

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240130006

# 亲水相互作用色谱-串联质谱法测定 15 种禽类及其制品中利巴韦林残留总量

史娜, 耿健强, 郑跃, 郭蕊, 周密, 姜洁\*

[北京市食品检验研究院(北京市食品安全监控和风险评估中心), 国家市场监督管理总局重点实验室(食品安全重大综合保障关键技术), 北京 100094]

**摘要:** **目的** 建立固相萃取-亲水相互作用色谱-串联质谱法测定禽类及其制品中利巴韦林残留总量的方法。**方法** 均质后的样品经 20 g/L 三氯乙酸提取, 酸性磷酸酯酶水解, 苯硼酸型离子交换固相萃取柱净化后, 由实心核颗粒 HILIC 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.6 μm)分离, 流动相为 5 mmol/L 乙酸铵水溶液(含 0.1%甲酸)-乙腈, 梯度洗脱。在正离子扫描多反应监测模式下检测, 内标峰面积法定量。**结果** 在 15 种禽类及其制品基质中做加标曲线, 在 1~20 μg/kg 浓度范围内线性关系良好, 相关系数为 0.995~0.999。在 1.0、2.0、10.0 μg/kg 3 个水平下加标回收率为 90.7%~117.9%, 相对标准偏差 0.8%~9.4%。**结论** 该方法稳定可靠, 可适用于多种禽类及其制品中利巴韦林残留量的分析。

**关键词:** 利巴韦林; 亲水相互作用色谱-串联质谱法; 禽类及其制品

## Determination of 15 kinds of total residual ribavirin in poultry and their products by hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry

SHI Na, GENG Jian-Qiang, ZHENG Yue, GUO Rui, ZHOU Mi, JIANG Jie\*

[Beijing Institute of Food Inspection and Research (Beijing Municipal Center for Food Safety Monitoring and Risk Assessment), Key Laboratory of Key Technologies of Major Comprehensive Guarantee of Food Safety, State Administration for Market Regulation, Beijing 100094, China]

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determining the total residue of ribavirin in complex matrices based on solid-phase extraction-hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** After homogenization, the sample was extracted with 20 g/L trichloroacetic acid, and then acid phosphatase hydrolysis was performed. The resulting solution was purified by a benzenboronic acid-type ion exchange solid phase extraction column, and then separated by a solid core HILIC chromatographic column (100 mm×2.1 mm, 1.6 μm) with a mobile phase of 5 mmol/L ammonium acetate aqueous solution (containing 0.1% formic acid)-acetonitrile using a gradient elution method. Detection was performed in positive ion scan multiple reaction monitoring mode, and quantification was done by internal standard peak area method. **Results** A spiked curve was performed on 15 types of poultry and

\*通信作者: 姜洁, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全监控和风险评估。E-mail: jybji2004@126.com

\*Corresponding author: JIANG Jie, Ph.D, Professor of Engineering, Beijing Institute of Food Inspection and Research (Beijing Municipal Center for Food Safety Monitoring and Risk Assessment), Key Laboratory of Key Technologies of Major Comprehensive Guarantee of Food Safety, State Administration for Market Regulation, No.17, Fengde East Road, Haidian District, Beijing 100094, China. E-mail: jybji2004@126.com

their product matrices, and the linear relationship was good within the concentration range of 1–20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , with a correlation coefficient of 0.995–0.999. The recoveries at 3 levels 1.0, 2.0 and 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  were 90.7%–117.9%, and the relative standard deviations were 0.8%–9.4%. **Conclusion** The method is stable and reliable, and it can be applied to the analysis of ribavirin residues in various poultry and its products.

**KEY WORDS:** ribavirin; hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry; poultry and its products

## 0 引言

禽类及其制品是城乡居民极为重要的动物蛋白来源。据统计,禽肉已成为仅次于猪肉的第二大肉类消费品,仅鸡肉年人均消费量就达到 7 kg<sup>[1]</sup>。禽类及其制品的质量安全水平直接影响着我国人民的身体健康。严格控制禽类及其制品的品质安全在食品安全监管工作中,具有极为重要的意义。

利巴韦林(ribavirin),又称病毒唑,是合成的核苷类广谱强效抗病毒药物,主要用于人类疾病的治疗。然而,随着畜牧业的规模化、集约化发展,畜禽及其产品的广泛流通,动物发病种类和病死率有逐年增高的趋势,由病毒感染造成的动物死亡比例也逐年增加。面对这种情况,利巴韦林在畜禽类养殖中的违禁使用屡禁不止。我国原农业部于 2005 年颁布的第 560 号公告《兽药地方标准废止目录》中,利巴韦林被明确禁止作为兽药生产和销售<sup>[2]</sup>;美国食品药品监督管理局禁止将人用抗病毒药物用于禽类生产<sup>[3]</sup>。因利益驱使,在畜禽养殖过程违规使用利巴韦林药物的现象仍普遍存在。利巴韦林在动物体内易发生代谢转化,使病毒变异,并在畜禽体内残留并蓄积在肝脏、肾脏、皮脂等各组织器官中,从而导致该药物在动物体内大量残留,利巴韦林通过食物链残留传递进入人体,长期蓄积可以引起白细胞减少、溶血性贫血等症状<sup>[4-9]</sup>,直接危害人体健康,也可能使致病菌产生耐药性,间接对人类健康造成影响。

利巴韦林在生物体内易代谢为磷酸化利巴韦林( $\geq 50\%$ ),目前,有关动物源性食品中利巴韦林残留量的测定方法研究主要集中在固相萃取-串联质谱法<sup>[10-15]</sup>;利巴韦林的检测主要集中在动物血液<sup>[16-17]</sup>、细胞<sup>[18-19]</sup>、肝脏<sup>[20-21]</sup>和肌肉<sup>[22-23]</sup>样品及非法添加利巴韦林的兽药<sup>[24-25]</sup>等。文献报道的各方法优缺点不一,且检测基质的覆盖面较小。由于在酸性磷酸酶作用下,磷酸化利巴韦林代谢物可完全转化为利巴韦林原药,所以本研究采用酸性磷酸酶解离代谢物,然后测定利巴韦林的总残留量。采用固相分散萃取净化技术及亲水相互作用色谱-串联质谱测定技术,测定 15 种常见食用禽类产品及其制品中利巴韦林残留总量,以期为禽类及其制品的食品安全监管提供基础技术支持。

## 1 材料与方

### 1.1 试剂与材料

利巴韦林(纯度 $\geq 98\%$ ,德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公

司);<sup>13</sup>C<sub>5</sub>-利巴韦林(纯度 $\geq 98\%$ ,加拿大 TRC 公司);乙腈、乙酸铵(色谱纯,美国赛默飞世尔公司);甲酸(色谱纯,德国 CNW Technology GmbH 公司);酸性磷酸酶(200 U/mL,爱尔兰 Megazyme 公司);三氯乙酸、氢氧化钠(分析纯,北京化工厂);Bont Elut PBA 固相萃取柱(100 mg/3 mL,美国安捷伦科技公司);其他试剂均为分析纯购自北京化工厂,实验用水为超纯水。

冰鲜鸡肉、冰鲜鸭肉、冰鲜乌鸡肉、冰鲜鸭肝、冰鲜鸡肝、鲜鸡蛋、鲜鹌鹑蛋、生制咸鸭蛋、松花鸭皮蛋、卤鸡蛋、卤鸡、烤火鸡腿、盐水鸭、酱鸭肝、生制鸡肉块均为市场购买。阳性鸡样品为自行喂养。

### 1.2 仪器与设备

Thermo X1R 高速冷冻离心机、Thermo HYPERCARB (美国赛默飞世尔科技公司);氮气浓缩仪(美国 Organomation 公司);Milli-Q 纯水仪(美国密理博公司);Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪、Waters XEVO TQ-S 串联四极杆质谱仪配有电喷雾电离源、Waters CORTECS HILIC 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.6  $\mu\text{m}$ )、Waters Acquity HSS T3 色谱柱(50 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ )、Waters Acquity BEH HILIC 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ )、Waters Acquity BEH Amide 色谱柱(150 mm $\times$ 3 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ )、Waters Acquity CORTECS HILIC 色谱柱(50 mm $\times$ 3 mm, 1.6  $\mu\text{m}$ ) (美国沃特世公司);Agilent ZORBAX SB-Aq 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) (美国安捷伦科技公司);8210 型水浴超声波装置(日本 Yamato 公司);T18 涡旋混匀器(德国 IKA 公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 样品处理

禽肉及制品、内脏及制品、蛋制品放入组织捣碎机均质,充分混匀,均分成两份,分别装入清洁容器内,并标明标记;鲜蛋类去壳后均质,充分混匀,均分成两份,分别装入清洁容器内,并标明标记。试样于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件保存。

称取 2 g(精确至 0.01 g)试样,置于 50 mL 具盖离心管中,添加 100  $\mu\text{L}$  内标工作溶液(100 ng/mL),加入 8 mL 三氯乙酸溶液,振荡混匀后在超声波仪中超声 20 min, 10000 r/min 离心 10 min,取上清液。用 4 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.8 $\pm$ 0.1,加入 2 mL 0.2 mol/L pH 4.8 乙酸铵

缓冲液, 混匀后, 再加入 100  $\mu\text{L}$  0.4 U/mL 的酸性磷酸酯酶溶液, 加盖涡旋 1 min, 于恒温摇床中, 37  $^{\circ}\text{C}$  下 200 r/min 培养 2 h。取出后, 冷却至室温, 用 4 mol/L 氢氧化钠调节 pH 至  $8.5 \pm 0.1$ , 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。

Bond Elut PBA 固相萃取小柱依次用 3 mL 乙腈、3 mL 0.5% 甲酸水、3 mL 0.2 mol/L pH=8.5 乙酸铵缓冲液活化, 取 5 mL 上述上清液过柱, 控制上样流速约 1 滴/min; 依次用 3 mL 0.2 mol/L pH 8.5 乙酸铵缓冲液、3 mL 水、3 mL 乙腈淋洗小柱, 然后真空抽干 5 min, 用 3 mL 洗脱溶液洗脱至接收管中, 45  $^{\circ}\text{C}$  下用氮气浓缩仪吹干。准确加入 1.0 mL 乙腈-5 mmol/L 乙酸铵 0.1% 甲酸水溶液(体积比=95:5)复溶液溶解残渣, 过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 供液相色谱-串联质谱仪测定, 内标峰面积法定量。

### 1.3.2 仪器分析

色谱条件: 色谱柱: Waters CORTECS HILIC (100 mm $\times$  2.1 mm, 1.6  $\mu\text{m}$ ); 流动相: A 相 5 mmol/L 乙酸铵水溶液(含 0.1% 甲酸), B 相 乙腈; 梯度洗脱程序: 0~0.5 min 95% A, 0.5~2.5 min 95%~70% A, 2.5~3.5 min 70%~60% A, 3.5~4.5 min 60%~95% A, 4.5~6.0 min 95% A; 流速: 0.4 mL/min; 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样量: 10  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件: 电喷雾离子源; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压: 3.5 kV; 脱溶剂气温度: 400  $^{\circ}\text{C}$ ; 脱溶剂气流量: 800 L/hr; 锥孔气流量: 150 L/hr; 离子源温度: 150  $^{\circ}\text{C}$ ; 碰撞气(氩气)流量: 0.15 mL/min。目标化合物的详细质谱参数见表 1。

表 1 目标化合物监测离子对、锥孔电压及碰撞能量  
Table 1 Monitoring ion pairs, cone hole voltage, and collision energy of target compounds

化合物	母离子 ( $m/z$ )	子离子 ( $m/z$ )	锥孔 电压/V	碰撞 能量/eV
利巴韦林	267.2	245.1>113.1*	20	8
		245.1>96.0	20	35
利巴韦林- $^{13}\text{C}_5$	250.1	250.1>113.1	20	8

注: \*为定量离子对。

## 1.4 基质效应

实验按 1.0、2.0、5.0、8.0、10.0、20.0 ng/mL 的质量浓度分别制备基质配制曲线, 以峰面积为纵坐标( $Y$ ), 质量浓度为横坐标( $X$ , ng/mL), 得到工作曲线, 按公式(1)计算不同基质中的基质效应。

$$\text{ME}/\% = (A - B) / A \times 100\% \quad (1)$$

注:  $A$ : 标准溶液工作曲线的斜率;  $B$ : 不同基质加标工作曲线的斜率。

根据上述前处理方法及仪器条件得到的标准品、空白样品及加标 1.0 ng/mL 样品的色谱图见图 1。

## 1.5 线性范围、方法检出限和定量限

精密量取 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  利巴韦林工作液 2、4、10、16、20、40  $\mu\text{L}$ , 分别置于 2 g 空白鸡蛋样品中, 涡旋混合, 使之成为 1、2、5、8、10、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的试样, 照 1.3 步骤操作, 并经亲水相互作用色谱-串联质谱法分析测定, 以添加浓度为横坐标, 利巴韦林峰面积对内标峰面积的比值为纵坐标绘制标准曲线, 计算回归方程和相关系数。

## 1.6 精密度和回收率实验

取 1、2、5、8、10、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的阳性添加试样, 照 1.3 步骤操作, 每一浓度每批次进行 5 个平行实验, 分别考察 3 个批次, 分别计算批内、批间精密度和加标回收率。

## 1.7 数据处理

本研究的所有数据统计、制表及绘图均采用 WPS Office 2019 进行, 所涉及实验数据均取 3 次重复实验的平均值。

## 2 结果与分析

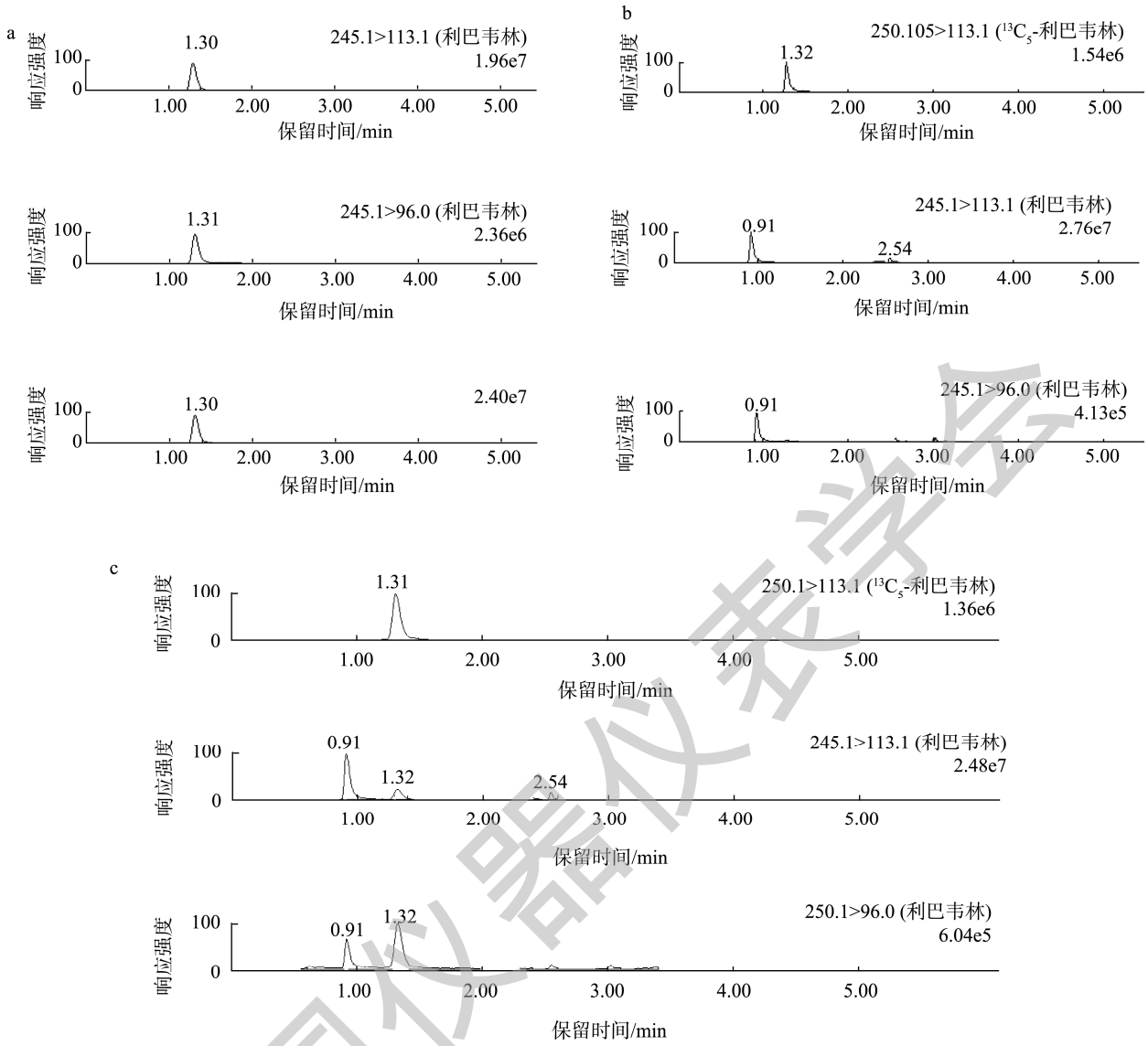
### 2.1 质谱条件的确定

由于利巴韦林含有氨基, 容易得到质子而形成带正电荷的加合离子, 所以首先确定正离子电离模式(electron impact, ESI $^+$ ), MRM 方式。使用一定浓度的标准品用蠕动泵直接注射进入质谱, 观察其出峰情况, 在质谱中可以稳定存在两个离子峰:  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z=245.1$  及  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z=267.2$ 。

在 MS/MS 模式下, 对母离子施加一定碰撞能量, 虽然母离子  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z=267.2$  强度要高于  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z=245.1$ , 但在 MS/MS 模式中, 只能稳定产生一个碎片  $m/z$  267.2>135.0(图 2a), 而  $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z=245.1$  在适当碰撞能量下, 可以获得  $m/z$  245.1>113.1 和  $m/z$  245.1>96.0 两个稳定的子离子(图 2b)。其中,  $m/z$  113.1 离子是由呋喃核糖与三唑氮环断裂形成,  $m/z$  96.0 离子是由三氮唑啉乙胺中性丢失  $\text{NH}_3$  而得到的。因此, 选择  $m/z$  245.1>113.1 及  $m/z$  245.1>96.0 作为利巴韦林的监测离子对, 根据稳定性和丰度, 将  $m/z$  245.1>113.1 作为定量离子对。

### 2.2 色谱条件的确定

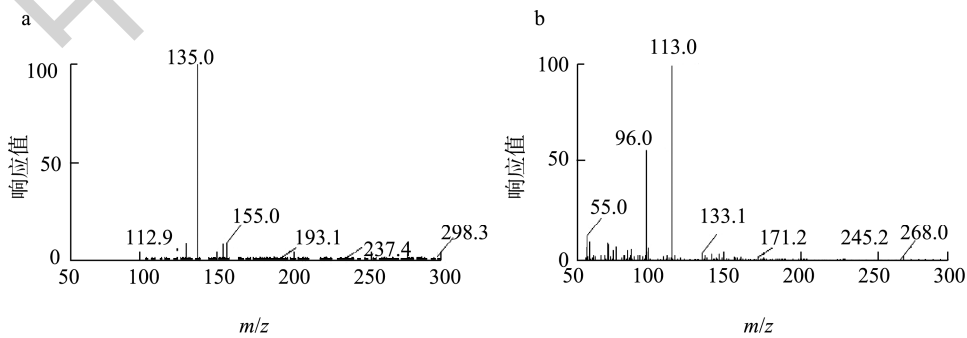
利巴韦林是强极性化合物, 在反相色谱柱上几乎不保留。参考相关文献报道<sup>[26-29]</sup>, 实验对比了 Waters Acquity HSS T3、Waters Acquity BEH HILIC、Waters Acquity BEH Amide、Waters Acquity CORTECS HILIC、Thermo HYPERCARB、Agilent ZORBAX SB-Aq 等不同固定相的色谱柱, 通过用空白鸭胗样品提取液添加 10 ng/mL 标准物质进样, 在各自优化的色谱条件下, 对比柱上保留时间和分离效果。在 T3, SB-Aq 柱上保留及分离度较差; 全 BEH HILIC 柱(全多孔 HILIC 柱), BEH Amide 柱(酰胺基键合相



注: a: 标准品; b: 空白样品; c: 加标样品。

图1 色谱图

Fig.1 Chromatograms



注: a: m/z 267产生的碎片离子; b: m/z 245产生的碎片离子。

图2 利巴韦林碎裂产生子离子质谱图

Fig.2 Ion mass spectrometry of ribavirin fragmentation product

Amide 柱), CORTECS HILIC 柱(实心核颗粒 HILIC 柱)及 HYPERCARB 柱上有保留。相比之下, BEH Amide 柱及 HYPERCARB 柱上目标峰与杂质不能达到基线分离, 且响应较低。对比全多孔及实心核颗粒的 HILIC 柱, 在对目标化合物相似的保留能力下, 实心核颗粒色谱柱柱压更低, 可以使用更高流动相流速, 同时得到满意的分离效果。

### 2.3 提取条件的优化

利巴韦林在禽类体内的代谢规律尚无研究, 参考文献报道的其他动物体内的代谢产物研究, 利巴韦林经代谢后, 以原药、利巴韦林单磷酸酯, 利巴韦林二磷酸酯和利巴韦林三磷酸酯的形式存在<sup>[30]</sup>, 因此在提取时需考虑断裂其磷酸酯键, 使其恢复到统一的原药形式来进行残留总量的检测。

实验考察了常用的两种磷酸酯键裂解形式: 酸解与酶解。其中酸解采用了 0.1% 三氯乙酸, 酶解使用酸性磷酸酯酶。经实验对比, 酶解的回收率要明显高于酸解, 但三氯乙酸在针对肉类及蛋类基质中蛋白质的去除有很好的效果, 考虑可以在酶解之前采用三氯乙酸沉淀蛋白质, 并将利巴韦林及其代谢物在酸性条件中转化为离子状态溶解于溶液中, 再进行酶解。不仅可以去除杂质, 也可提高酶解效率。

参考商品化酸性磷酸酯酶的最佳酶解条件, 对加酶量、酶解时间、酶解温度进行了优化。通过阳性样品的优化实验, 得到优化酶解条件为 0.4 U/mL 酸性磷酸酯酶 100  $\mu$ L, 于 37  $^{\circ}$ C 下, 酶解 2 h。

### 2.4 净化条件的选择

利巴韦林结构中含有氨基、顺式二醇官能团, 因此参考相关文献[31-32], 在净化策略中考虑弱阳离子交换柱(作用于氨基官能团), 苯硼酸阳离子交换柱(作用于顺式二醇结构), 石墨化炭黑柱(作用于片层结构)。通过使用柱上回收实验对比 3 种固相萃取柱对目标化合物的吸附能力, 取 10 ng 标准品溶解于相应上柱溶液中, 经每种固相萃取柱净化后, 由结果可以得到苯硼酸型阳离子交换柱对利巴韦林的富集有明显优势。

### 2.5 基质效应的考察

液相色谱-质谱法开发过程中需要对基质效应做出考

察, 若斜率差异较小(如小于 10%), 则认为基质效应不明显, 可接受; 若斜率差异较大, 则基质效应显著, 可能影响分析结果的准确性, 需采取相应措施降低或消除基质效应。本研究通过对比标准溶液工作曲线和基质加标工作曲线, 分别考察了冰鲜鸡肉、冰鲜鸭肉、冰鲜乌鸡肉、冰鲜鸭肝、冰鲜鸡肝、鲜鸡蛋、鲜鹌鹑蛋、生制咸鸭蛋、松花鸭皮蛋、卤鸡蛋、卤鸡、烤火鸡腿、盐水鸭、酱鸭肝、生制鸡肉块等 15 种基质的基质效应, 见图 3。

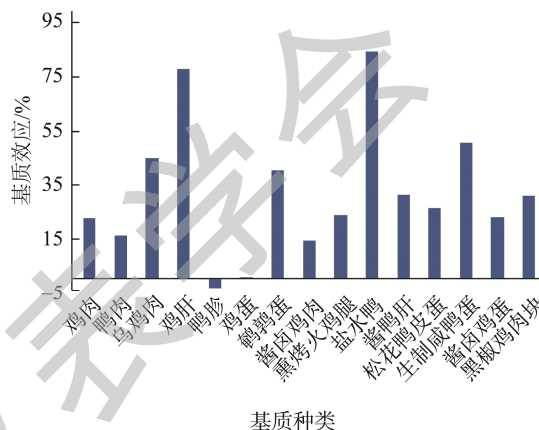


图3 利巴韦林在不同基质中的基质效应

Fig.3 Matrix effects of ribavirin in different matrices

从结果可以看出, 盐水鸭是各类基质中基质效应最为明显的, 其次是鸡肝, 而鲜鸡蛋几乎没有基质效应。除鸡蛋外, 其他基质中共馏出组分对利巴韦林的电离抑制作用较明显。所以本研究中采用基质加标曲线与内标法校正来消除存在的基质效应。

### 2.6 方法学验证

按照方法要求, 取一系列冰鲜鸡肉、冰鲜鸭肉、冰鲜乌鸡、冰鲜鸡肝、冰鲜鸭肝、鲜鸡蛋、鲜鹌鹑蛋、酱卤鸡肉、熏烤火鸡腿、盐水鸭、酱鸭肝、松花鸭皮蛋、生制咸鸭蛋、酱卤鸡蛋、生制鸡肉块等 15 种基质的空白样品, 分别制备成浓度为 0、1、2、5、8、10、20  $\mu$ g/kg 的系列基质加标样品, 以验证本研究方法的线性范围、灵敏度、加标回收率与精密度。结果如表 2、3 所示。

表 2 不同基质中的基质添加回收曲线的线性方程及相关系数

Table 2 Linear equation and correlation coefficient of matrix addition recovery curves in different matrices

基质	线性范围/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	线性方程	相关系数( $r^2$ )
鸡肉	1~20	$Y=0.600707X-0.144134$	0.996
鸭肉	1~20	$Y=0.722474X+0.0433567$	0.998
乌鸡肉	1~20	$Y=0.641986X-0.672001$	0.995
鸡肝	1~20	$Y=0.672479X-0.314299$	0.999

表 2(续)

基质	线性范围/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	线性方程	相关系数( $r^2$ )
鸭胗	1~20	$Y=0.725386X-0.176401$	0.999
鸡蛋	1~20	$Y=0.698635X-0.162864$	0.999
鹌鹑蛋	1~20	$Y=0.694208X-0.180319$	0.996
酱卤鸡肉	1~20	$Y=0.654614X-0.048201$	0.999
熏烤火鸡腿	1~20	$Y=0.635788X-0.086511$	0.997
盐水鸭	1~20	$Y=0.637157X-0.029122$	0.999
酱鸭肝	1~20	$Y=0.708670X-0.109886$	0.998
松花鸭皮蛋	1~20	$Y=0.671824X-0.181507$	0.999
生制咸鸭蛋	1~20	$Y=0.595660X-0.140003$	0.996
酱卤鸡蛋	1~20	$Y=0.677554X-0.061558$	0.995
黑椒鸡肉块	1~20	$Y=0.705660X-0.039905$	0.999

表 3 15 种代表性基质中利巴韦林回收率与精密度数据( $n=6$ )Table 3 Recovery and precision data of ribavirin from 15 kinds of representative matrices ( $n=6$ )

样品	添加量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	加标回收率/%	精密度/%
冰鲜鸡肉	1.0; 2.0; 10.0	93.6; 107.2; 102.5	6.7; 5.9; 5.4
冰鲜鸭肉	1.0; 2.0; 10.0	92.4; 93.1; 100.5	6.7; 6.7; 5.0
冰鲜乌鸡	1.0; 2.0; 10.0	109.7; 91.8; 114.6	7.3; 6.4; 3.6
冰鲜鸡肝	1.0; 2.0; 10.0	101.0; 101.3; 99.9	6.8; 5.8; 2.8
冰鲜鸭胗	1.0; 2.0; 10.0	108.9; 100.2; 99.9	2.6; 2.0; 1.8
鲜鸡蛋	1.0; 2.0; 10.0	105.8; 95.0; 97.9	6.4; 0.8; 0.8
鲜鹌鹑蛋	1.0; 2.0; 10.0	96.5; 97.6; 100.7	4.0; 4.5; 2.4
酱卤鸡肉	1.0; 2.0; 10.0	102.6; 99.8; 98.9	2.2; 3.6; 1.1
熏烤火鸡腿	1.0; 2.0; 10.0	114.2; 108.6; 108.3	4.0; 2.5; 2.0
盐水鸭	1.0; 2.0; 10.0	103.0; 97.80; 101.4	6.9; 2.7; 2.5
酱鸭肝	1.0; 2.0; 10.0	109.5; 100.2; 99.2	5.4; 1.7; 1.8
松花鸭皮蛋	1.0; 2.0; 10.0	97.3; 101.7; 103.1	7.0; 2.6; 1.8
生制咸鸭蛋	1.0; 2.0; 10.0	105.9; 117.9; 90.7	9.4; 4.3; 8.5
酱卤鸡蛋	1.0; 2.0; 10.0	105.3; 102.0; 102.1	8.6; 5.8; 2.7
黑椒鸡肉块	1.0; 2.0; 10.0	99.9; 95.6; 99.3	2.1; 2.2; 1.6

## 2.7 实际样品测定

使用所建立的方法对市售 20 种禽肉、禽蛋及禽类制品进行了测定,未发现有利巴韦林检出。对本研究中自行喂养制备的阳性鸡样品进行测定,在其肌肉、肝脏中均检出利巴韦林残留,肌肉组织中含量为  $41.26 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,肝脏中含量为  $35.09 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 3 结论

本研究建立固相萃取-亲水相互作用色谱-串联质谱法测定禽类及其制品中利巴韦林残留总量的方法,采用固相萃取净化,不仅大大简化了样品前处理的步骤,而且有效

降低了样品的背景干扰,提高了方法的灵敏度和准确性。同时,采用亲水性色谱柱分离,有效解决了复杂基质在分析过程中出现的鬼峰、拖尾等问题。通过 15 种常见的禽类及其制品为样品,进行了方法学验证,实验结果说明该方法具有样品前处理简单,分析速度快,准确性高,灵敏度高优点,可以有效测定禽类及其制品中利巴韦林的残留,为其进一步的监测和控制提供了技术支持。

## 参考文献

- [1] 申秋红. 中国家禽产业的经济分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.  
SHEN QH. Economic analysis of poultry industry in China [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008.

- [2] 畜牧兽医局. 中华人民共和国农业部 560 号公告[Z]. 2005. Animal Husbandry and Veterinary Bureau. Announcement No.560 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [Z]. 2005.
- [3] Food and Drug Administration. Prohibits use of antiviral drugs in poultry to help keep drugs effective for humans [EB/OL]. [2013-03-18]. <http://www.Fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/2006/ucm108620.htm> [2024-01-18]
- [4] 吴晔, 吴涛, 詹思延, 等. 利巴韦林的安全性及利益-风险分析[J]. 药物流行病学杂志, 2006, 15(4): 210-213. WU Y, WU T, ZHAN SY, *et al.* Analysis of the safety and benefit-risk of ribavirin [J]. *Chin J Pharm*, 2006, 15(4): 210-213.
- [5] 孙雷, 李丹, 毕言峰, 等. 抗病毒药物的毒性及残留检测方法研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(10): 57-61. SUN L, LI D, BI YF, *et al.* Research development of toxicity and residue detection methods of the antiviral drugs [J]. *Chin J Vet Drug*, 2013, 47(10): 57-61.
- [6] PAESHUYSE J, DALLMEIER K, NEYTS J. Ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C virus infection: A review of the proposed mechanisms of action [J]. *Curr Opin Virol*, 2011, 1(6): 590-598.
- [7] CARDONAA CJ, ZHENG X, SANDROCK CE, *et al.* Avian influenza in birds and mammals, comparative immunology [J]. *Microbiol Infect Dis*, 2009, 32(4): 255-273.
- [8] CYRANOSKI D. China's chicken farmers under fire for antiviral abuse [J]. *Nature*, 2005, 435: 1009.
- [9] REDDY KR, NELSON DR, ZEUZEM S. Ribavirin: Current role in the optimal clinical management of chronic hepatitis C [J]. *J Hepatol*, 2009, 50: 402-411.
- [10] 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. ZHU WX, YANG JZ, YUAN P, *et al.* Rapid determination of total residues of ribavirin and its metabolites in chicken and chicken products by ultra-performance hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(10): 934-938.
- [11] 曲斌, 朱志谦, 陆桂萍, 等. 测定鸡肉中利巴韦林残留的固相萃取-UPLC-MS/MS 法研究[J]. 中国家禽, 2013, 35(15): 37-40. QU B, ZHU ZQ, LU GP, *et al.* Determination of ribavirin residual in chicken muscle by UPLC-MS/MS combined with SPE cleanup method [J]. *China Poul*, 2013, 35(15): 37-40.
- [12] 朱永林, 邵德佳, 蒋天梅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肝中利巴韦林及其代谢物残留总量[J]. 中国兽药杂志, 2008, 42(7): 22-25. ZHU YL, SHAO DJ, JIANG TM, *et al.* Determination of total residues of ribavirin and its metabolites in chicken liver by HPLC-MS/MS [J]. *Chin J Vet Med*, 2008, 42(7): 22-25.
- [13] 邵琳智, 姚仰勋, 谢敏玲, 等. 亲水相互作用色谱-串联质谱法同时测定动物组织中金刚烷胺与利巴韦林[J]. 分析测试学报, 2013, 32(12): 1448-1452. SHAO LZ, YAO YX, XIE ML, *et al.* Determination of amantadine and ribavirin in animal tissues by hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2013, 32(12): 1448-1452.
- [14] 朱克卫, 程明川, 徐牛生, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉中利巴韦林的含量[J]. 环境化学, 2014, 33(6): 1052-1053. ZHU KW, CHENG MC, XUE NS, *et al.* Determination of ribavirin in chicken by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Environ Chem*, 2014, 33(6): 1052-1053.
- [15] 申佳璐, 王梁, 赵青余, 等. 畜禽肉及鸡蛋中多种兽药残留前处理技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(15): 4840-4849. SHEN JL, WANG L, ZHAO QY, *et al.* Research progress on pretreatment technology for various veterinary drug residues in livestock and poultry meat and eggs [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(15): 4840-4849.
- [16] LI W, LUO S, LI S, *et al.* Simultaneous determination of ribavirin and ribavirin base in monkey plasma by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 846(1-2): 57-68.
- [17] WEI C, GRACE JEJR, ZVYAGA TA, *et al.* Utility of high-resolution accurate MS to eliminate interferences in the bioanalysis of ribavirin and its phosphate metabolites [J]. *Bioanaly*, 2012, 4(15): 1895-1905.
- [18] MELÉNDEZ M, ROSARIO O, ZAYAS B, *et al.* HPLC-MS /MS method for the intracellular determination of ribavirin monophosphate and ribavirin triphosphate in CEMss cells [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(5): 1233-1240.
- [19] YEH LT, NGUYEN M, DADGOSTARI S, *et al.* LC-MS /MS method for simultaneous determination of viramidine and ribavirin levels in monkey red blood cells [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(3): 1057-1064.
- [20] YEH LT, NGUYEN M, LOURENCO D, *et al.* A sensitive and specific method for the determination of total ribavirin in monkey liver by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Bio Anal*, 2005, 38(1): 34-40.
- [21] 朱永林, 邵德佳, 蒋天梅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肝中利巴韦林及其代谢物残留总量[J]. 中国兽药杂志, 2008, 42(7): 22-25. ZHU YL, SHAO DJ, JIANG TM, *et al.* Determination of total residue of ribavirin and its metabolites in chicken liver by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Vet Med*, 2008, 42(7): 22-25.
- [22] BERENDSEN BJA, WEGH RS, ESSERS ML, *et al.* Quantitative trace analysis of a broad range of antiviral drugs in poultry muscle using column-switch liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402(4): 1611-1623.
- [23] 曲斌, 朱志谦, 陆桂萍, 等. 测定鸡肉中利巴韦林残留的固相萃取 UPLC-MS/MS 法研究[J]. 中国家禽, 2013, 35(15): 37-40. QU B, ZHU ZQ, LU GP, *et al.* Solid phase extraction UPLC-MS/MS method for the determination of ribavirin residues in chicken [J]. *China Poul*, 2013, 35(15): 37-40.
- [24] 崔成富, 陈创华, 林海丹, 等. 中兽药散剂中非法添加利巴韦林的检测方法研究[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(9): 32-35. CUI CF, CHEN CHH, LIN HD, *et al.* Study on the detection method for illegal addition of ribavirin in traditional Chinese veterinary medicine powder [J]. *Chin J Vet Med*, 2011, 45(9): 32-35.
- [25] 李树纲, 金录胜, 汪洋, 等. HPLC 法测定兽用中药散剂中非法添加利巴韦林的方法研究[J]. 中国兽药杂志, 2012, 46(6): 30-33. LI SG, JIN LS, WANG Y, *et al.* Study on HPLC method for determining illegal addition of ribavirin in veterinary traditional Chinese medicine powder [J]. *Chin J Vet Med*, 2012, 46(6): 30-33.
- [26] 刘凯, 王丽娜, 李建忠. 饲料和鸡肉中利巴韦林的测定-超高效液相色谱-串联质谱法[J]. 现代畜牧兽医, 2014, 5: 15-19.

- LIU K, WANG LN, LI JZ. Determination of Ribavirin in feeds and chicken by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Mod J Anim Sci Vet Med*, 2014, 5: 15-19.
- [27] 李树纲, 金录胜, 汪洋, 等. HPLC 法测定兽用中药散剂中非法添加利巴韦林的方法研究[J]. *中国兽药杂志*. 2012, 46(6): 30-33, 37.
- LI SG, JIN LS, WANG Y, *et al.* Method study on determination of illegally added ribavirin in veterinary Chinese materia medica powders by HPLC [J]. *Chin J Vet Drug*, 2012, 46(6): 30-33, 37.
- [28] 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.
- YUN H, CUI FY, YAN H, *et al.* Determination of ribavirin and amantadine in chicken by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(8): 724-728.
- [29] 曲斌, 朱志谦, 陆桂萍. QuEChERS 净化法结合亲水作用色谱串联质谱测定鸡蛋中利巴韦林残留[J]. *畜牧与兽医*, 2014, 46(2): 71-74.
- QU B, ZHU ZQ, LU GP. QuEChERS purification method combined with hydrophilic interaction chromatography tandem mass spectrometry for the determination of ribavirin residues in eggs [J]. *Anim Husb Vet Med*, 2014, 46(2): 71-74.
- [30] 刘雪梅. 利巴韦林在仔猪体内的药物代谢动力学与毒理学研究[D]. 泰安: 泰山医学院药学院, 2010.
- LIU XM. Ribavirin in piglets *in vivo* pharmacokinetics and toxicology [D]. Taian: Taishan Medical University, 2010.
- [31] 欧阳少伦, 邵琳智, 谢敏玲, 等. 离子淌度差分质谱技术测定鸡肉中金  
刚烷胺和利巴韦林[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(5): 1706-1712.
- OUYANG SL, SHAO LZ, XIE ML, *et al.* Differential mobility spectrometry for analysis of amantadine and ribavirin residues in chicken muscle [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(5): 1706-1712.
- [32] 陈燕, 李晓雯, 刘畅. 禽畜肉中利巴韦林残留量检测方法的研究[J]. *食品安全质量检测学报*. 2014, 5(3): 905-910.
- CHEN Y, LI XW, LIU C. Study on detection methods of ribavirin in tissues of livestock and poultry [J]. *J Food Saf Qual*, 2014, 5(3): 905-910.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)

## 作者简介



史娜, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。  
E-mail: bjshina@126.com

姜洁, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全监控和风险评估。  
E-mail: jybjj2004@126.com