亲水性强且各 AGs 药物间存在差异,加之同位素标记的氨基糖苷类药物难以获取,因此本实验未能采用同位素内标曲线法。实验考察了乳粉和液奶两类试样的基质效应,采用空白样品基质标准曲线的斜率与溶剂标准溶液斜率的比值来计算。结果显示,液奶和乳粉中 11 种目标物的基质效应分别为 62.53% ~ 131% 和 59.91% ~ 126%。因此,为了校正基质效应的影响,本研究采用基质标准曲线法定量。用空白基质溶液配制混合标准工作系列,在 5 ~ 500 μg/L 浓度范围内,11 种 AGs 药物的质量浓度与其定量离子

的峰面积之间均呈现良好的线性关系,相关系数在 0.991 ~ 0.999 之间。目标物的定量限(LOQ)根据其响应值大于或等于基线响应值的 10 倍(S/N≥10)来确定。液奶和乳粉中 AGs 的 LOQ 分别为 3 和 10 μg/kg。与已有研究相比,本文新建方法的 LOQ 处于更低或相当的水平。

2.3.2 方法的回收率和精密度

空白液奶和乳粉样品中分别添加 10、20、100 μg/kg 三个浓度水平的标准溶液,进行准确度和精密度测定,按建立的方法进行处理和检测,每个浓度水平进行 6 次平行实验,平均加标回收率和精密度计算结果见表 2。液奶基质的平均回收率范围为 65.12%~105.95%,相对标准偏差(RSD)在 2.44%~

18.21%之间;乳粉的平均回收率范围为65.72%~103%,相对标准偏差(RSD)介于0.85%~19.12%。

我国规定牛奶中链霉素、双氢链霉素、庆大霉素和壮观霉素的MRL均为200 μg/kg,当牛奶样品取样量为5 g时,MRL水平的加标量超出了免疫亲和小柱柱容量的限制。对此,可以通过减少样品取

样量或提取液上柱量的方式满足标准限量的要求。我们尝试了在1 g牛奶中添加200 μg/kg的AGs,其余步骤按照1.2.1进行操作,结果显示6次平行实验的平均回收率为75.20%~105%,RSD小于18%;以上结果说明免疫亲和固相萃取方法满足牛奶中AGs残留检测的需要。

表2 三个加标水平下11种AGs的回收率和精密度

Table 2 Recoveries and precision of 11 AGs at three spiked levels

| 基质 | 药物名称 | 10 μg/kg | | 20 μg/kg | | 100 μg/kg | |
|----|---------|----------|-------|----------|-------|-----------|-------|
| | | 回收率/% | RSD/% | 回收率/% | RSD/% | 回收率/% | RSD/% |
| 乳粉 | 壮观霉素 | 102.00 | 0.96 | 103.00 | 0.85 | 99.71 | 1.54 |
| | 双氢链霉素 | 93.11 | 4.11 | 89.81 | 4.11 | 76.73 | 6.44 |
| | 潮霉素B | 90.91 | 4.72 | 85.55 | 5.80 | 74.90 | 9.16 |
| | 链霉素 | 96.15 | 7.25 | 83.61 | 7.89 | 78.61 | 11.43 |
| | 庆大霉素C1 | 65.72 | 16.51 | 70.43 | 19.12 | 84.23 | 14.40 |
| | 阿米卡星 | 86.13 | 6.82 | 75.32 | 7.58 | 81.80 | 10.12 |
| | 庆大霉素C2 | 84.64 | 12.01 | 75.51 | 11.92 | 82.34 | 12.76 |
| | 卡那霉素 | 94.34 | 11.53 | 77.64 | 7.16 | 85.44 | 5.19 |
| | 庆大霉素C1a | 69.68 | 15.12 | 78.87 | 16.88 | 80.49 | 11.64 |
| | 妥布霉素 | 80.65 | 12.70 | 72.58 | 16.67 | 77.71 | 6.11 |
| | 安普霉素 | 84.31 | 10.65 | 73.34 | 15.34 | 80.03 | 13.61 |
| | 壮观霉素 | 65.12 | 4.22 | 85.06 | 10.85 | 90.81 | 15.20 |
| | 双氢链霉素 | 95.08 | 2.64 | 93.05 | 4.97 | 105.95 | 4.09 |
| | 潮霉素B | 90.17 | 3.19 | 89.63 | 3.74 | 87.00 | 7.74 |
| 液奶 | 链霉素 | 93.11 | 6.16 | 94.11 | 2.44 | 94.42 | 4.38 |
| | 庆大霉素C1 | 81.56 | 9.15 | 90.20 | 4.69 | 86.51 | 6.21 |
| | 阿米卡星 | 76.28 | 18.21 | 71.01 | 18.22 | 86.08 | 7.95 |
| | 庆大霉素C2 | 66.21 | 11.07 | 73.16 | 7.84 | 104.00 | 5.13 |
| | 卡那霉素 | 93.71 | 11.82 | 85.55 | 4.25 | 92.51 | 11.38 |
| | 庆大霉素C1a | 76.11 | 14.91 | 74.72 | 8.86 | 82.74 | 10.02 |
| | 妥布霉素 | 99.04 | 11.87 | 82.95 | 11.05 | 82.22 | 14.67 |
| | 安普霉素 | 69.89 | 7.26 | 77.34 | 10.27 | 87.81 | 5.46 |

2.4 样品测定

在北京大型超市采集了24份样品,其中液体乳19份,奶粉5份。所有样品均按照1.2所述步骤进行处理,液相色谱-串联质谱法测定。结果表明奶粉样品中未检出目标化合物;仅1份液体乳中检出链霉素和双氢链霉素,浓度分别为15.70和11.81 μg/kg,低于《GB 31650—2019 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》规定的MRL。

3 结论

本研究通过对链霉素、双氢链霉素、安普霉素、阿米卡星、卡那霉素、庆大霉素C1、C2、C1a、妥布霉素、壮观霉素和潮霉素B等11种AGs的LC-MS/MS分析条件进行优化,确定了乙腈和0.5%甲酸水为流动相,BEH Amide色谱柱分析;优化了乳制品样品的提取条件和免疫亲和小柱洗脱条件。免疫亲和固相萃取的使用提高了目标化合物分析的特异性和稳定性,具有简单快速、有机溶剂使用量少、灵敏度高特点,为乳制品中相关AGs残留的检测和监测提供了技术支持。

参考文献

- [1] KRAUSE K M, SERIO A W, KANE T R, et al. Aminoglycosides: an overview [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2016, 6 (6): a027029.
- [2] 龙朝阳, 许秀敏. 动物源性食品中氨基糖苷类抗生素兽药残留分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2006, 18(2): 148-152.
LONG C Y, XU X M. Determination of aminoglycosides veterinary residues in animal foods. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2006, 18(2): 148-152.
- [3] PETEJOVA N, MARTINEK A, ZADRAZIL J, et al. Acute kidney injury in septic patients treated by selected nephrotoxic antibiotic agents—pathophysiology and biomarkers—A review [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (19): 7115.
- [4] POULIKAKOS P, FALAGAS M E. Aminoglycoside therapy in infectious diseases [J]. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2013, 14 (12): 1585-1597.
- [5] 王忠斌, 王向红, 徐蓓, 等. 氨基糖苷类药物多残留酶联免疫分析方法的研究[J]. *中国食品学报*, 2008, 8(5): 120-125.
WANG Z B, WANG X H, XU B, et al. Studies on the ELISA for the simultaneous detection of aminoglycoside antibiotics. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2008, 8(5): 120-125.
- [6] 张璐, 孔祥虹, 何强, 等. 蜂蜜中兽药残留检测方法的研究

- 进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(11): 4368-4372.
ZHANG L, KONG X H, HE Q, et al. Research advances on the detection method of veterinary drug residues in honey. *Journal of Food Safety & Quality*, 2015, 6(11): 4368-4372.
- [7] GLINKA M, WOJNOWSKI W, WASIK A. Determination of aminoglycoside antibiotics: current status and future trends[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 131: 116034.
- [8] ARSAND J B, JANK L, MARTINS M T, et al. Determination of aminoglycoside residues in milk and muscle based on a simple and fast extraction procedure followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry and time of flight mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2016, 154: 38-45.
- [9] LEHOTAY S J, MASTOVSKA K, LIGHTFIELD A R, et al. Rapid analysis of aminoglycoside antibiotics in bovine tissues using disposable pipette extraction and ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1313: 103-112.
- [10] 王炼, 刘少琼, 杨碧霞, 等. 基质固相分散-亲水交互作用色谱-串联质谱法测定牛奶中5种氨基糖苷类抗生素残留量[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(3): 222-226.
WANG L, LIU S Q, YANG B X, et al. Determination of 5 aminoglycoside residues in milk by matrix solid phase dispersion-hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2019, 31(3): 222-226.
- [11] KAHSAY G, SONG H Y, VAN SCHEPDAEL A, et al. Hydrophilic interaction chromatography (HILIC) in the analysis of antibiotics [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, 87: 142-154.
- [12] 岳亚军, 朱波, 叶小莉, 等. 免疫亲和柱净化-高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定双壳类水产中软骨藻酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(9): 3727-3732.
YUE Y J, ZHU B, YE X L, et al. Determination of domoic acid in bivalve aquatic products by immunoaffinity column purification-high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(9): 3727-3732.
- [13] 章璐幸, 孙洁胤, 王延辉, 等. 免疫亲和固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定牛奶中6种玉米赤霉醇类化合物残留[J]. 色谱, 2018, 36(6): 566-572.
ZHANG L X, SUN J Y, WANG Y H, et al. Simultaneous determination of six zearanol in milk samples by immunoaffinity solid phase extraction coupled with ultra-performance convergence chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal of Chromatography*, 2018, 36(6): 566-572.
- [14] 王智, 褚学军, 郭萌萌, 等. 免疫亲和柱净化-亲水液相色谱-串联质谱法测定水产食品中河鲀毒素[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(3): 306-310.
WANG Z, CHU X J, GUO M M, et al. Determination of tetrodotoxin in aquatic foods by hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry after immunoaffinity column clean-up. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2016, 28(3): 306-310.
- [15] 李可, 梁肇海, 曾胜波, 等. 免疫亲和柱层析-超高效液相色谱法测定动物性食品中6种黄曲霉毒素[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(3): 310-313.
LI K, LIANG Z H, ZENG S B, et al. Determination of six kinds of aflatoxins in animal foodstuff by immunoaffinity column-ultra-performance liquid chromatography. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2016, 28(3): 310-313.
- [16] KAUFMANN A, BUTCHER P, MADEN K. Determination of aminoglycoside residues by liquid chromatography and tandem mass spectrometry in a variety of matrices [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 711: 46-53.
- [17] 刘雪红, 张秀芹, 侯颖, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测牛奶中7种氨基糖苷类药物残留[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(3): 48-52.
LIU X H, ZHANG X Q, HOU Y, et al. Detection of seven aminoglycoside residues in milk by UPLC-MS-MS. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2015, 49(3): 48-52.
- [18] MORENO-GONZÁLEZ D, HAMED A M, GARCÍA-CAMPAÑA A M, et al. Evaluation of hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry and extraction with molecularly imprinted polymers for determination of aminoglycosides in milk and milk-based functional foods[J]. *Talanta*, 2017, 171: 74-80.
- [19] 马凯, 蔡芳叶, 黄永桥, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测蜂蜜中九种氨基糖苷类药物残留[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(18): 203-208.
MA K, CAI F Y, HUANG Y Q, et al. Detection of nine aminoglycosides residues in honey by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(18): 203-208.
- [20] SALUTI G, DIAMANTI I, GIUSEPPONI D, et al. Simultaneous determination of aminoglycosides and colistins in food[J]. *Food Chemistry*, 2018, 266: 9-16.
- [21] JI S L, ZHANG F F, LUO X, et al. Synthesis of molecularly imprinted polymer sorbents and application for the determination of aminoglycosides antibiotics in honey[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1313: 113-118.
- [22] ZHU Z, LIU G H, WANG F, et al. Development of a liquid chromatography tandem mass spectrometric method for simultaneous determination of 15 aminoglycoside residues in porcine tissues [J]. *Food Analytical Methods*, 2016, 9(9): 2587-2599.
- [23] LOU X Y, TANG Y Y, FANG C L, et al. Simultaneous determination of ten aminoglycoside antibiotics in aquatic feeds by high-performance liquid chromatography quadrupole-orbitrap mass spectrometry with pass-through cleanup [J]. *Chirality*, 2020, 32(3): 324-333.
- [24] 黄原飞, 娄晓祎, 周哲, 等. 分子印迹聚合物固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法检测水产品中11种氨基糖苷类药物残留[J]. 分析化学, 2018, 46(3): 454-461.
HUANG Y F, LOU X Y, ZHOU Z, et al. Determination of 11 Kinds of aminoglycosides in aquatic products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with molecularly imprinted polymers solid phase extraction. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 46(3): 454-461.