

Research Article

Open Access

액체크로마토그래프-질량분석기를 이용한 정성 및 정량 오류의 확인

권진욱^{1*}, 조윤제², 이규식²

¹식품의약품안전처 부산지방식품의약품안전청, ²식품의약품안전처 식품의약품안전평가원

Identification of Pitfalls Related to the Analysis of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Time of Flight Mass Spectrometry

Jin-Wook, Kwon^{1*}, Yoon-Jae Cho² and Gyu-Seek Rhee² (¹Busan Regional Food and Drug Administration, Ministry of Food and Drug Safety, Busan 47366, Korea, ²Pesticide & Veterinary Drug Residues Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food And Drug Safety, Cheongju 28159, Korea)

Received: 21 January 2015 / Revised: 1 September 2015 / Accepted: 10 September 2015

Copyright © 2015 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

BACKGROUND: To identify the sources of inaccuracy in LC/MS/MS methods used in the routine quantitation of small molecules are described and discussed.

METHODS AND RESULTS: Various UPLC coupled to triple quadrupole mass spectrometer and time of flight (TOF) were used to identify the potential sources of inaccuracy and inducing the pitfalls of qualification and quantitation during the veterinary drug residue analysis. Some of stable isotope labelled veterinary drugs, which were used as internal standards, presented “cross-talk”, regardless of manufactures of mass spectrometer and types of spectrometer. Group of sulfonamides also presented inaccuracy qualification and quantitation due to the multi-residue analytical method with the same fragment ions at the close retention times.

CONCLUSION: The phenomena of “cross-talk” occurring between subsequently monitored transition from stable

isotope labelled and isotope non-labelled authentic chemical were identified. To prevent errors and achieve more accurate data during the analysis of small molecules by LC/MS/MS SRM method, Followings should be taken care of and kept checking; purity and concentration of stable isotope as an internal standard, prevention of carry-over during the separation in column, minimizing the ion suppression by matrix effect, identification of retention time, precursor ion and product ion, and full knowledge of data processing including smoothing and peak integration.

Key words: Cross-talk, Inaccuracy, LC/MS/MS, Selective reaction monitoring (SRM)

서론

우리나라는 1989년 12월 보사부 고시 제 89-67호로 식육 중 항생물질, 항균제, 성장보조제의 잔류허용 기준이 설정된 이후로, 축산식품 중 동물용의약품 잔류분석은 미생물을 이용한 스크리닝, 박층크로마토그래피, 액체크로마토그래피, 질량분석기 등 과학기술의 발전과 함께 개선 진보되어 왔다. 이와 함께 잔류농약의 분석도 가스크로마토그래피와 액체크로마토그래피 기술을 이용한 정량 뿐 만 아니라, 질

*Corresponding author: Jin-Wook, Kwon
Phone: +82-51-6026206; Fax: +82-51-6026248;
E-mail: jinwook@korea.kr

량분석기를 이용한 정성도 널리 활용되고 있으며, 국가 공인시험법은 아니지만 액체크로마토그래피/질량분석기 기술이 기반인 QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003)도 참조시험법으로 널리 활용되고 있다. 특히, 최근의 식품 중 동물용의약품의 국제적인 잔류 규제 강화는, 위해평가를 통한 불검출 기준 설정 물질의 확대와 국제적 조화가 진행 중인 정성 및 정량 하한의 정의 및 산출과의 관계, 원료제품에서 가공품까지의 규제 대상 확대에 따른 기존 분석법의 기술적 제도적 적용 범위와 적정성, 액체크로마토그래피/질량분석기를 이용한 다성분 분석법 의존성과의 관계 등 관련 분야 분석 및 연구자에게 많은 과제를 안겨주고 있다.

특히, 최근 널리 범용화 된 UPLC 또는 UHPLC (ultra-high performance liquid chromatography)와 LC/MS/MS는 분석시간의 단축, 적은 시료와 추출 용매의 절약, 극미량에서의 고감도 검출 등 많은 장점을 가지고 있지만, 크로마토그램간의 머무름 시간의 근접성, 분석 시료의 낮은 대표성, 분석자의 데이터 해석 숙련도와 판단력 등이 요구되는 실험실 내의 현실적인 문제도 안고 있다. 이러한 현실적인 문제에도 불구하고, UPLC/MS/MS를 이용한 의약품 및 동물용의약품의 분석은 안정동위원소 (stable isotope)를 내부표준물질로 하는 분석 방향으로 지속적으로 개발되고 있다. 안정동위원소를 이용한 대표적 분석법은 가스크로마토그래피/질량분석기를 이용한 PCDD/DFs의 동위원소희석법이 대표적인 예이며, 중금속류의 분석을 위해 ICP/MS의 분석에도 이러한 기법들이 도입되어 다양한 연구가 이루어져 왔다. 그런데, 이러한 안정동위원소 내부표준물질은 원래의 분석 대상물질과 분자량에 있어 큰 차이가 없고, 크로마토그램에서 동일한 머무름 시간을 가지며, 질량분석기내에서의 이온화과정, 질량분석기의 유형 및 해상도, 분석 대상 매질의 특성 등이 다양한 분석환경 내의 방해요소로 작용함으로써, 분석의 정확도를 떨어뜨리는 요인이 될 수도 있다. 더욱이 최근 우리나라에서도 널리 쓰이는 삼단사중극자형 질량분석기 (triple quadrupole mass spectrometer)를 이용한 정량기법인 Multiple Reaction Monitoring (MRM) 또는 Selective Reaction Monitoring (SRM)에서 발생하는 부정확 한 분석의 사례로, cross-talk, ion suppression, 안정동위원소의 내부표준물질 사용에 따른 영향 등이 LC/MS/MS 뿐만 아니라, GC/MS/MS, ICP/MS 등에서도 나타난다고 보고됨에 따라 (Nischwitz and Pergantisa, 2006; Hughes *et al.*, 2007; Song, 2010; Wang *et al.*, 2006) 이에 대한 적극적인 개선 방안도 필요한 상황이다.

본 연구의 목적은 최근의 크로마토그래피/질량분석기의 사용추세인 UPLC/MS/MS와 UPLC/TOF (time of flight) 등을 이용한 동물용의약품의 잔류분석과정 중 기기적 특성에 의한 정성 및 정량의 오류, 또 안정동위원소의 내부표준물질로서의 활용의 적정성, 동일계열 유사구조 화합물의 동시분석 시 이온화에 의한 동일한 precursor ion이 존재함에 따른 분석오류 등을 확인함으로써, 분석의 신뢰성을 높이는 기초자료를 제공코자 한다.

재료 및 방법

기기 및 시약

분석기기로 UPLC/MS/MS는 Acquity UPLC-Xevo Q (Waters Corporation, US)와 Agilent 1290 Infinity, Agilent 6430 Triple Quadrupole LC/MS Systems (Agilent Technologies, US)을, UPLC-TOF는 Acquity UPLC-Synapt G2 HDMS (Waters Corporation, Milford MA, US)를, 표준품은 Fluka production GmbH (Buchs, Switzerland)의 Ph Eur급의 clenbuterol, clenbuterol-D₉, erythromycin, erythromycin-2-¹³C, sulfamethazine, sulfamethazine-6-¹³C과 sulfadiazine, sulfathiazole 등을 포함한 14종 sulfonamide 계 항균제를, acetonitrile 등 유기용매는 J.T Baker의 잔류분석용을 사용하였다.

기기분석

기기분석은 C18 ACQUITY UPLC BEH (100x 2.1 mm; particle diameter 1.7 μm, Waters Corporation, Wexford, Ireland) 칼럼을 이용하여, 0.1 % formic acid/water and 0.1 % formic acid/MeCN 등 용리조건을 조정하여, ESI (electrospray ionization) positive로 분석하였으며, 데이터는 Masslynx, Targetlynx (Waters Corporation, Milford MA, US)와 MassHunter Workstation Software (Agilent Technologies, US)를 이용하여 수집 분석하였다.

결과 및 고찰

안정동위원소 내부표준물질의 방해효과

높은 해상도의 질량분석기가 발달함에 따라, 과거 공시험 시료에 분석대상 화합물을 직접 주입하여 회수율을 확인하는 분석법들이, 안정동위원소를 내 외부표준물질로 이용하는 분석법으로 점차 확대되어가고 있다. 1980-1990년대 초반의 LC/MS 기술은 GC/MS로 직접적인 분석이 불가능한 극성 물질과 유도체화 없이도 직접적으로 분석할 수 있다는 장점이 분석자들에게 큰 반향을 불러일으켰다. 그런데, 1990년에서 최근까지는 LC/MS 사용자가 증가함으로써 다양한 개선 사항들도 나타났는데, 대표적인 예가 이온화 효율의 현저한 저하로 인해 극성이 매우 높은 화합물들은 분석이 어려워, 결국 유도체화나 post-column 등이 대안으로 제안되어 활용되고 있다. 더불어, LC/MS의 사용에 있어 가장 큰 문제점으로 매질의 영향 (matrix effect)에 의한 ion suppression 임을 많은 연구자들이 보고하고 있다 (Antignaca *et al.*, 2005; Eeckhaut *et al.*, 2009; Gosetti *et al.*, 2010; Berg and Strand, 2011). 이와 관련하여 칼럼에서 발생하는 carry-over, 내 외부 표준물질로 이용되는 안정동위원소의 순도, 기기적 현상인 cross-talk 등도 정성 및 정량의 방해요인으로 인식되고 있으며, 특히 기기제조사들은 기기적 요인인 cross-talk을 줄이거나 없애고자 관련 내용을 자체 보고서를 통해 알리고 있다 (Waters Corporation Technical Note: Quattro

Table 1. MS/MS parameters for analytes and internal standards of amoxicillins

Generic Name	MRM* transition (m/z) Precursor ion → Product ion	Cone Voltage (V)	Collision Energy (eV)
Amoxicillin	366>114, (366>208), 366>349	22	20, 8
Amoxicillin-6- ¹³ C	372>214, (372>114), 372>160	22	10, 10
Sulfamethazine	279>124, 279>186	40	26, 16
Sulfamethazine-6- ¹³ C	285>124	36	26

* MRM, Multiple Reaction Monitoring

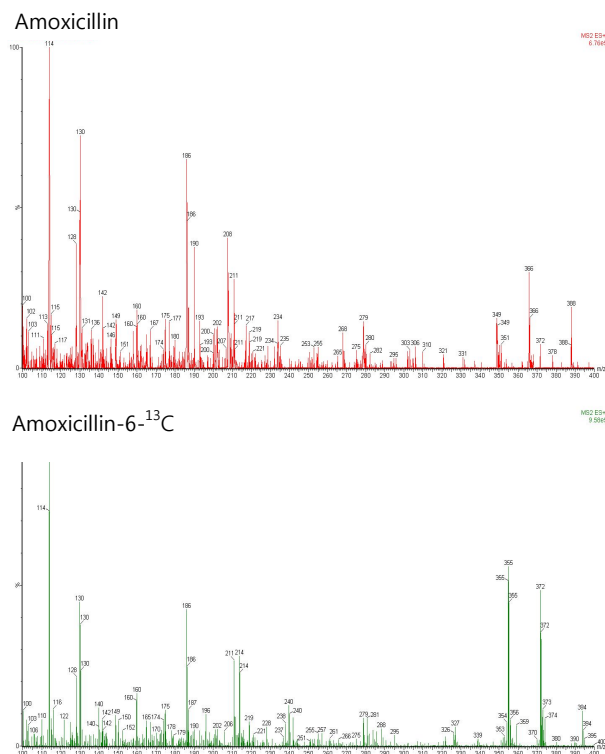


Fig. 1. Precursor ion full scan spectra of amoxicillin and amoxicillin-6-¹³C with LC-MS-MS.

Premier, MRM interchannel crosstalk, 2004, Thermo Electron Corporation Application Note: 351, 2005, Agilent Technologies Application Note 02339, 2010).

안정동위원소의 내부표준물질로의 적합성 및 정성 정량에 미치는 영향을 확인코자 amoxicillin과 amoxicillin-6-¹³C에 대해 Table 1의 분석조건으로, 표준품만으로 scan mode와 MRM mode에서 조사하였다. Fig. 1은 amoxicillin과 amoxicillin-6-¹³C에 대한 scan mode의 질량스펙트럼으로, TOF 등과 같은 고해상도가 아니므로, 스펙트럼간의 m/z의 확연한 차이는 발견할 수 없었고, 각 화합물의 precursor ion인 366과 372 (m/z) 각각에 대해 114 (m/z)의 높은 intensity를 나타내는 product ion을 공통으로 가지는 것이 확인되었다. 이는 MRM 방식에서 product ion을 정량이온으로 선정할 경우, 컬럼으로부터 분리되어 나오는 머무름 시간이 거의 같기 때문에 product ion 114 (m/z)가 amoxicillin

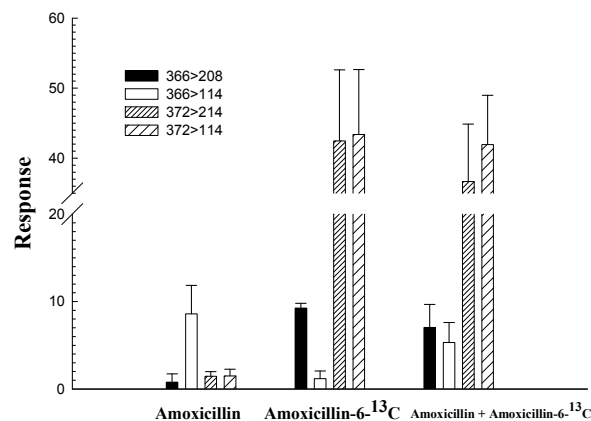


Fig. 2. An example of response increasing pattern of product ions by isotope labelled internal standard; amoxicillin: 5 μ g, amoxicillin-6-¹³C: 5 μ g, amoxicillin+amoxicillin-6-¹³C: 2.5+2.5 μ g.

과 amoxicillin-6-¹³C 중 어디로부터 유래한 것인지를 구분할 수 없는 요인이 된다. Fig. 2는 이를 확인하기 위하여 표준품만으로 amoxicillin 5 μ g, amoxicillin-6-¹³C 5 μ g, amoxicillin+amoxicillin-6-¹³C: 2.5+2.5 μ g 으로 조제하여 각각 분석한 결과이다. 그 결과 표준편차는 크지만, 평균적으로 amoxicillin-6-¹³C의 372>114 (m/z)가 amoxicillin의 366>114 (m/z) 보다 월등히 크고, 각각의 1/2 함량을 혼합 조제하여 분석하였을 경우 amoxicillin-6-¹³C과 유사하게 나타남으로써, 분석대상매질이 없는 표준물질만으로도 안정동위원소의 내부표준물질 사용이 분석결과에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 확인되었다.

더불어 Fig. 3의 sulfamethazine과 ¹³C-sulfamethazine의 검량선의 기울기를 통해서도 이러한 유사한 경향이 확인되어, 기기운영 및 데이터 수집 프로그램 등을 통해 확인해 본 결과 Fig. 4와 같이, 두 화합물이 섞여있는 경우 해상도가 높은 TOF 분석기로 분석한다 하더라도 공통 product ion인 124 (m/z)가 ¹³C-sulfamethazine과 sulfamethazine 중 어디로부터 유래한 것인지 구별할 수 없음이 확인되었다. 이러한 현상은 특정회사 프로그램만의 문제가 아니며, LC/MS/MS의 다양한 회사별 기종이 동일한 상황인 것도 확인되었다.

Cross-talk은 삼단사중극자형 질량분석기 (triple quadrupole mass spectrometer)를 이용한 정량기법인 MRM 또는

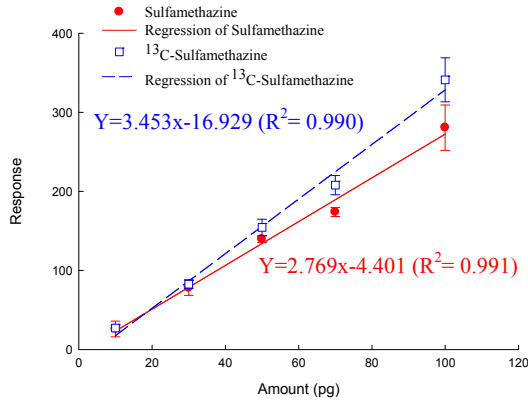


Fig. 3. Calibration curves of sulfamethazine and ¹³C-sulfamethazine by LC/MS/MS Multiple Reaction Monitoring (MRM), sulfamethazine 279>124, ¹³C-sulfamethazine 285>124 of Multiple Reaction Monitoring transition (m/z) Precursor ion →Product ion.

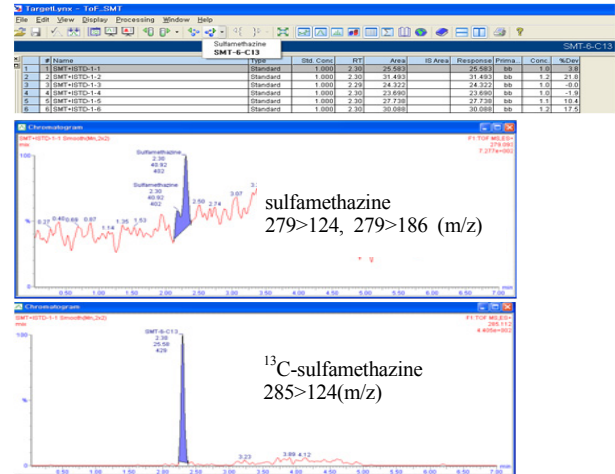


Fig. 4. An example of false positive integration by cross-talk with isotope labelled internal standard.

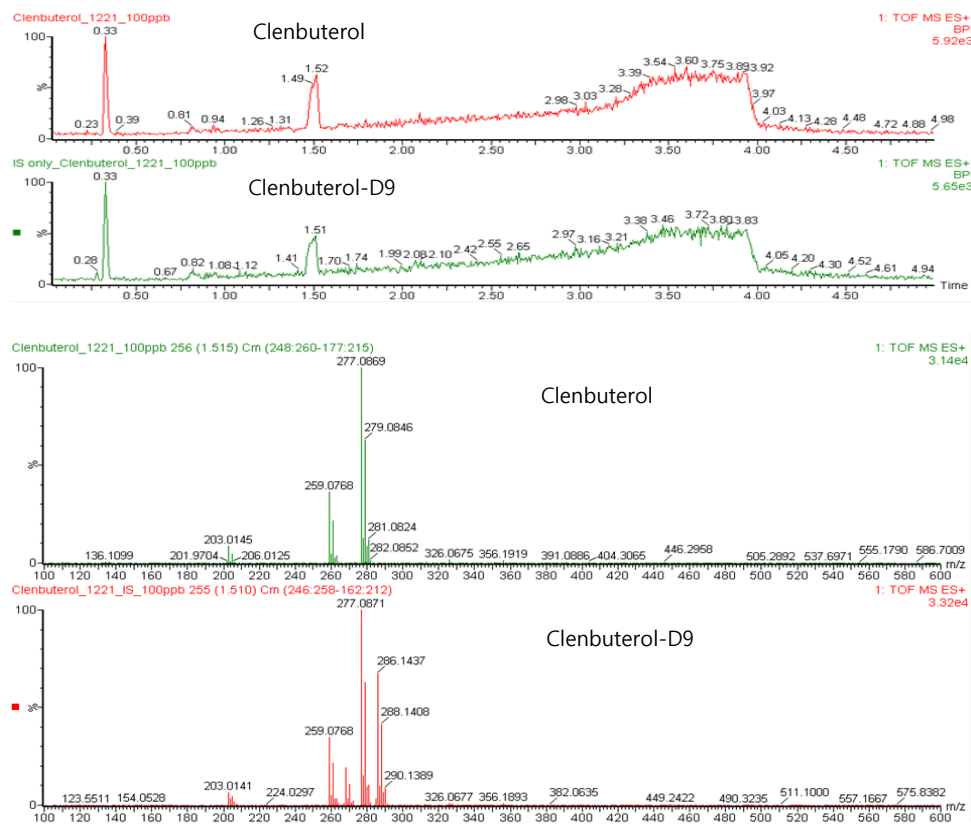


Fig. 5. Cross-talk identification of clenbuterol and its isotope labelled internal standards by LC-TOF (Time Of Flight) analysis.

SRM에서 주로 발생하는 것으로 같은 product ion을 가지는 분석대상화합물들이 있을 경우 두 번째 대상화합물의 두 번째 전이가 측정되기에 앞서, 첫 번째 분석대상화합물이 삼단 사중극자에서 불완전한 product ion의 소멸을 일으킬 때의 양성의 결과를 유도하는 것으로 알려져 있으며 (Nischwitz

and Pergantisa, 2006), 시판되고 있는 근연화합물들의 혼합 표준품을 이용하여 다성분분석을 할 때도 구조적 유사성 때문에 일어나는데 MRM방식에서 두 개의 전이 이온을 정성과 정량에 이용하고, 머무름 시간을 보정하면 이런 문제는 줄일 수 있다는 보고도 있다 (Song, 2011).

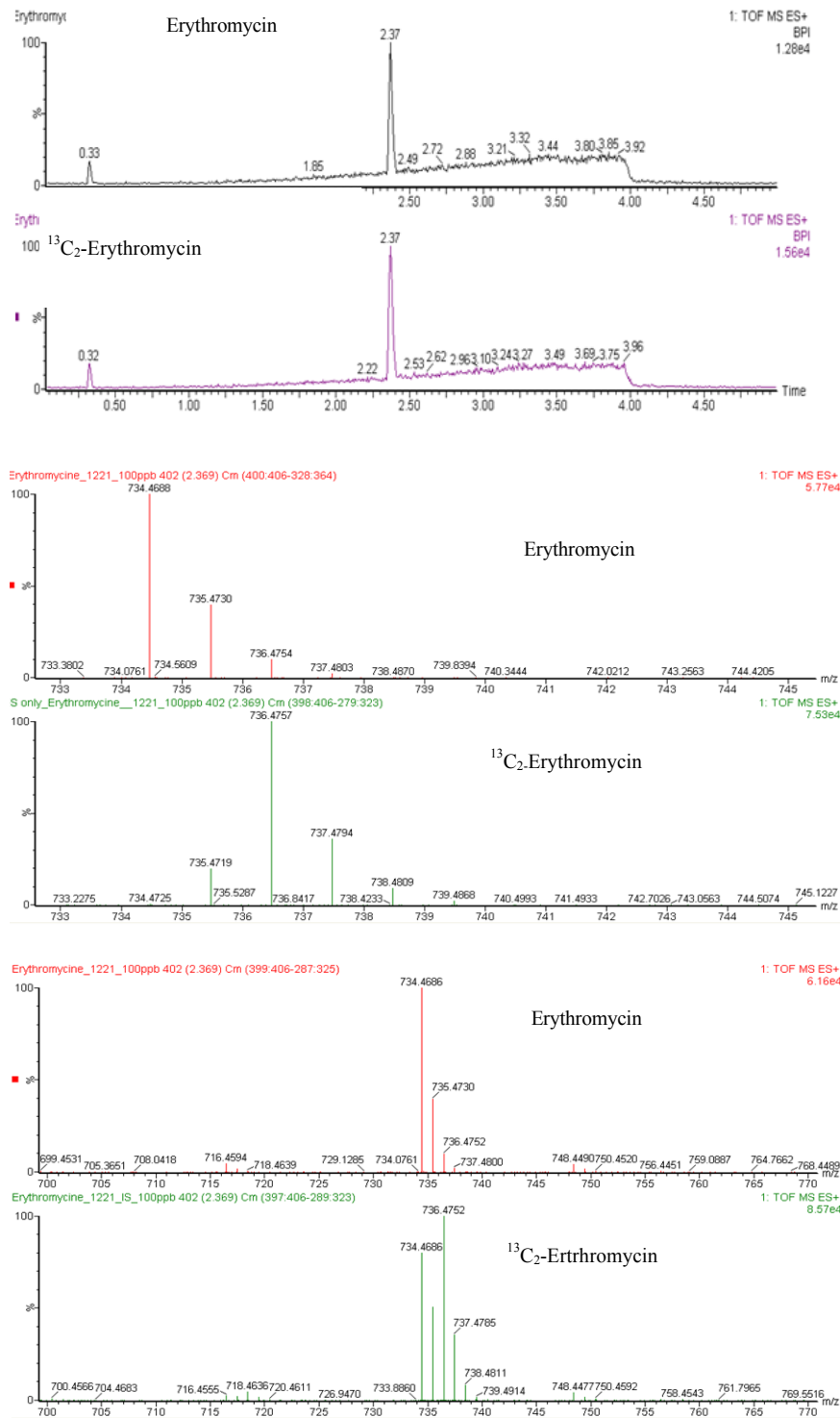


Fig. 6. Cross-talk identification of erythromycin and its isotope labelled internal standards by LC-TOF (Time Of Flight) analysis.

Fig. 4와 같은 현상은 Fig. 5와 6에서처럼 해상도 >10,000 이상에서 exact mass를 정성하는 TOF의 분석 방식을 통해, 개별 각각의 clenbuterol과 clenbuterol-D₈, Erythromycin 과 $^{13}\text{C}_2$ -Erthromycin은 구별할 수 있지만, 이들 스펙트럼을

통해 얻은 product ion의 공통되는 현상이 Table 2와 같이 요약 될 수 있어, 낮은 해상도에서 운용되는 실제 MRM 방식에서는 동일한 머무름 시간을 갖는 유사한 질량 대 전하비 (m/z)는 구별할 수 없는 현실적인 문제도 확인되었다. 아울

Table 2. Precursor and product ions for cross-talk identification of clenbuterol, erythromycin and their isotope labelled internal standards by LC-TOF (Time Of Flight) analysis

Chemical	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)
Clenbuterol	277 259[M-H ₂ O+H] ⁺	259, 203, 168, 132, 57
Clenbuterol-D ₉	286	204, 268
Clenbuterol-D ₆	265[M-H ₂ O+H] ⁺ 283, 285	204, 265
Erythromycin	734	576
Erythromycin anhyd.	716	158
¹³ C ₂ -Erythromycin	736	160
¹³ C ₂ -Erythromycin anhyd.	718	160

Table 3. Precursor and product ions of 14 sulfonamide antimicrobials for residue analysis by LC/MS/MS Multiple Reaction Monitoring

Chemicals	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)
Sulfachlorpyridazine	285	92, 108, 156
Sulfadiazine	251	92, 108, 156
Sulfadimethoxine	311	92, 108, 156
Sulfamethoxypyridazine	281	92, 108, 156
Sulfamerazine	265	110, 156, 172
Sulfamethazine (Sulfadimidine)	279	92, 156, 186
Sulfamethoxazole	254	92, 108, 156
Sulfamonomethoxine	281	92, 108, 156
Sulfathiazole	256	92, 108, 156
Sulfaquinoxaline	301	92, 108, 156
Sulfisoxazole	268	92, 108, 156
Sulfadoxine	311	92, 108, 156
Sulfaphenazole	315	92, 108, 158
Sulfachlorpyrazine (Sulfaclozine)	285	92, 108, 156

러 안정동위원소의 경우, ¹³C₂, D₉ 등 어느 안정동위원소이건 이러한 현상은 동일하게 일어날 수 있음이 확인되었다.

구조적 유사 화합물간의 방해효과

구조적으로 유사하여 계열로 구분된 대표적 화합물인 sulfonamide계 의약품들을 대상으로, 동일한 product ion이 있을 경우 안정동위원소를 내부표준물질로 이용하였을 경우와 비슷한 현상이 일어나는지 확인코자 하였다. Table 3은 우리나라 식품공전에서 정한 sulfonamide계 14종을 대한 LC/MS/MS를 이용한 다성분 동시 분석에 적용되는 확인, 정량이온을 나타낸 것으로 (식품공전, 2014), 서로 다른 precursor ion임에도 불구하고 동일한 product ion을 정량 이온으로 설정하여 분석되도록 되어있다. 이들 각각 14종 화합물은 안정동위원소 내부표준물질과는 달리 액체크로마토그래

프를 통해 분리 될 때 서로 다른 머무름 시간을 가진다. Fig. 7은 sulfadiazine과 sulfathiazole간 동일한 product ion이 존재할 때, 정성 및 정량에 미치는 영향을 확인 한 결과로 어떤 product ion을 정량 또는 정성에 적용하느냐에 따라 머무름 시간 1.09인 sulfadiazine (251>156 m/z)이 머무름 시간 1.34인 sulfathiazole (256>156 m/z)의 영향으로, 다른 머무름 시간의 이온을 sulfadiazine의 이온으로 인식하는 결과를 나타낸 것이다.

이러한 현상은 MRM 분석의 scan 시간 조정을 통해 극복할 수 있다 (Nischwitz and Pergantisa, 2006)고 하지만, 질량분석기의 신호 수집에 따른 데이터 해석과정, 특히 대부분 질량분석기 프로그램에 있는 smoothing 기법 (Savitzky and Golay, 1964)의 충분한 이해 없이 peak를 해석할 경우 주로 발생할 수 있다. 이러한 구조적 유사화합물

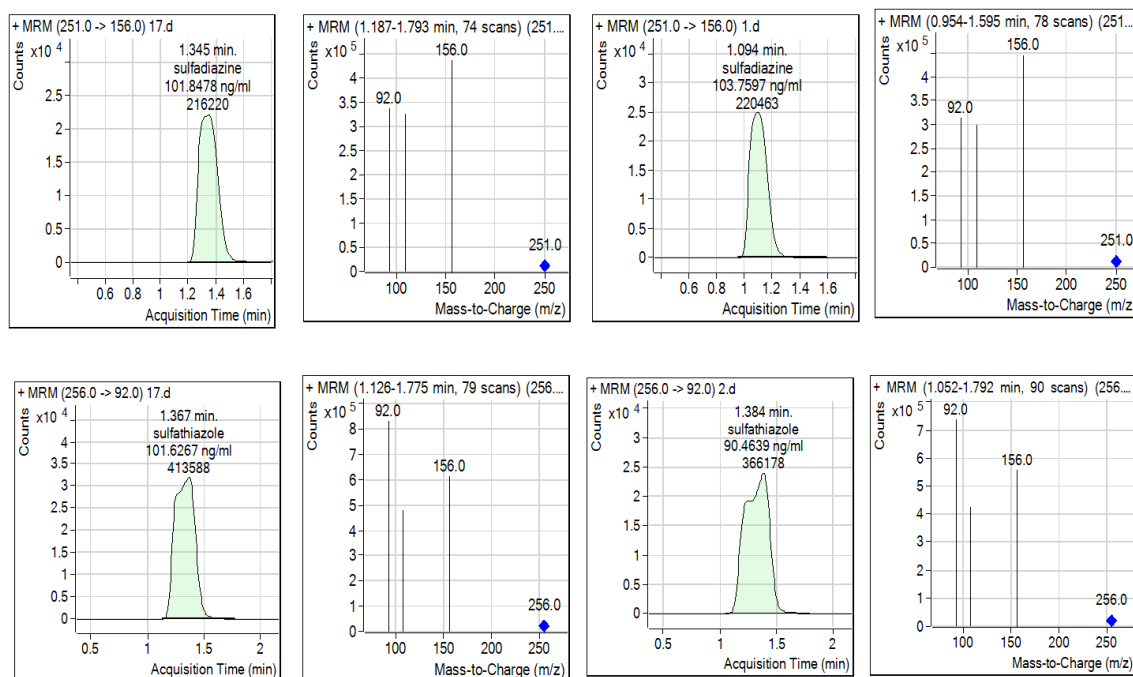


Fig. 7. Cross-talk identification between sulfadiazine and sulfathiazole with close retention times by UPLC-LC-MS/MS Multiple Reaction Monitoring.

Table 4. Precursor and product ions of clenbuterol, ractopamine and their stable isotope compounds for residue analysis by LC/MS/MS Multiple Reaction Monitoring (MRM)

Chemical	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)
Clenbuterol	277 259 [M-H ₂ O+H] ⁺	259, 203, 168, 132, 57
Clenbuterol-D ₉	286	204, 268
Clenbuterol-D ₆	265 [M-H ₂ O+H] ⁺ 283, 285	204, 265
Ractopamine	302 284 [M-H ₂ O+H] ⁺	302, 284, 164, 121, 107
Ractopamine-D ₆	308	168, 289
Ractopamine-D ₅	289 [M-H ₂ O+H] ⁺	167

의 경우로, 모화합물과 분해 대사산물, 동일계열의 화합물, 그리고 구조적 차이가 있음에도 product ion이 같은 경우, 예로 분석 시 머무름 시간이 근접할 때의 diclofos (141>79 m/z)와 captapole (151>79 m/z) 등을 들 수 있으며, GC/MS/MS, LC/MS/MS, ICP/MS 등 질량분석기와 연결된 inlet의 종류와 상관없이 발생한다. 더욱이 이러한 현상들은 표준용액의 분석 보다, 실제 시료 분석과정에서 매질에 의한 영향을 받을 경우 더욱 두드러지게 나타나는데, cross-talk 현상에 대한 이해가 없어 해석이 잘못된 크로마토그램들은 학술지에서 종종 쉽게 찾아볼 수 있다. 특히, 이러한 분석 결과들은 식품 및 환경 중 동물용이나 인체용 의약품의 질량 분석결과에서 자주 접할 수 있는데, 안정동위원소를 내부표준

물질로 이용하여 분석할 때 cross-talk에 의한 잘못된 정성 및 정량이 이루어 질 수 있는 대표적인 사례로서 clenbuterol과 ractopamine (Table 4, Fig. 8), nitrofurane계 대사물질 분석 즉, furaltadone의 AMOZ (3-amino-5-morpholinomethyl-2-oxa-zolidinone), furazolidone의 AOZ (3-amino-2-oxazolidinone), nitrofurantoin의 AHD (1-aminohydantoin), nitrofurazone의 SEM (semicarbazide)을 유도체화하고, 안정 동위원소를 내부표준물질로 사용하는 경우를 들 수 있다.

질량분석기의 MRM/SRM, 또는 SIM/SIR의 기법은 scan 기능에서 낮은 감도로 확인 할 수 없는 물질의 감도를 높이고, 동일 머무름 시간 대에서, 확인 정량코자하는 이온만을 선택적으로 분석함으로써 유해물질의 안전관리에 큰 기여

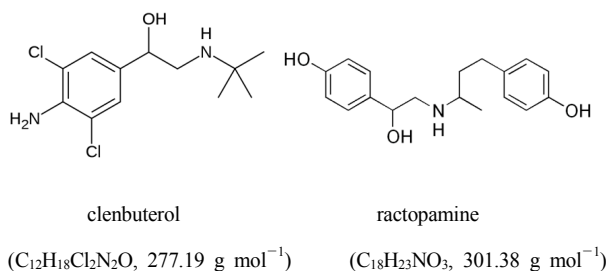


Fig. 8. Chemical structures of clenbuterol and ractopamine.

를 해왔다. 반면, 분석자에게는 특정 이온들의 존재와 비율만을 확인함으로써 그 물질의 존재를 지나치게 확신시키는 오류도 제공하고 있다고 판단된다. 따라서 LC (GC)/MS/MS의 MRM/SRM 기법 및 LC (GC)/TOF 등을 이용한 정성 및 정량의 오류를 줄이기 위해서는 가) 내부 표준물질로 이용되는 안정동위원소의 순도 확인, 나) 내부표준물질로서 안정동위원소 사용 시 농도 조절을 통한 검출예상 물질에 미치는 영향을 최소화할 것, 즉 검출 예상 농도 수준을 고려하여 과한 내부표준물질의 농도가 검출농도에 영향을 주지 않도록 할 것, 다) 칼럼을 통해 발생하는 carry-over의 방지, 라) 분석대상 매트릭스의 영향 (matrix effect)에 의한 ion suppression 최소화, 마) 유사 구조 화합물 분석 시 머무름 시간, precursor ion과 product ion의 상호 확인, 바) smoothing 등 데이터 수집 및 해석프로그램의 충분한 숙지 등을 통한 정밀한 데이터 해석 등이 요구된다. 새로운 기술의 질량분석기를 이용하여 많은 대상 약제를 동시에 분석하는 것은, 규제 대상 이외 약제도 검출 정량함으로써 위해요소의 사전 예방이라는 큰 장점을 가지고 있다. 이를 위해, 분석대상 시료의 특성과 대상 약제 선정 등이 분석 목적과 분석기술 수준과도 잘 부합되고, 분석자의 숙련도와 전문성 의존도는 낮으면서, 높은 재현성과 반복성을 갖춘 시험법 개발이 분석오류를 줄여가는 데 큰 역할을 할 것으로 판단된다.

Acknowledgement

This study was funded by grant from MFDS Research Work (13161 MFDS 922). and the IAEA Research Contract No. 15578/R0 (CRP).

References

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412-431.

Antignac, J. P., de Wasch, K., Monteau, F., De Brabander, H., Andre, F., & Le Bizec, B. (2005). The ion suppression phenomenon in liquid chromatography-mass spectrometry and its consequences in the field of residue analysis. *Analytica Chimica Acta*, 529(1), 129-136.

Berg, T., & Strand, D. H. (2011). ¹³C labelled internal standards—A solution to minimize ion suppression effects in liquid chromatography-tandem mass spectrometry analyses of drugs in biological samples?. *Journal of Chromatography A*, 1218(52), 9366-9374.

Ferrer, I., & Thurman, E. M. (2009). *Liquid chromatography-Time of Flight Mass Spectrometry: Principles, Tools and Applications for Accurate Mass Analysis*. New York, NJ: Wiley, ISBN 978-0-470-13797-0.

Gosetti, F., Mazzucco, E., Zampieri, D., & Gennaro, M. C. (2010). Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(25), 3929-3937.

Hughes, N. C., Wong, E. Y., Fan, J., & Bajaj, N. (2007). Determination of carryover and contamination for mass spectrometry-based chromatographic assays. *The AAPS Journal*, 9(3), E353-E360.

Nischwitz, V., & Pergantis, S. A. (2006). Optimisation of an HPLC selected reaction monitoring electrospray tandem mass spectrometry method for the detection of 50 arsenic species. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 21(11), 1277-1286.

Savitzky, A., & Golay, M. J. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, 36(8), 1627-1639.

Song, F. (2011). "Cross-Talk" in Scheduled Multiple Reaction Monitoring Caused by In-Source Fragmentation in Herbicide Screening with Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4361-4364.

Van Eeckhaut, A., Lanckmans, K., Sarre, S., Smolders, I., & Michotte, Y. (2009). Validation of bioanalytical LC-MS/MS assays: evaluation of matrix effects. *Journal of Chromatography B*, 877(23), 2198-2207.

Wang, S., Cyronak, M., & Yang, E. (2007). Does a stable isotopically labeled internal standard always correct analyte response?: A matrix effect study on a LC/MS/MS method for the determination of carvedilol enantiomers in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(2), 701-707.