

# 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蜂蜜中 4种抗病毒类药物残留

郑幸果, 赵 珊, 李 曦, 雷欣宇, 仲伶俐\*

(四川省农业科学院分析测试中心, 成都 610066)

**摘要:** **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时检测蜂蜜中金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍和阿昔洛韦4种抗病毒药物残留的分析方法。**方法** 样品经20%乙腈水(含0.2%甲酸)溶液溶解, 超声提取后高速离心, 取上清液过Oasis PRiME HLB固相萃取柱净化, 净化后的样液进行上机测定; 选用SHISEIDO MGIII-H C<sub>18</sub>色谱柱(2.0 mm×100 mm, 3 μm), 以甲醇-0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱; 通过多反应监测, 在正离子模式下, 采用基质匹配外标法, 同时对4种化合物进行定性和定量分析。**结果** 金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍和阿昔洛韦在各自浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于0.999。方法的检出限为0.2~1.0 μg/kg, 定量限为0.5~2.0 μg/kg; 在定量限、5、10、20 μg/kg 4个添加水平下的平均回收率为82.9%~93.5%, 相对标准偏差为2.0%~8.4% (n=6)。**结论** 本方法简单、灵敏度高、重现性好, 适用于蜂蜜中4种抗病毒类药物的同时检测。

**关键词:** 抗病毒药物; 超高效液相色谱-串联质谱法; 蜂蜜; 残留

## Simultaneous determination of 4 kinds of antiviral drug residues in honey by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHENG Xing-Guo, ZHAO Shan, LI Xi, LEI Xin-Yu, ZHONG Ling-Li\*

(Analysis and Testing Center of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for simultaneous determination of amantadine, rimantadine, morpholine and acyclovir residues in honey by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The samples were dissolved in 20% acetonitrile-water (containing 0.2% formic acid) solution, extracted by ultrasound, and centrifuged at high speed. The supernatant was purified by Oasis PRiME HLB solid-phase extraction column, and the purified sample liquid was tested on the computer. The Shiseido MG III-H C<sub>18</sub> column (2.0 mm×100 mm, 3 μm) was used for gradient elution using methanol-0.1% formic acid aqueous solution as the mobile phase. Through multiple reaction monitoring, in the positive ion mode, the matrix matching external standard method was adopted, and the qualitative and quantitative analysis of 4 compounds was conducted simultaneously. **Results** The linear relationships of amantadine, rimantadine, moroxydine and acyclovir were good within the respective concentration ranges, and the correlation coefficients were all greater than 0.999. The limits of

基金项目: 四川省应用基础项目(2019YJ0611)

Fund: Supported by the Applied Basic Research Programs of Sichuan (2019YJ0611)

\*通信作者: 仲伶俐, 副研究员, 主要研究方向为营养与食品安全。E-mail: 17916029@qq.com

\*Corresponding author: ZHONG Ling-Li, Associate Professor, Analysis and Testing Center of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, No.20-102, Jingjusi Road, Jinjiang District, Chengdu 610066, China. E-mail: 17916029@qq.com

detection were 0.2–1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limits of quantitation were 0.5–2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The average recoveries were 82.9%–93.5% and the relative standard deviations were 2.0%–8.4% at the LOQ, 5, 10, and 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  levels ( $n=6$ ).

**Conclusion** This method is simple, sensitive and reproducible, and is suitable for the simultaneous determination of 4 antiviral drugs in honey.

**KEY WORDS:** antiviral drugs; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; honey; residues

## 0 引言

蜂蜜是一种营养丰富的天然滋养食品, 富含多种氨基酸、维生素和矿物质元素, 具有抗菌、抗氧化、提高免疫力等功效, 能够预防和治疗多种疾病, 是深受人们喜爱的“药食同源”蜂产品<sup>[1]</sup>。随着人们对健康和天然保健产品的理解和崇尚, 加上生活消费水平的提高, 人们对蜂产品的需求量日益增长。部分一线养蜂生产者在治疗蜂病时对用药缺乏基本常识和专业防治技术, 对有关标准了解不足, 缺乏控制药物残留的意识, 造成蜂蜜中药物残留<sup>[2–3]</sup>, 可能危害食用者的身体健康。

我国的中华蜜蜂和亚洲部分地区的东方蜜蜂在养殖过程中易被中蜂囊状幼虫病毒感染引发中囊病, 该病危害性大、传染性强, 一旦爆发便会引起蜂群大规模死亡, 给蜂农造成重大经济损失, 而金刚烷胺等抗病毒类药物对该疾病有较好疗效<sup>[2]</sup>, 因此, 我国部分地区的蜂农在养殖过程中存在饲喂金刚烷胺、金刚乙胺等药物的现象<sup>[4]</sup>。但金刚烷胺等入用药物移植兽用, 缺乏科学防范、安全有效的实验数据<sup>[5]</sup>, 并且研究表明, 金刚烷胺使用不当易致动物精神异常和角膜水肿<sup>[6–7]</sup>, 吗啉胍和阿昔洛韦分别对动物的心肌细胞和肾脏具有一定毒害作用<sup>[8–10]</sup>。因此, 我国农业农村部发布《关于清查金刚烷胺等抗病毒药物的紧急通知》, 规定列入《兽药地方标准废止目录》(农业部公告第 560 号)序号 2 的金刚烷胺、金刚乙胺、阿昔洛韦、吗啉胍等及其盐、酯的单、复方制剂等停止生产、经营和使用。所以有必要加强蜂蜜中抗病毒类药物残留的检测和监管。目前, 国内外抗病毒类药物的检测方法主要是酶联免疫法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[11–13]</sup>和液相色谱串联质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)<sup>[14–15]</sup>。酶联免疫法的药物检测范围相对单一, 不能进行多残留检测, 并且容易出现假阳性结果<sup>[16]</sup>。而 LC-MS/MS 法具有灵敏度高、定性能力强、分析范围广等优点, 已成为测定抗病毒类药物残留的重要方法。目前, 抗病毒类药物残留研究的基质范围主要集中在血液<sup>[17]</sup>、尿液<sup>[18]</sup>或禽蛋<sup>[13,19]</sup>、牛奶<sup>[20]</sup>、鸡肉<sup>[21–22]</sup>等动物源性产品, 针对蜂蜜中抗病毒类药物残留分析的研究相对较少。王彩娟等<sup>[23]</sup>建立了蜂蜜中测定吗啉胍的分析方法, 龚波等<sup>[4]</sup>研究了蜂蜜中金刚烷胺、金刚乙胺的残留检测,

将提取液浓缩复溶后直接上机测定, 操作简单、目标物损失少。本研究采用近年发展起来的通过式固相萃取技术, 能够吸附蜂蜜基质中的蛋白质和磷脂类物质, 而对目标化合物无任何吸附, 样品经提取后直接过柱, 省去传统的活化、平衡和洗脱步骤, 节约时间的同时更加绿色环保, 结合超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS), 建立了同时检测蜂蜜中金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍、阿昔洛韦 4 种抗病毒类药物残留的新方法, 可为蜂蜜中兽药残留的分析检测提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Xevo TQ-XS 超高效液相色谱-串联质谱仪 (美国 Waters 公司); Neofuge 18R 高速冷冻离心机 (香港力康生物医疗科技控股集团); HD-2500 多管涡旋混合仪 (上海朗赋生物科技有限公司); KQ5200DE 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); UPH-I-100L 超纯水机 (四川优普超纯科技有限公司); HCB602H 百分之一电子天平 (英国 ADAM 公司); AE240 十万分之一电子天平 (上海梅特勒-托利多国际贸易有限公司)。

金刚烷胺 (amantadine, 纯度 98.5%, 标准物质证书号: 20140)、盐酸金刚乙胺 (rimantadine hydrochloride, 纯度 99.9%, 标准物质证书号: 25466)、盐酸吗啉胍 (moroxydine hydrochloride, 纯度 99.6%, 标准物质证书号: 24206) [中国 BePure (曼哈格) 公司]; 阿昔洛韦 (acyclovir, 纯度 92.5%, 标准物质证书号: 10045600) [德国 Dr. Ehrenstorfer 公司]。

Oasis PRiME HLB 固相萃取柱 (1 mL, 30 mg, 美国 Waters 公司); 乙腈、甲醇、甲酸 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 0.22  $\mu\text{m}$  尼龙滤膜 (天津津滕公司); 实验室用水为超纯水; 20 份不同品牌的蜂蜜购自成都各大超市。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 溶液配制

标准储备液配制: 分别准确称取金刚烷胺、盐酸金刚乙胺、盐酸吗啉胍以及阿昔洛韦标准品各 10.00 mg 于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 配制成质量浓度为 200 mg/L 的标准储备液, 置于棕色玻璃瓶中, 于

-20℃避光保存。

混合标准工作液配制: 分别精密吸取上述4种标准储备液0.25 mL, 置于同一容量瓶(50 mL)中, 用甲醇定容成质量浓度为1 mg/L的混合标准工作液, 置于棕色玻璃瓶中, 于4℃避光保存。500 ng/mL单标溶液配制: 分别取4种标准储备液(200 mg/L)0.125 mL, 置于50 mL容量瓶中, 用甲醇定容至50 mL。

20%乙腈水(含0.2%甲酸)提取液: 取20 mL乙腈和0.2 mL甲酸于100 mL容量瓶中, 用水定容至100 mL。

1.0 ng/mL混合标准溶液配制: 取0.05 mL混合标准工作液(1 mg/L)于50 mL容量瓶中, 用20%乙腈水(含0.2%甲酸)提取液定容至50 mL。

0.1%甲酸水溶液: 取0.1 mL甲酸于100 mL容量瓶中, 用水定容至100 mL。

### 1.2.2 样品前处理

#### (1)提取

称取蜂蜜样品2.00 g(精确至0.01 g)于10 mL具塞刻度玻璃管中, 加入约6 mL 20%乙腈水(含0.2%甲酸)溶液, 涡旋混匀2 min, 超声提取10 min, 冷却至室温后转移至10 mL容量瓶, 用20%乙腈水(含0.2%甲酸)溶液定容。将10 mL的样品溶液全部转移至离心管, 于4℃下7000 r/min离心5 min, 取上清液备用。

#### (2)净化

取2 mL上清液过Oasis PRiME HLB固相萃取柱, 收集流出液并混匀, 经0.22 μm尼龙滤膜过滤后, 供UPLC-MS/MS分析检测。

### 1.2.3 液相色谱-串联质谱条件

#### (1)液相色谱条件

色谱柱: SHISEIDO MGIII-H C<sub>18</sub>(2.0 mm×100 mm, 3 μm), 流动相: 0.1%甲酸(A)-甲醇(B), 流速: 0.2 mL/min, 进样体积: 1 μL, 柱温: 40℃。梯度洗脱程序: 0~2.0 min, 6% B; 2.0~3.0 min, 6%~70% B; 3.0~3.5 min, 70%~90% B; 3.5~5.0 min, 90%~6% B; 5.0~7.0 min, 6% B。

#### (2)质谱条件

电喷雾离子源 ESI(+), 多反应监测(multiple response monitoring, MRM)模式, 锥孔气流速: 2.5 L/min, 脱溶剂气流速: 10 L/min, 离子源温度: 150℃, 脱溶剂温度: 250℃, 毛细管电压: 3.0 kV。

## 2 结果与分析

### 2.1 质谱条件优化

由于金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍和阿昔洛韦均为含有氨基的碱性化合物, 宜采用电喷雾离子源进行测定分析。因此本研究在ESI正离子模式下, 分别对4种化合物(500 ng/mL单标溶液)进行全扫描, 优化毛细管电压、锥孔

电压等参数。结果显示4种化合物均能生成特征性强的[M+H]<sup>+</sup>离子, 与文献结果一致<sup>[24-25]</sup>。确定母离子后, 再将目标化合物在不同碰撞能量下进行子离子扫描, 在其产生的主要离子碎片中选择响应较高、干扰较小的2个子离子作为检测离子, 其中强度高、稳定性好的子离子作为定量离子。目标化合物的质谱参数见表1。

表1 4种化合物的质谱参数  
Table 1 MS parameters of 4 compounds

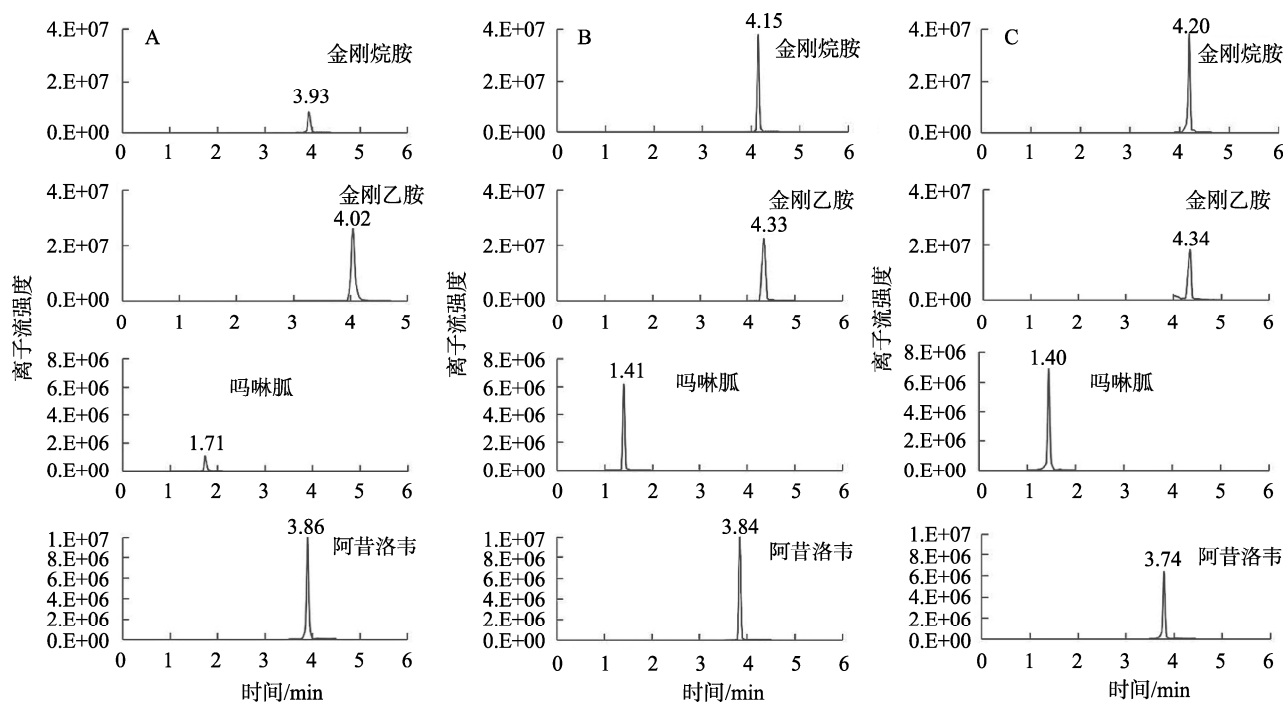
化合物	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
金刚烷胺	152.1	135.0*	22	16
		93.0	22	24
金刚乙胺	180.1	163.0*	5	14
		107.0	5	20
吗啉胍	172.0	113.0*	2	14
		58.0	2	18
阿昔洛韦	226.0	152.0*	2	12
		135.0	2	26

注: \*为定量离子。

### 2.2 色谱条件优化

本研究比较了以下3种色谱柱的分离效果: Waters HSS T3(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)、Waters HILIC(2.0 mm×100 mm, 1.7 μm)和SHISEIDO MGIII-H C<sub>18</sub>(2.0 mm×100 mm, 3 μm)。将流动相初始比例设置为甲醇:0.1%甲酸水=6:94(V:V), 使用HSS T3色谱柱时, 极性较强的吗啉胍峰形较差, 影响定性、定量分析。而在同等流动相比例条件下, MGIII-H C<sub>18</sub>色谱柱对吗啉胍的保留合适, 出峰时间为1.4 min, 与基质干扰物分离较好, 4种化合物的峰形和响应均较好。采用亲水相互作用色谱柱HILIC柱, 以0.1%甲酸水:乙腈=6:94(V:V)为流动相, 对化合物吗啉胍的保留并没有显著改进, 且色谱峰有拖尾现象。因此, 本研究选用MGIII-H C<sub>18</sub>色谱柱进行蜂蜜中4种抗病毒类药物的分离检测。

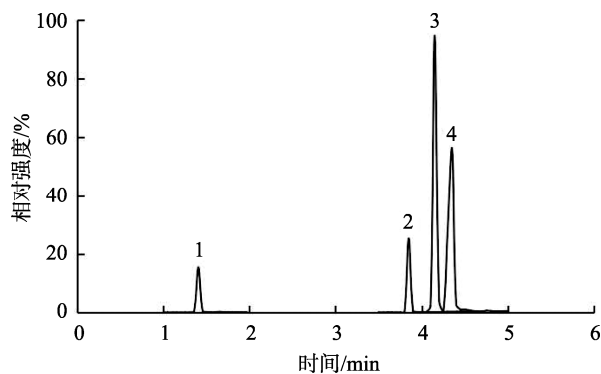
为提高检测灵敏度, 本研究首先对比了甲醇-水、甲醇-0.1%甲酸水和甲醇-0.2%甲酸水3种流动相体系, 由图1可知, 4种化合物在0.1%甲酸水条件下响应值最高, 峰形最好。参考文献方法<sup>[17,19]</sup>, 在水相中添加10 mmol/L甲酸铵, 结果测定基质标准溶液时, 吗啉胍的保留时间附近有一个同等质量数的干扰物, 不易分离, 所以本研究选用甲醇-0.1%甲酸水作为流动相进行液相色谱分析。4种化合物的混合标准溶液在优化好的质谱、色谱条件下, 得到的总离子流色谱图见图2。



注: A: 流动相为甲醇-水; B: 流动相为甲醇-0.1%甲酸水; C: 流动相为甲醇-0.2%甲酸水。

图 1 4 种化合物在不同流动相下的离子流色谱图

Fig.1 Ion chromatograms of 4 compounds in different mobile phases



注: 1: 吗啉胍; 2: 阿昔洛韦; 3: 金刚烷胺; 4: 金刚乙胺。

图 2 4 种化合物的标准溶液总离子流色谱图(1.0 ng/mL)

Fig.2 Total ion current chromatogram of 4 compounds in standard solution (1.0 ng/mL)

## 2.3 前处理条件优化

### 2.3.1 提取溶剂的选择

本研究 4 种待测化合物的极性差异较大, 尤其是吗啉胍和其余 3 种化合物<sup>[24]</sup>, 为提高样品前处理过程中目标化合物的提取效率, 需要用极性范围较广的提取试剂。乙腈属于中等极性化合物, 与水混合可提供更广的极性范围, 因此本研究对比了不同比例的乙腈和水(1:4、2:3、1:1、3:2、4:1)混合溶液, 发现乙腈和水体积比为 1:4 时提取效果最好,

除金刚乙胺的回收率为 40.1%以外, 其余 3 种化合物的回收率均达 75%以上。由于 4 种化合物的结构式中均含有氨基, 使用酸性溶液可能更有利于化合物的提取, 因此本研究设置 2 种比例(0.2%、0.5%)的甲酸进行提取试剂酸化对比, 发现 20%乙腈水中加入甲酸以后, 金刚乙胺的提取效率明显提高, 平均回收率可达 80%以上。而在上述 2 种酸度比例条件下 4 种化合物的回收率没有明显差异, 因此本研究确定选用 20%乙腈水(含 0.2%甲酸)溶液为前处理提取试剂。3 种不同酸度(0.0%、0.2%、0.5%)提取溶液的平均回收率见图 3。

### 2.3.2 净化方法的选择

蜂蜜中的兽药残留检测分析大多采用固相萃取法净化, 而本研究的 4 种目标物性质差异较大, 单独选择反相固相萃取柱、混合阳离子交换柱或石墨化碳固相萃取柱时难以兼顾每种化合物的回收率, 需要将石墨化碳固相萃取柱和混合阳离子交换柱串联使用<sup>[24]</sup>, 操作烦琐; 也有部分文献为了提高回收率、简化前处理方法, 直接去除净化步骤<sup>[4,26]</sup>, 但此方法样品中将含有大量杂质, 对色谱柱及质谱仪的污染较大。Oasis PRiME HLB 小柱是一种新型反相固相萃取柱, 跟传统类型的固相萃取柱相较, 优势在于无需活化、平衡、淋洗和洗脱, 节省前处理时间, 节省试剂, 绿色环保。汪建妹等<sup>[27]</sup>采用 Oasis PRiME HLB 小柱, 建立了蜂蜜中检测 39 种抗生素、25

种农药残留的 UPLC-MS/MS 法, 涵盖药物种类较多, 但未涉及抗病毒类药物。本研究选用 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱, 将提取液过柱后直接上机测定, 保证回收率的同时, 也缩短了净化时间。由图 4 可知, 经 Oasis PRiME HLB 小柱净化后的蜂蜜样品对 4 种目标化合物

的测定分析基本无干扰, 并且 20%乙腈水(含 0.2%甲酸)溶液作为样品溶剂时 4 种目标物没有明显的溶剂效应, 色谱峰形对称且尖锐。说明本研究采用的通过式固相萃取技术可以作为蜂蜜样品中 4 种抗病毒药物残留分析的样品净化方法。

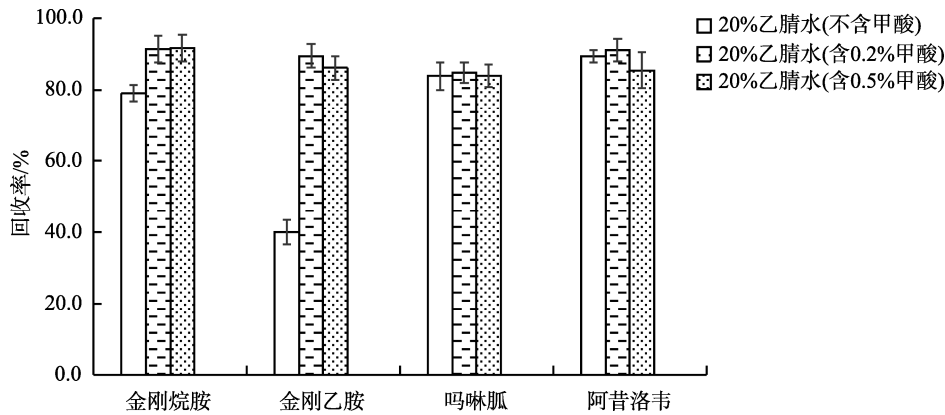
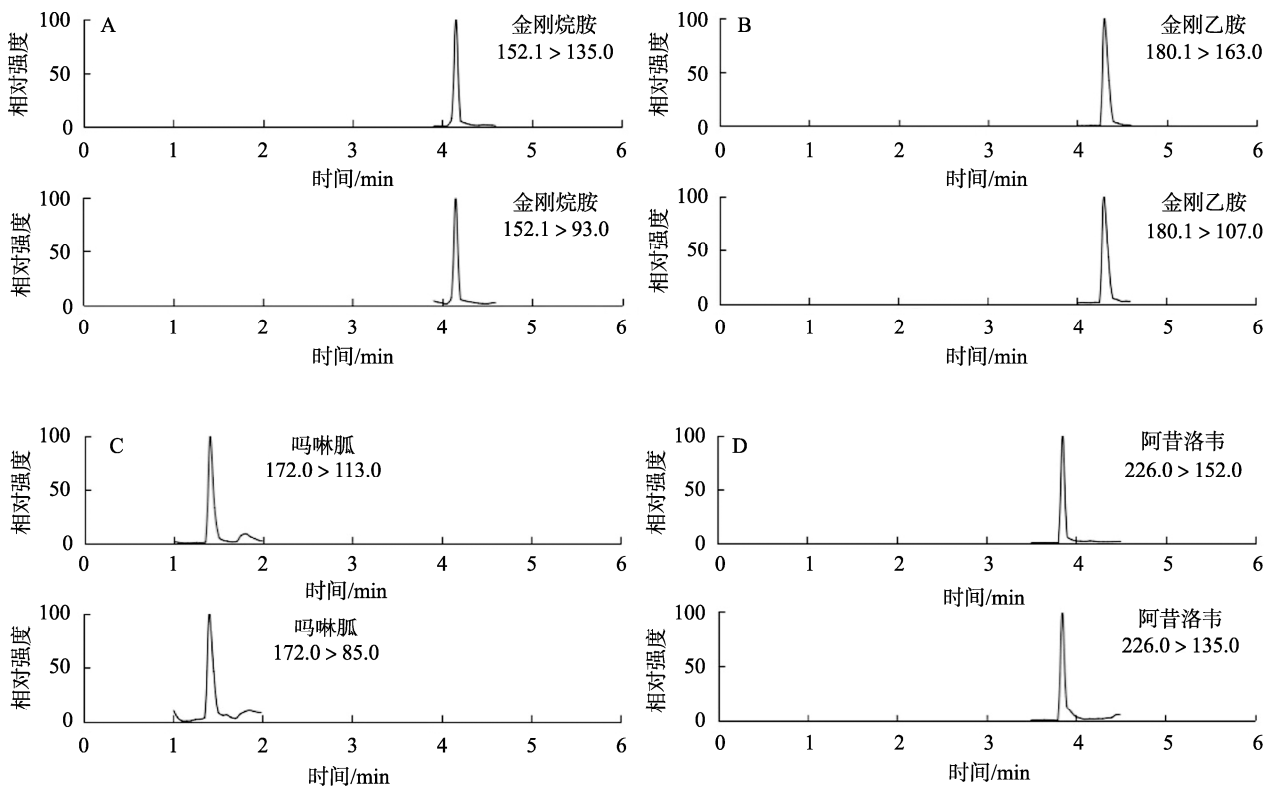


图 3 4 种化合物在不同提取试剂下的回收率 ( $n=3$ )

Fig.3 Recovery of the 4 compounds in different extraction reagent ( $n=3$ )



注: A: 金刚烷胺; B: 金刚乙胺; C: 吗啉胍; D: 阿昔洛韦。

图 4 蜂蜜基质加标样品离子色谱图(2.5 µg/kg)

Fig.4 Ion chromatograms of blank honey spiked standard (2.5 µg/kg)

## 2.4 基质效应

由于蜂蜜基质复杂, 通过液相色谱-串联质谱仪分析目标化合物时, 可能会产生不同程度的基质效应(matrix effects, ME)。本研究采用公式<sup>[28]</sup>  $ME / \% = \left( \frac{S_m}{S_n} - 1 \right) \times 100\%$  考察了 4 种目标物在蜂蜜中的基质效应。

式中,  $S_m$  和  $S_n$  分别为基质匹配标准曲线斜率和试剂匹配标准曲线斜率。当  $ME < 0$  时, 表示该化合物为基质抑制效应,  $ME > 0$  时, 表示该化合物为基质增强效应; 当  $|ME| < 20\%$  为轻微基质效应,  $|ME|$  在 20%~50% 之间为中等基质效应,  $|ME| > 50\%$  为较强基质效应。结果表明, 金刚烷胺和金刚乙胺在蜂蜜中的基质效应较弱,  $ME$  分别为 -8.5% 和 2.3%; 但吗啉胍和阿昔洛韦具有较强的基质抑制效应,  $ME$  分别为 -50.3% 和 -61.0%。因本研究使用混合标准溶液进行方法学验证, 为提高数据结果的准确性, 有必要采取基质匹配标准溶液校准法定量。

## 2.5 线性范围、回归方程、检测限和定量限

用阴性样品提取液稀释 4 种化合物的混合标准溶液,

设置 0.1、0.2、1.0、2.0、10.0、25.0、50.0 ng/mL 7 个质量浓度的基质标准工作溶液, 供 UPLC-MS/MS 分析。分别以化合物的质量浓度和定量离子的峰面积作为标准曲线的横、纵坐标, 并计算相关系数。结果见表 2, 4 组标准曲线在相应浓度范围内均呈良好线性关系, 相关系数  $r^2 > 0.999$ 。将基质匹配标准工作溶液进行上机测定后, 分别以信噪比  $S/N \geq 3$  和  $S/N \geq 10$  时的浓度确定为化合物的检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ)。

## 2.6 回收率及精密度实验

在空白蜂蜜样品中, 分别做 LOQs、5、10、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  4 个浓度水平的添加回收实验, 每个浓度设置 6 个平行, 按照已经优化好的前处理方法及仪器条件进行测定, 计算样品添加回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。结果见表 3, 其中金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍、阿昔洛韦 4 种化合物的添加回收率为 82.9%~93.5%, 相对标准偏差为 2.0%~8.4%, 准确度和精密度满足检测要求。

表 2 4 种化合物的线性范围、回归方程、相关系数、检出限和定量限  
Table 2 Linear ranges, regression equations,  $r^2$ , LODs and LOQs of the 4 compounds

化合物	线性范围/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回归方程	$r^2$	LODs/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	LOQs/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
金刚烷胺	0.5~250.0	$Y=127077X+35082$	0.9993	0.2	0.5
金刚乙胺	0.5~250.0	$Y=149936X+20965$	0.9994	0.2	0.5
吗啉胍	2.0~250.0	$Y=16317X-4216.9$	0.9997	1.0	2.0
阿昔洛韦	1.0~250.0	$Y=11454X+346.7$	0.9999	0.5	1.0

表 3 4 种化合物的添加回收率及相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 3 Recoveries and relative standard deviations of the 4 compounds ( $n=6$ )

化合物	添加浓度/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	RSD/%
金刚烷胺	0.5	88.1	5.5
	5	88.6	6.8
	10	91.5	3.6
	20	87.4	4.4
金刚乙胺	0.5	86.7	2.7
	5	88.2	4.8
	10	88.0	3.4
吗啉胍	20	90.1	3.1
	2	83.1	6.6
	5	85.9	8.4
阿昔洛韦	10	82.9	2.0
	20	83.5	4.5
	1	89.4	3.7
	5	89.6	2.0
阿昔洛韦	10	91.2	2.9
	20	93.5	2.6

## 2.7 实际样品测定

按照本研究方法, 对成都市市售不同品牌的 20 份蜂蜜样品(包括 8 种百花蜜、6 种油菜花蜜、3 种枇杷花蜜、2 种槐花蜜以及 1 种椴树蜜)进行金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍和阿昔洛韦的残留检测, 实验结果均为未检出。说明成都市市面上售卖的蜂蜜受该 4 种抗病毒药物污染的风险较小。

## 3 结论与讨论

国内外对于蜂蜜中抗病毒类药物检测的研究较少, 且我国尚无相关检测标准。本研究建立了通过 UPLC-MS/MS 法同时检测蜂蜜中金刚烷胺、金刚乙胺、吗啉胍和阿昔洛韦 4 种抗病毒药物残留的分析方法, 选用 Oasis PRiME HLB 小柱, 省去活化、淋洗和洗脱等烦琐步骤, 大大提高了前处理效率。经方法学验证, 该方法能实现准确定量, 定量限 0.5~2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 平均回收率 82.9%~93.5%, 方法灵敏度高, 稳定性强。对市售的 20 份蜂蜜进行检测分析, 结果显示蜂蜜中抗病毒类药物的残留

状况较为乐观,但实验样本数量有限,对蜂蜜中抗病毒类药物残留的监测仍不能松懈。本方法准确、高效,可为相关食品安全国家标准的制修订和蜂蜜中抗病毒类药物残留的风险评估提供技术支持。

### 参考文献

- [1] 王绍芬, 张锦华, 王胤晨, 等. 蜂蜜的营养成分及抗氧化作用概述[J]. 贵州畜牧兽医, 2019, 43(6): 62-64.  
WANG SF, ZHANG JH, WANG YC, *et al.* Summary of nutritional components and antioxidation of honey [J]. *Guizhou J Anim Husb Vet Med*, 2019, 43(6): 62-64.
- [2] 夏晓翠, 杨柳, 罗明, 等. 中蜂囊状幼虫病的防治方法[J]. 蜜蜂杂志, 2018, 38(10): 24-26.  
XIA XC, YANG L, LUO M, *et al.* Prevention and treatment of Chinese sacbrood [J]. *J Bee*, 2018, 38(10): 24-26.
- [3] 田洪芸, 王冠群, 任雪梅, 等. 我国蜂蜜产品行业概况及主要质量安全风险分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(7): 2314-2318.  
TIAN HY, WANG GQ, REN XM, *et al.* General situation of honey products industry in China and major quality and safety risks analysis [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(7): 2314-2318.
- [4] 龚波, 金秀娥, 李菁菁, 等. UPLC-MS/MS 法对蜂蜜中金刚烷胺和金刚乙胺药物残留的测定[J]. 湖北农业科学, 2018, 57(24): 136-138.  
GONG B, JIN XE, LI JJ, *et al.* Rapid determination of amantadine and rimantadine in honey by UPLC-MS/MS [J]. *Hubei Agric Sci*, 2018, 57(24): 136-138.
- [5] 中华人民共和国农业部公告第 560 号 [EB/OL]. [2005-10-28]. [http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/200511/t20051117\\_496523.htm](http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/200511/t20051117_496523.htm).  
Announcement No. 560 of the ministry of agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2005-10-28]. [http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/200511/t20051117\\_496523.htm](http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/200511/t20051117_496523.htm).
- [6] DAMES B, KARL JA, METMAN LV. High dose amantadine therapy may cause increased falling in patients with Parkinson's disease: A case report [J]. *Clinical Parkinsonism Relat Disord*, 2020, 3: 100045.
- [7] DUDLEY CE, MORELL AJ, DUFFEY ME, *et al.* Effects of amantadine on corneal endothelium [J]. *Experim Eye Res*, 2019, 181: 208-212.
- [8] 郝琦, 华菲, 宋凡, 等. 盐酸吗啡片对小鼠心肌细胞的毒性研究[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(4): 379-382.  
HAO Q, HUA F, SONG F, *et al.* The toxic effects of moroxydine hydrochloride tablets on mice myocardial cells [J]. *Northwest Pharm J*, 2015, 30(4): 379-382.
- [9] 袁堂娟, 许家栋, 谷丽丽, 等. 不同剂量阿昔洛韦对小鼠肾功能的影响及其机制[J]. 药物不良反应杂志, 2016, 18(1): 8-14.  
YUAN TJ, XU JD, GU LL, *et al.* Effect of different doses of acyclovir on renal function and its mechanism in mice [J]. *Adver Drug React J*, 2016, 18(1): 8-14.
- [10] 胡珊珊, 汤静. 一例阿昔洛韦致急性肾功能衰竭的病例分析[J]. 药品评价, 2015, 12(10): 45-47.  
HU SS, TANG J. Clinical characteristics of patients with acyclovir-induced acute renal failure: Case report [J]. *Drug Eval*, 2015, 12(10): 45-47.
- [11] 谭庶, 杨金易, 许吉华, 等. 鸡肉中金刚烷胺间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 304-310.  
TAN S, YANG JY, XU JH, *et al.* Development of an indirect competitive enzyme linked immunoassay for the analysis of amantadine in chicken muscle [J]. *Food Sci*, 2020, 41(10): 304-310.
- [12] WU SS, ZHU FF, HU LM, *et al.* Development of a competitive immunochromatographic assay for the sensitive detection of amantadine in chicken muscle [J]. *Food Chem*, 2017, 232: 770-776.
- [13] DONG BL, LI HF, MARI GM, *et al.* Fluorescence immunoassay based on the inner-filter effect of carbon dots for highly sensitive amantadine detection in foodstuffs [J]. *Food Chem*, 2019, 294: 347-354.
- [14] SUO D, WANG P, LI Y, *et al.* Simultaneous determination of antibiotics and amantadines in animal-derived feedstuffs by ultra performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1095: 183-190.
- [15] XU YJ, REN CB, HAN DF, *et al.* Analysis of amantadine in *Laminaria Japonica* and seawater of Daqin island by ultra high performance liquid chromatography with positive electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1126-1127: 121697.
- [16] 林春瑶, 刘功良, 白卫东, 等. 蜂产品抗生素残留检测的研究进展[J]. 农产品加工, 2019, (5): 78-81.  
LIN CY, LIU GL, BAI WD, *et al.* Advances in the detection of antibiotic residues in bee products [J]. *Farm Prod Process*, 2019, (5): 78-81.
- [17] BHADORIYA A, RATHNAM S, DASANDI B, *et al.* Sensitive and rapid determination of amantadine without derivatization in human plasma by LC-MS/MS for a bioequivalence study [J]. *J Pharm Anal*, 2018, 8(3): 202-207.
- [18] FARAJZADEH MA, NOURI N, ALIZADEH NABIL AA. Determination of amantadine in biological fluids using simultaneous derivatization and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-flame ionization detection [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 940: 142-149.
- [19] TSURUOKA Y, NAKAJIMA T, KANDA M, *et al.* Simultaneous determination of amantadine, rimantadine, and memantine in processed products, chicken tissues, and eggs by liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1044-1045: 142-148.
- [20] ZHOU J, XU JJ, CONG JM. Optimization for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1532: 20-29.
- [21] YAN H, LIU X, CUI F, *et al.* Determination of amantadine and rimantadine in chicken muscle by QuEChERS pretreatment method and UHPLC coupled with LTQ Orbitrap mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2013, 938: 8-13.
- [22] MU PQ, XU NN, CHAI TT, *et al.* Simultaneous determination of 14 antiviral drugs and relevant metabolites in chicken muscle by UPLC-MS/MS after QuEChERS preparation [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1023-1024: 17-23.
- [23] 王彩娟, 祝伟霞, 杨冀州, 等. 蜂蜜中吗啡残留的液相色谱-串联质谱分析方法研究[C]. 2012年全国生物医药色谱及相关技术学术交流会会议手册, 2012.  
WANG CJ, ZHU WX, YANG YZ, *et al.* Determination of moroxydine residue in honey with HPLC coupled tandem mass spectrometry [C]. *Handbook of national symposium on biomedical chromatography and*

- related technologies (2012), 2012.
- [24] 张鑫, 吴剑平, 严凤, 等. 基于双柱固相萃取-色质联用技术同时检测鸡肉中 8 种抗病毒药物残留[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(9): 45-50.  
ZHANG X, WU JP, YAN F, *et al.* Simultaneous analysis of eight antiviral drug residues in chicken based on a double-column designed solid phase extraction combined with LC-MS/MS method [J]. *Chin J Vet Med*, 2015, 49(9): 45-50.
- [25] 陈燕, 邵晓赞, 刘畅. 液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中 7 种抗病毒类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 798-808.  
CHEN Y, SHAO XY, LIU C. Determination of 7 kinds of antiviral drug residues in animal original food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(2): 798-808.
- [26] 孙晓, 王涛, 王永姣, 等. 超高效液相色谱-质谱串联法测定蜂蜜中喹诺酮类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(17): 5604-5608.  
SUN X, WANG T, WANG YJ, *et al.* Determination of quinolone residues in honey by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(17): 5604-5608.
- [27] 汪建妹, 杨华, 曾银欢, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中抗生素和农药浓度[J]. 浙江大学学报(理学版), 2018, 45(3): 330-342.  
WANG JM, YANG H, ZENG YH, *et al.* Measuring the antibiotics and pesticides in honey by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) [J]. *J Zhejiang Univ (Sci Ed)*, 2018, 45(3): 330-342.
- [28] 孟明辉, 贺泽英, 徐亚平, 等. QuEChERS 方法结合高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中 20 种抗生素[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(8): 1672-1679.  
MENG MH, HE ZY, XU YP, *et al.* Simultaneous extraction and determination of antibiotics in soils using a QuEChERS-based method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2017, 36(8): 1672-1679.

(责任编辑: 张晓寒)

## 作者简介



郑幸果, 助理研究员, 主要研究方向为营养与食品安全。

E-mail: 525776517@qq.com



仲伶俐, 副研究员, 主要研究方向为营养与食品安全。

E-mail: 17916029@qq.com