

# T/ESL

## 团 体 标 准

T/ESL 41003—2025

### 蜂产品中金刚烷胺等 8 种抗病毒药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of residues of 8 antiviral drugs including amantadine in  
bee products by liquid chromatography-mass spectrometry

2025-12-26 发布

2026-01-28 实施

湖北省饲料工业协会 发布

## 目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原理.....	1
5 试剂和材料.....	1
6 仪器和设备.....	2
7 样品的制备和保存.....	3
8 测定步骤.....	8
9 结果计算.....	5
10 精密度.....	5
附录 A（资料性） 8 种抗病毒药物及其内标物质.....	6
附录 B（资料性） 标准溶液 MRM 色谱图.....	7

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由湖北省饲料工业协会饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本文件起草单位：湖北省兽药监察所（湖北省畜禽产品质量监督检验测试中心）、武汉海关技术中心、湖南农业大学。

本文件主要起草人：王峻、金秀娥、龚波、李菁菁、王祎、郑亚杰、曾勇、王建华、舒金秀、卢芳、胡深、谈嵩媛、郑强、周平、董文婷、吴晓翠、陈向丹、冯超林、董书香、徐军、文静静、丁阳。

# 蜂产品中金刚烷胺等 8 种抗病毒药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

## 1 范围

本文件规定了蜂产品中 8 种抗病毒药物残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于蜂蜜及蜂王浆中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、利巴韦林、吗啉胍、阿昔洛韦、奥司他韦及更昔洛韦残留量的测定。

本文件的检出限：蜂蜜和蜂王浆中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、奥司他韦、阿昔洛韦、更昔洛韦均为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；利巴韦林均为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；吗啉胍分别为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本文件的定量限：蜂蜜和蜂王浆中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、奥司他韦、阿昔洛韦、更昔洛韦均为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；利巴韦林均为 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；吗啉胍分别为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样用酸性乙腈甲醇混合提取液提取，经过分散固相萃取柱净化，氮吹至近干，复溶，经滤膜过滤后用液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。

## 5 试剂和材料

5.1 水 (H<sub>2</sub>O)：GB/T 6682，一级。

5.2 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

5.3 甲醇 (CH<sub>3</sub>OH)：色谱纯。

5.4 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

5.5 乙酸铵 (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>)：色谱纯。

5.6 1%甲酸甲醇乙腈溶液：量取 1 mL 甲酸和 30 mL 甲醇，加入乙腈定容至 100 mL，混匀。

5.7 5 mmol/L 乙酸铵溶液（含 0.1%甲酸）：称取 0.385 g 乙酸铵至约 800 mL 水中，加入 1 mL 甲酸后用水定容至 1000 mL，混匀。

5.8 复溶液：量取 5 mmol/L 乙酸铵溶液（含 0.1%甲酸）（5.7）95 mL 及甲醇 5 mL，混匀。

5.9 标准物质：金刚烷胺、盐酸金刚乙胺、盐酸美金刚、利巴韦林、吗啉胍及更昔洛韦纯度均 $\geq$ 98.0%；奥司他韦、阿昔洛韦纯度 $\geq$ 92.0%。前述 8 种标准物质的英文名称、化学分子式及 CAS 号分别见附录 A。

5.10 同位素内标标准溶液：金刚烷胺-D<sub>15</sub>、盐酸金刚乙胺-D<sub>4</sub>、盐酸美金刚-D<sub>6</sub>、利巴韦林-<sup>13</sup>C<sub>5</sub>、吗啉胍-D<sub>8</sub>、更昔洛韦-D<sub>5</sub>、奥司他韦-D<sub>3</sub>、阿昔洛韦-D<sub>4</sub>，其中吗啉胍-D<sub>8</sub>浓度为 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，其他同位素内标标准液浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。前述 8 种同位素内标物质的英文名称、化学分子式及 CAS 号分别见附录 A。

- 5.11 单一标准储备液：准确称取 10 mg 的金刚烷胺、盐酸金刚乙胺、盐酸美金刚、利巴韦林、吗啉胍、奥司他韦、更昔洛韦、阿昔洛韦标准物质分别于 10 mL 容量瓶中，用甲醇分别配制成 1 mg/mL 标准储备液，于-18 ℃以下保存，有效期 3 个月。
- 5.12 混合标准中间液：准确量取 1 mL 单一标准储备液(5.11)，用甲醇逐级稀释配制成浓度为 10 μg/mL 的混合标准中间液，于-18 ℃以下保存，有效期 1 个月。
- 5.13 混合标准工作液：准确量取 1 mL 混合标准中间液(5.12)，用甲醇逐级稀释配制成浓度为 100 ng/mL 的混合标准工作液，于 4 ℃以下保存，有效期 1 周。
- 5.14 混合内标工作液：准确量取适量金刚烷胺-D<sub>15</sub>、盐酸金刚乙胺-D<sub>4</sub>、盐酸美金刚-D<sub>6</sub>、利巴韦林-<sup>13</sup>C<sub>5</sub>、吗啉胍-D<sub>8</sub>、奥司他韦-D<sub>3</sub>、更昔洛韦-D<sub>5</sub>、阿昔洛韦-D<sub>4</sub>内标标准溶液置于同一个 100 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为 100 ng/mL 的混合内标工作液，于 4 ℃以下保存，有效期 3 个月。
- 5.15 分散固相萃取柱：15 mL，含 PSA（乙二胺-N-丙基硅烷）50 mg、C<sub>18</sub>EC150 mg、磷酸钠 900 mg。
- 5.16 EMR 净化包（Lipid dSPE）：环糊精部分表面改性硅胶基体吸附剂。
- 5.17 一次性注射器：1 mL。
- 5.18 滤膜：聚醚砜材质，孔径 0.22 μm；或性能相当者。

## 6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。
- 6.2 天平：感量 0.01 g 和 0.01 mg。
- 6.3 氮吹仪。
- 6.4 冷冻高速离心机：转速≥10000 r/min。
- 6.5 振荡器。
- 6.6 涡旋混合器。
- 6.7 离心管：50 mL。
- 6.8 水浴锅。

## 7 样品的制备和保存

### 7.1 制备

未结晶的蜂蜜试样搅拌均匀；对有结晶析出的蜂蜜样品，置于温度不高于 40 ℃的水浴中，待样品全部融化后搅匀。蜂王浆从冷冻环境中取出，搅拌均匀后取样。

### 7.2 保存

蜂蜜试样于室温下避光保存。蜂王浆试样置于-18 ℃以下避光保存。

## 8 测定步骤

### 8.1 样品前处理

#### 8.1.1 蜂蜜

称取蜂蜜 2.0 g（精确至±0.02 g），置于 50 mL 塑料离心管内，加入混合内标工作液（5.14）100 μL，加入 1%甲酸甲醇乙腈溶液（5.6）5 mL，于涡旋混合器上涡旋混匀，振荡器匀速振荡 10 min。于 4 ℃下 10000 r/min 离心 8 min，取上层清液至分散固相萃取柱（5.15）中，涡旋振荡 3 min。将于 4 ℃下 10000 r/min 离心 5 min，取上清液至 10 mL 离心管中，于 40 ℃下氮吹至近干，1 mL 复溶液（5.8）复溶，涡旋混匀，经 0.22 μm 滤膜（5.18）过滤待测。

#### 8.1.2 蜂王浆

称取蜂王浆 1.0 g（精确至±0.01 g），置于 50 mL 塑料离心管内，加入混合内标工作液（5.14）100 μL，加入 1%甲酸甲醇乙腈溶液（5.6）5 mL，于涡旋混合器上涡旋混匀，振荡器匀速振荡 10 min。于 4 ℃

下 10000 r/min 离心 8 min, 取上层清液至预先加入 2 mL 水活化的 EMR 净化包 (5.16) 中, 涡旋振荡 3 min。于 4 °C 下 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液至 10 mL 离心管中, 于 40 °C 下氮吹至近干, 1 mL 复溶液 (5.8) 复溶, 涡旋混匀。复溶后如有浑浊, 可于 4 °C 下 10000 r/min 离心 5 min 后取上清液经滤膜 (5.18) 过滤待测。

## 8.2 测定

### 8.2.1 标准曲线

准确量取适量抗病毒类药物混合标准中间液 (5.12), 加入 100  $\mu$ L 同位素混合内标工作液 (5.14), 用复溶液 (5.8) 配制金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚、利巴韦林、吗啉胍、阿昔洛韦、奥司他韦及更昔洛韦浓度为 0、0.5、1、5、10、50、100 ng/mL 的系列标准工作液, 供液相色谱-串联质谱测定。将所得的峰面积与内标的峰面积比作为纵坐标, 所对应的标准溶液浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 求回归方程和相关系数。

### 8.2.2 液相色谱参考条件

- 色谱柱: SB-AqC<sub>18</sub>柱<sup>1)</sup>, 粒径 2.7  $\mu$ m, 内径 2.1 mm, 柱长 100 mm, 或性能相当者;
- 流动相: A 相: 5 mmol/L 乙酸铵溶液 (含 0.1% 甲酸), B 相: 甲醇。梯度洗脱条件见表 1;
- 柱温: 30 °C ;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 进样量: 10  $\mu$ L。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	100	0
1.5	100	0
4.5	70	30
7.5	10	90
8.0	10	90
8.1	100	0
10.0	100	0

### 8.2.3 质谱参考条件

- 离子源: 电喷雾离子源 (ESI);
- 扫描方式: 正离子扫描;
- 毛细管电压: 3500 V;
- 雾化温度: 300 °C;
- 雾化气流速: 7 L/min;
- 雾化气压力: 40 psi;
- 鞘气温度: 350 °C;
- 鞘气流速: 12 L/min;
- 监测模式: 多反应监测 (MRM 采集模式);
- 各种药物的 MRM 参数见表 2。

1) SB-AqC<sub>18</sub>柱是由安捷伦科技有限公司所提供。给出这一信息是为了方便本文件使用者, 并不表示对该产品的认可。如果其他产品具有相同的效果, 那么可使用这些等效产品。

表 2 8 种药物及内标物的 MRM 参数

药物名称	定性离子对	定量离子对	裂解电压 (V)	碰撞电压 (eV)
美金刚	180.2>107.0	180.2>163.1	73	23
	180.2>163.1		73	18
金刚烷胺	152.2>93.0	152.2>135.0	100	18
	152.2>135.0		100	30
金刚乙胺	180.2>81.4	180.2>163.3	75	25
	180.2>163.3		75	20
吗啉胍	172.2>113.2	172.2>113.2	110	23
	172.2>130.2		110	20
阿昔洛韦	226.2>135.0	226.2>152.0	90	30
	226.2>152.0		90	10
更昔洛韦	256.2>135.1	256.2>152.1	110	34
	256.2>152.1		110	16
奥司他韦	313.3>225.1	313.3>166.0	110	12
	313.3>166.0		110	18
利巴韦林	245.1>96.1	245.1>113.2	70	30
	245.1>113.2		70	5
美金刚-D <sub>6</sub>	186.3>169.3	186.3>169.3	60	12
金刚烷胺-D <sub>15</sub>	167.3>86.2	167.3>86.2	60	36
金刚乙胺-D <sub>4</sub>	184.3>167.2	184.3>167.2	80	12
吗啉胍-D <sub>8</sub>	180.2>121.0	180.2>121	70	20
阿昔洛韦-D <sub>4</sub>	230.1>151.9	230.1>151.9	90	20
更昔洛韦-D <sub>5</sub>	261.2>152.2	261.2>152.2	100	25
奥司他韦-D <sub>3</sub>	316.3>211.0	316.3>211.0	90	15
利巴韦林- <sup>13</sup> C <sub>5</sub>	250.1>113.0	250.1>113.0	70	5

### 8.3 定性定量方法

#### 8.3.1 定性方法

每种被测组分选择1个母离子, 2个子离子, 在相同试验条件下, 样品中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在±2.5%之内; 且样品谱图中各组分的两个子离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液的相对丰度一致, 偏差不超过表3规定的范围, 则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

单位: %

相对离子丰度	>50	>20~50	>10~20	≤10
最大允许偏差	±20	±25	±30	±50

### 8.3.2 定量方法

分别取适量试样溶液和相应浓度的混合标准工作液(5.13),作单点校准或多点校准,内标法定量。标准工作液及试样液中药物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。相关谱图见附录B。

### 8.4 空白试验

除不加试样外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

## 9 结果计算

试样中抗病毒类药物的残留量 $X$ ,以质量分数微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$X$ ——试样中抗病毒类药物的残留量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$C$ ——试样液中对应的抗病毒类药物的浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );

$V$ ——溶解试样所用溶液的体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );

$m$ ——试样质量,单位为克( $\text{g}$ )。

测定结果用平行测定后的算术平均值表示,保留小数点后两位。

## 10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于算术平均值的20%。

附录 A  
(资料性)  
8种抗病毒药物及其内标物质

8种抗病毒药物及其内标物质如表A.1所示

表 A.1 8 种抗病毒药物及其内标物质

中文名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
金刚烷胺	Amantadine	$C_{10}H_{17}N$	768-94-5
盐酸金刚乙胺	Rimantadine hydrochloride	$C_{12}H_{22}ClN$	1501-84-4
盐酸美金刚	Memantine hydrochloride	$C_{12}H_{22}ClN$	41100-52-1
利巴韦林	Ribavirin	$C_8H_{12}N_4O_5$	36791-04-5
吗啉胍	Moroxydine	$C_6H_{13}N_5O$	3731-59-7
更昔洛韦	Ganciclovir	$C_9H_{13}N_5O_4$	82410-32-0
奥司他韦	Oseltamivir	$C_{16}H_{28}N_2O_4$	196618-13-0
阿昔洛韦	acycloguanosine	$C_8H_{11}N_5O_3$	59277-89-3
金刚烷胺-D <sub>15</sub>	Amantadine-D <sub>15</sub>	$C_{10}H_2D_{15}N$	33830-10-3
盐酸金刚乙胺-D <sub>4</sub>	Rimantadine-D <sub>4</sub> Hydrochloride	$C_{12}H_{18}ClD_4N$	350818-67-6
盐酸美金刚-D <sub>6</sub>	Memantine-D <sub>6</sub> hydrochloride	$C_{12}H_{16}ClD_6N$	1189713-18-5
利巴韦林- <sup>13</sup> C <sub>5</sub>	Ribavirin- <sup>13</sup> C <sub>5</sub>	$C_8H_{12}N_4O_5$	1646818-35-0
吗啉胍-D <sub>8</sub>	Moroxydine-D <sub>8</sub> Hydrochloride	$C_6H_6ClD_8N_5O$	2469734-82-3
更昔洛韦-D <sub>5</sub>	Ganciclovir-D <sub>5</sub>	$C_9H_8N_5O_4D_5$	82410-32-0
奥司他韦-D <sub>3</sub>	OseltaMivir-D <sub>3</sub>	$C_{14}H_{22}ClN_2O_4D_3$	1242184-43-5
阿昔洛韦-D <sub>4</sub>	Acyclovir-D <sub>4</sub>	$C_8H_7D_4N_5O_3$	1185179-33-2

## 附录 B (资料性) 标准溶液MRM色谱图

奥司他韦、阿昔洛韦、更昔洛韦、金刚烷胺、盐酸金刚乙胺、利巴韦林、盐酸美金刚、吗啉胍8种抗病毒药物标准溶液浓度为10 ng/mL的MRM色谱图见图B. 1。奥司他韦-D<sub>3</sub>、阿昔洛韦-D<sub>4</sub>、更昔洛韦-D<sub>5</sub>、金刚烷胺-D<sub>15</sub>、盐酸金刚乙胺-D<sub>4</sub>、利巴韦林-<sup>13</sup>C<sub>5</sub>、盐酸美金刚-D<sub>6</sub>、吗啉胍-D<sub>8</sub>8种内标物质溶液浓度为10 ng/mL的MRM色谱图见图B. 2。

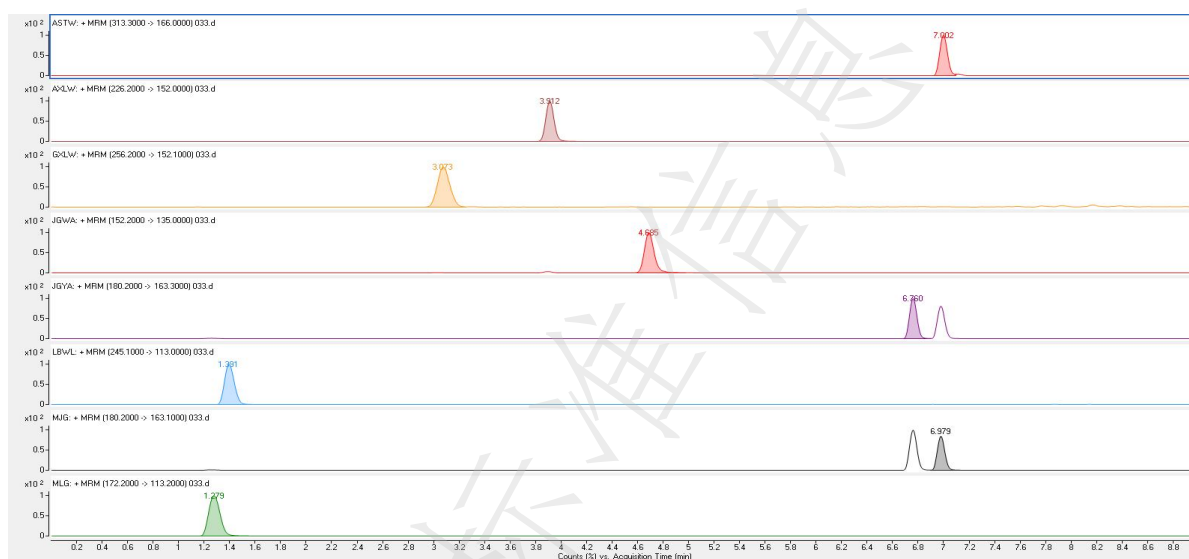


图 B. 1 8 种抗病毒药物标准溶液 MRM 色谱图 (10 ng/mL)

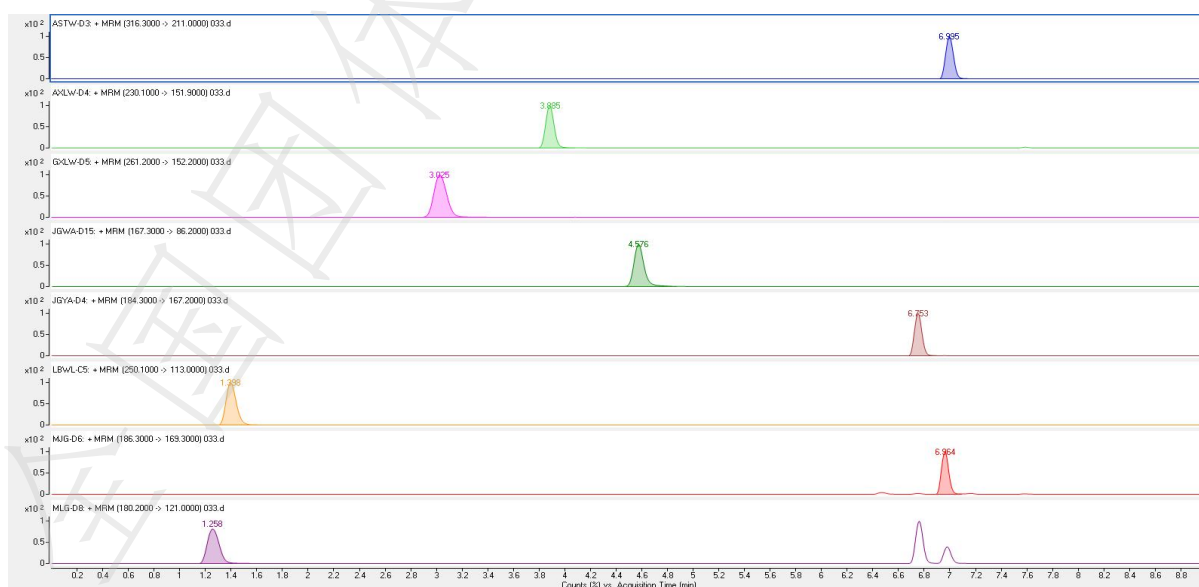


图 B. 2 8 种内标物质标准溶液 MRM 色谱图 (10 ng/mL)