

分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中7种抗病毒类药物和利巴韦林代谢物残留量

张 艳, 王全胜, 吴银良*

(宁波市农业科学研究院, 宁波 315040)

摘 要: **目的** 建立液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中7种抗病毒类药物和利巴韦林代谢物1H-1,2,4-三氮唑-3-甲酰胺(1H-1,2,4-triazole-3-formamide, TCONH₂)残留量的分析方法。**方法** 匀质后的鸡蛋样品用1%乙酸乙腈提取, 提取液用N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)和C₁₈填料进行净化, 净化液吹干复溶后进行上机测定, 选用ZORBAX SB-Aq色谱柱(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm), 以0.1%甲酸溶液和甲醇作为流动相进行梯度洗脱, 8种化合物在正离子模式下进行监测, 内标法定量。**结果** 8种化合物在各自浓度范围内呈良好线性关系, 相关系数(r^2)均高于0.9970, 方法检出限和定量限分别在0.03~1.50 μg/kg和0.10~5.00 μg/kg范围之内。8种化合物在低、中和高3档添加浓度水平下平均添加回收率在94.8%~108.0%之间, 批内相对标准偏差为1.8%~8.2%, 批间相对标准偏差为3.1%~5.6%。**结论** 该方法简单、准确、灵敏度好, 适用于鸡蛋样品中抗病毒类药物的同时分析。

关键词: 鸡蛋; 抗病毒类药物; 分散固相萃取; 液相色谱-串联质谱法; 残留

Simultaneous determination of 7 kinds of antiviral drugs and ribavirin metabolite residues in eggs by dispersive solid phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Yan, WANG Quan-Sheng, WU Yin-Liang*

(The Academy of Ningbo Agricultural Sciences, Ningbo 315040, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for simultaneous determination of 7 kinds of antiviral drugs and 1H-1,2,4-triazole-3-formamide (TCONH₂) residues in eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The homogenized egg samples were extracted with 1% acetic acid acetonitrile, and the extract was purified with primary secondary amine (PSA) and C₁₈ filler, the purified solution was dried, re-dissolved, and measured on a ZORBAX SB-Aq chromatographic column (100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) using 0.1% formic acid solution and methanol as the mobile phase, and 8 kinds of compounds were monitored in positive ion mode and quantified by internal standard method. **Results** The 8 kinds of compounds showed good linear relationships within the respective concentration ranges, with the correlation coefficients (r^2) higher than 0.9970, and the limits of detection and limits of quantitation of the method were in the range of 0.03–1.50 μg/kg and 0.10–5.00 μg/kg,

基金项目: 农业行业标准制修订项目(2018-110)

Fund: Supported by the Agricultural Industry Standard Setting and Revision Program (2018-110)

*通信作者: 吴银良, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: wupaddyfield@sina.com

*Corresponding author: WU Yin-Liang, Ph.D, Professor, Ningbo Academy of Agricultural Sciences, No.19, Dehou Road, Yinzhou District, Ningbo 315040, China. E-mail: wupaddyfield@sina.com

respectively. The average recoveries of the 8 kinds of compounds at the low, medium, and high spiked concentrations were 94.8%–108.0%, with the intra-assay relative standard deviations of 1.8%–8.2%, and the inter-assay relative standard deviations of 3.1%–5.6%. **Conclusion** This method is simple, accurate and sensitive, and suitable for simultaneous analysis of antiviral drugs in egg samples.

KEY WORDS: egg; antiviral drugs; dispersive solid phase extraction; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; residues

0 引言

抗病毒类药物是一类用于预防和治疗病毒感染的药物,其中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、吗啉胍和利巴韦林广泛应用于人类A型流感病毒所致感染的预防与治疗,同时也对动物常见的病毒类疾病如禽流感等具有一定的预防效果^[1]。这类药物并没有被批准用作兽药,但由于其价格低廉,常被用作兽药以预防和治疗动物疾病。长期不合理用药会导致动物中毒、药物残留、病毒抑制或变异等^[2],最终影响人类健康。鉴于此,我国于2005年明确规定畜禽养殖中严禁使用抗病毒类药物^[3]。因此,研究建立包括鸡蛋在内的动物性食品中抗病毒类药物残留分析方法,对于有效监控该类药物的使用、保障我国动物性食品安全具有重要意义。

目前,生物样品中抗病毒类药物的分析方法研究较多,其中快速检测定性研究主要为酶联免疫吸附法^[4-9],涉及的药物主要为金刚烷胺^[4-7]和利巴韦林^[8-9];定量方法研究主要为液相色谱-串联质谱法,涉及动物组织有鸡肉^[10-14]、猪肉^[15-18]、牛肉^[18]、蛋^[13,19-22]、奶^[15]、蜂蜜^[23-24]、鱼和虾^[25]及动物肝组织^[10,16,18];而定量方法气相色谱法和液相色谱法因需要进行衍生化,研究相对较少^[26-30]。同时已建立的液相色谱-串联质谱法中单残留分析方法和多残留分析方法均较多,而多残留分析方法中同时分析利巴韦林和其他抗病毒类药物的分析方法较少,涉及利巴韦林代谢物1H-1,2,4-三氮唑-3-甲酰胺(1H-1,2,4-triazole-3-formamide, TCONH₂)的仅见MU等^[11]建立的方法,但该方法中利巴韦林的回收率在64.4%~73.4%之间,回收率偏低。本研究拟通过鸡蛋中抗病毒类药物提取和净化条件的优化,建立快速、准确灵敏的分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中7种抗病毒类药物和利巴韦林代谢物残留量的抗病毒类药物确证分析方法,为动物性食品安全生产提供监控手段。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Acquity UPLC-XevoTM TQ MS 超高效液相色谱串联质谱仪(美国 Waters 公司); ZORBAX SB-Aq 色谱柱(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm)(美国 Agilent 公司); 3K15 高速离心机(美国 Sigma 公司); BS124S 分析天平(精度为0.01 mg, 北京

赛多利斯仪器公司); ME3002 电子天平(精度为0.01 g, 瑞士梅特勒-托利多公司); HQ-60-II型旋涡混合仪(北京方正公司); Milli-Q 纯化系统(美国 Millipore 公司); 0.22 μm 有机相针式滤器(天津津腾实验设备有限公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 甲酸(色谱纯, 美国 Tedia 公司); 二甲基亚砜、乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、吗啉胍、阿昔洛韦、奥司他韦、利巴韦林、TCONH₂、金刚烷胺-D₁₅、金刚乙胺-D₄、美金刚-D₆、阿昔洛韦-D₄、奥司他韦-D₅、利巴韦林-¹³C₅ 标准品(纯度≥95%, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)、C₁₈ 粉(中国 Agela Technologies 公司); 鸡蛋空白样品均购于本地超市。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液配制

标准储备液: 分别准确称取各标准品 10 mg 于 10 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度(阿昔洛韦用二甲基亚砜溶解并稀释至刻度), 配制成质量浓度为 1000 μg/mL 的标准储备液, -18 °C 以下保存备用。

同位素内标储备液: 分别准确称取各内标标准品 1.0 mg 于 10 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 配制成质量浓度为 100 μg/mL 的标准储备液, -18 °C 以下保存备用。

混合标准储备液: 分别准确移取标准储备液各 0.5 mL 和利巴韦林、TCONH₂ 标准储备液各 2.5 mL, 于 100 mL 棕色容量瓶, 用甲醇稀释至刻度, 配制成质量浓度为 5.0 μg/mL(利巴韦林和 TCONH₂ 质量浓度为 25.0 μg/mL)的混合标准储备液。

混合内标工作液: 分别准确移取内标标准储备液各 0.2 mL 和利巴韦林-¹³C₅ 标准储备液各 1.0 mL, 于 100 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制成质量浓度为 200 μg/L(利巴韦林-¹³C₅ 质量浓度为 1.0 μg/mL)的混合内标工作液。

混合标准工作液: 准确移取混合标准储备液、混合内标工作液适量, 用 0.1% 甲酸溶液逐级稀释成质量浓度为 0.5、2.0、5.0、10.0、20.0 和 50.0 μg/L(利巴韦林和 TCONH₂ 质量浓度为 2.5、10.0、25.0、50.0、100.0 和 250.0 μg/L)的系列标准工作溶液, 每一标准工作溶液含各内标质量浓度均为 5.0 μg/L(利巴韦林-¹³C₅ 质量浓度为 25 μg/L)。

0.1%甲酸溶液: 移取甲酸 1 mL 于 1000 mL 容量瓶中, 用水定容至 1000 mL。

1%乙酸乙腈: 移取乙酸 10 mL 于 1000 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至 1000 mL。

1.2.2 样品的前处理

取试样 2 g, 置于 50 mL 离心管中, 加混合内标工作液 50 μ L, 再加入 1%乙酸乙腈 10.0 mL, 涡旋 1 min, 振荡提取 10 min 后以 6000 r/min 的速度离心 3 min, 收集上清液, 转入装有 PSA 300 mg、C₁₈ 300 mg 的 50 mL 离心管中, 涡旋混匀 1 min, 6000 r/min 离心 2 min, 移取上清液, 在 50 $^{\circ}$ C 水浴中氮吹至干, 0.1%甲酸溶液 2.0 mL 溶解残渣, 涡旋混匀, 0.22 μ m 滤膜过滤, 上机分析。

1.2.3 仪器条件

采用 ZORBAX SB-Aq (100 mm $\times$ 3.0 mm, 1.8 μ m) 分离; 流动相: A 相为 0.1%甲酸溶液, B 相为甲醇; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 进样量 10 μ L。梯度洗脱程序: 0~2.5 min、100% A; 2.5~4.0 min、0~50% B; 4.0~6.0 min、50%~85% B; 6.0~6.5 min、85% B; 6.5~6.6 min、85%~2% B; 6.6~9.0 min、2% B。

质谱条件: 电喷雾离子源正离子模式; 多级反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压: 3.0 kV; 离子源温度: 150 $^{\circ}$ C; 脱溶剂气温度: 500 $^{\circ}$ C; 锥孔气流速: 50 L/h; 脱溶剂气流速: 1000 L/h; 倍增器电压: 650 V; 二级碰撞气: 氩气; 其他质谱条件详见表 1。

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

抗病毒类药物大都含有氨基基团, 在酸性的流动相中易产生稳定的 [M+H]⁺, 因此离子源模式常采用正离子模式。本研究利用质量浓度为 1.0 μ g/mL 的标准溶液和仪器 Intellistart 软件进行了相关化合物离子扫描, 优化碰撞能量等参数, 得到了表 1 中的质谱条件。

尿苷与利巴韦林有着几乎相同的母离子和碎片离子, 在前期建立鸡肉中利巴韦林残留量分析方法过程中^[12], Acquity BEH C₁₈、Acquity HSS T3、Acquity BEH HILIC、Acquity BEH Amide 和 Hypercarb 色谱柱都被用于分离利巴韦林和尿苷, 结果表明仅 Hypercarb 色谱柱 (100 mm $\times$ 4.6 mm, 7.0 μ m) 能完全分离利巴韦林和尿苷, 但分离时间较长 (图 1); 考虑到 MU 等^[11]曾利用 Agilent SB-Aq 色谱柱建立了 13 种抗病毒类药物和 TCONH₂ 的残留量分析方法, 根据其色谱条件分析鸡蛋添加利巴韦林样品得到图 2, 尿苷与利巴韦林在 5 min 内得到良好分离, 但利巴韦林和代谢物同时存在时利巴韦林会对代谢物 TCONH₂ 分析产生干扰 (图 3a), 影响其定性和定量结果, 通过调整流动相水相初始比例 97% 至 100%, 同样梯度下得到图 3b, 利巴韦林和 TCONH₂ 实现了色谱分离, 因此本研究最终选择 1.2.3 中的色谱条件进行分析。

表 1 抗病毒类药物的定性、定量离子对等质谱参数
Table 1 Qualitative ion pairs, quantitative ion pairs and other MS parameters of antiviral drugs

化合物种类	定性离子对 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV	化合物种类	定性离子对 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
金刚烷胺	152.1>79.2 [*] 152.1>93.2	64	26, 24	金刚乙胺	180.2>93.1 180.2>163.4 [*]	22	26, 14
美金刚	180.2>93.1 180.2>163.4 [*]	22	14, 6	吗啉胍	172.1>85.2 172.1>113.1 [*]	74	18, 18
阿昔洛韦	226.1>135.1 226.1>152.1 [*]	26	28, 10	奥司他韦	313.2>166.1 313.2>225.2 [*]	2	18, 8
利巴韦林	245.0>96.1 245.0>113.1 [*]	2	26, 8	TCONH ₂	113.0>69.0 113.0>96.2 [*]	25	20, 12
金刚烷胺-D ₁₅	167.1>86.2 [*]	64	28	金刚乙胺-D ₄	184.2>167.4 [*]	22	14
美金刚-D ₆	186.2>169.2 [*]	22	14	阿昔洛韦-D ₄	230.1>152.1 [*]	26	10
奥司他韦-D ₅	318.2>230.2 [*]	2	10	利巴韦林- ¹³ C ₅	250.0>113.1 [*]	2	8

注: *为定量离子对。

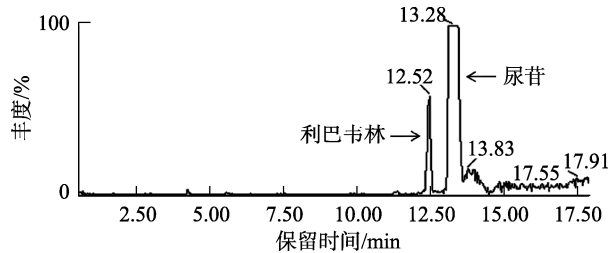


图 1 鸡肉样品添加利巴韦林特征离子色谱图 (Hypercarb 色谱柱, 5.0 μ g/kg)
Fig.1 MRM chromatogram of ribavirin in chicken fortified sample (Hypercarb column, 5.0 μ g/kg)

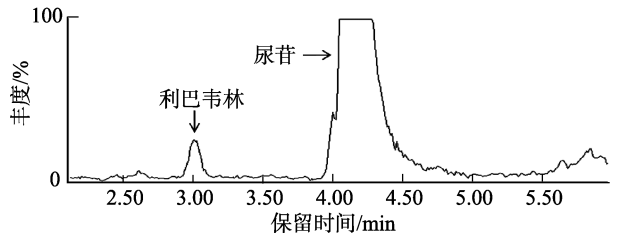
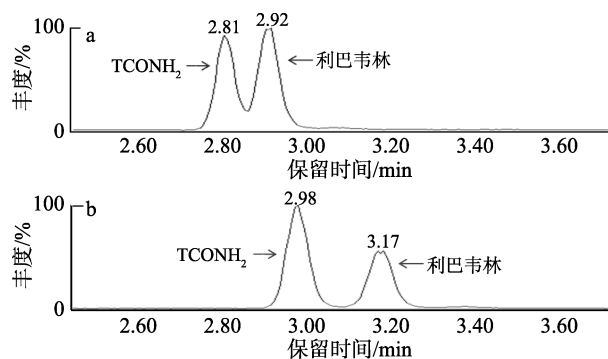


图 2 鸡蛋添加样品利巴韦林分析特征离子色谱图 (Agilent SB-Aq 色谱柱, 50 μ g/L)
Fig.2 MRM chromatogram of ribavirin in egg fortified sample (Agilent SB-Aq column, 50 μ g/L)



注: a: 初始流动相比比例为 97:3 (V:V); b: 初始流动相比比例为 100:0 (V:V)。

图3 标准溶液特征离子色谱图(Agilent SB-Aq 色谱柱, 50 $\mu\text{g/L}$)

Fig.3 MRM chromatograms of the standard solution (Agilent SB-Aq column, 5.0 $\mu\text{g/kg}$)

2.2 提取净化条件的优化

目前,已建立的动物性食品中抗病毒类药物残留分析方法主要采用的提取剂有:三氯乙酸溶液或与有机溶剂混合溶液^[10,14-15,19]、甲酸溶液与有机溶剂混合溶液^[16,23-24]或酸化乙腈^[11-13,17-18]。本研究选择酸化乙腈(1.0%乙酸乙腈)和1.0%甲酸甲醇进行了提取效果比较,发现在10 mL提取1次条件下所有化合物用1.0%乙酸乙腈的提取回收率均比用1%甲酸甲醇的提取回收率高大约5%~10%;其中吗啉胍的回收率最低,分别为68.9%和63.2%,金刚乙胺的回收率最高,分别为85.1%和79.0%;且经测定发现,采用1.0%甲酸甲醇提取时吗啉胍定量离子对存在干扰,因此本研究采用1.0%乙酸乙腈作为提取溶液。

抗病毒类药物的净化方法主要包括固相萃取柱法和分

散固相萃取法,其中固相萃取法主要采用阳离子交换小柱,种类有SCX^[10]、MCX^[13,15-16,19]和PCX^[14,25]小柱;分散固相萃取法主要采用PSA和C₁₈粉混合后进行净化^[11-12,18,20,25],该法具有快速、操作简单等特点。通过不同用量的PSA(0~500 mg)和C₁₈(0~500 mg)分别加入到10 mL抗病毒类药物基质标准工作溶液(质量浓度100 $\mu\text{g/L}$,利巴韦林和TCONH₂质量浓度500 $\mu\text{g/L}$)中涡旋混匀1 min后发现,基质标准工作溶液中抗病毒类药物的损失均在5%以内,这与MU等^[11]研究结果基本一致。在此基础上,对分散固相萃取的净化效果进行了研究,发现仅采用PSA时在50~300 mg用量区间所有化合物的基质效应均得到了改善(图4),用量超过300 mg时基质效应改善不明显;但当PSA用量在300 mg时所有化合物仍有较强的基质抑制效应,基质标准曲线斜率与溶剂标准曲线斜率的比值在0.30~0.74之间,出峰越快的化合物基质效应相对越强。为进一步改善基质效应,吸附其他极性相对较弱的杂质,在固定PSA用量为300 mg条件下对C₁₈使用量对基质效应的影响进行了研究,发现随着C₁₈使用量从100 mg增加到300 mg,出峰时间较早的吗啉胍、利巴韦林和TCONH₂的基质效应改善不明显,其他抗病毒类药物基质效应有一定改善,C₁₈使用量超过300 mg后,所有抗病毒类药物的基质效应改善均不明显(图5)。因此本研究最终选用PSA 300 mg和C₁₈ 300 mg对提取液进行净化。

2.3 方法学验证

2.3.1 特异性

按照1.2.2和1.2.3中的前处理方法及仪器条件测定了20个鸡蛋样品,未发现有抗病毒类药物检出,同时未在相关抗病毒类药物出峰处见到干扰峰。

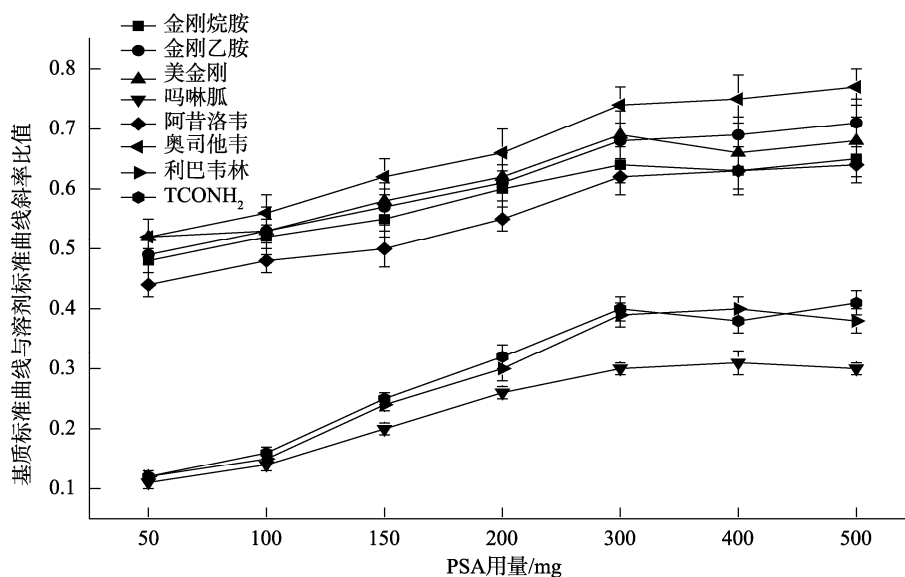


图4 不同PSA用量下8种化合物的基质效应(n=3)

Fig.4 Matrix effects of 8 kinds of compounds under different amounts of PSA (n=3)

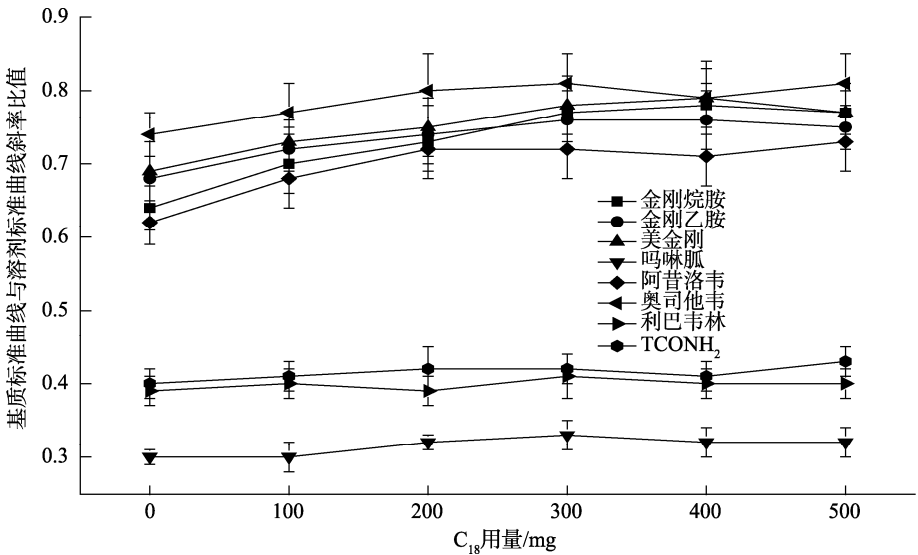


图 5 不同 C₁₈ 用量下 8 种化合物的基质效应(n=3)
Fig.5 Matrix effects of 8 kinds of compounds under different amounts of C₁₈ (n=3)

2.3.2 线性范围

取空白试样按 1.2.2 处理,待净化液氮气吹干后加入 1.2.1 中配制的系列标准工作溶液各 2 mL,涡旋混匀,过 0.22 μm 滤膜,得到系列基质标准工作溶液,进行液相色谱-串联质谱分析。以定量离子对峰面积与相应内标物的离子对峰面积比值为纵坐标(Y),标准溶液浓度为横坐标(X, μg/L),绘制标准曲线,结果详见表 2。从表 2 中可知各抗病毒类药物在一定浓度范围内线性关系良好,相关系数(r^2)均高于 0.9970。

2.3.3 回收率、精密度和检出限

取空白鸡蛋样品适量,分别加入混合标准溶液和混合内标工作液,使 TCONH₂ 和利巴韦林质量浓度为 5.0、25.0 和 125.0 μg/kg,其他药物质量浓度分别为 1.0、5.0 和 25.0 μg/kg,再按 1.2.2 和 1.2.3 步骤处理,进行回收实验,结果详见表 3,添加样品图谱见图 6。从表 3 可知,由于本方法采用内标法定量,所有抗病毒类药物的平均回收率在 94.8%~108.0%之间,都比较接近 100%,批内和批间相对标准偏差(relative standard deviation, RSDs)较好,其中批内 RSDs 在 1.8%~8.2%之间,批间 RSDs 在 3.1%~5.6%之间;同时按 3 倍信噪比计算检出限和 10 倍信噪比计算定量限,检出限在 0.03~1.50 μg/kg 之间,定量限在 0.10~5.00 μg/kg 之间,且金刚烷胺等 6 种药物定量限均低于已发布标准

SN/T 4253—2015《出口动物组织中抗病毒类药物残留量的测定 液相色谱-质谱质谱法》中的定量限。从本研究结果看,同样内标法定量,利巴韦林回收率范围为 96.6%~99.2%,明显好于 MU 等^[11]建立的方法的利巴韦林回收率 64.4%~73.4%,定量相对更加准确。

2.4 实际样品检测

利用该方法测定了 2021 年 6 月宁波市农产品质量安全监测工作所抽取的 20 个鸡蛋样品以及蛋鸡经混饮给药方式连续用利巴韦林(质量浓度 50 mg/L) 3 d 停药 3 d 后所产的 3 个鸡蛋样品,监测工作抽取的 20 个样品均未检出相关抗病毒类药物,蛋鸡用药后所产的 3 个鸡蛋样品均检出利巴韦林和 TCONH₂,利巴韦林浓度分别为 67.2、27.8 和 23.9 μg/kg, TCONH₂ 浓度分别为 97.6、72.4 和 45.7 μg/kg。

3 结 论

本研究通过在提取、净化及仪器条件优化基础上建立了鸡蛋中抗病毒类药物及利巴韦林代谢物 TCONH₂ 的分散固相萃取-液相色谱-串联质谱方法,样品经 1%乙酸乙腈提取,PSA-C₁₈ 分散固相萃取净化、内标法定量。该方法操作简单、准确度高、灵敏度高,为畜禽养殖过程中违规添加和使用抗病毒类药物提供了一种有效的技术监管手段。

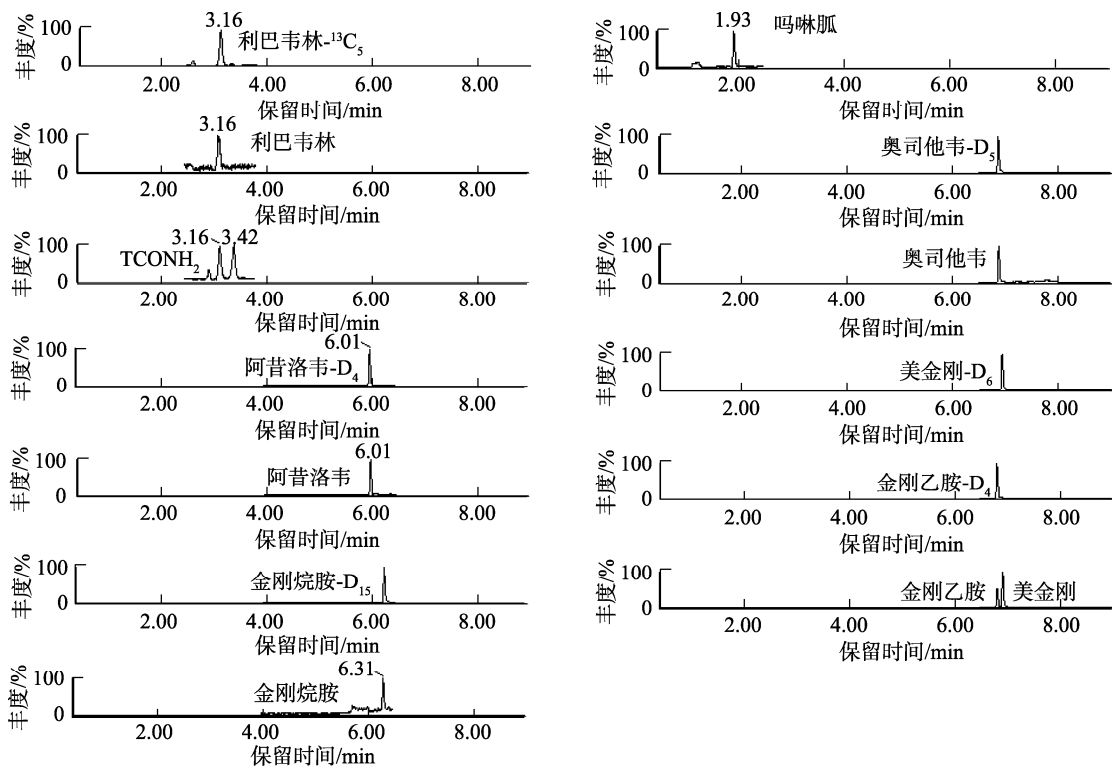
表 2 抗病毒类药物的保留时间、线性方程和相关系数
Table 2 Retention times, linear equations and correlation coefficients of antiviral drugs

化合物种类	保留时间/min	线性方程	相关系数(r^2)	化合物种类	保留时间/min	线性方程	相关系数(r^2)
金刚烷胺	6.30	$Y=0.1902X+0.0152$	0.9996	金刚乙胺	6.81	$Y=0.0809X+0.0416$	0.9994
美金刚	6.94	$Y=0.1012X+0.0423$	0.9994	吗啉胍	1.93	$Y=0.4528X+0.2111$	0.9988
阿昔洛韦	6.02	$Y=0.0956X+0.0284$	0.9997	奥司他韦	6.90	$Y=0.1374X+0.0521$	0.9989
利巴韦林	3.17	$Y=0.0247X+0.0019$	0.9989	TCONH ₂	2.98	$Y=0.0859X+0.1274$	0.9975

表 3 鸡蛋中抗病毒类药物的添加回收率、变异系数、检测限和定量限
Table 3 Recoveries, coefficient of variations, detection limits and quantitation limits of antiviral drugs in eggs

化合物	批内平均回收率/% (n=5)			批内 RSDs/% (n=5)			批间 RSDs/% (n=15)			检出限 /(μg/kg)	定量限 /(μg/kg)
	1.0*	5.0	25.0	1.0	5.0	25.0	1.0	5.0	25.0		
金刚烷胺	97.3	97.5	98.8	8.2	3.2	5.4	5.6	3.1	3.6	0.25	0.80
金刚乙胺	103.0	97.2	97.8	5.6	2.7	4.8	5.2	3.3	4.0	0.03	0.10
美金刚	97.9	98.0	99.5	2.0	4.3	3.2	3.3	3.8	3.9	0.05	0.15
吗啉胍	104.2	97.0	99.9	4.7	3.7	4.4	4.0	3.7	4.8	0.15	0.50
阿昔洛韦	98.1	95.2	94.8	2.1	5.6	4.9	4.0	4.0	3.9	0.06	0.20
奥司他韦	97.4	97.5	105.3	3.9	1.8	3.2	5.0	4.1	3.4	0.05	0.15
利巴韦林	99.2	97.1	96.6	2.3	4.3	5.0	4.0	3.8	3.1	1.50	5.00
TCONH ₂	103.4	104.2	108.0	4.5	3.4	4.8	4.7	3.2	4.7	1.00	3.00

注: *单位为 μg/kg, 利巴韦林和 TCONH₂添加浓度为 5.0、25.0 和 125.0 μg/kg。



注: 利巴韦林和 TCONH₂ 为 5.0 μg/kg, 其余化合物添加浓度为 1.0 μg/kg。

图 6 鸡蛋添加样品中 8 种化合物的 MRM 色谱图

Fig.6 MRM chromatograms of 8 kinds of compounds in eggs fortified samples

参考文献

[1] 王飞, 吴珊珊, 慈彦鹏, 等. H₃N₂ 亚型禽流感病毒 A/Guangxi/1/2005 株抗药机制的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2012, 34(9): 682–685.
WANG F, WU SS, CI YP, *et al.* Mechanism of the H₃N₂ subtype influenza virus A/Guangxi/1/2005 resistance to antiviral drug [J]. Chin J Prev Vet Med, 2012, 34(9): 682–685.

[2] DURRANT MG, EGGETT DL, BUSATH DD, *et al.* Investigation of a recent rise of dual amantadine-resistance mutations in the influenza A M2 sequence [J]. BMC Genet, 2015, 16(S2): 1–9.

[3] 中华人民共和国农业部公告第 560 号 [EB/OL]. [2005-10-28].
http://www.moa.gov.cn/gk/zcfg/nybgz/200806/t20080606_1057240.htm [2022-01-29].
Announcement No.560 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2005-10-28]. http://www.moa.gov.cn/gk/zcfg/nybgz/200806/t20080606_1057240.htm [2022-01-29].

[4] WU S, ZHU F, HU L, *et al.* Development of a competitive immunochromatographic assay for the sensitive detection of amantadine in chicken muscle [J]. Food Chem, 2017, 232: 770–776.

- [5] 冯才伟, 黄健, 王兆芹, 等. 检测动物组织中金刚烷胺残留的酶联免疫试剂盒的研制[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(11): 27–31.
FENG CW, HUANG J, WANG ZQ, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay kit for the determination of the amantadine residues in animal tissues [J]. Chin Anim Husbandry Vet Med, 2016, 48(11): 27–31.
- [6] 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.
- [7] 崔乃元, 刘怡菲, 王萍, 等. 鸡、鸭肉中金刚烷胺、金刚乙胺、索金刚烷胺间接竞争 ELISA 检测方法研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(1): 286–291.
CUI NY, LIU YF, WANG P, *et al.* Indirect competitive ELISA for detection of amantadine, rimantadine and soramantadine in chicken and duck meat [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(1): 286–291.
- [8] 刘卫华, 沙芳芳, 李润磊, 等. 直接竞争 ELISA 法检测动物源食品中利巴韦林残留[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 242–247.
LIU WH, SHA FF, LI RL, *et al.* Detection of ribavirin residues in animal-derived food by way of direct competitive ELISA [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(9): 242–247.
- [9] 陈敏, 崔海峰, 冯才伟, 等. 利巴韦林单克隆抗体制备以及酶联免疫试剂盒的研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(11): 167–171.
CHEN M, CUI HF, FENG CW, *et al.* Production of ribavirin monoclonal antibodies and its ELISA kit for rapid detection [J]. China Brew, 2016, 35(11): 167–171.
- [10] 刘正才, 杨方, 余孔捷, 等. 液相色谱-电喷雾串联质谱法同时检测鸡组织中 5 种抗病毒类药物的残留量[J]. 色谱, 2012, 30(12): 1253–1259.
LIU ZC, YANG F, YU KJ, *et al.* Multi-residue determination of five antiviral drugs in chicken tissues by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2012, 30(12): 1253–1259.
- [11] 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.
- [12] WU YL, CHEN RX, ZHU L, *et al.* Determination of ribavirin in chicken muscle by quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2016, 1012–1013: 55–60.
- [13] 马俊美, 何亮娜, 孙磊, 等. 在线固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定鸡肉和鸡蛋中 5 种抗病毒类药物残留量[J]. 食品科学, 2021, 42(10): 305–310.
MA JM, HE LN, SUN L, *et al.* Determination of five antiviral drug residues in chicken meat and eggs using on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2021, 42(10): 305–310.
- [14] 谢继安, 刘柏林, 赵紫微, 等. 同位素稀释-超高效液相色谱-串联质谱法测定禽类食品中利巴韦林和金刚烷胺类化合物残留量[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(3): 261–266.
XIE JAN, LIU BL, ZHAO ZW, *et al.* Determination the residue of ribavirin and adamantanes in poultry food by isotope dilution-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Food Hyg, 2020, 32(3): 261–266.
- [15] 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 anti-viral drug residues in animal original food [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 798–808.
- [16] 张颖颖, 李慧晨, 吴彦超, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物性食品中 8 种抗病毒类药物残留量[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 303–309.
ZHANG YY, LI HC, WU YC, *et al.* Determination of eight antiviral drug residues in animal-derived food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2018, 39(2): 303–309.
- [17] 叶佳明, 杨娜, 王京, 等. 一种通过式固相萃取结合亲水作用色谱-串联质谱法检测动物源性食品中 15 种抗病毒药物残留[J]. 分析试验室, 2021, 40(10): 462–468.
YE JM, YANG N, WANG J, *et al.* Determination of 15 kinds of anti-viral drug residues in animal original food bypassing purification-ultra-performance hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2021, 40(10): 462–468.
- [18] 葛晓晓, 舒蕊华. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中金刚烷胺、金刚乙胺[J]. 化学分析计量, 2020, 29(5): 95–99.
GE XX, SHU RH. Simultaneous determination of amantadine and rimantadine in animal food by HPLC-MS/MS [J]. Chem Anal Meter, 2020, 29(5): 95–99.
- [19] 汤晓艳, 陈东宇, 周剑, 等. 液相色谱-串联质谱法检测鸡蛋中金刚烷胺残留[J]. 中国食品学报, 2014, 14(9): 190–194.
TANG XY, CHEN DY, ZHOU J, *et al.* Determination of amantadine in fresh eggs by LC-MS/MS [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2014, 14(9): 190–194.
- [20] 吴银良, 赵健, 叶宇飞, 等. 同位素稀释液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中金刚烷胺类药物残留量[J]. 分析测试学报, 2014, 33(8): 905–910.
WU YL, ZHAO J, YE YF, *et al.* Simultaneous determination of amantadine, rimantadine and memantine residues in eggs by liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2014, 33(8): 905–910.
- [21] 段科, 刘刚, 娄喜山, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物组织中的金刚烷胺、金刚乙胺和盐酸美金刚[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(3): 652–658.
DUAN K, LIU G, LOU XS, *et al.* Determination of amantadine, rimantadine and memantine hydrochloride in animal tissue by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(3): 652–658.
- [22] TSUROKA 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: 142–148.
- [23] WANG Z, WANG X, WANG T, *et al.* Simultaneous determination of five antiviral drug residues and stability studies in honey using a two-step fraction capture coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2021, 1638: 1–9.
- [24] 郑幸果, 赵珊, 李曦, 等. 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[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(10): 4110–4117.

- ZHENG XG, ZHAO S, LI X, *et al.* Simultaneous determination of 4 kinds of antiviral drug residues in honey by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(10): 4110–4117.
- [25] 张玉昆, 刘振先, 徐歌, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鱼、虾中 4 种抗病毒药物的残留[J]. *水产科学*, 2020, 39(4): 609–614.
- ZHANG YK, LIU ZX, XU G, *et al.* Determination of residues of four antiviral drugs in fish and shrimp by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Fish Sci*, 2020, 39(4): 609–614.
- [26] MA JK, HUANG XC, WEI SL. Rapid determination of antiviral medication ribavirin in different feedstuffs using a novel magnetic molecularly imprinted polymer coupled with high-performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42: 3372–3381.
- [27] FARAJZADEH MA, NOURI N, NABIL AAA. 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(4): 142–149.
- [28] JING S, LI Q, JIANG Y. A new simultaneous derivatization and microextraction method for the determination of memantine hydrochloride in human plasma [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1008: 26–31.
- [29] CUI S, FENG F, LIU H, *et al.* New method for high-performance liquid chromatographic determination of amantadine and its analogues in rat plasma [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44(5): 1100–1105.
- [30] ZHANG J, ZHAO J, ZHOU J, *et al.* Determination of amantadine residue in honey by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization and fluorometric detection [J]. *Chin J Chem*, 2011, 29: 1764–1768.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



张 艳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: 2798886379@qq.com



吴银良, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: wupaddyfield@sina.com