DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260227003
引用格式: 陈璐, 周勇, 罗海军, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定贝类中抗病毒药物及其风险评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(11): 139–147.
CHEN L, ZHOU Y, LUO HJ, *et al*. Determination of antiviral drugs in shellfish by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its risk assessment [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(11): 139–147. (in Chinese with English abstract).

超高效液相色谱-串联质谱法测定贝类中抗病毒药物及其风险评估

陈 璐[1,2,3], 周 勇[2,3], 罗海军[2,3], 吴益春[2,3], 彭东昱[2,3], 丁佳洁[2,3*]

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 舟山 316022; 2. 舟山市食品药品检验检测研究院, 舟山 316000; 3. 舟山市食品药品质量评价与风险防控重点实验室, 舟山 316000)

摘 要: 目的 建立了超高效液相色谱-串联质谱法测定贝类及贝类干制品中 12 种抗病毒类药物(antiviral drugs, ATVs)的方法。**方法** 样品经含有 1%甲酸乙腈溶液提取, FaVEx-NM50 多兽残检测净化柱-净化除杂, 水浴氮吹浓缩, 复溶液定容后制备成样液备检。样液经 ZORBAX Eclipse Plus C_{18}-色谱柱进行分离, 以含乙腈甲醇(80:20, *V*:*V*, 含 0.1%甲酸)-5 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)溶液作为流动相梯度洗脱, 采用超高效液相色谱-串联质谱法-多反应监测模式分析检测, 内标法定量。**结果** 12 种目标化合物在一定质量浓度范围内线性关系良好, 检出限及回收率等均满足检测需求。其中, 标准曲线相关系数(*r*)为 0.9931~0.9997, 检出限为 0.07~1.50 μg/kg, 定量限为 0.14~3.00 μg/kg。3 个添加水平(*n*=6)下贻贝基质的平均回收率为 66.7%~106.2%, 相对标准偏差为 1.0%~11.6%, 干贝基质的平均回收率为 69.1%~109.5%, 相对标准偏差为 0.9%~10.3%。同时, 采购了 161 批次贝类及贝类干制品, 并用该方法对样品中的目标化合物进行了分析, 结果显示 37 批次样品检出金刚烷胺。结合膳食数据和人群数据, 进行了金刚烷胺残留的膳食暴露风险评估, 结果表明当前的金刚烷胺残留贝类对人体健康影响较小。**结论** 该方法灵敏度高, 准确性好, 前处理过程简单、快速, 适用于开展贝类中 ATVs 残留的检测。

关键词: 抗病毒药物; 超高效液相色谱-串联质谱法; 贝类及贝类干制品; 风险评估

Determination of antiviral drugs in shellfish by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its risk assessment

CHEN Lu[1,2,3], ZHOU Yong[2,3], LUO Hai-Jun[2,3], WU Yi-Chun[2,3], PENG Dong-Yu[2,3], DING Jia-Jie[2,3*]

(1. *School of Food and Pharmacy*, *Zhejiang Ocean University*, *Zhoushan* 316022, *China*; 2. *Zhoushan Food and Drug Inspection and Testing Research Institute*, *Zhoushan* 316000, *China*; 3. *Zhoushan Key Laboratory of Food and Drug Quality Evaluation and Risk Prevention and Control*, *Zhoushan* 316000, *China*)

收稿日期: 2026-02-27
基金项目: 浙江省市场监督管理局青年项目(QN2025054); 舟山市市级应用技术研究项目(2026C31075)
第一作者: 陈璐(1990—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: Elolachen@126.com
***通信作者:** 丁佳洁(1993—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 704793718@qq.com

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 12 kinds of antiviral drugs (ATVs) in shellfish and dried shellfish products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** Samples were extracted with acetonitrile containing 1% formic acid, purified using FaVEx-NM50 multi-veterinary drug residue clean-up columns, concentrated under nitrogen in a water bath, and reconstituted with a redissolving solution to obtain the test solution. The analytes were separated on a ZORBAX Eclipse Plus C_{18} column using gradient elution with a mobile phase consisting of acetonitrile-methanol (80:20, *V*:*V*, containing 0.1% formic acid) and 5 mmol/L ammonium acetate (containing 0.1% formic acid). Detection was carried out by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry in multiple reaction monitoring mode, and quantification was performed using the internal standard method. **Results** The 12 kinds of target compounds showed good linearity over certain concentration ranges, and the limits of detection and recoveries met the requirements. The correlation coefficients (*r*) of the calibration curves ranged from 0.9931 to 0.9997, limits of detection were 0.07–1.50 μg/kg, and limits of quantitation were 0.14–3.00 μg/kg. At 3 spiked levels (*n*=6), the average recoveries in mussel matrix ranged from 66.7% to 106.2% with relative standard deviations of 1.0%–11.6%, while in dried scallop matrix the average recoveries ranged from 69.1% to 109.5% with relative standard deviations of 0.9%–10.3%. Meanwhile, 161 batches of shellfish and dried shellfish products were purchased and analyzed for the target compounds using this method. The results showed that amantadine was detected in 37 batches. A dietary exposure risk assessment of amantadine residues was conducted by combining the residue data with dietary consumption and population data. The assessment indicated that the current amantadine residues in shellfish posed a low risk to human health. **Conclusion** The method is sensitive, accurate, simple and rapid in sample pretreatment, making it suitable for the determination of ATVs residues in shellfish.

KEY WORDS: antiviral drugs; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; shellfish and dried shellfish products; risk assessment

0 引 言

近年来, 全球范围内新冠病毒、甲型与乙型流感病毒、腺病毒等多种病原体相继流行, 金刚烷胺等抗病毒类药物(antiviral drugs, ATVs)在人类医疗与动物疫病防控中的应用规模持续扩大, 广泛用于预防和治疗病毒感染, 在降低发病率和死亡率方面发挥了关键作用[1−2]。然而, 随着使用量的不断增加, ATVs 在环境与食品中的残留问题日益凸显[3−6], 不仅可能引发病毒耐药性的产生与传播, 也给生态系统和食品安全带来了新的挑战。这些 ATVs 主要通过工业生产排放、人体代谢、医疗与生活垃圾的不当处理等多种途径进入环境。它们在土壤、水体中逐渐积累, 部分药物难以被常规污水处理工艺完全去除, 进而进入农作物种植与水产养殖系统, 通过食物链逐步富集, 最终可能传递至人体[7]。长期低剂量接触残留的 ATVs, 可能会干扰人体正常的生理机能, 影响肠道菌群平衡, 甚至潜在促进耐药基因在环境微生物与人体菌群间的转移, 进一步加剧公共卫生风险[8−10]。此外, ATVs 在环境中的持续存在也对非目标生物构成潜在威胁, 可能影响水生生物的生长繁殖、行为模式及种群结构, 破坏生态平衡[11−12]。贝类是全球重要的养殖和捕捞对象, 味道鲜美, 营养价值高。贝类作为滤食性动物, 具有很强的生物富集能力[13−14], 由于部分 ATVs 可长期稳定在水环境中存在, 极易导致贝类中 ATVs 残留蓄积。虽然各国已经严格限制 ATVs 的使用, 比如我国农业部公告第 560 号《兽药地方标准废止目录》[15]规定, 金刚烷胺、金刚乙胺等人用抗病毒药移植兽用, 缺乏科学规范、安全有效实验数据, 用于动物病毒性疫病不符合安全有效审批原则, 予以废止, 2025 年 1 月 22 日,《流行性感冒诊疗方案(2025 年版)》[16]M2 离子通道阻滞剂(包括药物金刚烷胺和金刚乙胺)对目前流行的流感病毒株耐药, 不建议使用, 删除 2020 年版的金刚烷胺和金刚乙胺, 但是其在水、沉积物、生物体等基质中仍不断被检出。

目前我国现行的抗病毒药物检测标准有 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》, GB 31660.5—2019《食品安全国家标准 动物性食品中金刚烷胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》, GB 31657.5—2025《食品安全国家标准 蜂产品中 4 种抗病毒类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》等, 抗病毒药物的测定一般采用液相色谱-串联质谱法, 固相萃取净化[17−18], 检测对象以畜禽产品[19−23]、水产品(鱼、虾、中华鳖、海带)[24−25]、牛奶[26]和蜂蜜[27]为主, 但在日常检测中发现前处理耗时较长, 且现有标准及相关研究少有对贝

类及贝类干制品中 ATVs 的检测方法。因此研究高效、便捷的贝类中抗病毒药物残留的检测方法和抗病毒药物污染十分必要。本研究基于通过式固相萃取净化技术, 结合超高效液相色谱-串联质谱法同时快速测定贝类中 12 种 ATVs, 拟为水产品质量安全及防控提供科学依据和技术支撑, 为海洋经济产业健康发展提供技术保障。

1　材料与方法

1.1　仪器与试剂

1.1.1　仪器与设备

G6495D 三重四级杆色谱质谱联用仪、ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 1.8 μm)(美国安捷伦公司); FaVEx-NM50 多种兽药残留检测净化柱(巨研科技股份有限公司); H20-I-2-TOC-T 超纯水机、BSA224S-CW 电子天平(精度 0.1 mg, 德国赛多利斯科学仪器有限公司); 5920R 离心机(德国艾本德股份公司); JXFSTPRP-192CL 高速冷冻研磨均质仪(上海净信实业发展有限公司); CSE-01 恒速压注萃取机(巨研科研股份有限公司); N-EVAPTM11 氮吹仪(美国 Organomation 公司)。

1.1.2　材料与试剂

贻贝、蛤蜊、蛏子及贝类干制品等贝类样本于 2025 年 4—12 月购自浙江省沿海城市舟山、宁波和台州的养殖基地、农贸市场及超市等。

12 种目标 ATVs 标准品[扎那米韦、喷昔洛韦、拉米夫定、泛昔洛韦、阿比多尔、金刚烷胺、咪喹莫特、奥司他韦、美金刚、阿昔洛韦、金刚乙胺、吗啉胍(纯度≥98.0%)、阿昔洛韦-D_4、金刚烷胺-D_{15}、拉米夫定-^{13}C,D_2、奥司他韦-D_3、喷昔洛韦-D_4、金刚乙胺-D_4、美金刚-D_6(纯度≥95.7%)](天津阿尔塔科技有限公司); 乙腈、甲醇(色谱纯, 德国默克科技公司); 甲酸、乙酸铵(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 实验用水为超纯水(18.2 MΩ • cm)。

1.1.3　标准溶液配制

用甲醇稀释标准储备液, 配制成质量浓度为 100 ng/mL 的混合标准工作液; 用甲醇稀释同位素内标储备液, 配制成质量浓度为 100 ng/mL 的同位素内标混合工作液, 临用现配。

1.2　样品的制备

将贻贝、蛤蜊等新鲜贝类及干贝、贻贝干等贝类干制品按 GB/T 30891—2014《水产品抽样规范》要求制样, 收集于样品盒中, –18 ℃避光密封保存。

1.3　贝类样品的提取与净化

1.3.1　提　取

准确称取 2 g(精确至 0.01 g)样品, 置于 50 mL 离心管中, 加入 50 μL 混合内标工作液, 加入 5 g 无水硫酸钠(贝类干制品不加), 加入 10 mL 1%甲酸乙腈(1:99, *V*:*V*), 离心管于研磨均质器内振荡 1 min, 4 ℃下 6000 r/min 离心 5 min。待净化。

1.3.2　净　化

吸取全部上清液通过恒速压注萃取机过 FaVEx-NM50 多种兽药残留检测净化柱, 净化柱底端加 0.22 μm 针式聚四氟乙烯滤膜过滤, 收集流出液, 流出液在 45 ℃下氮气吹干, 残余物中加入乙腈-0.1%甲酸溶液(10:90, *V*:*V*) 1.0 mL, 充分溶解, 供超高效液相色谱-串联质谱仪测定。

1.4　仪器条件

1.4.1　色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 1.8 μm); 柱温: 35 ℃; 进样体积: 5 μL; 流速: 0.3 mL/min; 流动相梯度: A 为 5 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)溶液, B 为乙腈甲醇(80:20, *V*:*V*, 含 0.1%甲酸)。流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1　流动相洗脱梯度

Table 1　Mobile phase elution gradients

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.300	98.00	2.00
4.00	0.300	10.00	90.0
8.00	0.300	10.00	90.0
9.50	0.300	98.00	2.00
12.0	0.300	98.00	2.00

1.4.2　质谱条件

离子源: 电喷雾离子源, 扫描类型: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM), 扫描模式: 正离子模式; 雾化器压力: 35 psi; 干燥气温度: 320 ℃, 干燥气流量: 13 L/min; 鞘气温度: 350 ℃, 鞘气流速: 11 L/min; 毛细管电压: 正离子 3000 V; 喷嘴电压: 1500 V。12 种 ATVs 及同位素内标的质谱参数见表 2。

1.5　贝类中金刚烷胺污染的膳食健康风险

依据污染物对人体健康影响的性质, 可将其风险划分为非致癌性与致癌性两类。其中, 非致癌性风险通常通过危害商(hazard quotient, HQ)进行量化评估[28], 其计算方式为个体长期日均暴露剂量与对应参考剂量(reference doses, RfD)的比值; 该类效应具有阈值特征, 即仅当暴露水平超过特定临界值时, 才可能引发可观测的不良健康效应。本研究聚焦于通过食用贝类这一单一暴露途径所引发的健康风险: 对于非致癌效应, 以危害商作为评价指标, 若 HQ<1, 则表明金刚烷胺在此暴露情景下对人群不构成显著健康威胁。计算见式(1):

$$\mathrm{EDI}=\frac{C\times \mathrm{CR}}{\mathrm{BW}} \tag{1}$$

表 2 12 种 ATVs 质谱参数

Table 2 Mass spectral parameters of 12 kinds of ATVs

序号	化合物	英文全称	缩写	特征离子对 (*m*/*z*)	保留时间 /min	碰撞能量 /V	同位素内标
1	扎那米韦	zanamivir	ZNV	333.2→60.0* 333.2→121.1	2.129	18, 35	OSTA-D_3
2	阿昔洛韦	acyclovir	ACV	226.0→152.0* 226.0→134.8	2.711	15, 35	ACV-D_4
3	喷昔洛韦	penciclovir	PCV	254.1→152.1* 254.1→135.1	2.729	20, 28	PCV-D_4
4	拉米夫定	lamivudine	3TC	230.1→112.0* 230.1→94.9	3.571	12, 40	3TC-$^{13}C,D_2$
5	金刚烷胺	adamantanamine	AMT	152.2→135.1* 152.2→107.0	4.224	30, 30	AMT-D_{15}
6	泛昔洛韦	famciclovir	FCV	322.0→136.0* 322.0→280.0	4.469	35, 20	RMT-D_4
7	咪喹莫特	imiquimod	IMQ	241.1→185.1* 241.1→168.0	4.845	30, 40	OSTA-D_3
8	奥司他韦	oseltamivir	OSTA	313.2→166.0* 313.2→224.9	4.758	20, 10	OSTA-D_3
9	美金刚	memantine	MEM	180.1→163.1* 180.1→107.0	4.853	15, 30	MEM-D_6
10	金刚乙胺	rimantadine	RMT	180.2→163.1* 18.02→121.1	4.838	20, 30	RMT-D_4
11	阿比多尔	arbidol	ARB	477.1→431.9* 477.1→279.0	5.953	20, 40	AMT-D_{15}
12	吗啉胍	moroxydine	ABOB	172.1→113.0* 172.1→84.9	2.706	22, 20	OSTA-D_3
13	阿昔洛韦-D_4	acyclovir-D_4	ACV-D_4	230.0→152.0*	2.711	10	/
14	金刚烷胺-D_{15}	adamantanamine-D_{15}	AMT-D_{15}	167.0→150.0*	4.224	20	/
15	拉米夫定-$^{13}C,D_2$	lamivudine-$^{13}C,D_2$	3TC-$^{13}C,D_2$	233.0→112.9*	3.571	10	/
16	奥司他韦-D_3	oseltamivir-D_3	OSTA-D_3	316.2→167.0*	4.758	20	/
17	喷昔洛韦-D_4	penciclovir-D_4	PCV-D_4	258.2→135.1*	2.729	40	/
18	金刚乙胺-D_4	rimantadine-D_4	RMT-D_4	184.1→166.3*	4.830	20	/
19	美金刚-D_6	memantine-D_6	MEM-D_6	186.2→169.2*	4.845	15	/

注: *表示定量离子, /表示 13~19 为内标物。

式中: EDI 为居民每日暴露量(daily exposure of residents), μg/(kg·d); *C* 为贝类中金刚烷胺测定含量, mg/kg; CR 为贝类日均摄入量(daily average intake), g/d; BW 为居民体重(body wight), kg。查阅参考《中国人群暴露手册(成人卷)》和《中国人群暴露手册(儿童卷)》得到不同年龄段的膳食消费量和体质量数据, 得出浙江省成人居民海产品日均摄入量为 120.7 g/d[29], 浙江省 12~15 岁儿童海产品日均摄入量为 50.6 g/d[30], 成人居民平均体重为 62.5 kg, 12~15 岁儿童平均体重为 45.9 kg。非致癌健康风险分析计算见公式(2):

$$HQ=\frac{EDI}{RfD} \quad (2)$$

式中: HQ 为有毒物质非致癌风险指数, 当 HQ>1 时存在健康风险, HQ<1 时, 可认为金刚烷胺对暴露人群无明显的健康风险。金刚烷胺每日允许摄入量值未查到, 参考类似药物, 暂用 0.01 mg/kg bw[11,31]。

1.6 数据处理

数据采用 Agilent Masshunter. Quantitative Analysis 12.1 软件分析, 采用 WPS 表格(12.1.0.26895)处理回收率、相对标准偏差等试验数据, 采用 Origin 2025 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 前处理条件优化

2.1.1 提取液的选择

由于贝类样品尤其贝类干制品蛋白质含量可高达 60%以上的基质特性, 提取液选择以能沉淀蛋白, 降低基质效应(matrix effect, ME)为主, 选取 1%甲酸乙腈(1:99, *V*:*V*)和 0.15 mol/L EDTA-2Na 溶液-1%甲酸乙腈/甲醇(70:30, *V*:*V*)溶液(1:9, *V*:*V*)作为提取液, 比较各目标化合物的回收率(图 1), 结果表明, EDTA-2Na+1%甲酸乙腈+甲醇(70:30, *V*:*V*)溶液作为提取液时, FCV、IMQ 和 ABOB 药物的回收率存在低于 60%, ARB 未检出。选用 1%甲酸乙腈(1:99, *V*:*V*)作为提取液时, 回收率均有所提高, 所有待测药物回收率范围在 78.1%~105.5% 之间。由于贝类样品中的内源性成分易通过影响目标物的色谱分离过程或离子源内离子化效率, 引发显著的 ME, 而乙腈沉淀蛋白脂肪的作用更强。基于提取效率与基质抑制能力的综合评判, 选取 1%甲酸乙

腈(1:99, *V*:*V*)溶液作为提取溶液。

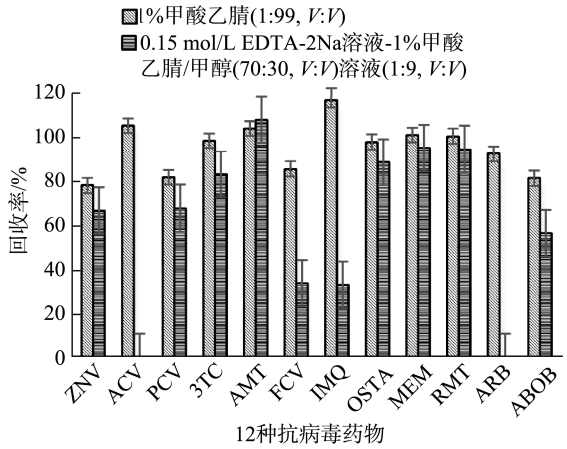


图 1　不同提取液的 12 种 ATVs 药物的回收率

Fig.1　Recoveries of the 12 kinds of ATVs drugs with different extraction solutions

2.1.2　净化柱的选择

FaVEx-NM50 多兽残检测净化柱通过“相似相溶”与离子交换双重机制实现高效净化。与填料极性相似的杂质会被填料吸附保留, 而目标化合物与填料的相互作用较弱, 能够顺利通过柱子。同时, 利用离子交换原理, 填料上的离子交换基团会与样品溶液中带相反电荷的杂质离子发生交换反应, 将杂质离子保留在填料上, 从而实现对目标物的净化。且 FaVEx-NM50 多兽残检测净化柱为通过型固相萃取方式, 操作简便、净化效率高、适用范围广、节省成本等优点。

本研究比较了 Oasis PRiME HLB 净化柱、Captive EMR-Lipid 净化柱、FaVEx-HP50 多兽残检测净化柱和 FaVEx-NM50 多兽残检测净化柱的净化效果。实验结果见图 2, 采用 Captive EMR-Lipid 固相萃取柱和 FaVEx-HP50 多兽残检测净化柱对目标化合物进行富集、洗脱后, ZNV 和 ACV 无法检出, 且个别化合物的回收率较低; Oasis PRiME HLB 净化柱对 ZNV、ACV 和 ABOB 存在吸附作用, 其化合物回收率均低于 60%, 无法满足标准要求。当采用 FaVEx-NM50 多兽药残留净化柱进行样品前处理时目标化合物的回收率稳定在 66.7%~117.8%, 整体表现优于其他净化方式。相较于传统方法, 其无需烦琐的活化、淋洗及洗脱步骤, 显著缩短了前处理周期, 同时降低了有机溶剂消耗量, 兼顾了分析准确性与实验效率, 因此本研究选择 FaVEx-NM50 多兽残检测净化柱。

2.2　色谱条件的优化

2.2.1　流动相的选择

本研究系统比较了两种流动相体系在 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱上的分离性能。流动相①: 乙腈甲醇(80:20, *V*:*V*, 含 0.1%甲酸)-5 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)溶液, 流动相②: 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵(含 0.1%甲酸)溶液。通过考察各目标化合物的峰形、对称性、保留行为及整体分离度, 结果显示流动相①显著提升色谱分离效果, 12 种目标化合物的色谱峰更窄、更对称, 且基线干扰更低(图 3)。因此, 本研究选择流动相①作为流动相体系。12 种 ATVs 总离子流图见图 4。

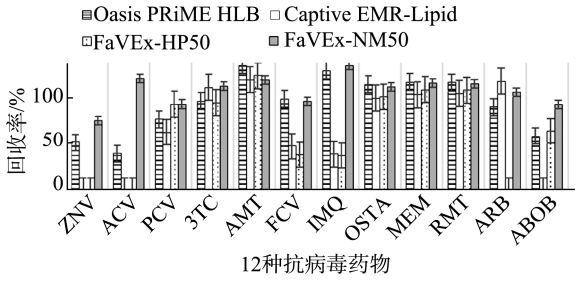


图 2　不同净化柱的 12 种 ATVs 药物的回收率

Fig.2　Recoveries of the 12 kinds of ATVs with different columns

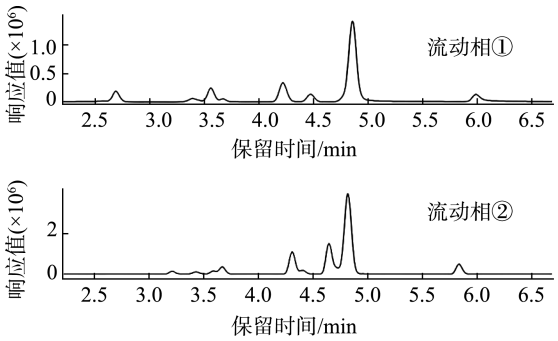


图 3　两种流动相分离效果比较

Fig.3　Comparison of separation performance of 2 kinds of mobile phases

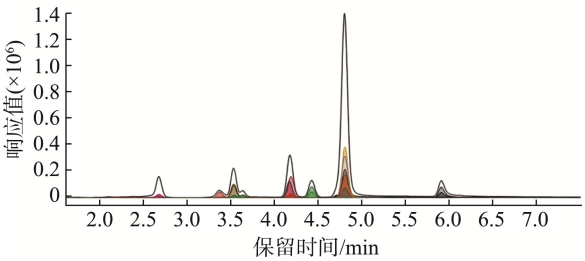


图 4　12 种 ATVs 的总离子流图

Fig.4　Total ion chromatogram of 12 kinds of ATVs

2.2.2　质谱条件的优化

为建立高灵敏度、高特异性的 MRM 定量分析方法, 对所有待测化合物的质谱检测条件进行系统优化。以 10%乙腈(0.1%甲酸)溶液为溶剂, 分别制备质量浓度均为 0.5 μg/mL 的标准工作液。采用直接进样方式, 对目标化合物进行全扫描模式质谱分析, 在电喷雾电离正模式下, 筛选出响应强度最优的准分子离子$[M+H]^+$, 并系统优化碰撞能量等关键质谱参数。筛选获得 2~3 个响应强度高、峰形良好、特异性强的特征子离子, 其中 1 个选定为定量离子, 1~2 个作为

定性确证离子。

2.3 基质效应的考察

为评估本方法在实际样品检测中的可靠性，系统考察了贝类复杂基质对目标 ATVs 测定可能产生的 ME。ME 通常以基质匹配标准品与溶剂标准品响应值的比值来量化，计算公式为 ME/%=(A2/A1)×100%，其中 A1 为纯溶剂配制目标化合物标准溶液的色谱峰面积，A2 为样品基质提取液添加相同浓度待测物标准溶液后的色谱峰面积。通常认为，如果 ME 高于–20%或者低于 20%，则信号增强或抑制是可接受的，反之，具有强的 ME。本研究通过制备贻贝空白样本的提取液，并添加已知浓度的目标分析物，制成基质匹配标准溶液，与相同浓度的纯溶剂标准溶液进行比较。结果表明，在优化的前处理与色谱条件下，所考察的 12 种 ATVs 呈现出不同程度的 ME。如图 5 所示 FCV、IMQ、ARB 和 ABOB 存在一定的基质抑制效应，大部分药物如 AMT、OSTA、MEM 等的 ME 较弱，说明本方法对其测定受基质干扰较小。为有效补偿 ME，确保定量的准确性，本研究最终采用基质匹配标准曲线进行校准。

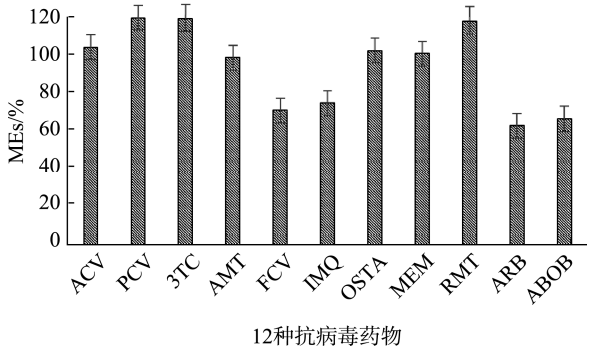


图 5 12 种 ATVs 在贻贝中的 MEs

Fig.5 MEs of 12 kinds of antiviral drugs in mussel

2.4 方法学验证

2.4.1 检出限、定量限和线性关系

采用空白基质样品(按 1.3 节所述方法前处理)配制基质匹配标准系列，用于构建加标校准曲线。12 种 ATVs 质量浓度梯度设为 0.25、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、20.00 和 50.00 ng/mL；同位素内标物在各点中的统一质量浓度为 5.0 ng/mL。以各目标分析物在基质中的理论添加质量浓度为横坐标(X，ng/mL)，以其对应色谱峰面积与相应内标峰面积的比值为纵坐标(Y)，进行线性回归拟合。结果显示，12 种 ATVs 在校准质量浓度范围 0.25~50.00 ng/mL 内均呈现优异的线性响应，标准曲线相关系数(r)为 0.9931~0.9997，均大于 0.99，满足定量分析要求。

按照标准 GB/T 27417—2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》，以空白标准偏差法计算检出限(limit of detection，LOD)和定量限(limit of quantitation，LOQ)，12 种目标化合物的 LODs 为 0.07~1.50 μg/kg，LOQs 为 0.14~3.00 μg/kg(表 3)。目前，我国现行标准 SN/T 4253—2015 中 ATVs 的 LOD 为 1.0 μg/kg，GB 31660.5—2019 中 LOD 为 1 μg/kg，LOQ 为 2 μg/kg，GB 31657.5—2025 中 4 种药物 LOD 为 0.3 μg/kg，LOQ 为 1 μg/kg。本研究的建立的 12 种 ATVs 检测方法符合国内标准要求。

2.4.2 灵敏度和精密度

选取空白鲜贝类(贻贝)和贝类干制品(干贝)样品开展 3 水平(低、中、高)加标实验。按 1.3 方法进行前处理，平行测定 6 次，测得 12 种 ATVs 的回收率及相对标准偏差。实验数据详见表 4，结果表明 12 种目标化合物的鲜贝类回收率范围为 66.7%~106.2%,相对标准偏差为 1.0%~11.6%。贝类干制品回收率范围为 69.1%~109.5%，相对标准偏差为 0.9%~10.3%。方法的灵敏度、精密度能够满足标准中的要求。

表 3 贝类中 12 种 ATVs 的线性范围、LODs 和 LOQs

Table 3 Linear ranges, LODs and LOQs of 12 kinds of antiviral drugs in shellfish

ATVs 名称	线性范围/(ng/mL)	LODs/(μg/kg)	LOQs/(μg/kg)	标准曲线	相关系数(r)
ZNV	0.25~50.00	1.50	3.00	Y=0.2468X–0.0327	0.9931
ACV	0.25~50.00	1.00	2.00	Y=0.9381X–0.0152	0.9985
PCV	0.25~50.00	0.38	0.76	Y=1.1599X–0.0488	0.9968
3TC	0.25~50.00	0.17	0.34	Y=0.9520X–0.00491	0.9988
AMT	0.25~50.00	0.36	0.72	Y=1.3116X–0.00856	0.9978
FCV	0.25~50.00	0.50	1.00	Y=46.287X+0.3542	0.9997
IMQ	0.25~50.00	0.23	0.46	Y=13.0249X–0.4473	0.9962
OSTA	0.25~50.00	0.11	0.22	Y=0.9676X–0.02288	0.9984
MEM	0.25~50.00	0.07	0.14	Y=2.7029X–0.1011	0.9968
RMT	0.25~50.00	0.10	0.20	Y=186.55X+2.0961	0.9997
ARB	0.25~50.00	0.35	0.70	Y=104848X–75251	0.9980
ABOB	0.25~50.00	0.28	0.56	Y=16203X+2313.9	0.9978

表 4　加标回收和精密度实验结果(n=6)
Table 4　Standard addition recovery and precision test results (n=6)

化合物	加标量/(μg/kg)	贻贝		干贝	
		平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
ZNV	3.00	66.7	11.6	69.1	8.4
	6.00	77.2	7.9	77.1	6.5
	30.0	80.2	5.3	82.7	5.4
ACV	2.50	86.5	6.9	90.8	4.5
	5.00	95.8	3.9	97.9	3.2
	10.00	96.3	5.3	92.3	3.2
PCV	1.00	93.7	9.4	92.4	8.7
	2.00	96.8	8.9	98.6	6.5
	10.00	95.1	8.1	96.7	6.6
AMT	1.00	96.9	2.2	102.9	2.1
	2.00	92.3	1.0	93.2	1.5
	10.00	103.5	4.1	101.9	2.8
FCV	1.00	105.6	8.2	109.5	7.8
	2.00	106.2	5.7	97.9	6.4
	10.00	101.2	7.4	87.3	7.8
IMQ	0.5	104.8	9.6	108.0	10.3
	1.00	105.5	7.4	109.2	8.4
	10.00	90.2	4.3	97.0	6.7
OSTA	0.5	106.1	3.9	104.0	4.0
	1.00	95.6	4.2	94.5	5.4
	10.00	100.5	2.1	104.9	0.9
MEM	0.5	101.4	3.2	102.6	5.4
	1.00	101.6	3.2	100.7	3.2
	10.00	94.9	1.9	95.5	1.1
RMT	0.5	101.1	5.8	101.2	7.8
	1.0	102.2	4.3	102.8	5.6
	10.0	99.8	1.3	89.1	3.4
ARB	1.0	70.0	8.9	75.2	7.6
	2.0	74.0	5.6	79.2	5.2
	10.0	85.4	6.1	88.1	5.9
ABOB	1.0	80.8	7.9	82.7	7.4
	2.0	89.4	6.7	88.1	8.2
	10.0	95.5	5.3	85.9	5.3

2.5　贝类产品中金刚烷胺的污染状况

应用本方法采购了 161 批次贝类及贝类干制品进行定量分析, 结果显示, 除金刚烷胺外, 其余项目均未检出。发现 37 批次样品中检出金刚烷胺, 金刚烷胺的检出率为 23.0%, 检出值范围为 1.30~9.63 μg/kg, 平均值为 4.12 μg/kg。依据农业部公告第 560 号规定的金刚烷胺为兽药地方标准废止目录项目, 37 批次样品均为风险样品, 如表 5 所示, 本次抽检样品中, 贻贝、蛤蜊中的金刚烷胺污染较为突出, 风险发现率为 3.1%~35.0%; 同时, 干贝、蛤蜊干和贻贝干中金刚烷胺检出比率较高, 风险发现率为 25.0%~66.7%; 蛏子及蛏子干中金刚烷胺均无检出样品, 其中蛤蜊和蛤蜊干中金刚烷胺平均含量明显高于其他样品。

2.6　检测结果质量控制

为保证检测结果的准确性, 在每批样品检测中随机选择 20%的样品进行平行测定, 同时每批样品均设置空白样品添加试验, 通过计算添加回收率来进行结果质量控制。当平行测定结果间的相对标准偏差小于 20%、各化合物添加回收率在 60%~120%之间, 该批次检测数据才有效, 否则需重新测定。

表 5　贝类中金刚烷胺的含量
Table 5　Content of amantadine in shellfish

样品	样品份数	检出数量	风险发现率/%	金刚烷胺平均含量/(μg/kg)
贻贝	20	7	35.0	1.91
毛蚶	9	1	11.1	9.63
蛤蜊	32	1	3.1	4.27
蛏子	19	/	/	/
扇贝	3	/	/	/
泥蚶	6	/	/	/
海瓜子	2	/	/	/
牡蛎	2	/	/	/
干贝	24	16	66.7	4.82
蛤蜊干	10	5	50.0	5.95
贻贝干	28	7	25.0	2.60
蛏子干	6	/	/	/

注: /表示未检出。

2.7　居民每日暴露量

假设浙江省居民每天贝类产品, 图 6 显示了居民的 EDI。在成人中, 蛤蜊干的 EDI 最高, 其次是毛蚶、干贝和蛤蜊。在 12~15 岁儿童中, 毛蚶的 EDI 最高, 其次是干贝和蛤蜊。对成人而言, 成人各类海产品的 EDI 均高于儿童。

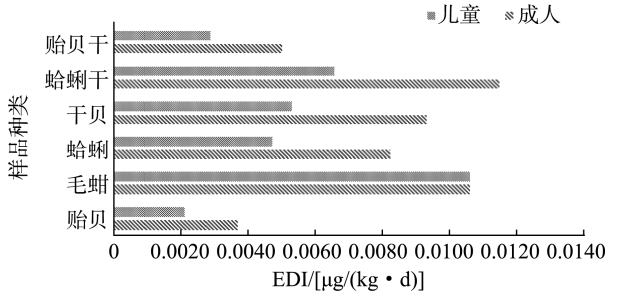


图 6　居民每日暴露量 EDI
Fig.6　Resident estimated daily intake EDI

根据上述规定, 计算得本次抽检样本贝类中金刚烷胺的 HQ 为 3.7×10^{-4}~1.2×10^{-3}, 远小于 1, 表明人群贝类摄

入带来的金刚烷胺对人体健康的潜在影响较小，风险水平较低。

3 结 论

本研究成功构建了一种基于超高效液相色谱-串联质谱技术，可同步测定贝类及其干制品中 12 种抗病毒药物残留的的分析方法。通过对提取溶剂、净化柱、色谱分离条件及质谱检测参数的系统优化，结合基质匹配标准曲线与稳定同位素内标的定量方式，有效提升了方法的可靠性、准确性与适用性，解决了贝类基质复杂带来的检测干扰问题，为贝类及干制贝类产品的质量安全监管提供了技术支撑。

基于上述检测方法，结合我国居民水产品消费调查数据及典型人群生理特征参数，本研究进一步开展了金刚烷胺的膳食暴露风险评估。结果表明，在当前居民消费水平下，人群通过食用贝类摄入金刚烷胺的膳食暴露量较低，健康风险处于可接受范围，未对公众健康构成显著隐患，为贝类产品的食品安全风险管控及消费安全保障提供了科学依据。

参考文献

[1] 彭鹏. 抗病毒药物在环境多孔介质中的迁移特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2024.
PENG P. Study on the migration characteristics of antiviral drugs in environmental porous media [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2024.

[2] 庄玥, 黄艳婷, 蔡霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定药品中奈玛特韦等 5 种小分子抗病毒药物[J]. 分析科学学报, 2024, 40(1): 65–69.
ZHUANG Y, HUANG YT, CAI X, *et al*. Simultaneous determination of five small molecule antiviral drugs including nirmatrelvir in pharmaceuticals by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Sciences, 2024, 40(1): 65–69.

[3] 葛林科, 李璇艳, 曹胜凯, 等. 水环境中抗病毒药物的存在、行为与风险[J]. 环境科学, 2024, 45(4): 2039–2053.
GE LK, LI XY, CAO SK, *et al*. Occurrence, behavior and risks of antiviral drugs in water environment [J]. Environmental Science, 2024, 45(4): 2039–2053.

[4] 侯云鹤, 董紫君, 宋洪星, 等. 水源水中 8 种治疗新冠的抗病毒药物的同步检测[J]. 中国给水排水, 2022, 38(22): 130–134.
HOU YH, DONG ZJ, SONG HX, *et al*. Simultaneous detection of eight antiviral drugs for COVID-19 treatment in source water [J]. China Water & Wastewater, 2022, 38(22): 130–134.

[5] 张慧芳, 刘俊峰, 李松涛. 液相色谱串联质谱法检测食品中金刚烷胺的方法研究[J]. 食品安全导刊, 2023(5): 102–104.
ZHANG HF, LIU JF, LI ST. Study on the detection method of amantadine in food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety Guide, 2023(5): 102–104.

[6] 王希诚, 潘章斌, 杜振齐, 等. 抗病毒药物在水体中污染现状及去除技术研究进展[J]. 应用化工, 2024, 53(12): 2951–2956, 2969.
WANG XC, PAN ZB, DU ZQ, *et al*. Research progress on pollution status and removal technology of antiviral drugs in water [J]. Applied Chemical Industry, 2024, 53(12): 2951–2956, 2969.

[7] ABHIGYAN CHOUDHURY, PROBIR-KUMAR OJHA, SAJAL RAY. Hazards of antiviral contamination in water: Dissemination, fate, risk and their impact on fish [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 476: 1873–3336.

[8] 刘瑜, 董鸿竺, 王悦, 等. 超高效液相色谱-四极杆串联离子阱质谱法同时检测动物源性食品中 26 种新型抗病毒药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(17): 101–107.
LIU Y, DONG HZ, WANG Y, *et al*. Simultaneous detection of 26 novel antiviral drugs in animal-derived foods by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole tandem ion trap mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(17): 101–107.

[9] 王锦凯, 李文艳, 刘唯琛, 等. 金刚烷胺在大鼠体内的死后再分布研究[J]. 中国法医学杂志, 2023, 38(6): 654–663.
WANG JK, LI WY, LIU WC, *et al*. Postmortem redistribution of amantadine in rats [J]. Chinese Journal of Forensic Medicine, 2023, 38(6): 654–663.

[10] 马庆冉, 张洪昌, 胡双庆, 等. 高效液相色谱-串联质谱法定量检测污水处理厂污水及污泥中的典型抗病毒药物[J]. 环境化学, 2026, 45(2): 1–11.
MA QR, ZHANG HC, HU SQ, *et al*. Quantitative detection of typical antiviral drugs in sewage and sludge of wastewater treatment plants by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2026, 45(2): 1–11.

[11] 郑伟云. 金刚烷胺与藻类质量安全相关性研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2019.
ZHENG WY. Study on the correlation between amantadine and algae quality safety [D]. Yantai: Yantai University, 2019.

[12] 鹿瑶, 徐英江, 赵军强, 等. 金刚烷胺对海带幼孢子体的毒性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 52–60, 78.
LU Y, XU YJ, ZHAO JQ, *et al*. Toxicity study of amantadine on young sporophytes of kelp [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(11): 52–60, 78.

[13] 林恒宗, 高加龙, 范秀萍, 等. 双壳贝类净化技术研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(11): 449–457.
LIN HZ, GAO JL, FAN XP, *et al*. Research progress on purification technology of bivalve shellfish [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(11): 449–457.

[14] 王政, 王扬, 何辉, 等. 浙江省海水贝类中无机砷测定和安全性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(1): 389–393.
WANG Z, WANG Y, HE H, *et al*. Determination and safety analysis of inorganic arsenic in marine shellfish in Zhejiang Province [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(1): 389–393.

[15] 中华人民共和国农业部公告第 560 号兽药地方标准废止目录[Z].
Announcement No. 560 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Catalogue of Repealed Local Standards for Veterinary Drugs [Z].

[16] 流行性感冒诊疗方案(2025 年版)[J]. 全科医学临床与教育, 2025, 23(7): 581–583, 589.
Diagnosis and Treatment Protocol for Influenza (2025 edition) [J]. General Practice Clinical Education, 2025, 23(7): 581–583, 589.

[17] 赵军强, 韩典峰, 田秀慧, 等. 食品中金刚烷胺的危害、检测方法和残

留风险研究进展[J]. 中国渔业质量与标准, 2022, 12(3): 64–71.
ZHAO JQ, HAN DF, TIAN XH, *et al*. Research progress on hazards, detection methods and residue risks of amantadine in food [J]. China Fishery Quality and Standards, 2022, 12(3): 64–71.

[18] 王飞, 俞子萱, 李淑静. Bond Elut PBA 固相萃取柱净化-高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肉中金刚烷胺和利巴韦林的残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2023, 59(2): 172–177.
WANG F, YU ZX, LI SJ. Simultaneous determination of amantadine and ribavirin residues in chicken by Bond Elut PBA solid phase extraction column purification-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2023, 59(2): 172–177.

[19] 陈国, 许秀琴,. 基于液相色谱串联质谱的禽肉中抗病毒药物多残留检测方法[J]. 浙江农业科学, 2020, 61(10): 2145–2147, 2187.
CHEN G, XU XQ. Determination of antiviral drug residues in poultry meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Zhejiang Agricultural Science, 2020, 61(10): 2145–2147, 2187.

[20] 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 foods by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science, 2018, 39(2): 303–309.

[21] 傅红雪, 陈万勤, 陈碧莲, 等. 全自动固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定鸡肉中 7 种抗病毒药物残留量[J]. 理化检验-化学分册. 2021, 57(12): 1082–1088.
FU HX, CHEN WQ, CHEN BL, *et al*. Determination of seven antiviral drug residues in chicken by automatic solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2021, 57(12): 1082–1088.

[22] 王振东, 王欣然, 李熠, 等. 畜禽产品中抗病毒类药物残留检测方法研究进展[J]. 农产品质量与安全, 2020(1): 72–79.
WANG ZD, WANG XR, LI Y, *et al*. Research progress on detection methods of antiviral drug residues in livestock and poultry products [J]. Quality and Safety of Agricultural Products, 2020(1): 72–79.

[23] 孙海新, 许娜, 张慧, 等. 鸡蛋中金刚烷胺、金刚乙胺、利巴韦林和吗啉胍多残留检测方法的研究[J]. 中国家禽, 2015, 37(23): 22–26.
SUN HX, XU N, ZHANG H, *et al*. Study on multi-residue detection method of amantadine, rimantadine, ribavirin and moroxydine in eggs [J]. China Poultry, 2015, 37(23): 22–26.

[24] 王亚琴, 王坤, 柯庆青, 等. 通过型固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定中华鳖中 8 种抗病毒药物及 2 种代谢物[J]. 色谱, 2024, 42(12): 1164–1172.
WANG YQ, WANG K, KE QQ, *et al*. Simultaneous determination of eight antiviral drugs and two metabolites in Chinese soft-shelled turtle by pass-through solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(12): 1164–1172.

[25] 李诗言, 柯庆青, 王鼎南, 等. PRIME HLB 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 11 种酰胺醇和抗病毒类药物残留[J]. 分析试验室, 2023, 42(4): 514–520.
LI SY, KE QQ, WANG DN, *et al*. Simultaneous determination of 11 amide alcohols and antiviral drug residues in aquatic products by PRIME HLB solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytical Laboratory, 2023, 42(4): 514–520.

[26] 张秀妍, 葛祥武, 王骏, 等. 液质联用法检测牛奶中金刚烷胺的药物残留[J]. 口岸卫生控制, 2020, 25(4): 514–520.
ZHANG XY, GE XW, WANG J, *et al*. Determination of amantadine residues in milk by LC-MS/MS [J]. Port Health Control, 2020, 25(4): 514–520.

[27] 王振东, 李熠, 陈兰珍, 等. 基于液相色谱串联质谱联用技术的蜂产品中抗病毒类药物残留检测方法研究进展[C]. 北京: 21 世纪第三届全国蜂业科技与海峡两岸蜂产业发展大会暨首届北京密云蜂产业发展高峰论坛论文集, 2018.
WANG ZD, LI Y, CHEN LZ, *et al*. Research progress on detection methods of antiviral drug residues in bee products based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry [C]. Beijing: Proceedings of the 3rd National Bee Industry Science and Technology and Cross-Strait Bee Industry Development Conference and the 1st Beijing Miyun Bee Industry Development Summit Forum in the 21st Century, 2018.

[28] 晏筱阳. 浙江省沿海五氯酚污染物分布及风险评估研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2024.
YAN XY. Distribution and risk assessment of pentachlorophenol pollutants in coastal areas of Zhejiang Province [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2024.

[29] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册(成人卷)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2014.
Ministry of Environmental Protection. Handbook of exposure parameters for chinese population (Adult Volume) [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2014.

[30] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册(儿童卷: 6~17 岁)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2016.
Ministry of Environmental Protection. Handbook of exposure parameters for chinese population (Children Volume: 6-17 years old) [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2016.

[31] YAN X, ZHAO Q, YAN Z, *et al*. Determination of pentachlorophenol in seafood samples from Zhejiang Province using pass-through SPE-UPLC-MS/MS: Occurrence and human dietary exposure risk [J]. Molecules, 2023, 28(17): 1–14.

(责任编辑: 蔡世佳　韩晓红)