

食品中抗病毒类药物残留检测方法研究进展

张颖颖, 李莹莹

(中国肉类食品综合研究中心, 北京 100068)

摘要: 抗病毒类药物已被许多国家列为养殖业禁用药物, 长期使用此类药物会造成药物残留、动物中毒、病毒变异等一系列问题, 进而影响人类的身体健康。然而, 到目前为止, 我国尚未出台测定食品中抗病毒类药物残留的国家标准。本文综述了食品中抗病毒类药物残留的检测方法, 主要有酶联免疫吸附测定法、色谱法、光谱法、电化学传感器、芯片法等, 并分析了各方法的优缺点, 以期对食品中抗病毒类药物残留的检测方法提供一定的理论依据。

关键词: 抗病毒类药物; 食品; 检测方法

Progress in Analytical Methods for Antiviral Drug Residues in Foods

ZHANG Yingying, LI Yingying

(China Meat Research Center, Beijing 100068, China)

Abstract: Antiviral drugs have been banned from being used in food-producing animals in many countries of the world. Long-term use of such drugs will cause a series of problems such as drug residues, animal poisoning and virus variation and, which will have a detrimental impact on human health. However, so far, the country has not yet promulgated a national standard for the determination of antiviral drug residues in foods. In this review, the major detection methods for antiviral drugs, including enzyme immunoassay, chromatography, spectroscopy, electrochemical sensor, and chip method are summarized and analyzed. We hope that this review will provide theoretical supports to promote the detection of antiviral drugs in foods.

Key words: antiviral drugs; food; detection

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201721049

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 21-0313-06

引文格式:

张颖颖, 李莹莹. 食品中抗病毒类药物残留检测方法研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(21): 313-318. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201721049. <http://www.spkx.net.cn>

ZHANG Yingying, LI Yingying. Progress in analytical methods for antiviral drug residues in foods[J]. Food Science, 2017, 38(21): 313-318. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201721049. <http://www.spkx.net.cn>

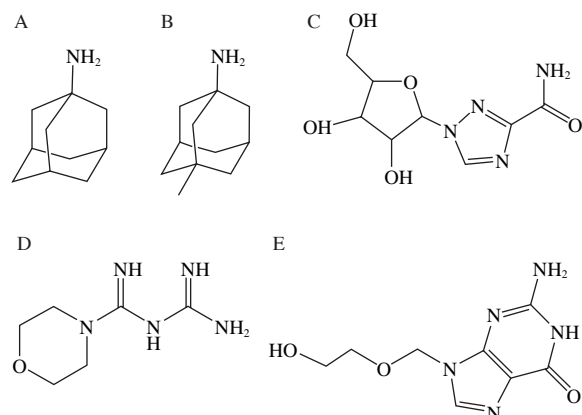
目前, 尽管科技不断更新发展, 病毒感染仍是威胁人类及动物生命健康的主要问题。回顾历史, 多次发生的流感事件^[1]不仅造成大量人畜伤亡, 同时还影响世界经济发展, 例如, 1878年意大利爆发的甲型H₁N₁流感、1997年香港的H₁N₃流感、2009年墨西哥和美国爆发的“猪流感”、2013年中国内地发生的H₂N₉流感以及2015年台湾发生H₅N₂与H₅N₈流感等。为解决流感问题, 人们研发了多种抗病毒类药物, 如金刚烷胺、金刚乙胺、利巴韦林、吗啉胍、阿昔洛韦等, 其分子结构式如图1所示。起初这些药物研发仅用于解决人类流感问题, 然而多次流感事件也造成大量畜禽死亡, 带来严重的经济损失。因此, 养殖户便将抗病毒类药物掺入饲料中对禽畜进行喂养。

然而, 将人类药物移植兽用, 不仅没有准确的科学依据, 并且长期使用会造成动物中毒、药物残留、病毒抑制或变异^[2-3]等, 进而影响人类的身体健康。因此我国农业部于2005年发布了560号公告, 明文规定养殖业禁止使用金刚烷胺、利巴韦林类抗病毒药物^[4]; 美国于2006年也明文规定禁止使用此类药物^[5]。但由于抗病毒类药物价格低廉、效果显著, 因此仍被养殖户大量使用, 然而所造成的副作用也越来越大。据报道, H₁N₁病毒已经对人类使用的达菲等抗病毒药物产生了抗性, 因此动物食品中抗病毒类药物的残留已成为公众广泛关注的问题。为保护消费者的身体健康, 抗病毒类化合物的检测方法一直以来是食品界的研究热点。然而到目前为止, 我国尚未颁布测定食品中抗病毒类药物残留的相关

收稿日期: 2016-12-18

作者简介: 张颖颖 (1990—), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为食品安全检测。E-mail: yingying_sys@163.com

国家标准, 因此本文对目前的抗病毒类药物残留检测方法进行简要概述, 以期对抗病毒类药物残留检测提供一定的理论依据。



A~E.分别为金刚烷胺、金刚乙胺、利巴韦林、吗啉胍、阿昔洛韦。

图1 抗病毒类药物的分子结构式
Fig.1 Structures of antiviral drugs

1 酶联免疫吸附测定法

酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 是基于抗原抗体特异性相结合的原理进行分析测定的, 具有选择性强、灵敏度高、检出限低等特点, 并且对该方法试剂盒化大大提高了样品的检测速度, 是当前快速检测的主要方法之一。

冯才伟等^[6]通过改造金刚烷胺的分子结构, 研发金刚烷胺半抗原和人工抗原, 制备了单克隆抗体, 建立了ELISA法, 且研制了测定动物组织中金刚烷胺含量的ELISA试剂盒, 并考察了该试剂盒的灵敏度、准确性及交叉反应率等, 最终确定其检测限为0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 回收率为82.5%~91.0%。该方法操作简便、快速、灵敏度高, 可以用于日常动物源性样品的快速检测; 蒋佳颖等^[7]以兔抗猪 α -干扰素免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) G多克隆抗体为包被抗体, 鼠抗猪 α -干扰素单克隆抗体作为二抗, 创建双抗体夹心 (double antibody sandwich, DAS) -ELISA法, 用于测定猪 α -干扰素的含量。此方法不受其他基质的干扰, 准确性高。

2 色谱法

2.1 气相色谱法

气相色谱 (gas chromatography, GC) 主要是利用物质的沸点、极性及吸附性质的差异来实现混合物的分离。由于进样前需对化合物进行气化, 因此GC不适于直接分析沸点高及热稳定性差的化合物。而大多数抗病毒类药物沸点高, 且易溶于水, 因此在样品前处理过程中

需用有机试剂来提取待测物, 并进行衍生化, 才能进入GC进行检测, 整个操作过程相对繁琐、易引入杂质、重现性相对较差, 因此在抗病毒药物残留检测方面应用较少。

Farajzadeh等^[8]创建了测定金刚烷胺的GC法。该方法以甲醇为分散剂, 1,2-二溴乙烷为提取溶剂, 氯代甲酸丁酯为衍生化溶剂, 通过优化分散剂及提取溶剂的加入量、衍生化试剂的加入量、衍生化反应时间以及液液萃取条件, 经火焰离子化检测器 (flame ionization detector, FID) 进行分析检测。此方法溶剂使用量相对少、检出限低。楼永军等^[9]采用毛细管色谱柱, 设置了合适的程序升温过程, 用质量选择检测器 (mass selective detector, MSD) 测定金刚烷、溴代金刚烷、金刚烷胺及副产物金刚烷醇的电子轰击 (electron impact, EI) 谱图, 用于结构确认; 利用FID检测器进行定量测定, 其检出限为2 ng。

2.2 气相色谱-质谱法

GC-质谱 (mass spectrometer, MS) 法同GC法一致, 样品需进行衍生化, 操作过程繁琐, 因此GC-MS法测定抗病毒类药物的报道相对较少。

Herold等^[10]创建了毛细管GC-MS法, 用于测定血浆中的金刚乙胺含量, 该法以金刚乙胺- D_3 为内标, 通过氰基柱提取, 甲醇洗脱, 氮吹至干后进行衍生化反应, 得到叔丁基二甲基甲硅烷基衍生物, 经选择离子监测模式进行仪器扫描测定。

2.3 液相色谱法

液相色谱 (liquid chromatography, LC) 是通过液体流动相将待测物质引入整个系统, 因此分析过程不受样品挥发性和热稳定性的限制。目前, 测定抗病毒类药物的LC法中主要采用2种检测器, 即紫外检测器 (ultraviolet detector, UVD)^[11]与荧光检测器 (fluorescence detector, FLD)^[12-13], 然而大部分抗病毒类药物无较强的紫外吸收和荧光吸收, 因此在样品前处理过程中也会进行衍生化操作。

Jing Shaojun等^[14]创建了测定金刚烷胺的高效液相色谱-荧光检测法, 通过考察不同的衍生化试剂 (2-萘氧基乙酰氯、丹磺酰氯、氢醌-2-磺酰氯) 与衍生化温度 (25~60 $^{\circ}\text{C}$), 最终选择了0.3 mg/mL的丹磺酰氯为衍生化试剂, 在40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行衍生化反应, 以33 mmol/L磷酸二氢钾 (pH 3.0) / 甲醇 (12:88, V/V) 为流动相, 通过 C_{18} 色谱柱进行分离, 在激发波长345 nm及发射波长480 nm处进行检测。该方法的回收率为94.3%~100.7%, 检出限为0.1 ng/mL。

Cui Shuangjin等^[15]利用LC, 在紫外波长256 nm处, 以甲醇/水 (85:15, V/V) 为流动相, 通过 C_{18} 色谱柱对金刚烷胺、金刚乙胺及美金刚进行分析测定。该方法以

9,10-蒽醌-2-磺酰氯(ASC级)作为衍生化试剂,并通过实验验证所生成的衍生物能够长期稳定存在;此外,过量的衍生化试剂会与流动相中的甲醇进行反应,生成甲基氢醌-2-磺酰酯,其保留时间与待分析化合物的衍生物的保留时间不同,因此不会影响金刚烷胺、金刚乙胺及美金刚的分析鉴定,最终其检出限为20 ng/mL。

2.4 液相色谱串联质谱法

目前,80%以上的抗病毒药物残留检测方法均是液相色谱串联质谱(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)法,其具有分离效果好、灵敏度高、检出限低、回收率高、重现性好等优点。LC-MS/MS可用于测定各种基质样品,如鸡蛋^[16-19]、鸡肉^[20-27]、鸡肝^[23,28]、猪肉^[29]、猪肝^[30]、牛乳^[31]等,通过多重反应监测扫描模式可减少基质干扰、提高准确性、避免假阳性和假阴性现象。

现行的行业标准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》^[32]便是通过LC-MS/MS法测定鸡肉、鸡肉制品、猪肉、肝脏、鱼、虾、蛋、皮蛋等动物组织中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、阿昔洛韦、咪喹莫特、吗啉胍、奥司他韦7种抗病毒类药物的残留量。经三氯乙酸和乙腈提取,通过混合型阳离子交换(mixed cation exchange, MCX)固相萃取柱净化,采用BHE Amide色谱柱,通过MS进行检测,检出限为1.0 µg/kg。

杨旭等^[33]通过比较盐酸/乙腈、乙酸/乙腈、甲酸/乙腈和三氯乙酸/乙腈4种提取溶剂及C₁₈、强阳离子交换(strong cation exchange, SCX)、HR-XC阳离子交换和MCX 4种固相萃取柱净化方式,以待测物的回收率为依据,最终选择乙腈/0.2 mol/L盐酸溶液为提取溶剂,MCX固相萃取柱为净化方式,测定鸡肉中阿昔洛韦、奥司他韦、扎那米韦、拉米夫定、阿比朵尔、金刚烷胺、金刚乙胺、咪喹莫特8种抗病毒类药物的残留量,回收率为76.4%~95.7%,检出限小于1.0 µg/kg;常平等^[21]采用超声波辅助溶剂萃取法,以甲醇/1%三氯乙酸为提取剂萃取鸡肉中的金刚烷胺的残留量,经MCX固相萃取柱净化浓缩,进行LC-MS测定,回收率为89.7%~101.4%,检出限为0.07 µg/kg;陈燕等^[22]也通过MCX固相萃取柱净化方式测定鸡肉中的金刚烷胺的残留量;云环等^[20]通过1%三氯乙酸溶液/乙腈溶液(1:1, V/V)提取,用SCX固相萃取柱净化,测定鸡肉中金刚烷胺和利巴韦林的残留量,定量限为4.0 µg/kg;Chan等^[34]亦采用了SCX固相萃取柱净化,用于测定家禽组织中的7种抗病毒类药物的残留量;孙海新等^[10]建立了以甲醇/1%甲酸溶液(1:1, V/V)为提取溶剂,经聚合物阳离子交换(polymer cation exchange, PCX)固相萃取柱净化,测定鸡蛋中金刚烷胺、金刚乙胺、利巴韦林和吗啉胍多残留量。固相萃取

方法能够净化基质、富集待测物、降低检出限、提高灵敏度,并且实验重复性好、回收率高,是目前分析检测中最常用的净化方法。

齐凯等^[23]依次用水、乙腈提取样品中的利巴韦林,离心后,在上清液中加入石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)和C₁₈进行分散固相萃取净化,溶液氮吹浓缩后,通过LC-MS法测定鸡肉和鸡肝中的利巴韦林残留量,方法回收率为83.5%~120.6%,鸡肉中利巴韦林的检出限为1.20 µg/kg,鸡肝中的检出限为1.54 µg/kg,该方法操作简便、准确快速,可用于日常分析检测中。

Mu Pengqian等^[35]通过优化QuEChERS(quick、easy、cheap、effective、rugged、safe)方法中的提取溶剂、吸附剂等样品处理条件,采用内标法,创建了分析鸡肉中的金刚烷胺、金刚乙胺、奥司他韦及其代谢物奥司他韦羧酸盐、美金刚、阿比朵尔、吗啉胍、阿昔洛韦、更昔洛韦、泛昔洛韦、喷昔洛韦、咪喹莫特、利巴韦林及其代谢物H-1,2,4-三氮-3-甲酰胺(TCONH₂)14种抗病毒类药物残留量的LC-MS/MS方法,其回收率为56.2%~113.4%,各化合物检出限范围为0.02~1.0.0 µg/kg。该方法操作相对简便,并且可以同时测定多种化合物,但其回收率偏低;Yan Hua等^[25]创建了利用QuEChERS净化方法测定鸡肉中的金刚烷胺和金刚乙胺残留量的LC-MS法。以1%乙酸/乙腈为提取溶剂,经MgSO₄和NaCl盐析,通过C₁₈吸附净化,最终浓缩上机检测,其金刚烷胺和金刚乙胺的检出限分别为1.02 µg/kg和0.67 µg/kg;李彦等^[30]用1%乙酸/乙腈溶液超声提取,经无水硫酸钠、C₁₈及N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)填料的净化,测定鸡肉中的金刚烷胺残留量,检出限为0.6 µg/kg,该法操作简便快捷,且准确度高。QuEChERS方法是由分散固相萃取法演变而来,其原理是样品经有机溶剂提取,经盐析分层后,再进行分散固相萃取,从而达到净化的目的,其操作简便快速、价格低廉、有机溶剂消耗少,因此在食品分析检测方面的应用也越来越广。

尹晖等^[17]利用一种更为简便的净化方式——乙腈饱和的正己烷进行液液萃取来测定鸡肉和鸡蛋中金刚烷胺与金刚乙胺残留量,该方法的回收率为70%~120%;汤晓艳等^[18]通过甲醇/1%三氯乙酸溶液提取后,采用正己烷萃取的方式净化除脂,测定鸡蛋中的金刚烷胺残留量,该方法的检出限为2 µg/kg,回收率为88%~99.8%。液液萃取方法操作简便、回收率高,但由于食品基质复杂,该方法不能够应用于所有的基质样品,且净化效果远不如固相萃取及QuEChERS方法,在仪器检测过程中会有较为明显的基质干扰作用,因此,液液萃取方法在食品检测方向的应用较少。

此外,部分抗病毒类药物在生物体内会进行代谢作用,例如,利巴韦林会代谢为磷酸化利巴韦林。祝伟霞等^[24]利用酸性磷酸酶将磷酸化利巴韦林代谢物完全转化为利巴韦林原药,通过1%乙酸/乙腈的提取及C₁₈和PSA填料的分散固相萃取,经氨基色谱柱分离,进入MS检测。该方法能够准确地测定鸡肉中利巴韦林的代谢产物残留量,检出限为1.0 µg/kg。

艾连峰等^[36]建立了在线净化LC-MS/MS法测定肌肉、鸡蛋与牛乳中金刚烷胺残留量,样品通过简单的溶剂提取及离心过程,便直接取部分上清溶液,先经过在线PCX色谱柱的净化作用,用以富集待测化合物,洗脱杂质;再通过六通阀进行柱切换,用合适的流动相将富集在PCX色谱柱上的金刚烷胺洗脱至C₁₈分离色谱柱中进行分离,通过MS进行检测。该方法的回收率为83.3%~93.6%,牛乳的定量限为0.25 µg/kg;动物组织和鸡蛋的定量限为0.5 µg/kg。此方法通过在线净化装置便可对样品直接进行测定,操作简便、省时省力。

2.5 毛细管电泳法

毛细管电泳是一类以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力的新型液相分离技术,具有分析速度快、分辨率高、稳定性好、消耗溶剂少等优点,可以作为LC的替代或互补技术。但由于其重现性差,使得分析结果的可靠性降低,从而制约了其在食品检测方面的广泛应用。

Reichová等^[37]创建了用于测定金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚残留量的毛细管电泳方法,首先分别单独测定这3个化合物,以含有5 mmol/L甲基苄胺的乙醇/水(1:4, V/V)为电解液,在紫外波长210 nm处,检出限为0.35 mg/L;此外通过在流动相中加入 α -或 β -环糊精与待测物形成络合物,从而进行基线分离。Laborde-Kummer等^[38]用毛细管电泳法测定了市售胶囊中奥司他韦的含量,该方法分析时长为1.5 min,具有选择性高、准确度高、分析时间短等优点,检出限与定量限分别为0.97 µg/mL与3.24 µg/mL。

3 光谱法

3.1 分光光度法

分光光度法是通过测定被测物质在特定波长处或一定波长范围内的吸光度或发光强度,对其进行定性和定量分析的方法,具有应用广泛、选择性好、灵敏度高、分析成本低等优点。

Rizk等^[39]于2003年提出用紫外分光光度计定量测定含有伯胺基团的药物——盐酸金刚烷胺、苯环丙胺硫酸盐和氨甲环酸,该过程主要是基于在乙腈溶液中, π 电子接受体——四氰乙烯与 n 电子供体——待测化合物(盐酸金刚烷胺、苯环丙胺硫酸盐和氨甲环酸)形成的电荷转移复合物在330 nm波长处有最大吸收,该方法的回收率分别为(99.68±0.92)%、(100.3±0.75)%、

(99.8±0.76)%; Raut等^[40]通过紫外分光光度计于280.5 nm波长处准确测定奥司他韦的含量,奥司他韦质量浓度在4~24 µg/mL范围内符合比尔定律,该法操作简便、灵敏度高,检测限为0.342 µg/mL; Mustafa等^[41]利用阿昔洛韦在pH 9.0的硼酸钠缓冲溶液中与2价铜离子形成的络合物于290 nm波长处有最大吸光度,在非水介质吡啶/甲醇(1:99, V/V)中与钴(II)反应得到的络合物在287 nm波长处有较强吸收,从而测定阿昔洛韦的含量,其回收率分别为99.32%和98.77%;此外金刚烷胺在pH 3.0的条件下可与3价铁形成络合物,在295 nm波长处测定其吸光度可用于准确定量。

3.2 近红外光谱技术

近红外光谱(near infrared spectroscopy, NIR)是一种非破坏性的样品定量分析技术,具有快速、操作简单、样品少、不消耗化学试剂、不污染环境等优点,近来越来越受到人们的关注。

Dou Ying等^[42]利用NIR鉴别金刚烷胺,并创建人工神经网络模型进行定量,通过不断优化参数设定,最终该方法可以准确测定金刚烷胺的含量; Titova等^[43]也建立了NIR法用于测定金刚烷胺的含量。

然而创建近红外方法过程中需采用大量有代表性的样品进行建模,并且该模型需要根据测定的样品不断地进行维护改进,无形中增加了工作量;此外,若参比方法精度不够,则NIR测定的结果也会产生偏差。因此目前NIR方法在食品安全检测方面还未得到广泛应用。

4 电化学传感器检测法

电化学传感器是由能够与被测组分某种化学性质相关电信号的敏感元件所构成的,其操作简便、反应迅速、测定准确,可用于日常监督检测中。

Salem等^[44]基于修饰碳糊和石墨涂层的离子选择性电极制备电化学传感器,用于测定药物及人尿样中的金刚烷胺和吗啡的质量浓度,分别考察了膜的成分、均匀性及增稠剂类型等的影响,其新电极所测定的检出限为0.19~2.08 µg/mL,该电极制备简单、使用方便,并且成本低,可以用于实际样品中金刚烷胺和吗啡的含量测定;此外Jalali等^[45]用 β -环糊精修饰的碳电极测定药物中金刚烷胺的含量,在优化的pH 4.0的醋酸盐缓冲溶液中,该电极的检出限为 6.3×10^{-10} mol/L,回收率为94%,相对标准偏差为0.68%,且电极的使用寿命长达3个月,该法反应灵敏、操作简便。

5 芯片法

芯片法操作快速简便,可进行高通量测定,是未来快速、高通量检测方法的研究热点之一。蔡自由等^[46]在

2011年首次提出通过微流控芯片来测定片剂中的金刚烷胺含量。该方法以聚甲基丙烯酸甲酯十字型芯片上的微通道为分离通道,在高压直流电场的驱动下,通过非接触电导检测器进行检测,所测得的检出限为0.6 mg/L,加标回收率为97%~98%。该方法消除了电极污染,降低了背景噪音,提高了检测灵敏度、稳定性和重复性。

6 结 语

自“速成鸡”事件以来,抗病毒类药物的滥用再次引起了广泛关注,进而针对食品中抗病毒类药物残留检测方法的研究再次成为热点,其中应用最广的便是LC-MS/MS法,该方法操作简便、灵敏度高、准确性好,是当前食品检测行业的主流方法,然而该方法在检测过程中需要大型精密仪器且检测费用昂贵,不适合执法部门的市场监管及企业的内部自检,因此需要创建更简便快速、高通量的检测方法,例如ELISA试剂盒、高通量芯片、传感器等,这些或许会成为将来分析检测发展的主要方向之一。

参考文献:

- [1] 艾美. 禽流感疫情大事年表[J]. 生命与灾害, 2015(3): 13.
- [2] DONG G Y, PENG C, LUO J, et al. Adamantane-resistant influenza A viruses in the world (1902-2013): frequency and distribution of M2 gene mutations[J]. PLoS ONE, 2015, 10(3): 1-20. DOI:10.1371/journal.pone.0119115.
- [3] DURRANT M G, EGGETT D L, BUSATH D D, et al. Investigation of a recent rise of dual amantadine-resistance mutations in the influenza A M2 sequence[J]. BMC Genet, 2015, 16(Suppl 2): 1-9. DOI:10.1186/1471-2156-16-S2-S3.
- [4] 农业部. 兽药地方标准废止目录[A]. (2005-11-01)[2016-12-18]. http://www.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/200511/20051117_496523.htm.
- [5] UPIC V C, DOBRIC S, ANTONIJEVIC B, et al. The significance of rational use of drugs in veterinary medicine for food safety[J]. Meat Technology, 2011, 52(1): 74-79.
- [6] 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.
- [7] 蒋佳颖, 王一成, 杨孝朴, 等. 双抗体夹心ELISA法测定猪 α -干扰素的浓度[J]. 浙江农业学报, 2015, 27(5): 740-745. DOI:10.3969/j.issn.1004-1524.2015.05.06.
- [8] FARAJZADEH M A, NOURI N, NABIL A A A. Determination of amantadine in biological fluids using simultaneous derivatization and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-flame ionization detection[J]. Journal of Chromatography B, 2013, 940(4): 142-149. DOI:10.1016/j.jchromb.2013.09.035.
- [9] 楼永军, 陈爽, 陶巧凤. 毛细管柱气相色谱法测定盐酸金刚烷胺有关物质[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 493-495.
- [10] HEROLD D A, ANONICK P K, KINTER M, et al. Measurement of rimantadine in plasma by capillary gas chromatography/mass spectrometry with a deuterium-labeled internal standard[J]. Clinical Chemistry, 1988, 34(8): 1597-1599.
- [11] HAGGAG R S, BELAL S F, HEWALA I I, et al. Stability-indicating HPLC-DAD determination of ribavirin in capsules and plasma[J]. Journal of Chromatographic Science, 2014, 52(6): 493-500. DOI:10.1093/chromsci/bmt067.
- [12] DAO Yijun, JIAO Zheng, ZHONG Mingkang. Simultaneous determination of aciclovir, ganciclovir, and penciclovir in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of Chromatography B, 2008, 867(2): 270-276. DOI:10.1016/j.jchromb.2008.04.022.
- [13] 孙丽红, 董吉, 缪丽燕. 高效液相色谱-荧光检测法测定人血浆中阿昔洛韦的浓度[J]. 中国临床药理学杂志, 2013, 29(3): 219-221.
- [14] JING Shaojun, LI Qinglian, JIANG Ye. A new simultaneous derivatization and microextraction method for the determination of memantine hydrochloride in human plasma[J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1008: 26-31. DOI:10.1016/j.jchromb.2015.09.016.
- [15] CUI Shuangjin, FENG Fang, LIU Han, et al. New method for high-performance liquid chromatographic determination of amantadine and its analogues in rat plasma[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 44(5): 1100-1105. DOI:10.1016/j.jpba.2007.04.021.
- [16] 孙海新, 许娜, 张慧, 等. 鸡蛋中金刚烷胺、金刚乙胺、利巴韦林和吗啉胍残留检测方法的研究[J]. 中国家禽, 2015, 37(23): 22-26. DOI:10.16372/j.issn.1004-6364.2015.23.005.
- [17] 尹晖, 孙雷, 毕言锋, 等. 鸡肉和鸡蛋中金刚烷胺与金刚乙胺残留检测UPLC-MS/MS法研究[J]. 中国兽药杂志, 2014, 48(6): 32-35.
- [18] 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. DOI:10.16429/j.1009-7848.2014.09.005.
- [19] TSURUOKA Y, NAKAJIMA T, HASHIMOTO T, et al. Determination of amantadine in poultry tissues and egg by LC-MS/MS[J]. Journal of the Food Hygienic Society of Japan, 2015, 56(3): 83-87. DOI:10.3358/shokueishi.56.83.
- [20] 云环, 崔凤云, 严华, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉中的利巴韦林和金刚烷胺[J]. 色谱, 2013, 31(8): 724-728. DOI:10.3724/SP.J.1123.2013.01023.
- [21] 常平平, 许春南, 张立新, 等. 鸡肉中金刚烷胺超高效液相色谱-电喷雾串联质谱检测方法的建立及阳性样品的制备[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(9): 2278-2285. DOI:10.16431/j.cnki.1671-7236.2015.09.009.
- [22] 陈燕, 李晓雯, 王柯, 等. 液相色谱-串联质谱法检测鸡肉中金刚烷胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(2): 408-414.
- [23] 齐凯, 汤晓艳, 陶瑞, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测鸡肉和鸡肝中抗病毒药物利巴韦林残留[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 146-150. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201620024.
- [24] 祝伟霞, 杨冀州, 袁萍, 等. 超高效亲水色谱-串联质谱法快速检测鸡肉及其制品中的利巴韦林及其代谢物的总残留量[J]. 色谱, 2013, 31(10): 934-938. DOI:10.3724/SP.J.1123.2013.01048.
- [25] YAN Hua, LIU Xin, CUI Fengyun, et al. Determination of amantadine and rimantadine in chicken muscle by QuEChERS pretreatment method and UHPLC coupled with LTQ Orbitrap mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2013, 938(9): 8-13. DOI:10.1016/j.jchromb.2013.08.020.
- [26] WU Yinliang, CHEN Ruoxia, XUE Yi, et al. Simultaneous determination of amantadine, rimantadine and memantine in chicken muscle using multi-walled carbon nanotubes as a reversed-dispersive solid phase extraction sorbent[J]. Journal of Chromatography B, 2014, 965: 197-205. DOI:10.1016/j.jchromb.2014.06.038.
- [27] 魏秀丽, 高迎春, 陈玲, 等. 超高效液相-串联质谱法测定鸡肉组织中金刚烷胺残留[J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(6): 53-55.

- [28] 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. DOI:10.3724/SP.J.1123.2012.07038.
- [29] 陈慧华, 韦敏珏, 周炜, 等. 液相色谱-串联质谱法测定动物组织中金刚烷胺和金刚乙胺的残留量[J]. 质谱学报, 2013, 34(4): 226-232. DOI:10.7538/zpxb.2013.34.04.0226.
- [30] 李彦, 关丽丽, 牟妍, 等. QuEChERS-UPLC-MS/MS检测畜禽组织中金刚烷胺残留[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(23): 37-40. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2013.23.010.
- [31] 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.
- [32] 国家质量监督检验检疫局. 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: SN/T 4253-2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015: 1-22.
- [33] 杨旭, 刘正才, 杨方, 等. 固相萃取UPLC-MS/MS法同时检测鸡肉中8种抗病毒药物的残留量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(3): 513-521. DOI:10.16155/j.0254-1793.2016.03.19.
- [34] CHAN D, TARBIN J, SHARMAN M, et al. Screening method for the analysis of antiviral drugs in poultry tissues using zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 700(1): 194-200. DOI:10.1016/j.aca.2010.11.015.
- [35] MU Pengqian, XU Nana, CHAI Tingting, et al. Simultaneous determination of 14 antiviral drugs and relevant metabolites in chicken muscle by UPLC-MS/MS after QuEChERS preparation[J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1023/1024: 17-23. DOI:10.1016/j.jchromb.2016.04.036.
- [36] 艾连峰, 马育松, 陈瑞春, 等. 在线净化液相色谱串联质谱法测定动物源食品中金刚烷胺的残留[J]. 分析化学, 2013, 41(8): 1194-1198. DOI:10.3724/SP.J.1096.2013.30047.
- [37] REICHOVÁ N, PAZOUREK J, POLÁSKOVÁ P, et al. Electrophoretic behavior of adamantane derivatives possessing antiviral activity and their determination by capillary zone electrophoresis with indirect detection[J]. Electrophoresis, 2002, 23(2): 259-262. DOI:10.1002/1522-2683(200202)23:2<259::AID-ELPS259>3.0.CO;2-U.
- [38] LABORDE-KUMMER E, GAUDIN K, JOSEPH-CHARLES J, et al. Development and validation of a rapid capillary electrophoresis method for the determination of oseltamivir phosphate in Tamiflu® and generic versions[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2009, 50(3): 544-546.
- [39] RIZK M S, TOUBAR S S, SULTAN M A, et al. Ultraviolet spectrophotometric determination of primary amine-containing drugs via their charge-transfer complexes with tetracyanoethylene[J]. Microchimica Acta, 2003, 143(4): 281-285. DOI:10.1007/s00604-003-0035-z.
- [40] RAUT C S, GHARGE A D S, DHABALEA P N, et al. Development and validation of oseltamivir phosphate in fluvir® by UV-spectrophotometer[J]. International Journal of Pharm Tech Research, 2010, 2(1): 363-366.
- [41] MUSTAFA A A, ABDEL-FATTAH S A, TOUBAR S S, et al. Spectrophotometric determination of acyclovir and amantadine hydrochloride through metals complexation[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2004, 59(1): 33-38. DOI:10.1023/B:JANC.0000011665.20059.4f.
- [42] DOU Ying, SUN Ying, REN Yuqiu, et al. Simultaneous non-destructive determination of two components of combined paracetamol and amantadine hydrochloride in tablets and powder by NIR spectroscopy and artificial neural networks[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005, 37(3): 543-549. DOI:10.1046/j.1365-2222.1999.00519.x.
- [43] TITOVA A V, ARZAMASTSEV A P, GRETSKII S V. Analysis of rimantadine hydrochloride by near-IR spectroscopy[J]. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2009, 43(9): 534-537. DOI:10.1007/s11094-009-0344-6.
- [44] SALEM A A. Modified carbon paste versus graphite coated ion selective electrodes for the determination of amantadine and moroxydine hydrochlorides in pharmaceutical and urine samples[J]. Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy, 2005, 50(3): 147-158.
- [45] JALALI F, MAGHOOLI R. Potentiometric determination of trace amounts of amantadine using a modified carbon-paste electrode[J]. Analytical Sciences, 2009, 25(10): 1227-1230. DOI:10.2116/analsci.25.1227.
- [46] 蔡自由, 李永冲, 童艳丽, 等. 微流控芯片测定盐酸金刚烷胺片中的盐酸金刚烷胺[J]. 分析测试学报, 2011, 30(4): 453-456. DOI:10.969/j.issn.1004-4957.2011.04.020.