

尼卡巴嗪的残留检测方法进展

刘晓莎¹, 陈兴荣¹, 方炳虎¹, 邓国东², 吴荔琴²

(1. 华南农业大学兽医学院, 广州 510642 2. 广东省兽药与饲料监察总所, 广州 510230)

[收稿日期] 2009-01-04 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2010)07-0047-05 [中图分类号] S859.84

[摘要] 尼卡巴嗪是一种广谱、高效、性能稳定的饲料添加剂, 用于防治鸡、火鸡等禽类球虫病, 对已产生耐药性的球虫, 仍有显著疗效。然而, 尼卡巴嗪残留对人体存在潜在的威胁, 需对其进行残留监控。综述了尼卡巴嗪残留检测方法, 包括高效液相色谱法, 差示脉冲极谱法, 分光光度法, 气相色谱法, 高效液相色谱串联质谱法以及免疫色谱法。

[关键词] 尼卡巴嗪; 残留; 检测

Advance on Determination of Nicarbazine Residue

LU Xiao-sha¹, CHEN Xing-rong¹, FANG Bing-hu¹, DENG Guo-dong², WU Li-qin²

(1. College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642;

2. Guangdong Institute of Veterinary Drug and Feedstuffs Control, Guangzhou 510230 China)

Abstract Nicarbazine is one of feed additives which are broad spectrum, high efficiency, stable performance; it has played an important role in preventing poultry coccidiosis such as chicken, broiler chicken. The most important is that it also has a significant effect to coccidiosis which have resistance to disease. However, nicarbazine residue can be potential threat to the health of human, so it must be controlled. Many analysis methods of nicarbazine, such as high performance liquid chromatography, differential pulse polarography, absorption spectrometry, gas chromatography and high liquid chromatography tandem mass spectrometry and immunochromatography have been reported to monitor its residue. We review the recent developments of these methods in this article.

Key words nicarbazine; residue; determination

尼卡巴嗪是由两种单一成分: 4,4'-二硝基苯脲(DNC)和 α -羟基 4,6-二甲基嘧啶(HDP)组成的复合物。结构式见下列图1、图2。

由于尼卡巴嗪复合物中的HDP成分在动物体内可迅速经尿排除体外, 而抗球虫活性成分DNC通过粪便排泄较缓慢。因此国际上和我国均规定尼卡巴嗪在鸡组织中的残留标识物为DNC, 其在鸡的所有组织中的残留限量(MRL)为0.2 mg/kg (200 μ g/kg)^[1]。

作为一种良好的抗球虫药, 尼卡巴嗪应用非常

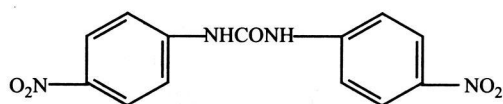


图1 4,4'-二硝基苯脲(DNC)

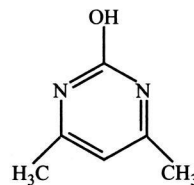


图2 α -羟基 4,6-二甲基嘧啶(HDP)

作者简介: 刘晓莎(1983年-), 女, 硕士, 研究方向为兽医药理与毒理学。

通讯作者: 方炳虎, 博士, 教授。从事兽药残留, 兽医药动学及化学治疗学的教学与科研工作。E-mail: fangbh@scau.edu.cn

广泛, 然而饲喂后在家禽的肌肉及其他组织中会造成不同程度的残留, 危害人民群众的生命健康, 影响我国禽产品的出口。为保障人类摄食动物性食品安全, 同时又可有效的使用尼卡巴嗪防治鸡球虫病, 近年来国内外报道尼卡巴嗪及其标识残留物的检测方法日益增多。

通常, 尼卡巴嗪残留的检测步骤包括三个部分: 选择合适溶剂提取样品中的尼卡巴嗪, 净化去除杂质, 最后进行定量分析。

1 样品的提取

尼卡巴嗪属于弱酸性物质。在二甲基甲酰胺中微溶, 在水, 乙醇, 乙醚中不溶。一般选用乙腈^[2-4], 乙酸乙酯, N-N二甲基甲酰胺(DMP), 乙腈-N,N二甲基甲酰胺(1:1), 水-二甲基甲酰胺(5:95), 乙腈-甲醇(1+1)^[5]等单一或混合溶剂作为尼卡巴嗪的提取剂。

常用的样品提取方法有组织捣碎法(又称匀浆法)^[6-8], 超声辅助提取法(SAE), 振荡法^[9-10], 超临界流体萃取法等。周伟伟^[11]采用匀浆法用乙腈提取鸡组织中尼卡巴嗪残留标志物 DNC 的残留, 平均回收率可达 70% 以上; 章虎^[6]等采用组织捣碎法用乙腈提取鸡肉, 鸡肝和饲料中尼卡巴嗪的残留, 回收率为 80.9% ~ 95.7%。陈丽^[12]等采用超声波辅助提取法用 N-N二甲基甲酰胺提取饲料预混料中尼卡巴嗪的含量, 回收率高达 95% 以上。Jerome^[9]等采用振荡法提取水禽粪便中的尼卡巴嗪残留量, 回收率达到 82.3%。Guglielmo^[13]等采用振荡提取法用水-二甲基甲酰胺(5:95)提取家禽饲料中的尼卡巴嗪含量, 平均回收率高达 95%。Dhamendr^[10]等建立了禽饲料、蛋和肌肉中尼卡巴嗪的超临界流体萃取方法。最优化的超临界流体的条件: 提取温度 85℃; 压力(恒定) 4000 psi; 温度最高限 100℃; CO₂流速 2 mL/min, 当添加 0.4 mg/g 时, 禽饲料($n=18$)、蛋($n=28$)和鸡肉($n=20$)的回收率分别高达 98%, 100% 和 99%。

2 样品的净化方法

在色谱分析前, 通常需要对样品进行净化和浓缩, 以避免样品基质中的复杂组分损害色谱仪器和对目标分析物的干扰。常用的净化方法包括液-液萃取法^[7-8], 固相萃取法^[14-15], 基质固相分散技术^[16-17], 免疫亲和色谱法。多数净化方法与样品的基质和萃取步骤中使用的萃取剂无关, 其目的主要是除去干扰物而有选择性的萃取出尼卡巴嗪。

液液萃取(LLE): 通常采用乙腈-正己烷液液萃取净化动物组织中的尼卡巴嗪。但在液液萃取^[18]的过程中易发生乳化现象, 可利用盐析效应促进有机溶剂萃取、降低萃取乳化和有机相与水相分层^[19]。向样品中加入适量无水硫酸钠可提高尼卡巴嗪的提取效率^[14]。Kanda^[20]等建立了乙腈-正己烷液液萃取净化鸡组织中尼卡巴嗪的高效液相色谱法, 回收率为 87.3% ~ 89.4%。

固相萃取法(SPE): 常用的固相萃取柱有二氧化硅固相萃取柱, 碱性氧化铝柱^[2, 6, 11, 15], Bond ElutTM C₁₈, Sep-Pak C₁₈柱, 中性氧化铝柱等。Dubois^[14]等采用二氧化硅固相萃取柱净化鸡组织中的尼卡巴嗪, 该方法的回收率为 60%。Luca Lurcentini^[15]等采用碱性氧化铝柱净化鸡组织中的尼卡巴嗪, 该方法的平均回收率为 (83.4 ± 3.1)%。Emiliana Capurro^[8]等采用 Bond ElutTM C₁₈净化牛肝中尼卡巴嗪的残留, 该方法回收率大于 70%。日本^[21]采用 Sep-Pak C₁₈柱或中性氧化铝柱净化鸡蛋中的尼卡巴嗪, 该方法的检测限 0.03 mg/kg。

基质固相分散技术(MSPD): 基质固相分散技术处理样品速度快, 溶剂用量少, 引起了广泛的关注。但该方法样品需要量少, 因此要求检测方法具有较高的灵敏度。Schenck^[17]等建立了固相分散技术净化鸡肉中尼卡巴嗪的高效液相色谱法, 回收率 55% 左右。

免疫亲和色谱(IAC)有离线和在线两种净化方法。在线自动净化法具有固相萃取的高富集性、提取时间少、有机溶剂用量少等优点。Tabin^[22]等建立了鸡蛋中尼卡巴嗪的在线固相萃取高效液相色谱法, 此方法的平均回收率大于 80% ($n=5$)。Vertommen^[23]建立了离线固相萃取高效液相色谱法测定鸡蛋中尼卡巴嗪的方法, 此方法净化效果好, 回收率高达 90%。

3 定量分析

目前尼卡巴嗪的检测方法有高效液相色谱法, 微柱高效液相色谱法, 差示脉冲极谱法, 分光光度法^[24], 气相色谱法, 高效液相色谱串联质谱法^[21, 25-26], 免疫色谱法^[27-29]。其中, 高效液相色谱法可使用紫外检测器, 二极管阵列检测器, 电化学检测器^[8, 15, 30]三种检测器。

3.1 高效液相色谱法(HPLC) 高效液相色谱法具有灵活、通用、选择性强、灵敏度高、检测限低等

优点。但是因为其样品预处理时间较长、操作过程繁琐,且需一定的技术水平条件,仪器化程度较高,分析周期长,不适宜作为药物残留的快速检测和常规应用。常用的流动相为乙腈-水^[6,8],甲醇-水^[4,12],醋酸盐缓冲液-乙腈^[13],磷酸溶液-乙腈^[31],磷酸盐缓冲液-乙腈^[32],乙腈-甲醇^[2]等几类。药物的保留能力与流动相的 pH 值、柱填料等有关,常采用 C₁₈柱分离^[4],其次是 NH₂柱^[3]。章虎^[6]等采用 Inersil ODS₂ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)测定鸡肉、鸡肝和饲料中尼卡巴嗪的残留量,该方法的仪器检测限为 0.02 mg/L。陈家华^[3]采用 μ Bondapak™ NH₂ 色谱柱测定鸡肉中尼卡巴嗪的残留量,其检测限为 10 μg/kg。常用的检测器有紫外检测器(UV),二极管阵列检测器(DAD)和电化学检测器,检测波长在 350 nm 左右。紫外检测器灵敏度高,选择性较好,能满足残留分析的一般要求,且对环境温度、流动相组成和流速变化不敏感,能适于等度和梯度洗脱。Guglielmo Dusì^[15]等用高效液相色谱紫外检测方法检测家禽饲料中尼卡巴嗪的残留,该方法的线性范围为 2~150 mg/kg,检测限为 1 mg/kg。Boulaire^[16]等建立了高效液相二极管阵列检测器检测鸡组织中尼卡巴嗪的残留检测方法,该方法的检测限低,回收率均可满足残留检测规范的要求。Ellison^[33]等运用电化学检测器检测鸡组织中的尼卡巴嗪,此方法重复性好,应用广泛,灵敏度高。

3.2 微柱高效液相色谱法 近几年,微柱高效液相色谱法越来越广泛的运用于动物性食品的药物残留分析中。与常规的高效液相相比,微柱高效液相具有以下四个显著优点:流动相消耗少,灵敏度高,与小样品的相容性增大,易与质谱或中级色谱系统串联。Rosa Draisci等^[7]采用微柱高效液相色谱法检测鸡组织、鸡蛋、家禽饲料及家畜垫草中尼卡巴嗪的含量,检测限为 25 pg(3倍信噪比)。

3.3 分光光度测定法 分光光度测定法作为常规检测方法,操作简单,灵敏度高,仪器相对较便宜,但其重现性较差,样品需要量较大,较少用于残留检测。张秀平^[24]等采用紫外分光法测定鸡组织中尼卡巴嗪的残留量,确定尼卡巴嗪休药期为 4 d。

3.4 差示脉冲极谱法(DPP) 差示脉冲极谱法应用于药物分析具有选择性好,灵敏度高,取样量少,使用试剂品种少,以及操作简便等许多独特的优

点。USFDA ADAM 采用差示脉冲极谱法测定雏鸡组织中尼卡巴嗪的残留,检测限 0.02 mg/kg。但差示脉冲极谱法对仪器的要求较高,现在已很少用于测定药物的残留。

3.5 气相色谱法(GC) 气相色谱法灵敏度高、检测限低且有多种检测器供选择。但需要繁琐的衍生化步骤且样品前处理比 HPLC 复杂,不适合大量样品的分析,因此,气相色谱法在尼卡巴嗪残留检测中的应用受到了限制。Nose等^[34]采用气相色谱法检测畜产食品中包括尼卡巴嗪在内的九种化学合成抗菌药,该方法稳定性好,灵敏度高。

3.6 液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS) 目前关于液相色谱串联质谱法测定尼卡巴嗪的残留报道不多。孙雷等^[18]采用 LC-MS/MS 法检测鸡蛋和鸡肉中尼卡巴嗪的残留。该方法的质谱条件为:电喷雾离子源(ESI),多反应监测(MRM)方式进行采集,4,4'-二硝基均二苯脲-D₈同位素内标法定量。结果表明,尼卡巴嗪在 10~500 ng/mL 浓度范围内呈现良好的线性关系, R²为 0.9997;鸡蛋和鸡肉中 4,4'-二硝基均二苯脲残留检测方法检测限均为 0.5 ng/g,定量限均为 1 ng/g。Dubois^[21]等采用液相色谱-电喷雾串联质谱法测定鸡肉和鸡蛋中包括尼卡巴嗪在内的 9 种抗球虫药,该方法中尼卡巴嗪的检测限为 0.5 μg/kg。

3.7 免疫测定法(IAs) 免疫测定法主要包括酶联免疫吸附法,荧光免疫测定法和表面等离子体传感器等。

3.7.1 酶联免疫吸附法(ELISA) 酶联免疫吸附法是当前应用最广、发展最快的固相酶免疫测定技术。该方法具有灵敏度高、特异性强、操作简便、快速和可用于大批量样品检测的特点。国内目前有关 ELISA 方法检测鸡组织中尼卡巴嗪残留的报道很少。Huet等^[28]用 ELISA 检测鸡肉和鸡蛋中尼卡巴嗪的残留,抗体对尼卡巴嗪在接近 2.5 ng/mL 的浓度时呈现 50%抑制(I₅₀),该方法在鸡蛋的检测限 < 3 μg/kg,鸡肉的检测限 < 10 μg/kg。

3.7.2 荧光免疫测定法(TFLA) 该方法是根据背景的荧光衰变期短的特点,选择长寿命的荧光物质进行标记,当寿命很短的生物材料背景荧光完全衰减后再进行检测,便可消除本底的干扰,提高信噪比。Hagren等^[29]采用时间分辨率荧光免疫测定法检测鸡蛋和鸡肝中尼卡巴嗪的残留。该方法在鸡蛋的检测限为 3.2 ng/g(n=6),肝脏的检测限为

11. 3 ng/g ($n = 6$)。

3.7.3 生物传感器 生物传感器是以固定化的生物成分(如酶、蛋白质、DNA、抗体、抗原)或生物体本身(如细胞、微生物、组织等)为敏感材料,与适当的化学换能器相结合,用于快速检测物理、化学、生物量的新型器件。与其他方法相比,具有精度高、可以做到小型化、自动化和方便现场检测等优点。Briege等^[5]建立了鸡蛋和鸡肝中尼卡巴嗪残留的表面等离子体共振生物传感器检测方法,鸡蛋的检测限为 19 ng/g 鸡肝的检测限为 17 ng/g

4 结论和展望

目前,高效液相色谱法是检测尼卡巴嗪残留最常用的方法,因为其灵敏度高、特异性好、检测限低,仪器要求多数实验室可以满足。但此法样品提取和净化步骤繁琐、不便于同时处理大批样品、回收率有时偏低而且不稳定、对实验人员要求高,并且使用了大量有毒溶剂,不适于常规检测。气相色谱法和 LC-MS/MS 方法,不仅灵敏度高,而且可以确证,但需要昂贵的仪器。免疫测定法操作简单、快速、灵敏度高,可作为尼卡巴嗪残留的现场大批量快速检测方法,具有推广优势,但是其对结构类似物有交叉反应、稳定性差。差示脉冲极谱法的出现使经典的极谱分析又获得新的生命力,但其对仪器的要求较高,所有影响其它电化学分析方法的因素均能不同程度地影响其精确性,加上滴汞电极本身的毒性,都是影响本法推广应用的一些因素。

理想的尼卡巴嗪残留分析方法要求灵敏、准确、简单、省时、费用低,目前为止尚无公认的上述理想方法报道。不过,随着人们对食品安全问题的日益关注和各学科的交叉发展,以及生物传感器和生物芯片技术的日益成熟,相信在不久的将来定会研究出具有高分析效率的理想的尼卡巴嗪残留分析方法。

参考文献:

- [1] 农业部 235 号公告. 动物性食品中兽药最高残留限量 [S]. 2002
- [2] SN 0216-93. 出口禽肉中尼卡巴嗪残留量检验方法 [S].
- [3] 陈家华. 鸡肉中尼卡巴嗪残留的快速测定法 [J]. 现代商检科技, 1993 3(6): 45-46.
- [4] 王淑芬, 葛明伟, 李三鸣. 饲料中尼卡巴嗪、乙氧酰胺苯甲酯共存时含量测定方法的研究 [J]. 辽宁畜牧兽医, 1997 1: 23-25
- [5] Briege M, Camery, Mekla M, Traynor Terence L, Fodex, et al.

- Surface Plasmon Resonance Biosensor Screening of Poultry Liver and Eggs for Nicarbazine Residues [J]. *Analytica Chimica Acta* 2003, 483: 65-169.
- [6] 章虎, 吴俐勤, 杨彩梅, 等. 尼卡巴嗪残留量测定和安全性分析 [J]. 现代科学仪器, 2005 1: 58-60
- [7] Rosa Draisci Luca Lucentini Pierpaolo Boria, et al. Micro High-performance Liquid Chromatography for the Determination of Nicarbazine in Chicken Tissues, Eggs, Poultry Feed and Litter [J]. *Journal of Chromatography A*, 1995 (697): 407-414
- [8] Emiliana Capurro Martin Danaher Aniello Anastasio, et al. Efficient HPLC Method for the Determination of Nicarbazine as Dinitrocarbanilide in Broiler Live [J]. *Journal of Chromatography B* 2005, 822: 154-159
- [9] Jerome C Hurley John J Johnston Poly(methyl methacrylate) Synthetic Graft Formulations Sustain the Delivery of Nicarbazine a Contraceptive Agent in Pest Waterfowl [J]. *Journal of Controlled Release* 2002, 85: 135-143.
- [10] Dhamendrak Matabudul Neil T Crosby, et al. A New and Rapid Method for the Determination of Nicarbazine Residues in Poultry Feed, Eggs and Muscle Tissue Using Supercritical Fluid Extraction and High Performance Liquid Chromatography [J]. *The Analyst* 1999, 124: 499-502
- [11] 周伟伟. 鸡组织中尼卡巴嗪残留的 HPLC 检测法及消除规律研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2007: 1-40.
- [12] 陈丽, 谭宝玲, 冯建文. HPLC 法检测饲料预混料中尼卡巴嗪的含量 [J]. 饲料工业, 2006 27(14): 5-6.
- [13] Guglielmo Dusi Elena Faggiolato Valentina Gamba, et al. Determination of Nicarbazine and Clopidol in Poultry Feeds by Liquid Chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2000: 882-79-84.
- [14] Dubois M, Pierret G, Delahaut Ph. Efficient and Sensitive Detection of Residues of Nine Coccidiostats in Egg and Muscle by Liquid Chromatography-electrospray Tandem Mass Spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2000: 882-79-84.
- [15] Luca Lucentini Maria Luisa Cortesi. Determination of Nicarbazine in Chicken Tissues by Liquid Chromatography and Confirmation of Identity by Thermospray Liquid Chromatography/mass Spectrometry [J]. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1989, 72 (4): 577-581
- [16] Stephanie Le Boulleir Jean-Claude Bauduret Francois Arradre. Veterinary Drug Residues Survey in Meat: An HPLC Method with a Matrix Solid Phase Dispersion Extraction [J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1997, 45: 2134-2142.
- [17] Schenck F J Barker S A, Long A R. Matrix Solid-phase Dispersion Extraction and Liquid Chromatographic Determination of Nicarbazine in Chicken Tissue [J]. *Journal of the AOAC International* 1994, 75 (4): 659-666
- [18] 孙雷, 张骊, 刘智宏, 等. 鸡蛋和鸡肉中尼卡巴嗪残留检测高效液相色谱-串联质谱法研究 [J]. 中国兽药杂志, 2008 42 (5): 1-4

(下转第 60 页)

素、硫酸庆大霉素、氢化可的松、地塞米松等呈酸性,如果这两类药物混合使用,可发生酸碱中和反应,其化学性质或稳定性必然要发生改变,就会不可避免地出现疗效降低、毒性增大等无法预见的后果,甚至会导致病情加重。因此,不能用解热镇痛类药物的针剂充当青霉素、链霉素的稀释液或溶剂取代注射用水。

3.3 掌握用药剂量和疗程 不随便加大剂量和延长疗程,用药最多不过 5 天。用药不退的长期发热,大多隐匿着重大疾病。

3.4 掌握用药时间 为避免药物对胃肠道的刺激,解热镇痛药宜在饲喂后 2 小时,即半空腹时服用或与等量的抗酸药(氢氧化铝等)同时服用。切忌空腹服用,否则可加重药物对胃肠道的刺激,严重者可致胃出血及胃穿孔。

3.5 注意各类解热镇痛药的不良反应 了解解热镇痛药的毒副作用和防治方法。该类药物对消化

系统、造血系统、循环系统、中枢神经系统以及肝、肾都有损害,并能引起过敏反应及皮疹等。表现为过敏性皮疹、瘙痒、剥脱性皮炎、血管神经性水肿、哮喘,严重可发生过敏性休克。诱发哮喘以阿司匹林较常见,发生率为 2.3%~20%。使用解热镇痛药时要掌握患畜的既往不良反应情况,减少不良反应发生。有既往不良反应的,因重复用药,容易再次诱发。

3.6 熟悉解热镇痛抗炎药复方制剂的成分,从医服药 应了解药物的组成成分,不要重复用药避免服用商品名不同但含有相同组分药物时,导致药物超量服用,引起中毒。有研究显示,只服用 1 种解热镇痛药的患胃肠道出血的机率仅为 7.3%,而同时服用 2 种或 2 种以上解热镇痛药的患胃肠道出血的机率就增加为 10.7%。这类药物的复方制剂很多,不少是大同小异,故购买前一定要合理应用解热镇痛药。

(上接第 50 页)

- [19] Homing M G, Gregory P, Nowlin J, *et al*. Isolation of Drugs Metabolites from Biological Fluids by Use of Salt-Solvent Pairs[J]. *Clin Chem*, 1974, 20: 282-287.
- [20] Kanda M, Ushiyama K, Igusa K, *et al*. Simple Determination of Residual Anticoccidial Drugs (diclazuril and nicarbazin) in Chicken Tissues by HPLC[J]. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 2003, 44 (2): 110-113.
- [21] 食品卫生检查指针(追补 I) [M]. 日本食品卫生协会, 1993.
- [22] Tabin JA, Shearer G. High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of The Dinutrocarbanilide Component of Nicarbazin in Eggs with On-line Clean-up[J]. *Journal of Chromatography: Biomedical Applications* 1993, 613 (2): 354-358.
- [23] Vertommen M H, A vander Laan H M, Veenendaal-Hesseman. High-performance Liquid Chromatographic Screening Method for Low Levels of Nicarbazin in Eggs with Off-line Cartridge Sample Clean-up[J]. *Journal of Chromatography A*, 1989, 481: 452-457.
- [24] 张秀平, 李广云, 陈根尹, 等. 尼卡巴嗪在鸡体中残留量测定[J]. *上海畜牧兽医通讯*, 1986, 2: 1-2.
- [25] Leen Mortier, Els Daeseleire, Carlos Van Peteghem. Liquid Chromatographic Tandem Mass Spectrometric Determination of Five Coccidiostats in Poultry Eggs and Feed[J]. *Journal of Chromatography B* 2005, 820: 261-270.
- [26] Leen Mortier, Els Daeseleire, Philippe Delahaut. Simultaneous Detection of Five Coccidiostats in Eggs by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta* 2003, 483: 27-37.

- [27] Brieger M, Coney M, McKelvey M, Traynor Terence L. Surface Plasmon Resonance Biosensor Screening of Poultry Liver and Eggs for Nicarbazin Residues[J]. *Analytica Chimica Acta* 2003, 483: 65-169.
- [28] Hu et al C, Mortier L, Daeseleire E, *et al*. Screening for the Coccidiostats Habugunone and Nicarbazin in Egg and Chicken Muscle Development of an ELISA[J]. *Food Additives and Contaminants* 2005, 22(2): 128-134.
- [29] Hagren V, Crooks S, Elliott R H, *et al*. An All-on-line Dry Chemistry Immunoassay for the Screening of Coccidiostat Nicarbazin in Poultry Eggs and Liver[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004, 52(9): 2429-2433.
- [30] Randal S, Stahl John J, Johnston H. High-performance liquid chromatography-based Determination of Nicarbazin Excretion in Waterfowl[J]. *Journal of Chromatography B*, 2002, 775: 103-108.
- [31] Chonan Takao, Fujimoto, *et al*. Mutiresidue Method for Determination of Veterinary Drugs and Feed Additives in Meats by HPLC[J]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 2007, 48(5): 153-158.
- [32] 食品中农用化学品残留检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [33] Dean K, Ellison William Tait, Osteryoung Square-wave Voltammetric Determination of Nicarbazin in Chicken Tissue[J]. *Talanta* 1988, 35(9): 734-736.
- [34] Nose N, Hoshino Y, Kikuchi Y, *et al*. Studies on Residues of Synthetic Antibacterials in Livestock Products. VIII. Simultaneous Analysis of Synthetic Antibacterials in Livestock Products[J]. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 1982, 23(2): 176-183.