

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.07.11

# 非甾体类抗炎药前处理及检测方法研究进展

孙志轩<sup>1,2</sup>, 李苗<sup>1,2</sup>, 黄婧洁<sup>1,2</sup>, 钱思萱<sup>1,2</sup>, 顾雅妮<sup>1,2</sup>, 李建成<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国农业大学动物源性食品安全检测技术北京市重点实验室, 北京 100193; 2. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

[收稿日期] 2023-02-10 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 07-0077-10 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 非甾体类抗炎药是目前兽医临床中使用最为广泛的一类药物,但此类药物在动物源性食品中的残留对人类的健康造成严重威胁。通过综述国内外非甾体类抗炎药在动物源性食品中的前处理方法和检测方法的研究现状,总结不同前处理方法的优缺点以及多种检测方法的灵敏度和准确性,对非甾体类药物的残留检测发展趋势进行展望,旨在为今后的检测方法开发提供参考。

**[关键词]** 动物源性食品;非甾体抗炎药;残留分析

## Research Progress on Pretreatment and Detection Methods of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs

SUN Zhi-xuan<sup>1,2</sup>, LI Miao<sup>1,2</sup>, HUANG Jing-jie<sup>1,2</sup>, QIAN Si-xuan<sup>1,2</sup>, GU Ya-ni<sup>1,2</sup>, LI Jian-cheng<sup>1,2\*</sup>

(1. Beijing Key Laboratory of Detection Technology for Animal-Derived Food Safety, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Corresponding author: LI Jian-cheng, E-mail: horse20@cau.edu.cn

**Abstract:** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are currently the most widely used class of drugs in animal medicine, but the residue of such drugs in animal derived foods poses a serious threat to human health. This paper introduced the research progress of pretreatment and detection methods of NSAIDs in animal-derived foods at home and abroad. The advantages and disadvantages of different pretreatment methods, the sensitivity and accuracy of a variety of detection methods were summarized. The development trend of residue detection of NSAIDs is prospected, aiming to provide reference for the development of detection methods in the future.

**Key words:** animal-derived foods; non-steroidal anti-inflammatory drugs; residue analysis

非甾体类抗炎药(Non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)是一类没有甾体结构的抗炎药,可以抑制环氧合酶(Cyclooxygenase, COX)以及

其同工酶,从而阻断前列腺素、白三烯和血栓素 A 的合成,达到了抗炎、抗风湿、减轻疼痛和退热的作用<sup>[1]</sup>。NSAIDs 是目前全世界兽医和人类医

基金项目:国家自然科学基金(31972738)

作者简介:孙志轩,硕士研究生,研究方向为兽药残留分析。

通讯作者:李建成。E-mail: horse20@cau.edu.cn

学中使用最为广泛的药物之一,全世界每天大约有 3000 万人使用这类药物。尽管 NSAIDs 是相对安全的药物,带来了许多益处,但其使用也可引起严重的副作用,其中胃肠道并发症是最为常见的,除了严重的胃肠道损伤,药物还可以引起肾脏毒性、肝脏毒性、心血管风险甚至是过敏性休克<sup>[2]</sup>。

随着 NSAIDs 使用的持续增加,其药物的安全性和副作用已成为目前全世界医药界关注的热点问题。同时,也正因为 NSAIDs 是人类与动物临床治疗中最常用的药物,其在世界各地的广泛使用已导致其在水环境中无处不在,最近在许多研究中 NSAIDs 被认定为新出现的微量环境污染物<sup>[3]</sup>。在养殖场中,NSAIDs 被广泛用于治疗动物的发热、疼痛、炎症、肌肉骨骼疾病以及与抗生素联合用药治疗呼吸道疾病和奶牛的乳腺炎等。并有研究表明,NSAIDs 能够提高牛的生育能力,这些益处都使得 NSAIDs 在食品动物中被滥用<sup>[4]</sup>。NSAIDs 在动物源性食品中的残留对人类健康构成严重威胁,因此对食品中药物残留的分析监测具有重要意义。

目前国内外对动物源性食品中的 NSAIDs 残留检测技术报道较少,尽管一些 NSAIDs 已注册为兽药,但仅少数 NSAIDs 具有确定的最大残留水平(Maximum Residue Limit, MRL)。各国 NSAIDs 的 MRLs 见表 1。

检测动物源性食品中的兽药残留需要进行样品的前处理、检测方法的建立和数据的分析验证,以评估既定方法的稳定性、准确性和灵敏性。兽药残留分析技术的两个主要部分是样品制备的前处理方法和药物残留的检测分析方法。第一部分样品制备的前处理方法主要包括提取、净化和浓缩。其中提取兽药的方法有液液萃取、快速溶剂提取、固相萃取、固相微萃取、QuEChERS 和基质分散固相萃取等。第二部分就是用于筛选或测定残留物的检测分析技术,进行定性定量分析的技术大致分

为三种类型:微生物法,免疫学法和物理化学方法,包括酶联免疫吸附法、免疫胶体金技术、荧光偏振免疫分析、生物传感器技术、毛细管电泳、液相色谱、气相色谱和液相色谱-质谱、液相色谱-串联质谱等<sup>[5]</sup>。

## 1 NSAIDs 样品前处理方法

动物源性食品具有复杂的基质和许多内源性干扰物质,无法直接检测兽药残留物。在样品检测之前,通常需要进行样品前处理步骤,如提取、纯化、蒸发或浓缩。因此样品的前处理方法的创新也是当下药物残留分析研究的热点<sup>[6]</sup>。

### 1.1 液液萃取(Liquid-Liquid Extraction, LLE)

LLE 是一种传统的样品预处理方法,包括溶剂萃取和超声波振动介导萃取。LLE 方法已被用于从动物源性食品中提取兽药残留物近十几年。该方法操作简单,在准备分离的液体混合物中加入一种与其不溶或部分互溶的液体溶剂,经过充分地混合,利用混合液中各种组分在溶剂中溶解度的差异,从而实现分离。但试剂耗量高、预浓度系数低、样品制备时间长和所需样品量高这些都是 LLE 方法的一些缺点<sup>[7]</sup>。2019 年 Zheng 等开发了一种 LLE 结合液相色谱-串联质谱(LC-MS)的检测方法,检测了鳗鱼、比目鱼和虾中的的萘普生,回收率为 70% ~ 117%,相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD) < 9.3%,特异性、线性、准确性和精密度的验证结果令人满意<sup>[8]</sup>。2020 年 Di 等开发了均相液-液微萃取(Homogeneous Liquid-Liquid Micro-Extraction, HLLME),此方法使得有机相和水相之间的接触面积无限大。在分析之前,对水样中的 3 种 NSAIDs(包括酮洛芬、萘普生和托美汀)进行了富集和纯化,该方法精密度高,回收率为 97.2% ~ 105.7%,比 Zheng 的方法准确性更高<sup>[9]</sup>。2022 年 Mashal 等开发和验证了 LLE 以同时定量检测 19 种 NSAIDs,回收率范围为 90% ~ 106%,变异系数低于 15%,该方法准确性好,但精密度没有以上方法好,仍需进行优化<sup>[10]</sup>。

表 1 各国 NSAIDs 残留限量标准

Tab 1 MRLs for NSAIDs in various countries

国家	药物	动物	靶组织	MRLs/( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	药物	动物	靶组织	MRLs/( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )
日本	卡洛芬	陆生哺乳动物	肌肉	500	维达洛芬	陆生哺乳动物	肌肉	50
			肾脏	1000			肾脏	1000
			肝脏	1000			肝脏	100
			脂肪	1000			脂肪	20
	氟尼辛	牛	肌肉	20	美洛昔康	牛	肌肉	20
			肾脏	100			肾脏	50
			肝脏	300			肝脏	50
			脂肪	30			脂肪	20
		猪	肌肉	50		猪	肌肉	20
			肾脏	30			肾脏	70
			肝脏	200			肝脏	70
			脂肪	10			脂肪	100
	酮洛芬	牛	肌肉	50	托芬那酸	牛	肌肉	50
							肾脏	60
							肝脏	200
							脂肪	50
猪						肌肉	30	
						肾脏	60	
						肝脏	300	
						脂肪	30	
欧盟	双氯芬酸	牛	肌肉	5	氟尼辛	牛	肌肉	20
			肾脏	10			肾脏	100
			肝脏	5			肝脏	300
			脂肪	1			脂肪	30
		猪	肌肉	5		猪	肌肉	50
			肾脏	10			肾脏	30
			肝脏	5			肝脏	200
			脂肪	1			脂肪	10
	美洛昔康	牛、猪	肌肉	20	卡洛芬	牛	肌肉	500
			肾脏	65			肾脏	1000
			肝脏	65			肝脏	1000
	维达洛芬	马	肌肉	50	非罗考昔	马	脂肪	1000
			肾脏	1000			肌肉	10
			肝脏	100			肾脏	10
	安乃近	牛、猪	脂肪	20	托芬那酸	牛、猪	肝脏	60
			肌肉	100			脂肪	15
肾脏			100	肌肉			50	
肝脏			100	肝脏			400	
							肾脏	100
							脂肪	100
							肌肉	100
							肝脏	100
美国	氟尼辛	牛	肌肉	25				
			肝脏	125				
		猪	肌肉	25				
			肝脏	30				
中国	安乃近	牛、猪	肌肉	100				
			肝脏	100				
			肾脏	100				
			脂肪	100				

## 1.2 固相萃取 (Solid - Phase Extraction, SPE)

SPE 因其卓越的分选效率和净化能力而成为典型的提取方法。SPE 是一种具有快速选择性的样品制备和纯化技术,主要步骤为柱预处理、加样、除去干扰杂质、目的分析物的洗脱和收集。SPE 选择性的基本原理与色谱相似,与传统的 LLE 方法相比,SPE 可以提高分析物的回收率,可以更有效地将分析物与干扰成分分离,并减少样品的预处理,使其操作简单,节省时间和精力<sup>[11-12]</sup>。SPE 可以用于从肉、牛奶、鸡蛋和蜂蜜等动物可食用组织中提取兽药。此外,SPE 也经常与 LLE 等其他方法结合使用,以便更好地富集和纯化动物源性食品中的兽药,是使用最广泛的样品前处理技术之一<sup>[13]</sup>。同时,SPE 的效率在很大程度上取决于所用吸附剂的性质,因此,合成具有高吸收能力和选择性的 SPE 吸附剂的新材料是研究的重点方向<sup>[14]</sup>。

2022 年 Hsen 等人开发了一种磁性固相萃取 (Magnetic - Solid Phase Extraction, MSPE) 结合液相色谱 - 质谱 (LC - MS) 的分析方法,用于测定水样中的 5 种 NSAIDs。该方法中所有的 NSAIDs 平均回收率均在 90% 以上, $RSD < 17\%$ ,精密度良好<sup>[15]</sup>。2019 年 Han 等制备了一种新型的磁性多孔碳用作 MSPE 吸附剂,用于测定环境水和生物样本中的 3 种 NSAIDs,并结合高效液相色谱 (HPLC) 使得该方法回收率为 84.67% ~ 113.73%, $RSD < 7.76\%$ ,准确性较高<sup>[16]</sup>。2018 年 Ma 等合成了新型磁性纳米颗粒用作 MSPE 吸附剂,从水样本中提取 8 种 NSAIDs,回收率为 88.0% ~ 108.6%, $RSD < 5.5\%$ ,准确性与重复性比 Han 所制备的方法表现的好<sup>[17]</sup>。2022 年 Liu 等制备了新的复合材料以提高 SPE 的效率,结合 HPLC 从水样本中提取 NSAIDs,回收效率达到 97.7% ~ 105.1%, $RSD < 6.71\%$ ,该方法与以上方法相较,有出色的准确性与重复性<sup>[18]</sup>。

## 1.3 固相微萃取 (Solid - Phase Micro - Extraction, SPME)

SPME 是从 SPE 衍生出来的一种无溶剂的样品处理技术,最初由 Belardi 等人于 1989 年首次提出。利用萃取头表面涂有特殊吸附材料,将待测物从水样中吸附和解吸分离富集的技术,旨在解决

SPE 和 LLE 固有的局限性。SPME 与 LLE 和 SPE 等传统萃取技术相比,它具有易于使用,速度相对较快,易于自动化,便携式,无溶剂等优势<sup>[19]</sup>。但 SPME 与 SPE 相比仍然有一些缺点,SPME 装置的萃取成本较高,重复性较差,多次使用可能存在交叉污染等问题。

2018 年 Wang 等建立了基于绿色深共晶溶剂制备了聚合物单片柱 SPME,用于水样中 NSAIDs 的检测,回收率为 84.5% ~ 113.7%, $RSD < 4.32\%$ ,精密度较好<sup>[20]</sup>。2019 年 Ghorbani 等建立了新颖的超声波辅助 SPME,结合 HPLC 来测定 2 种 NSAIDs,这种方法成功地用于测定水、人类尿液和牛奶样本分析物的检测,实际样本的平均回收率为 103.7%, $RSD < 6.6\%$ <sup>[21]</sup>。2019 年 Mirzajani 等首次制备了涂有磁性纳米复合材料的毛细管,并将其用作新型 SPME 纤维,用于测定生物液体中 NSAIDs,平均回收率为 94.0% ~ 102.0%, $RSD < 4.7\%$ ,准确性与精密度与以上两种方法比较表现优良<sup>[22]</sup>。

## 1.4 基质分散固相萃取 (Matrix Solid - Phase Dispersion, MSPD)

MSPD 是 Barker 等于 1989 年首先提出的。作为一种快速样品处理技术,其原理是将浸渍有  $C_{18}$  等各种聚合物的单体 SPE 材料和样品一起进行研磨,得到半干状态的混合物,随后将其作为填料装进柱中,接着用不同强度的溶剂洗脱柱子,将各种目标待测物洗脱下来,MSPD 适用于从单个样品中提取多种药物残留物<sup>[23]</sup>。MSPD 可以在简单的环境下进行萃取过程,不需要任何特殊的实验室设备,它比传统技术具有优势,只需要几个简单的步骤即可提取少量样品和溶剂。因此,它被认为是一种简单,快速,经济,环保的方法。适用于食品,动物组织,植物材料和环境样品。基于这些优点,MSPD 方法被广泛用于从动物源性食品中提取多种兽药残留物,但将其用于 NSAIDs 的残留检测的研究较少。

2017 年 Maria 等开发了一种涡流辅助 MSPD 程序来提取母乳中 NSAIDs,回收率为 78% ~ 86%, $RSD < 8.3\%$ ,精密度良好,仍需优化来进行呈现更好的精密度<sup>[24]</sup>。2016 年 Sara 等优化了一种 MSPD

的提取方法测定了污泥中的五种 NSAIDs, 回收率 84% ~ 105%,  $RSD < 4\%$ , 精密度较 Maria 建立的方法好<sup>[25]</sup>。

**1.5 快速溶剂提取 (Accelerated Solvent Extraction, ASE)** ASE 是一种在高温和高压条件下, 使用有机溶剂提取的自动化方法。ASE 作为一种新的提取程序, 使用有机溶剂在更高的压力和更高的温度下提取固体或半固体。ASE 方法的优点是有机溶剂含量小, 速度快, 基质效应低, 回收率高, 再现性好。与 LLE 和 SPE 方法相比, ASE 具有操作简单, 速度快, 样品批量处理等优点, 大大提高了效率, 节省了时间<sup>[26]</sup>。随着样品制备技术的发展, 自动化 ASE 方法正在推广用于从动物源性食品中提取兽药残留。2019 年 Wolecki 等在研究中, 提出了一种 ASE - SPE - GC/MS 方法, 用于同时测定贻贝中的 5 种 NSAIDs。RSD 在 0.24% ~ 7.85%, 平均回收率在 80% ~ 118%<sup>[27]</sup>。

**1.6 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)** 此提取方法广泛用于动物源性食品中不同类型的兽医药物的残留分析。其原理与 HPLC 和 SPE 相似, 通过利用吸附填料和组织基体中的杂质之间的相互作用来吸附杂质, 从而实现杂质去除和净化。Anastassiades 等人首先提出了 QuEChERS 方法, 该方法可以提取极性和非极性化合物<sup>[28]</sup>。最初, QuEChERS 方法是为从水果和蔬菜中回收农药残留物而开发的, 但 QuEChERS 方法的有效性取决于实验室中可用的目标分析物特性、基质组成、设备和分析技术。因此采用 QuEChERS 来检测肌肉等肉类组织中的 NSAIDs 仍不是首选, 所以研究较少。

2020 年, 孙建等建立了 QuEChERS 定性筛查中药材熊胆粉中 169 种兽药残留, 其中包含 13 种 NSAIDs<sup>[29]</sup>。2021 年 Ajibola 等针对从污水中提取 NSAIDs, 优化了一种 QuEChERS 方法, 结合 HPLC 进行了检测分析。回收率为 70% ~ 118%,  $RSD < 18\%$ <sup>[30]</sup>。2021 年 Zapata 等开发了一种 QuEChERS 分析方法, 用于提取和量化条纹鲶鱼肌肉中的 NSAIDs, 结合 UPLC - MS/MS 进行量化。其中双氯

芬酸的回收率为 75% ~ 102%,  $RSD < 8.5\%$ , 精密度良好, 但其余 NSAIDs 的回收率并不理想<sup>[31]</sup>。2016 年 Daniele 等使用 QuEChERS 提取和 LC - MS/MS 对双壳类中的 NSAIDs 进行多残留分析, 回收率为 78% ~ 117%,  $RSD < 25\%$ , 精密度与准确性差强人意<sup>[32]</sup>。

## 2 NSAIDs 残留检测方法

在样品组织前处理结束后, 通过残留检测分析技术来对动物源性食品中的目标分析物进行定性定量分析, 目前已经开发了许多技术来检测动物源性食品中的 NSAIDs 残留。近年来常用的检测 NSAIDs 残留的方法有很多, 包括液相色谱法、气相色谱法、超高相液相色谱串联质谱法、毛细管电泳法、酶联免疫吸附法、传感器技术、免疫胶体金技术。

**2.1 液相色谱 (Liquid chromatography, LC)** LC 是一种传统、常见、高效和快速的色谱方法来检测动物源性食物中的兽药残留。LC 分离药物的关键是选择合适的色谱柱, 并且优化流动相的组成和洗脱梯度。LC 具有广泛的适用性, 可用于大多数兽药残留分析, 并且可以与不同类型的检测器进行结合, 如: LC 可以与荧光探测器 (Fluorescence Detector, FLD)、二极管阵列探测器 (Diode Array Detector, DAD)、紫外线探测器 (Ultraviolet Detector, UVD) 等特定检测器进行结合。

不同类型的检测器与 LC 相结合用于检测相同类型或不同类型的兽医药物, 并有其自身的优缺点。FLD 是高度敏感和选择性的探测器, 只能检测产生荧光的化合物。DAD 和 UVD 主要用于检测含有紫外线吸收基团的兽医药物, 具有高灵敏度、低噪音和广线性范围的优点。

2021 年 Qiao 等使用 HPLC - UV 方法测定 4 种 NSAIDs。在最佳实验条件下, 该方法显示出良好的线性, 在 5 ~ 2000  $\mu\text{g/L}$  线性范围内,  $R^2$  为 0.994 ~ 0.999, LOD 为 0.5 ~ 1  $\mu\text{g/L}$ , LOQ 为 1 ~ 5  $\mu\text{g/L}$ ,  $RSD < 12.86\%$ , 回收率为 79.42% ~ 107.52%<sup>[33]</sup>。2019 年 Hassan 等用 HPLC - DAD 来确定人类尿液、唾液和牛奶中的 4 种 NSAIDs 残留, 线性范围为

0.13 ~ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , LOD 为 0.04 ~ 0.18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , LOQ 为 0.13 ~ 0.61  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $RSD < 7.7\%$ , 回收率为 95.7% ~ 109.2%, 准确性与精密度良好<sup>[34]</sup>。

2.2 气相色谱 (Gas chromatography, GC) GC 也是一种传统、常用的色谱技术, 主要使用化合物沸点、极性和吸附性能的不同点来分离混合物。为了分析动物源性食品中的兽药残留物, GC 通常与经典探测器相连, 主要包括的是氮磷探测器 (Nitrogen phosphorus detector, NPD)、电子捕获探测器 (Electron Capture Detector, ECD) 和质谱探测器 (Mass Spectrometry Detector)。与 NPD 和 ECD 相比, MS 或 MS/MS 具有良好的恢复性、准确性和可复制性, 并可以确认假阳性。一般来说, GC 检测兽药需要衍生反应, GC 通常要求选择特定的毛细管柱来分离样本中的兽医药物, 而不需要像 LC 方法那样优化移动相位<sup>[35]</sup>, 但由于在对 NSAIDs 进行气相色谱分析之前, 必须先进行衍生步骤, 以增加这些分析物因其酸性基团而产生的挥发性并降低极性。因此由于基质的复杂性以及 NSAIDs 提取和衍生反应占用的时间, 通常 GC 不首选用于分析 NSAIDs。关于 GC 用于检测 NSAIDs 的研究报道较少, 不过 GC 被广泛用于农药分析, 也正在逐步开发用于 NSAIDs 残留检测的研究。

2020 年 Avino 等研究了一种测定动物尿样中 NSAIDs 的低溶剂消耗方法, 并用 GC-MS 进行检测分析, 回收率为 94.1% ~ 101.2%,  $RSD$  为  $\leq 4.1\%$ 。线性范围为 1 ~ 100  $\text{ng}/\text{mL}$  ( $R^2 \geq 0.995$ ), LOD 在 0.1 ~ 0.2  $\text{ng}/\text{mL}$  之间, LOQ 在 4.1 ~ 4.7  $\text{ng}/\text{mL}$  之间, 所提出的分析方法可重复, 灵敏且简单<sup>[36]</sup>。

2.3 超高效液相色谱-串联质谱 (Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS) UPLC-MS/MS、HPLC 和 UPLC 都是基于 LC 开发, 将 UPLC 与 FLD、DAD、UVD 结合相比, MS 可以同时检测动物源性食物中的 100 多种兽医药物, 同时 MS 具有高回收率、高选择性、良好的可重复性和低干扰性等优点。此外, 串联质谱的使用更是提高了敏感性, 并在确认假阳性方面发挥重要作用<sup>[37]</sup>。

2019 年 Wang 等开发了一种 LC-MS/MS 方法用于同时检测猪、鸡和牛肉中 47 种 NSAIDs 残留物。用乙腈-磷酸盐提取样品, 线性范围为 0.1 ~ 50  $\mu\text{g}/\text{L}$ , LOD 在 0.1 ~ 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, LOQ 在 0.5  $\mu\text{g}$  ~ 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 平均回收率为 72.4% ~ 97.1%,  $RSD < 12.6\%$ <sup>[38]</sup>。2021 年 Luburic 等建立了 UPLC-MS/MS 方法, 在该研究中, 描述了在 12.5 min 内同时分析牛奶和肌肉样品中的 27 种 NSAIDs。牛奶和肌肉基质的方法回收率分别为 98.1% ~ 106.5% 和 98.8% ~ 102.7%, LOQ 分别为 0.07 ~ 46.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1.19 ~ 69.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , LOD 分别为 0.11 ~ 56.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1.12 ~ 518.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[39]</sup>。2021 年 Pietruk 等建立了 UPLC-MS/MS 测定 NSAIDs 多基质检测法, 对方法可靠性和适用性进行了验证, 分析来自不同动物的肌肉、肝脏、肺和肾样品中的 NSAIDs, 回收率为 91% ~ 114%, LOQ 为 50.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $RSD < 17.9\%$ , 方法精密度较一般<sup>[40]</sup>。2020 年 Liang 等建立 UPLC-MS/MS 作为肉类或鸡蛋样本中 NSAIDs 检测方法, LOD 为 0.6 ~ 12.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 回收率为 85.1% ~ 107.31%,  $RSD < 16.01\%$ <sup>[41]</sup>。

2.4 毛细管电泳 (Capillary Electrophoresis, CE) CE 是一种较新型的液相分离技术, 以毛细管作为分离通道, 高压直流电场作为驱动力而进行检测分析。CE 具有许多优点, 如效率高、样品和缓冲剂消耗低以及速度快, 是 LC 方法的潜在替代技术<sup>[42]</sup>。但是 CE 在样品制备能力、灵敏度和分离再现性等方面有一定的限制, 限制的原因是注射量小, 毛细管直径小, 以及样品成分引起的电渗透变化, 并且由于注射量小进而导致灵敏度也低。所以许多研究将 CE 与一些高灵敏度检测器相结合, 包括 UVD、DAD、MS 探测器和化学发光探测器 (Chemiluminescence, CL)<sup>[43]</sup>。

2017 年 Espina 等开发了一种敏感的 CE-UV 方法用于分析水样品中的 NSAIDs, 并进行识别和定量, 这三种药物的 LOD 在 0.96 ~ 1.27  $\mu\text{g}/\text{L}$  之间, LOQ 在 2.91 ~ 3.86  $\mu\text{g}/\text{L}$  之间, 回收率为 95% ~ 104%,  $RSD < 13.3\%$ , 精密度良好<sup>[44]</sup>。

2.5 传感器技术 (Sensor Technology) 随着检测

技术的不断发展,先进的传感器主导的检测技术已经出现,传统的色谱技术与不同的探测器结合使用,增强了分析方法的灵敏度、特异性和可靠性。传感器技术为检测动物源性食品中的兽药残留物提供了一种快速、高效和具有成本效益的方法。但缺点是它们消耗了大量有机试剂,耗时且昂贵,不适合大量筛选样本。该技术被用作检测动物源性食品中兽药残留物的替代检测方法,包括电化学传感器、压电生物传感器、光学生物传感器等的方法<sup>[45]</sup>。许多研究开发的传感器分析方法不仅操作简单、速度快、成本低,而且在动物源性食品中检测兽药的特异性、灵敏度和精密度方面也取得了令人满意的效果。

2019 年 Tarahomi 等用石墨烯氧化物修饰构建了一种新型一次性电化学传感器,该光盘上装饰有 Ag 纳米颗粒和  $\beta$ -环糊精,用于定量测量溶液中的萘普生,其在 0.4 ~ 80  $\mu\text{mol/L}$  的浓度范围内是线性的。LOD 为 0.023  $\mu\text{mol/L}$ ,LOQ 为 0.08  $\mu\text{mol/L}$ ,回收率在 98.5% ~ 101.05%<sup>[46]</sup>。2020 年 Qian 等报道了一种用于检测萘普生的选择性和灵敏的石墨烯氧化物电化学传感器,电化学传感器表现出广泛的线性范围(10  $\mu\text{mol/L}$  ~ 1 mmol/L),高灵敏度,在相同浓度下进行了多次测量平均回收率为 96.9%,RSD 为 2.5%,LOD 为 1.94  $\mu\text{mol/L}$ ,LOQ 为 6.47  $\mu\text{mol/L}$ ,这些结果验证了传感器的准确电化学量化<sup>[47]</sup>。

### 2.6 酶联免疫吸附法(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)

ELISA 是一种超微实验检测技术,基本原则是将特定的抗原抗体免疫反应与酶催化反应进行结合,并通过酶反应的放大显示初级免疫反应。这种方法可以检测抗原和抗体。ELISA 具有操作简单、方便、效率高、特异性强、检测成本低的优点,广泛用于检测动物源性食品中的兽药残留。

目前,关于 NSAIDs 的免疫分析方法较少,主要是因为 NSAIDs 种类多,抗体制备复杂。2018 年 Lin 等制备敏感的氟尼辛单克隆抗体用于开发 IC-ELISA 方法检测牛奶中的氟尼辛残留,单克隆

抗体  $\text{IC}_{50}$  为 0.29 ng/mL,LOD 为 0.432 ng/mL,线性范围为 0.08664 ~ 0.97226 ng/mL<sup>[48]</sup>。2020 年宋炎博制备了吲哚美辛的单克隆抗体,并进一步建立了鲜奶样品中吲哚美辛的 ELISA 检测方法。抗体  $\text{IC}_{50}$  为 275.05 ng/mL,LOD 为 2.19 ng/mL,LOQ 为 40.88 ng/mL<sup>[49]</sup>。

### 2.7 免疫胶体金技术(Immune Colloidal Gold Technique, GICT)

GICT 是一种新型的免疫标记技术,是以胶体金作为示踪目标物应用于抗原及抗体的检测。GICT 是一种广泛使用的免疫分析方法,具有分析时间短,肉眼可在 10 min 内获得结果,以及易于执行和评估的优点。胶体金的物理性状,如颗粒大小、高电子密度、形状和颜色反应,加上结合物的免疫学及生物学的特性,因而使得 GICT 广泛地应用于细胞生物学、免疫学、病理学、组织学等领域。

2020 年 Na 等制备了针对卡洛芬的高亲和力单克隆抗体,然后开发了用于快速筛选牛肌肉中 NSAID 的免疫试纸条,以帮助畜牧业强制遵守法规,制作的试纸条的阴阳性界限值为 12.5 ng/g,分析牛样品中的 NSAIDs 残留物具有巨大潜力, $\text{IC}_{50}$  值为 1.743 ng/g,LOD 为 0.283 ng/g,测量 NSAID 的线性范围为 0.446 ~ 6.804 ng/g,回收率为 79.53% ~ 90.55%,RSD < 8.81%<sup>[50]</sup>。2021 年 Lin 等开发了基于单克隆抗体的 GICT,用于检测牛奶中 6 种 NSAIDs。6 种 NSAIDs 的  $\text{IC}_{50}$  为 0.31 ~ 5.36 ng/mL,结果可在 10 min 内肉眼获得<sup>[51]</sup>。

## 3 小结

目前国内外对动物源性食品中 NSAIDs 的残留检测相关报道很少,并且食品安全国家标准中检测的组织样品和 NSAIDs 的种类都相对单一。但 NSAIDs 种类繁多、使用广泛,在环境和动物源性食品中的残留情况愈加严重,难以满足当前 NSAIDs 的监控需求。

本文重点介绍了 NSAIDs 在动物源性食品中的前处理方法和检测方法,并比较了各种方法的优缺点。NSAIDs 检测方法的发展趋势在仪器检测方向应该进一步优化创新简便、高效的前处理过程,减

少样品基质的影响。另外,在免疫分析方向,针对不同类别的 NSAIDs,设计合成半抗原,制备广谱识别性单克隆抗体,初步构建 NSAIDs 免疫分析抗体库,建立并进一步完善 NSAIDs 及其代谢物的残留检测体系,以保证合理用药,保障人类食品安全,促进畜牧业健康发展。

## 参考文献:

- [1] Sharma V K, Mamontov E, Tyagi M. Effects of NSAIDs on the nanoscopic dynamics of lipid membrane [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2020, 1862(2): 183100.
- [2] 马利云. 非甾体抗炎药的转化及残留检测研究[D]. 华中科技大学, 2017.  
Mao L Y. Transformation and residual determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs[D]. Huazhong University of Science and Technology, 2017.
- [3] Ungur R A, Ciorcea V M, Irsay L, *et al.* Can ultrasound therapy be an environmental-friendly alternative to non-steroidal anti-inflammatory drugs in knee osteoarthritis treatment? [J]. *Materials (Basel)*, 2021, 14(11).
- [4] Spencer J A, Konetchy D, Ahmadzadeh A. Review: Influences of non-steroidal anti-inflammatory drugs on dairy cattle reproductive performance [J]. *Applied Animal Science*, 2020, 36(3): 397-406.
- [5] 周晖, 陈燕, 迟秋池, 等. 动物源性食品中多种兽药残留检测的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(10): 2889-2895.  
Zhou H, Chen Y, Chi Q C, *et al.* Research progress on detection of various veterinary drug residues in animal-derived foods [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(10): 2889-2895.
- [6] 孟祥茹, 胡乐乾, 琚炎, 等. 食用油中多环芳烃检测的前处理方法研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(11): 373-382.  
Meng X R, Hu L Q, Ju Y, *et al.* Recent advances in pretreatment methods for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil [J]. *Food Science*, 2022, 43(11): 373-382.
- [7] Khatibi S A, Hamidi S, Siah - Shadbad M R. Application of liquid-liquid extraction for the determination of antibiotics in the foodstuff: recent trends and developments [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2022, 52(2): 327-342.
- [8] Zheng W, Yoo K H, Choi J M, *et al.* Residual detection of naproxen, methyltestosterone and 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone caproate in aquatic products by simple liquid-liquid extraction method coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(1): e4396.
- [9] Di X, Zhao X, Guo X. Dispersive micro-solid phase extraction combined with switchable hydrophilicity solvent-based homogeneous liquid-liquid microextraction for enrichment of non-steroidal anti-inflammatory drugs in environmental water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1634: 461677.
- [10] Mashal M S, Nalin M, Bevalot F, *et al.* Simultaneous quantification of 19 nonsteroidal anti-inflammatory drugs in oral fluid by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry: Application on ultratrail runner's oral fluid [J]. *Drug Testing and Analysis*, 2022, 14(4): 701-712.
- [11] Wang B, Liu J, Zhao X, *et al.* Determination of eight coccidiostats in eggs by liquid-liquid extraction-solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2020, 25(4).
- [12] 王卿, 姜红, 郑琚. 不同基质中常见毒品检测方法研究进展[J]. *化学研究与应用*, 2021, 33(03): 393-399.  
Wang Q, Jiang H, Zheng H. Research progress on detection techniques of drugs in different matrices [J]. *Chemical Research and Application*, 2021, 33(03): 393-399.
- [13] Liu H, Zhang M, Guo Y, *et al.* Solid-phase extraction of flavonoids in honey samples using carbamate-embedded triacontyl-modified silica sorbent [J]. *Food Chem*, 2016, 204: 56-61.
- [14] 廖颖敏. 萃取吸附剂在非甾体抗炎药残留样品前处理中的应用进展[J]. *化学研究与应用*, 2022, 34(09): 1965-1973.  
Liao Y M. Application progress of extraction adsorbent in the pretreatment of nonsteroidal anti-inflammatory drugs residues [J]. *Chemical Research and Application*, 2022, 34(09): 1965-1973.
- [15] Hsen E B, Latrous L. Magnetic solid-phase extraction based on magnetite-multiwalled carbon nanotubes of non-steroidal anti-inflammatories from water followed by LC-ESI-MS/MS [J]. *J Chromatogr Sci*, 2023, 61(2): 186-194.
- [16] Han X, Chen J, Li Z, *et al.* Combustion fabrication of magnetic porous carbon as a novel magnetic solid-phase extraction adsorbent for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs [J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1078: 78-89.
- [17] Ma L Y, Li Q, Li J, *et al.* Preparation of highly hydrophilic magnetic nanoparticles with anion-exchange ability and their application for the extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs in environmental samples [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(3): 678-688.

- [18] Liu H, Dang S, Li M, *et al.* MIL - 101 (Fe)@TiO<sub>2</sub> nanotube composite material is used for the solid phase extraction of non - steroidal anti - inflammatory drugs under the synergy of multiple interactions[J]. *Anal Methods*, 2022, 14(8): 798 - 805.
- [19] Zare F, Ghaedi M, Daneshfar A. The headspace solid - phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples using silica fiber modified by self assembled gold nanoparticles[J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(19): 8086 - 8093.
- [20] Wang R, Li W, Chen Z. Solid phase microextraction with poly (deep eutectic solvent) monolithic column online coupled to HPLC for determination of non - steroidal anti - inflammatory drugs[J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1018: 111 - 118.
- [21] Ghorbani M, Aghamohammadhasan M, Shams A, *et al.* Ultrasonic assisted magnetic dispersive solid phase microextraction for preconcentration of two nonsteroidal anti - inflammatory drugs in real water, biological and milk samples employing an experimental design [J]. *Microchemical Journal*, 2019, 145: 1026 - 1035.
- [22] Mirzajani R, Kardani F, Ramezani Z. Preparation and characterization of magnetic metal organic framework nanocomposite as solid - phase microextraction fibers coupled with high - performance liquid chromatography for determination of non - steroidal anti - inflammatory drugs in biological fluids and tablet formulation samples [J]. *Microchemical Journal*, 2019, 144:270 - 284.
- [23] 梁飞燕, 卢日刚. 动物源性食品中多兽药残留检测方法的进展[J]. *安徽农业科学*, 2016,44(26):50 - 51.  
LIANG F Y, LU R G. Research progress on detection methods of many veterinary drug residues in animal derived foods [J] *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2016,44(26):50 - 51.
- [24] Leon - Gonzalez M E, Rosales - Conrado N. Determination of ibuprofen enantiomers in breast milk using vortex - assisted matrix solid - phase dispersion and direct chiral liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1514: 88 - 94.
- [25] Trinanes S, Casais M C, Mejuto M C, *et al.* Matrix solid - phase dispersion followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of selective cicloxygenase - 2 inhibitors in sewage sludge samples[J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1462: 35 - 43.
- [26] Richter B E, Jones B A, Ezzell J L, *et al.* Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation [J]. *Analytical Chemistry*, 1996, 68(6): 1033 - 1039.
- [27] Wolecki D, Caban M, Pazdro K, *et al.* Simultaneous determination of non - steroidal anti - inflammatory drugs and natural estrogens in the mussels *Mytilus edulis trossulus* [J]. *Talanta*, 2019, 200: 316 - 323.
- [28] Anastasiades M, Lehotay S J, Stajnbaher D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid - phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. *J AOAC Int*, 2003, 86(2): 412 - 431.
- [29] 孙健, 胡青, 诸艳蓉, 等. QuEChERS - 超高效液相色谱串联质谱法定性筛查中药材熊胆粉中 169 种兽药残留 [J]. *药科学报*, 2020,55(01):113 - 122.  
Sun J, Hu Q, Zhu Y R, *et al.* Qualitative screening of 169 veterinary drug residues in bear bile powder by QuEChERS - ultra high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry. [J] *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2020, 55(01): 113 - 122.
- [30] Ajibola A S, Fawole S T, Ajibola F O, *et al.* Diclofenac and Ibuprofen Determination in Sewage Sludge Using a QuEChERS Approach: Occurrence and Ecological Risk Assessment in Three Nigerian Wastewater Treatment Plants[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2021, 106(4): 690 - 699.
- [31] Zapata N I, Penuela G A. Modified QuEChERS/UPLC - MS/MS method to monitor triclosan, ibuprofen, and diclofenac in fish *Pseudoplatystoma magdaleniatum*[J]. *Food Analytical Methods*, 2021, 14(6): 1289 - 1304.
- [32] Daniele G, Fieu M, Joachim S, *et al.* Development of a multi - residue analysis of diclofenac and some transformation products in bivalves using QuEChERS extraction and liquid chromatography - tandem mass spectrometry. Application to samples from mesocosm studies[J]. *Talanta*, 2016, 155:1 - 7.
- [33] Qiao L, Sun R, Yu C, *et al.* Novel hydrophobic deep eutectic solvents for ultrasound - assisted dispersive liquid - liquid microextraction of trace non - steroidal anti - inflammatory drugs in water and milk samples [J]. *Microchemical Journal*, 2021, 170: 106686.
- [34] Hassan M, Alshana U. Switchable - hydrophilicity solvent liquid - liquid microextraction of non - steroidal anti - inflammatory drugs from biological fluids prior to HPLC - DAD determination [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 174: 509 - 517.
- [35] Wang B, Pang M, Xie X, *et al.* Quantification of piperazine in chicken and pig tissues by gas chromatography - electron ionization tandem mass spectrometry employing pre - column derivatization with acetic anhydride[J]. *J Chromatogr A*, 2017,

- 1519; 9 – 18.
- [36] Avino P, Notardonato I, Passarella S, *et al.* Determination of non – steroidal anti – Inflammatory drugs in animal urine samples by ultrasound vortex – assisted dispersive liquid – liquid microextraction and gas chromatography coupled to ion trap – mass spectrometry[J]. *Applied Sciences – Basel*, 2020, 10(16).
- [37] Anumol T, Lehotay S J, Stevens J, *et al.* Comparison of veterinary drug residue results in animal tissues by ultrahigh – performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole or quadrupole – time – of – flight tandem mass spectrometry after different sample preparation methods, including use of a commercial lipid removal product [ J ]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(10) : 2639 – 2653.
- [38] Wang Y, Ou Y, Xie S, *et al.* Magnetic graphene solid – phase extraction for the determination of 47 kinds of non – steroidal anti – inflammatory drug residues in animal food with liquid chromatography tandem mass spectrometry [ J ]. *Food Analytical Methods*, 2019, 12(6) : 1346 – 1368.
- [39] Bozic L D, Bilandzic N, Varenina I, *et al.* The analysis of acidic and basic non – steroidal anti – inflammatory drugs in milk and muscle samples; a comprehensive analytical approach using UHPLC – MS/MS [ J ]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2022, 39(2) : 256 – 271.
- [40] Pietruk K, Gbylik – Sikorska M, Lebkowska – Wieruszewska B, *et al.* Development of a multimatrix UHPLC – MS/MS method for the determination of paracetamol and its metabolites in animal tissues [ J ]. *Molecules*, 2021, 26(7).
- [41] Liang S, Jian N, Cao J, *et al.* Rapid, simple and green solid phase extraction based on polyaniline nanofibers – mat for detecting non – steroidal anti – inflammatory drug residues in animal – origin food [ J ]. *Food Chem*, 2020, 328 : 127097.
- [42] Alvarez G, Montero L, Llorens L, *et al.* Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and Foodomics [ J ]. *Electrophoresis*, 2018, 39(1) : 136 – 159.
- [43] Donegatti T A, Lobato A, Duek E, *et al.* Derivatization – free determination of aminoglycosides by CZE – UV in pharmaceutical formulations [ J ]. *Electrophoresis*, 2020, 41 ( 18/19 ) : 1576 – 1583.
- [44] Espina – Benitez M, Araujo L, Prieto A, *et al.* Development of a New Microextraction Fiber Combined to On – Line Sample Stacking Capillary Electrophoresis UV Detection for Acidic Drugs Determination in Real Water Samples [ J ]. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(7) : 739.
- [45] Ge L, Liu Q, Hao N, *et al.* Recent developments of photoelectrochemical biosensors for food analysis [ J ]. *J Mater Chem B*, 2019, 7(46) : 7283 – 7300.
- [46] Tarahomi S, Rounaghi G H, Daneshvar L. A novel disposable sensor based on gold digital versatile disc chip modified with graphene oxide decorated with Ag nanoparticles/ $\beta$  – cyclodextrin for voltammetric measurement of naproxen [ J ]. *Sensors and Actuators B; Chemical*, 2019, 286 : 445 – 450.
- [47] Qian L, Thiruppathi A R, Elmahdy R, *et al.* Graphene – oxide – based electrochemical sensors for the sensitive detection of pharmaceutical drug naproxen [ J ]. *Sensors ( Basel)*, 2020, 20 ( 5 ) : 1252.
- [48] Lin L, Jiang W, Xu L G, *et al.* Development of IC – ELISA and immunochromatographic strip assay for the detection of flunixin meglumine in milk [ J ]. *Food and Agricultural Immunology*, 2018, 29(1) : 193 – 203.
- [49] 宋炎博. 吲哚美辛单克隆抗体的制备及 ELISA 检测方法的初步建立 [ D ]. 扬州大学, 2020.  
Song Y B. Preparation of monoclonal antibodies against indomethacin and initially establishment of an ELISA test method [ D ]. Yangzhou University, 2020.
- [50] Na G Q, Hu X F, Sun Y N, *et al.* A novel gold particle – based paper sensor for sensitively detecting carprofen in bovine muscle [ J ]. *Food and Agricultural Immunology*, 2020, 31 ( 1 ) : 463 – 474.
- [51] Lin L, Xu L, Kuang H, *et al.* Ultrasensitive and simultaneous detection of 6 nonsteroidal anti – inflammatory drugs by colloidal gold strip sensor [ J ]. *J Dairy Sci*, 2021, 104(3) : 2529 – 2538.

( 编辑:李文平 )