

动物源样品中阿维菌素类药物残留检测方法研究进展

李玉立, 陈可心, 唐塔娅, 武英豪, 沈建忠, 程林丽*

(中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

摘要: 寄生虫病是较严重的人畜共患病之一, 而阿维菌素类药物是目前畜牧业上防治寄生虫病的主要药物。阿维菌素类药物属于大环内酯类抗生素, 抗虫药效强大, 但也具有神经毒性和发育毒性, 脂溶性强, 在动物体内分布广泛且代谢周期长, 极易造成动物源食品中药物残留的问题, 通过食物链危害人类健康。因此, 对动物源样品中的阿维菌素类药物残留量进行检测意义重大。目前, 应用于动物源样品中阿维菌素类药物残留分析的方法主要有液相色谱—紫外检测法、液相色谱—荧光检测法、酶联免疫吸附法、液相色谱—串联质谱法等。作者对近年来阿维菌素类药物各种检测方法进行了综述, 旨在探究各种方法的优劣, 为更精准有效地检测动物源食品中阿维菌素类药物的残留提供参考依据。

关键词: 动物源样品; 阿维菌素类药物; 最大残留限量; 残留分析

中图分类号: S859.84

文献标识码: B

文章编号: 1671-7236(2018)11-3296-09

Research Progress on Detection Methods of Avermectin Residues in Animal Origin Samples

LI Yuli, CHEN Kexin, TANG Taya, WU Yinghao, SHEN Jianzhong, CHENG Linli*

(College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Currently, parasitic disease is one of the more serious zoonoses, and avermectins are the main drugs to control them in animal husbandry. Avermectins are macrolide antibiotics and all have powerful insect-resistant efficacy. However, they also have neurotoxicity and developmental toxins, and are highly fat-soluble. They are widely distributed in animals and have a long metabolic cycle. They are highly prone to cause drug residues in animal-derived foods and endanger human health through the food chain. It is important to detect the residue of avermectins in animal original samples. At present, the methods for analyzing avermectin residues in animal source samples include liquid chromatography-ultraviolet detection, liquid chromatography-fluorescence detection, enzyme-linked immunosorbent assay, liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and so on. Here, the authors reviewed various methods for the detection of avermectins in animal original samples published in recent years, aiming at exploring the advantages and disadvantages of these methods and providing a reasonable basis for the more accurate and effective detection of the residues of avermectins in animal source food.

Key words: animal original sample; avermectins; maximum residue limits; residue analysis

阿维菌素类药物(avermectins, AVMs)是由链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)发酵产生的大环内酯类抗生素杀虫剂, 主要由 8 种结构相似的天然组

分构成, 目前已商品化的兽药品种有阿维菌素(avermectin B₁, AVM)、伊维菌素(ivermectin, IVM)、多拉菌素(doramectin, DOR)、埃普利诺菌素

(又名爱普利诺菌素、乙酰氨基阿维菌素, epinomectin, EPR) 和莫西菌素 (moxidectin, MOX) 等^[1-2]。该类药物化学结构新颖、作用机制独特、高效、低毒、安全、抗虫谱广, 对绝大多数线虫、体外寄生虫及其他节肢动物都有很强的驱杀效果, 是目前畜牧业生产上用量最大的抗寄生虫药物, 对于牛、羊、猪、马、犬等动物寄生虫的驱除作用显著^[2], 该类药物的研发彻底改变了人类对动物寄生虫病的治疗方法^[3]。除了注射给药、经皮给药和做成各种剂型口服给药外, 阿维菌素类药物也可作为饲料添加剂使用, 特别是伊维菌素曾被普遍添加于动物饲料中预防和治疗寄生虫疾病。但随着该类药物的大量使用, 动物通过植物源食物(饲料等)本身的残留、饲料中添加、兽药临床使用等途径都可能摄取这类药物, 导致药物残留, 并通过食物链对人类健康造成威胁。

针对该问题, 许多国家和国际组织都对动物组织中阿维菌素类药物的残留量进行了限制。世界贸易组织(WTO)^[4]、美国(US)^[5]、欧盟(EU)^[6]等都制定了阿维菌素类药物在各动物组织中的最高残留限量 (maximum residue limits, MRLs), 欧盟为 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 美国为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 联合国食品法典委员会(CAC)和许多国家对该类化合物的 MRLs 为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。中国 2017 年颁布的《兽药残留限量》标准对部分阿维菌素类药物的 MRLs 做出了规定: 阿维菌素、伊维菌素及爱普霉素在牛肝脏中的 MRLs 均为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 多拉菌素在牛脂肪中的 MRLs 为 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7]。中国台湾地区早在 1992 年便规定了牛组织中多拉菌素及猪、牛、羊组织中伊维菌素的 MRLs 为 0.01~0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[8]。香港地区在 2003 年也颁布了关于伊维菌素在可食用动物组织中的 MRLs; 牛肝脏中为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 猪肝脏中为 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[9]。因此, 了解阿维菌素类药物的药理和毒性, 建立实用的分析方法对其在动物样品中的残留进行监控具有重要意义。

1 阿维菌素类药物的药理毒理活性

阿维菌素类药物属于二糖苷衍生物, 活性主要来源于其五环十六元的内酯环这一基本结构, 根据 C₅、C₂₂-C₂₃ 和 C₂₆ 结构的不同活性大小略有差异, 目前应用的主要活性有杀虫作用^[10-11], 但近年来发现其也具有杀灭病毒的作用^[12]。

阿维菌素类药物的杀虫作用机制主要有以下 4 个方面: ①作用于 γ -氨基丁酸门控氯离子通道 (GABA-gated chloride channel)。药理学家们认为

该类药物和通道蛋白结合后, 阻断了能使 GABA 活化的氯离子流, 神经膜电位受抑制, 动物的神经冲动传导受到阻断而死亡; 或是它们刺激突触前膜 GABA 的释放, 干扰正常传导, 造成大量 GABA 作用于后膜受体, 产生抑制性后电位, 昆虫麻痹而死。②药物作用于谷氨酸门控氯离子通道 (glutamate-gated chloride channels), 造成氯离子涌入膜内, 神经膜去极化, 神经冲动传导阻塞, 引起动物肌肉瘫痪。③阿维菌素类药物也影响其他配体控制的氯化物通道 (包括甘氨酸配体氯化物通道和亚氯离子通道)。④阿维菌素类药物能完全抑制视黄醇与视黄醇蛋白的结合, 区别寄生虫与寄生组织的视黄醇蛋白结合位点, 且可抑制几丁质的转化和合成、干扰脱皮; 干扰昆虫脂肪体和马氏管的生理代谢活动等^[10,12-17]。

阿维菌素类药物在杀灭有害昆虫和寄生虫的同时, 对哺乳动物具有一定的毒性作用, 在药物动力学特征上具有较大的分布容积和较缓慢的消除过程, 在机体内的动力学过程具有线性动力学特征^[18]。昆虫和线虫对阿维菌素中毒一般不表现兴奋症状, 而表现为运动失调和瘫痪; 哺乳动物对阿维菌素中毒表现为运动失调、呼吸缓慢和震颤等中枢神经系统中毒症状, 比较典型的症状是运动失调和麻痹^[10]。不同动物具体表现行为稍有区别, 哺乳动物对阿维菌素类药物的耐受性较无脊柱动物高得多, 按 WHO 五级分类标准, 阿维菌素类属高毒化合物。这也是动物组织中阿维菌素类药物残留受到各国极大关注的原因。

2 阿维菌素类药物残留检测方法

有关动物源样品中阿维菌素类药物残留检测方法的研究报道较多。这些报道大多利用了该类药物易溶于有机溶剂、不溶于水且吸附性强的物理性质, 采用有机溶剂提取、固相萃取小柱分离净化、液相色谱—串联质谱法(LC-MS) 和液相色谱—荧光检测法(LC-FLD) 进行测定; 或利用其与特异性抗体结合的特点, 采用了免疫亲和色谱分离技术净化或酶联免疫吸附法(ELISA) 测定^[19]。但也有少数报道采用了分子印迹技术净化等新型技术和方法。

2.1 样品前处理技术

样品前处理技术在药物残留分析中起着非常重要的作用。动物源样品主要有固态样品和液态样品两类。固态样品包括各种动物来源的可食性组织, 如肌肉、肝脏、肾脏和脂肪等, 以及鱼、虾和贝类。液态样品主要为奶样和血清。不同类型的样品基质提

取和净化方法有所不同。

2.1.1 动物组织样品 阿维菌素类药物残留分析的动物组织主要有牛和羊的肌肉、肝脏、皮肤/脂肪和肾脏等,基本都采用乙腈提取样品中的药物^[20-29],也有极少数使用甲醇提取^[30]。近两年净化处理方法多采用基质扩散固相萃取方法,如张伟等^[20]对牛肉中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和甲氨基阿维菌素的分析,宓捷波等^[21]对猪肉、牛肉和香肠样品中阿维菌素和伊维菌素的分析,Csuma等^[22]对多种动物组织中埃普利诺的分析,以及杨君宏等^[23]对牛肝脏和肌肉中阿维菌素、伊维菌素和埃普利诺菌素的分析等。这些报道采用的吸附剂均为以C18为基础的反向萃取吸附剂材料,如新十八烷基硅烷化(ODS) C18固相萃取小柱^[24]等。有研究采用在线固相萃取方法,如宓捷波等^[21]建立了动物源食品中阿维菌素和伊维菌素残留量的在线固相萃取—仪器测定法;李欣等^[25]建立了牛肝脏中5种阿维菌素类药物残留的疏水整体柱在线固相萃取结合仪器测定法。而经典的C18固相萃取柱净化方法仍有大量应用,如Mestorino等^[26]采用C18固相萃取柱分析了肉鸡肝脏、皮肤/脂肪、肾脏和肌肉中的伊维菌素;张文娟等^[27]采用PEP-C18混合固相萃取柱净化组织样品。也有报道采用C18固相萃取柱与其他方法结合净化组织样品,Hoyos等^[28]采用硫酸镁吸附和C18固相萃取柱净化牛的脂肪、肾脏、肝脏和肌肉组织中伊维菌素的残留标记物22,23-二氢阿维菌素B_{1a};Iezzi等^[29]分析了牛肉和牛脂肪中伊维菌素的残留。

2.1.2 水产品 水产品中的阿维菌素类药物残留分析大多采用乙腈提取、中性氧化铝固相萃取柱净化的方法获得上机测定的样品提取液,也有少数方法净化时采用中性氧化铝固相萃取柱与其他方法共同进行。如王文兰等^[30]对多种提取溶剂和固相萃取小柱进行分析后认为,对于鱼肌肉组织中阿维菌素和伊维菌素的药物残留分析,乙腈是最佳的前处理提取溶剂,中性氧化铝固相萃取柱具有更好的净化效果。周齐家等^[31]采用乙腈提取、正己烷脱脂、经碱性氧化铝固相萃取(SPE)柱过滤的方法提取大黄鱼肌肉、肝脏、鳃和血液中的阿维菌素。钱卓真等^[32]对石斑鱼血浆、肌肉、肝脏中阿维菌素、伊维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐采用乙腈提取、碱性氧化铝固相萃取柱和LC-C18固相萃取柱串联净化。此外,还有少数方法制备了特异性抗体,采用免疫亲和色谱法净化样品提取液,杨君宏等^[33]采用甲

醇提取、免疫亲和色谱(IAC)柱净化牛肌肉组织中的阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和埃普利诺菌素残留。

2.1.3 奶样品 牛奶和羊奶样品一般采取乙腈或甲醇提取、C18固相萃取柱净化的常规方法,其中有些甚至直接将样品提取液稀释后测定。周鑫等^[34]分析牛奶中阿维菌素和伊维菌素;高明远等^[35]测定牛奶中阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素;高三玉等^[36]测定牛奶中乙酰氨基阿维菌素(埃普利诺菌素)的残留;Ozdemir等^[37]测定牛奶中阿维菌素、多拉菌素、伊维菌素、埃普利诺菌素和莫西菌素的残留;刘萤等^[38]将常用的乙腈提取改进为甲醇提取,分析牛奶中的阿维菌素残留;Iezzi等^[39]测定牛奶和羊奶中的伊维菌素;Wang等^[40]将牛奶样品稀释后采用乙腈提取。

2.1.4 血浆样品 与饲用动物组织样品、水产类样品和奶样品相比,血浆样品的基质较简单,一般都采取乙腈提取后直接上样分析,也有报道采用乙酸乙酯提取,转换溶剂后分析;还有少数报道用C18固相萃取柱净化乙腈提取液后再分析。Pollock等^[41]分析羊驼血清中的埃普利诺菌素;Saumell等^[42]测定马血清中的埃普利诺菌素;Brique-Pellet等^[43]检测山羊血清中的埃普利诺菌素;Karthikeyan等^[44]分析牛血清中伊维菌素;Hamel等^[45]提取绵羊或牛血清中的埃普利诺菌素;任丽君等^[46]采用乙酸乙酯提取绵羊血浆样品中的伊维菌素,经过水浴氮吹法转换溶剂为甲醇后测定;石艳丽等^[47]采用乙腈提取绵羊血浆样品中的多拉菌素,旋转蒸发浓缩后转换溶剂为0.5%乙腈样品提取液,用C18固相萃取柱净化,乙酸乙酯洗脱样品。

以上都是对阿维菌素类药物分析中较常见的样品提取和净化方法,其中较新颖的如免疫亲和色谱法,特异性强,灵敏度高,但免疫亲和柱的稳定性和保存条件一直是业界的难题,应用量不大;基质分散固取方法操作简便,适应性强,虽然发明较早,但一直以来发展较缓慢,近两年多篇报道中采用该方法提取和净化阿维菌素类药物,值得关注。此外,文献还报道了一些其他新型提取净化方法。Zhang等^[48]首次利用裸露的Fe₃O₄磁珠微球作为固相萃取吸附材料,对可食性油中的阿维菌素类药物残留量进行了富集萃取后仪器检测。该微球通过水热法简单制备而成,文章还对该吸附剂的用量、加载、洗涤和洗脱溶剂等条件进行了详细研究。You等^[49]采用磁性分子印迹技术,通过原子转换辐射多聚化

方法从鱼样品中快速提取阿维菌素。他们用磁性多面化的碳纳米管作为支持材料,以原子转换辐射聚化作为聚化方法,以阿维菌素作为模板、丙烯酰胺作为功能单体、乙二醇二甲基丙烯酸酯作为交叉连接桥,采用表面印迹多聚化方法合成了磁性分子印迹多聚体。利用透射电子显微镜、傅立叶变换红外光谱、X射线光电子能谱、振动样品磁强计、X射线衍射、热重分析等方法对磁性分子印迹聚合物的特性进行了评价。通过等温吸附试验、动力学吸附试验和选择性试验研究了磁性分子印迹聚合物的结合特点。然后采用获得的磁性分子印迹化多聚体来检测鱼样品中的阿维菌素。这些新型的提取净化方法都可能成为将来样品前处理的发展方向。

2.2 测定技术

目前阿维菌素类药物残留分析的测定技术主要有超高效液相色谱—串联质谱法(UPLC-MS/MS)、液相色谱—串联质谱法(LC-MS/MS)、液相色谱—荧光检测法(LC-FLD)、液相色谱—紫外检测法(LC-UV)及酶联免疫吸附法(ELISA)等。UPLC-MS/MS 和 LC-MS/MS 采用色谱分离,质谱测定,为质量型的分析技术。LC-FLD 检测法基于阿维菌素类药物含有羟基能发生硅烷化反应生成具有荧光吸收衍生物的特点;LC-UV 检测法利用其含有内酯环,具有紫外吸收特点;ELISA 法则利用其与特异性抗体结合的特点;这些都采用了浓度型的分析技术。

2.2.1 在线检测技术 在线分析是液质联机测定的一个发展方向。宓捷波等^[21]建立了猪肉、牛肉和香肠样品中阿维菌素和伊维菌素残留量的在线固相萃取—液相色谱—串联质谱检测方法,两种药物的质量浓度在 10 μg/L 内与峰面积呈线性关系。李欣等^[25]建立了牛肝脏中 5 种阿维菌素类药物残留的疏水整体柱在线固相萃取结合高效液相色谱—串联质谱测定方法,该方法在 1~100 μg/kg 范围内线性关系良好($r>0.995$)。上述报道的方法均准确稳定,对各药物的定量限均为 5.0 μg/kg。

2.2.2 UPLC-MS/MS 法 阿维菌素类药物的 UPLC-MS/MS 分析报道较多,这些方法一般都采用电喷雾正离子(ESI⁺)扫描、多反应模式监测。周鑫等^[34]测定了牛奶中阿维菌素和伊维菌素残留,检测限为 1.0 μg/kg; You 等^[49]测定鱼样品中阿维菌素,检测限为 0.075 μg/kg; Zhang 等^[48]分析可食性油中的阿维菌素类残留,检测限为 0.02~0.85 μg/kg; Hoyos 等^[28]检测牛组织中 22,23-二氢阿维菌素 B_{1a}

残留,检测限为 0.05~0.12 μg/kg; Ozdemir 等^[37]测定牛奶中阿维菌素、多拉菌素、伊维菌素、埃普利诺菌素和莫西菌素残留,定量限为 0.32~0.48 μg/kg; 张文娟等^[27]测定多种组织中的 10 种阿维菌素类药物残留,定量限(RSN \geqslant 10)均达 5.0 μg/kg; 高华鹏等^[50]测定鳗鱼中阿维菌素、多拉菌素和伊维菌素残留,检测限为 0.43~0.32 μg/kg。上述方法的标准曲线范围按添加浓度计算有 5~250 和 0.5~20 μg/kg 等,相关系数均 >0.99 。在相应的添加浓度水平,回收率为 60%~99%,以 80.2%~97.0% 最多,变异系数均 $\leqslant 8.9\%$,方法稳定。

2.2.3 LC-MS/MS LC-MS/MS 分析方法的线性范围基本都在 5~200 μg/L 内,检测限一般略高于 UPLC-MS/MS,定量限为 5.0 μg/kg 的较多,2~100 μg/kg 添加浓度范围内的回收率在 73.2%~100.7% 之间,相对标准偏差在 0.78%~17.0% 之间。钱卓真等^[32]检测了石斑鱼血浆、肌肉、肝脏中阿维菌素、伊维菌素和甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的残留,阿维菌素和伊维菌素在 2.5~200 ng/mL 范围内,甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在 0.25~20 ng/mL 范围内,线性回归系数均 >0.99 ,方法检测限分别为 0.1~2.5 ng/mL(μg/kg),定量限分别为 0.2~5 ng/mL(μg/kg)。宫小明等^[51]对猪肉中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素、莫西菌素和乙酰氨基阿维菌素 5 种阿维菌素类药物及其他药物进行了分析。郑卫东等^[52]测定了猪肝脏中阿维菌素和伊维菌素。Rubensam 等^[53]采用 LC-MS/MS 和 LC-FLD 法检测了牛肉中的阿维菌素和米尔倍霉素。Inoue 等^[54]测定了牛的肌肉、肝脏、脂肪中阿维菌素类药物。

2.2.4 LC-FLD LC-FLD 法是阿维菌素类药物分析最常用的液相色谱方法,具有灵敏、准确和高效的特点,但需进行衍生化过程。这些方法一般都在无水乙腈溶液中 N-甲基咪唑和三氟乙酸酐的作用下使阿维菌素类药物发生硅烷化,经反向 C18 色谱柱分离后,365 nm 激发波长和 475 nm 发射波长检测,检测限一般为 0.5~2 μg/kg(S/N=3)。张伟等^[20]、高明远等^[35]、杨君宏等^[33]、程林丽等^[55]及程传民等^[56]检测了牛肉、牛奶或其他牛组织中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和埃普利诺菌素,2~100 μg/kg 添加浓度的平均回收率为 70.2%~119.5%,变异系数为 1.5%~18.9%,其中有个别报道方法线性范围甚至达到 2~5 000 μg/L。王海等^[57]测定了猪肉中阿维菌素、伊维菌素和多拉菌素,添加回收率为 55%~75%。王文兰等^[30]测定了

鱼肉中阿维菌素(AMV)和伊维菌素,添加回收率均在70%~110%之间,变异系数均<10%。Danaher等^[58]和Roudaut^[59]检测了牛、羊和猪肝脏中阿维菌素和莫西菌素,前者的平均回收率为77.5%~90.8%,变异系数为2.7%~7.7%;后者在4~20 mg/kg添加的浓度回收率高达90%~96%。

单个药物的LC-FLD分析方法提取和测定与多残留分析方法类似。Csuma等^[22]采用液相色谱一柱后荧光衍生化分析动物组织埃普利诺菌素B_{1a};Pollock等^[41]、Saumell等^[42]、Brique-Pellet等^[43]、Hamel等^[45]分别对羊驼、马、山羊、绵羊(或牛)血清中的埃普利诺菌素进行了测定,方法回收率为65.2%~96.2%。Mestorino等^[26]分析了肉鸡的肝脏、皮肤/脂肪、肾脏和肌肉,Iezzi等^[29,39]分析了牛肉、牛脂肪、牛奶和羊奶;Karthikeyan等^[44]分析了牛血清中的伊维菌素。周齐家等^[31]分析大黄鱼肌肉、肝脏、鳃和血液中的阿维菌素;Dusi等^[60]对牛奶中阿维菌素类进行了测定,方法线性良好,回收率在70%以上。石艳丽等^[47]测定了绵羊血浆样品中的多拉菌素,标准曲线范围为0.1~100 ng/mL。这些单个药物测定的方法稳定,变异系数在15%以内。

2.2.5 LC-UV法 LC-UV法的灵敏度不及LC-FLD和LC-MS/MS方法,相关残留分析方法仅见于伊维菌素和阿维菌素的单个药物检测,均采用了245 nm的紫外检测波长。任丽君等^[46]采用乙酸乙酯提取绵羊血浆样品中的伊维菌素,经过水浴氮吹法转换溶剂为甲醇后进行LC-UV检测,色谱柱为5 μm粒径的zirchrom C18柱,流动相为甲醇—水(92:8)。邵金良等^[61]建立了猪肉中阿维菌素残留的LC-UV检测法,样品经乙腈超声波辅助提取、自制碱性氧化铝固相萃取小柱净化。李再兴等^[62]建立了一种阿维菌素分析的LC-UV测定方法。

2.2.6 ELISA法 除了以上仪器分析方法外,利用抗原与抗体的特异性、可逆性结合反应建立的ELISA法在阿维菌素类药物残留分析中也得到了较广泛的应用,相关检测技术日趋成熟,目前已有部分相关ELISA试剂盒投入使用,基本都为间接ELISA法。杨君宏等^[23]、Shi等^[63]对牛组织中阿维菌素、伊维菌素和埃普利诺菌素等多残留进行检测,在5~100 μg/kg的添加浓度范围内回收率为53.8%~108.6%,变异系数为3.4%~17.9%。Xie等^[64]建立了阿维菌素和伊维菌素的残留分析方法,对两种药物的半抑制浓度分别为0.491和0.770 ng/mL,

添加回收率为94%~112%。周洪娟等^[24]、赵卫东等^[65]检测了3种不同种类动物源性产品中的阿维菌素,回收率在62.3%~85.6%之间。刘萤等^[38]和Wang等^[40]测定了牛奶中的阿维菌素,平均回收率为95.90%,变异系数均在15.42%以内。

2.2.7 其他新型检测方法 除了以上常规检测方法外,Xie等^[64]利用能灵敏、特异性结合阿维菌素和伊维菌素的单克隆抗体1H2建立了阿维菌素和伊维菌素检测的侧向流免疫层析试纸条法,该方法可进行半定量和定量检测,阿维菌素和伊维菌素的肉眼可见半定量分析检测限分别为10和25 ng/mL,临界值分别为25和50 ng/mL;使用条带扫描仪测定的定量分析检测限分别为1.3和2.9 ng/mL,对粗牛奶样品分析的回收率为110%~125%。

3 小结

综上分析可知,在阿维菌素类药物的残留分析中,LC-MS/MS法方法检测不需要衍生化过程、准确度好、灵敏度高,但仪器昂贵,广泛推广难度较大;LC-FLD法具有提取净化简单、衍生结果稳定、灵敏度和结果准确性高及检测时间短的特点,但荧光检测法需衍生化,增加了前处理的操作步骤;LC-UV法测量时受内源性物质干扰大,检测灵敏度较低;ELISA法检测速度快,适用于大规模的筛选,但可能存在假阳性现象,需对阳性样品进一步确证。上述各类动物源样品中阿维菌素类药物残留方法各有利弊,适应于不同的需求环境,在阿维菌素类药物的残留分析中都有较广泛的应用,而新的前处理技术和检测方法的研究和应用,必将会带来更多方便可行的检测方法。

参考文献(References):

- [1] CAO X M, LUO Z S, ZENG W Z, et al. Enhanced avermectin production by *Streptomyces avermitilis* ATCC 31267 using high-throughput screening aided by fluorescence-activated cell sorting[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(2): 703-712.
- [2] 梁军,司红彬,匡秀华,等.阿维菌素类药物的研究进展[J].上海畜牧兽医通讯,2005,26(1):9-11.
LIANG J, SI H B, KUANG X H, et al. Research progress on avermectins [J]. *Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2005, 26(1): 9-11. (in Chinese)
- [3] MOLYNEUX D H, WARD S A. Reflections on the Nobel prize for medicine 2015——The public health

- legacy and impact of avermectin and artemisinin[J]. *Trends in Parasitology*, 2015, 31(12): 605-607.
- [4] WHO CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Maximum residue limits for veterinary drugs in foods[Z]. The 31st Session of the Codex Alimentarius Commission, 2008.
- [5] US FDA. Appendix I U. S. Residue limits for compounds in meat and poultry[S]. 2003.
- [6] EU. Appendix X joint FAO/WHO food standards programme codex alimentarius commission twenty-ninth session[Z]. Geneva, Switzerland, 2006.
- [7] 中华人民共和国农业部和中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 动物性食品中兽药最大残留限量(报批稿). 农业部办公厅关于征求动物性食品中兽药最大残留限量标准意见的函. 2017.
MINISTRY OF AGRICULTURE OF PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA AND NATIONAL HEALTH AND FAMILY PLANNING COMMISSION OF PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA. National standard for food safety; Maximum limit of veterinary drug residues in animal foods (report for approval). A letter on the approval of the maximum residue limit standard for veterinary drugs in animal foods[S]. 2017. (in Chinese)
- [8] THE MINISTER OF NATIONAL HEALTH IN TAIWAN. Regulations governing the maximum limits for veterinary medicine and stock remedy residues that may be present in foodstuffs[S]. Government Notice No. R. 1809 (first publish in 1992) and 1387 (amended in 1999).
- [9] DR E K, YEOH. Secretary for health, welfare and food of Hongkong. Cap 139N Sched 2 maximum residue limit (MRL) for tissues of food animals[Z]. L. N. 231 of 2003 Public Health, 2003.
- [10] 刘耀川,赵刚,宁静,等. 阿维菌素的研究进展[J]. 现代畜牧兽医, 2012, 21(1): 60-62.
LIU Y C, ZHAO G, NING J, et al. Research progress of abamectin[J]. *Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2012, 21(1): 60-62. (in Chinese)
- [11] VARGHESE F S, KAUKNEN P, GLÄSKER S, et al. Discovery of berberine, abamectin and ivermectin as antivirals against chikungunya and other alphaviruses[J]. *Antiviral Research*, 2015, 126: 117-124.
- [12] WANG A, WANG Y, SUN C, et al. Fabrication, characterization, and biological activity of avermectin nano-delivery systems with different particle sizes[J]. *Nanoscale Research Letters*, 2018, 13(1): 1-7.
- [13] 高玉红,庞淑华,高玉阁,等. 多拉菌素的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017, 23: 93-96.
GAO Y H, PANG S H, GAO Y G, et al. Research progress of doramectin [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2017, 23: 93-96. (in Chinese)
- [14] BARDA B, SAYASONE S, PHONGLUXA K, et al. Efficacy of moxidectin versus ivermectin against *Strongyloides stercoralis* infections: A randomized, controlled noninferiority trial[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2017, 65(2): 276-281.
- [15] SOGRINA A, BEREZHKO V, NAPISANOVA L, et al. Pathology of testes cells in white mice after impact of eprinomectin [J]. *AGROFOR International Journal*, 2017, 2(1): 6-9.
- [16] 陈冬,程建国,蔡永华,等. 多拉菌素和芬苯咪唑对林麝毛首线虫(鞭虫)的驱虫试验[J]. 中国动物检疫, 2017, 34(1): 101-103.
CHEN D, CHENG J G, CAI Y H, et al. Efficacy of fenbendazole and doramectin for expelling *Trichuris* in the forest musk deer[J]. *China Animal Health Inspection*, 2017, 34(1): 101-103. (in Chinese)
- [17] 樊天喜,马萍萍,吴锦艳,等. 多拉菌素和伊维菌素对牛、羊寄生虫的驱虫效果研究[J]. 甘肃畜牧兽医, 2016, 46(19): 100-103.
FAN T X, MA P P, WU J Y, et al. Doramectin and ivermectin expelling parasite effect to parasites in cow and sheep[J]. *Gansu Animal Science and Veterinary Medicine*, 2016, 46(19): 100-103. (in Chinese)
- [18] 沈新秀,祖军. 急性阿维菌素中毒合并肝功能损害的临床分析[J]. 中国继续医学教育, 2018, 5: 112-114.
SHEN X X, ZU J. Clinical analysis of acute abamectin poisoning with liver function damage [J]. *China Continuing Medical Education*, 2018, 5: 112-114. (in Chinese)
- [19] 文豪,周绪正,李冰,等. 阿维菌素类药物残留检测的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015, 11: 55-57.
WEN H, ZHOU X Z, LI B, et al. Progress in the detection of avermectin residues[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2015, 11: 55-57. (in Chinese)
- [20] 张伟,舒均喜,郑妍,等. QuEChERS-高效液相色谱法检测牛肉中的阿维菌素类药物残留[J]. 动物医学进展, 2017, 38(11): 56-60.
ZHANG W, SHU J X, ZHENG Y, et al. QuEChERS-HPLC determination of avermectins residues in beef[J]. *Progress in Animal Medicine*, 2017, 38(11): 56-60. (in Chinese)

- [21] 宓捷波,张然,王飞,等.在线固相萃取—液相色谱—串联质谱法测定动物源食品中阿维菌素和伊维菌素的残留量[J].理化检验(化学分册),2017,2(9):1009-1013.
- MI J B, ZHANG R, WANG F, et al. Determination of residues of abamectin and ivermectin in animal-derived foods by on-line solid phase extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Physical and Chemical Testing (Chemistry)*, 2017, 2(9): 1009-1013. (in Chinese)
- [22] CSUMA A, CRISTINA R T, DUMITRESCU E, et al. Application of QuEChERS-high performance liquid chromatography with postcolumn fluorescence derivatization (HPLC-FLD) method to analyze eprinomectin B_{1a} residues from a pour-on conditioning in bovine edible tissues[J]. *Open Chemistry*, 2015, 13(1): 769-779.
- [23] 杨君宏,何继红,侯晓林,等.ELISA方法检测牛组织中的阿维菌素类药物残留[J].中国兽医杂志,2014,50(9):70-72.
- YANG J H, HE J H, HOU X L, et al. Detection of abamectin residues in bovine tissues by ELISA[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2014, 50(9): 70-72. (in Chinese)
- [24] 周洪娟,崔言顺,魏可鹏,等.QuEChERS-联免疫吸附法检测动物源性产品中阿维菌素残留[J].山东畜牧兽医,2013,34(11):6-7.
- ZHOU H J, CUI Y S, WEI K P, et al. Detection of avermectin residues in animal-derived products by QuEChERS-linked immunosorbent assay [J]. *Shandong Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2013, 34(11): 6-7. (in Chinese)
- [25] 李欣,张璐琴,艾连峰,等.疏水整体柱在线固相萃取与高效液相色谱—串联质谱联用测定牛肝中5种阿维菌素类药物残留[J].色谱,2015,33(6):590-596.
- LI X, ZHANG Y Q, AI L F, et al. Determination of five abamectin residues in beef liver by on-line solid-phase extraction with hydrophobic monolith and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2015, 33(6): 590-596. (in Chinese)
- [26] MESTORINO N, BULDAIN D, BUCHAMER A, et al. Residue depletion of ivermectin in broiler poultry[J]. *Food Additives and Contaminants A*, 2017, 34(4):624-631.
- [27] 张文娟,连庚寅,郭晓喜,等.超高效液相色谱—串联质谱法测定10种食品中的阿维菌素类药物残留[J].食品科学,2012,33(18):226-231.
- ZHANG W J, LIAN G Y, GUO X X, et al. Determination of abamectin residues in 10 food samples by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2012, 33(18): 226-231. (in Chinese)
- [28] HOYOS O, DE CUARTAS O, YA PNUELA M G A. Development and validation of a highly sensitive quantitative/confirmatory method for the determination of ivermectin residues in bovine tissues by UHPLC-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2017, 221:891-897.
- [29] IEZZI S, PURSLOW P, SARA C, et al. Relationship between ivermectin concentrations at the injection site, muscle and fat of steers treated with traditional and long-acting preparations[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 105:319-321.
- [30] 王文兰,刘艳辉,祖岫杰,等.鱼肌肉中阿维菌素和伊维菌素药物残留测定的样品前处理[J].分析试验室,2015,34(4):475-479.
- WANG W L, LIU Y H, ZU X J, et al. Sample pre-treatment of abamectin and ivermectin residues in fish muscle[J]. *Analysis Laboratory*, 2015, 34(4): 475-479. (in Chinese)
- [31] 周齐家,王军,牛素芳,等.大黄鱼4种组织中阿维菌素的HPLC-FLD方法的建立[J].厦门大学学报(自然科学版),2013,52(3):433-436.
- ZHOU Q J, WANG J, NIU S F, et al. Establishment of HPLC-FLD method for abamectin in four tissues of large yellow croaker[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science Edition)*, 2013, 52(3): 433-436. (in Chinese)
- [32] 钱卓真,汤水粉,罗方方,等.石斑鱼中阿维菌素类药物多残留测定及食用安全风险评估[J].食品科学,2017,38(22):309-316.
- QIAN Z Z, TANG S F, LUO F F, et al. Multiple residue determination of abamectin in grouper and risk assessment of food safety[J]. *Food Science*, 2017, 38(22):309-316. (in Chinese)
- [33] 杨君宏,何继红,侯晓林,等.牛肌肉中阿维菌素类药物残留的免疫亲和色谱—高效液相色谱荧光检测方法的研究[J].中国畜牧兽医,2014,41(1):243-245.
- YANG J H, HE J H, HOU X L, et al. Immunoaffinity chromatography—High performance liquid chromatography fluorescence detection of abamectin residues in bovine muscle[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2014, 41(1): 243-245. (in Chinese)
- [34] 周鑫,李爱军,董李学,等.液质联用法测定牛奶中的阿维菌素和伊维菌素[J].食品工业,2018,1:325-327.

- ZHOU X, LI A J, DONG L X, et al. Determination of avermectin and ivermectin in milk by LC-MS[J]. *The Food Industry*, 2018, 1: 325-327. (in Chinese)
- [35] 高明远,高 悅. HPLC 方法检测牛奶中多拉菌素等 3 种药物残留[J]. 黑龙江畜牧兽医,2017,5:282-285.
- GAO M Y, GAO Y. Determination of three kinds of drugs including doramectin in milk by HPLC [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2017, 5: 282-285. (in Chinese)
- [36] 高三玉,周芷锦,罗成江,等. 高效液相色谱法测定牛奶中乙酰氨基阿维菌素的残留量[J]. 畜牧与饲料科学,2017,38(4):14-16.
- GAO S Y, ZHOU Z J, LUO C J, et al. Determination of eprinomectin residue in milk by HPLC method[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2017, 38 (4): 14-16. (in Chinese)
- [37] OZDEMIR N, KAHRAMAN T. Rapid confirmatory analysis of avermectin residues in milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2016, 24(1):90-94.
- [38] 刘 萱,吴小平,苏丽芳,等. ELISA 快速测定牛奶中阿维菌素前处理方法的建立[J]. 检验检疫学刊,2015,4:58-60.
- LIU Y, WU X P, SU L F, et al. Rapid determination of avermectin milk established by the method [J]. *Journal of Inspection and Quarantine*, 2015, 4: 58-60. (in Chinese)
- [39] IEZZI S, LIFSCHITZ A, SALLOVITZ J M, et al. Impact of ivermectin residues in the technological processes of milk and its derivatives[J]. *Revista Veterinaria*, 2015, 26(2):93-98.
- [40] WANG C, WANG Z, JIANG W, et al. A monoclonal antibody-based ELISA for multiresidue determination of avermectins in milk[J]. *Molecules*, 2012, 17 (6): 7401-7414.
- [41] POLLOCK J, BEDENICE D, JENNINGS S H, et al. Pharmacokinetics of an extended-release formulation of eprinomectin in healthy adult alpacas and its use in alpacas confirmed with mange[J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2017, 40(2): 192-199.
- [42] SAUMELL C, LIFSCHITZ A, BARONI R, et al. The route of administration drastically affects ivermectin activity against small strongyles in horses[J]. *Veterinary Parasitology*, 2017, 236:62-67.
- [43] BRIQUE-PELLET C, RAVINET N, QUENET Y, et al. Pharmacokinetics and anthelmintic efficacy of injectable eprinomectin in goats[J]. *Veterinary Par-*
- sitology*, 2017, 241:43-47.
- [44] KARTHIKEYAN S S, AHMAD A H, BISHT K, et al. Pharmacokinetics of ivermectin (ivermic super[®]) following single dose subcutaneous administration in cattle calves [J]. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 2017, 11(1):16-23.
- [45] HAMEL D, BOSCO A, RINALDI L, et al. Eprinomectin pour-on (EPRINEXReg. Pour-on, Merial): Efficacy against gastrointestinal and pulmonary nematodes and pharmacokinetics in sheep[J]. *BMC Veterinary Research*, 2017, 13(1):148.
- [46] 任丽君,郭玉娟,姚 军,等. 伊维菌素缓释注射液的制备工艺及在绵羊体内药代动力学研究[J]. 西北药学杂志,2016,31(5):497-500.
- REN L J, GUO Y J, YAO J, et al. Study on preparation and pharmacokinetics of ivermectin sustained-release injections in sheep[J]. *Northwest Pharmaceutical Journal*, 2016, 31(5):497-500. (in Chinese)
- [47] 石艳丽,李 巍,韩彩霞,等. 绵羊血浆中多拉菌素的 HPLC 测定及其药动学研究[J]. 东北农业大学学报,2012,12:92-96.
- SHI Y L, LI W, HAN C X, et al. Determination of doramectin and its pharmacokinetics in sheep plasma by HPLC[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2012, 12:92-96. (in Chinese)
- [48] ZHANG H X, LU W X, HONG G Y, et al. Rapid and sensitive detection of avermectin residues in edible oils by magnetic solid-phase extraction combined with ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Analytical Methods*, 2017, 10(9):3201-3208.
- [49] YOU X, GAO L, QIN D, et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers by atom transfer radical polymerization for the rapid extraction of avermectin from fish samples[J]. *Journal of Separation Science*, 2017, 40(2):424-430.
- [50] 高华鹏,张健玲,李永夫,等. 超高效液相色谱—串联质谱法快速测定鳗鱼中阿维菌素类农药残留[J]. 质谱学报,2008,29(6):337-342.
- GAO H P, ZHANG J L, LI Y F, et al. Rapid determination of emamectin pesticide residues in eels by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Mass Spectrometry*, 2008, 29 (6): 337-342. (in Chinese)
- [51] 宫小明,孙 军,董 静,等. 高效液相色谱—串联质谱法测定猪肉中的阿维菌素类、地克珠利、妥曲珠利及其代谢物残留[J]. 色谱,2011,29(3):217-222.
- GONG X M, SUN J, DONG J, et al. Determination of

- avermectin, diclazuril, toltrazuril and metabolite residues in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2011, 29(3): 217-222. (in Chinese)
- [52] 郑卫东,胡江涛,阴文娅,等.高效液相色谱—串联质谱测定猪肝中阿维菌素、伊维菌素残留[J].食品科学,2011,32(4):185-188.
- ZHENG W D, HU J T, YIN W Y, et al. Determination of abamectin and ivermectin in pork liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Science*, 2011, 32(4): 185-188. (in Chinese)
- [53] RUEBENSAM G, BARRETO F, HOFF R B, et al. Determination of avermectin and milbemycin residues in bovine muscle by; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence; Detection using solvent extraction and low temperature cleanup[J]. *Food Control*, 2013, 29(1): 55-60.
- INOUE K, YOSHIMI Y, HINO T, et al. Simultaneous determination of avermectins in bovine tissues by LC-MS/MS [J]. *Journal of Separation Science*, 2009, 32(21): 3596-3602.
- [55] 程林丽,安洪泽,沈建忠,等.牛奶中4种阿维菌素类药物的高效液相色谱快速测定[J].中国农业大学学报,2010,15(4):95-98.
- CHENG L L, AN H Z, SHEN J Z, et al. Rapid determination of four abamectin drugs in milk by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2010, 15(4): 95-98. (in Chinese)
- [56] 程传民,冯 娅.高效液相色谱法测定动物源食品中阿维菌素类药物残留量[J].饲料工业,2009, 20: 54-55.
- CHENG C M, FENG Y. Determination of avermectin residues in animal-derived foods by high performance liquid chromatography[J]. *Feed Industry*, 2009, 20: 54-55. (in Chinese)
- [57] 王 海,刘素英,单吉浩,等.液相色谱法测定猪组织中阿维菌素类药物残留量[J].中国兽药杂志,2005, 39(9):12-15.
- WANG H, LIU S Y, SHAN J H, et al. Determination of abamectin residues in porcine tissues by liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2005, 39(9): 12-15. (in Chinese)
- [58] DANAHER M, O'KEEFFE M, GLENNON J D. Val- idation and robustness testing of a HPLC method for the determination of avermectins and moxidectin in animal liver samples using an alumina column cleanup[J]. *Analyst*, 2000, 125(10): 1741-1744.
- [59] ROUDAUT B. Multiresidue method for the determination of avermectin and moxidectin residues in the liver using HPLC with fluorescence detection[J]. *Analyst*, 1998, 123(12): 2541-2544.
- [60] DUSI G, FAGGIONATO E, BERTOCCHI L, et al. Determination of avermectin and milbemycin residues in milk for human consumption using liquid chromatography with fluorescence detection [J]. *Industrie Alimentari*, 2001, 40(399): 11-14.
- [61] 邵金良,刘宏程,兰珊珊,等.高效液相色谱紫外检测法测定猪肉中阿维菌素药物残留[J].肉类工业, 2011, 2: 51-54.
- SHAO J L, LIU H C, LAN S S, et al. Determination of abamectin residues in pork by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. *Meat Industry*, 2011, 2: 51-54. (in Chinese)
- [62] 李再兴,宋存义,杨景亮,等.高效液相色谱法测定阿维菌素[J].环境科学与管理,2007,32(2):184-185.
- LI Z X, SONG C Y, YANG J L, et al. Determination of avermectin by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Environmental Science and Management*, 2007, 32(2): 184-185. (in Chinese)
- [63] SHI W, HE J, JIANG H, et al. Determination of multiresidue of avermectins in bovine liver by an indirect competitive ELISA[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2006, 54(17): 6143-6146.
- [64] XIE Z J, KONG D Z, LIU L Q, et al. Development of ic-ELISA and lateral-flow immunochromatographic assay strip for the simultaneous detection of avermectin and ivermectin[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2017, 28(3): 439-451.
- [65] 赵卫东,郑文杰,贺 艳,等.酶联免疫法检测动物源性产品中阿维菌素残留[J].食品研究与开发,2009, 30(4):127-130.
- ZHAO W D, ZHENG W J, HE Y, et al. Detection of avermectin residues in animal-derived products by enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Food Research and Development*, 2009, 30(4): 127-130. (in Chinese)

(责任编辑 董晓云)