

化学合成类抗球虫药残留检测方法研究进展

Research progress on detection methods of chemically synthesized coccidiostat residues

庞杏豪^{1,2} 胡晓飞² 邢云瑞² 孙亚宁² 王耀¹

PANG Xing-hao^{1,2} HU Xiao-fei² XING Yun-rui² SUN Ya-ning² WANG Yao¹

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003;

2. 河南省农业科学院动物免疫学重点实验室, 河南 郑州 450002)

(1. Food and Bioengineering College, Henan University of Science and Technology,

Luoyang, Henan 471003, China; 2. Key Laboratory of Animal Immunology,

Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, Henan 450002, China)

摘要:文章综述了化学合成类抗球虫药残留的检测方法,重点介绍了高效液相色谱串联质谱法、酶联免疫吸附测定法、免疫层析试纸法、表面增强拉曼光谱法等的研究进展,总结了检测方法发展现状与趋势,并对其未来发展方向进行了展望。

关键词:抗球虫药;残留检测;动物性食品;化学合成

Abstract: In this review, the detection methods of chemically synthesized coccidiostat residues were summarized, with emphasis on the research progress of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, enzyme-linked immunosorbent assay, immunochromatographic test paper, surface enhanced Raman spectroscopy and other methods. The development status and trend of detection methods were discussed, and the future development direction was prospected.

Keywords: coccidiostats; residue detection; animal food; chemically synthesized

球虫病是由艾美球虫属的传染性寄生虫引起的疾病,其卵囊寄生于畜禽的肠道上皮细胞组织,破坏细胞的正常生理结构,导致炎症和出血^[1],使畜禽体重减轻、产蛋率下降^[2],料肉比增加^[3]。当前,临床对球虫的防控方式分为球虫疫苗和抗球虫药,前者含有小剂量的球虫卵囊,可在肠道定殖,通过卵囊循环使动物机体获得免疫,

起到预防效果而无治疗作用^[4];后者主要用于治疗也可用于预防,且选择范围广,在实际养殖过程中大规模应用。近年来,兽药残留超标已成为食品安全监督抽检中发现的主要不合格问题之一^[5]。长期不规范使用抗球虫药不仅会对畜禽产生毒性作用,使其耐药性增强,增加养殖成本,对养殖业健康发展和畜禽贸易产生不良影响;还会造成动物源性食品中残留超标,将严重影响胃肠道菌群平衡,对人体健康造成潜在的慢性毒性危害^[6-7]。为严格监控动物源食品中的兽药残留情况,中国制订了食品安全国家标准^[8],规范了食品中化学合成类抗球虫药的最高残留限量(见表 1)。当前有关抗球虫药残留检测方法仅侧重于一类检测方法^[9-10],针对性强但全面性不够。文章拟综述近年来化学合成类抗球虫药的多种残留检测方法,如超高效液相色谱串联质谱法、酶联免疫吸附测定法、免疫层析试纸法等,以期对抗球虫药检测方法的深入研究提供参考。

1 抗球虫药概述

当前,用于畜禽球虫病防治的抗球虫药主要分为聚醚离子载体类、化学合成类和中草药制剂类 3 类,其中化学合成类由于价格低廉、防治效果好而被广泛使用。化学合成类抗球虫药包含磺胺类、吡啶类、三嗪类、二硝基类等多个种类,其作用机理各不相同^[11]。磺胺类药物与对氨基甲酸争夺二氢叶酸合成酶,影响叶酸形成,阻碍核蛋白合成,抑制球虫的生长繁殖;吡啶类药物可通过抑制虫体的呼吸作用来影响正常的新陈代谢^[12];三嗪类抗球虫药通过抑制呼吸链酶的活性影响虫体新陈代谢^[13];二硝基类抗球虫药具有广谱活性,尼卡巴嗪可抑制琥珀酸连接的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸还原^[14];胍类抗球虫药阻止球虫成熟裂殖体的形成^[15];喹啉类中癸氧喹酯抗球虫

基金项目:国家自然科学基金(编号:31702218);河南省青年人才托举工程(编号:2020HYTP029);河南省自然科学基金(编号:182300410038);国家重点研发计划(编号:2018YFC1602903)

作者简介:庞杏豪,女,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:王耀(1986—),男,河南科技大学副教授,博士。

E-mail: wangyao@haust.edu.cn

收稿日期:2021-08-02

药可降低球虫卵孢子形成率^[16];抗硫酸素类抗球虫药可抑制艾美球虫对硫酸素的吸收,使硫酸素辅酶形成受阻;常山酮可抑杀球虫早期生殖性芽孢以及第一、第二代裂殖体^[17]。过量的抗球虫药在发挥药效的同时,会对动物产生一定的毒副作用。高剂量的磺胺喹恶啉对幼鸡的肝索细胞、肝脏淋巴区域、胆管、肾脏、骨髓和甲状腺造成损伤^[18];氯羟吡啶对小鼠有致畸和致突变作用^[19-20];地克珠利可引起小鼠肝细胞和肝窦细胞肿胀、肠系膜组织细胞增生症等不良反应;尼卡巴嗪在饲喂孕鼠时出现母体死亡率增加、幼鼠延迟骨化及胎儿体重降低等现象;常山酮可使牛腹泻、胃肠道充血发炎,伴随出现低蛋白血

症、高尿毒症等现象^[21]。

2 化学合成类抗球虫药残留检测方法

2.1 超高效液相色谱串联质谱法

超高效液相色谱串联质谱法(UPLC-MS/MS)是一种集高效分离和多组分定性、定量于一体的方法,具有分离效率高、特异性强、灵敏度高等优点。梁飞燕等^[22-23]建立了UPLC-MS/MS法用于氯羟吡啶的残留检测,前者选用PRIME HLB固相萃取柱作为纯化柱,降低了样品杂质的影响,提高了检测灵敏度,定量限和检出限远低于后者。Zhao等^[24]建立了HPLC-MS/MS和UPLC-MS/

表 1 化学合成类抗球虫药残留限量标准^[8]
Table 1 Standard for residue limits of chemically synthesized coccidiostats

类别	名称	动物种类	靶组织	残留限量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	类别	名称	动物种类	靶组织	残留限量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
磺胺类	磺胺氯吡嗪	所有食品动物 (产蛋期禁用)	肌肉	100	二硝托胺	鸡	肌肉	3 000			
			脂肪	100			脂肪	2 000			
	肝		100	肝			6 000				
	肾		100	肾			6 000				
	磺胺二甲嘧啶		牛/羊	奶			100	火鸡	肌肉	3 000	
鱼	皮+肉	100		肝	3 000						
吡啶类	磺胺间甲氧嘧啶	牛/羊	肌	200	尼卡巴嗪	鸡	肌肉	200			
			肝	1 500			皮+脂	200			
			肾	3 000			肝	200			
			奶	20			肾	200			
			猪	可食组织			200	胍类	氯苯胍	鸡	皮+脂
	肌肉	5 000	其他可食组织	100							
	鸡/火鸡	肝	15 000	喹啉类	癸氧喹酯	鸡	肌肉		1 000		
		肾	15 000				可食组织		2 000		
		地克珠利	绵羊/兔				肌肉		500	抗硫酸素类	氨丙啉
	脂肪			1 000	脂肪	2 000					
肝	3 000			肝	500						
肾	2 000			肾	500						
肌肉	500			肌肉	500						
三嗪类	家禽(产蛋期禁用)	皮+脂	1 000		鸡/火鸡	肝	1 000				
		肝	3 000			肾	1 000				
	肾	2 000	蛋			4 000					
	托曲珠利	家禽(产蛋期禁用)	肌肉			100	植物碱类	常山酮	牛(泌乳期禁用)	肌肉	10
			皮+脂			200				脂肪	25
肝			600	肝	30						
	所有哺乳类食品动物(泌乳期禁用)	肾	400		鸡/火鸡	肾	30				
		肌肉	100			肌肉	100				
		脂肪	150			皮+脂	200				
		肝	500			肝	130				
		肾	250								

MS 两种方法检测牛肉中 8 种抗球虫药残留,结果表明两种方法均具有高灵敏度和良好的准确性,可满足不同机构所用设备的检测需求,且 UPLC-MS/MS 的准确性更好。Broekaert 等^[25]建立了 UPLC-MS/MS 法用于蔬菜中地克珠利、尼卡巴嗪等 6 种抗球虫药的残留检测,定量限为 0.30~2.98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在使用超高效液相色谱串联质谱法检测药物残留时,样品的基质效应对检测方法的定量限、检出限、准确度和精密度均会产生不良影响。此外,该法所用仪器不仅价格昂贵,还对研究人员的检测技术有较高要求,限制了其大规模应用。

2.2 酶联免疫吸附测定法

酶联免疫吸附测定法(ELISA)将酶催化反应的放大作用和抗原抗体亲和反应的专一性相结合^[26],大大提高了检测灵敏度,常被用于样品的快速筛查。在检测抗球虫药等小分子物质时,该方法多基于竞争 ELISA 原理建立,即通过待检抗原与包被在固相载体上的抗原竞争性结合单克隆抗体来达到检测目的。张梦等^[27]用重氮化方法合成磺胺氯吡嗪钠抗原,制备单克隆抗体,建立间接竞争 ELISA 方法检测动物组织中磺胺氯吡嗪残留检测,线性检测范围为 20~400 ng/mL 。龚云飞等^[28]建立了间接竞争 ELISA 方法检测鸡蛋和鸡肉样品中磺胺二甲嘧啶残留,鸡蛋和鸡肉样品实际检出限分别为 2,5 ng/g 。Li 等^[29]建立了间接竞争 ELISA 方法检测牛奶样品,其中磺胺甲噁唑、磺胺喹噁啉、磺胺间二甲氧嘧啶和磺胺二甲嘧啶的检出限分别为 1.25, 2.95, 3.35, 6.10 $\mu\text{g}/\text{L}$,为抗球虫药残留检测提供了一种简单、灵敏、高通量的筛选工具。Zhang 等^[30]建立了一步间接竞争 ELISA 方法,用于动物源性食品中地克珠利的残留检测,IC₅₀ 为 0.952 $\mu\text{g}/\text{kg}$,相较于传统间接竞争 ELISA 方法至少节省 30 min。Bai 等^[31]同时建立了直接竞争 ELISA 方法和非竞争性 ELISA 方法用于鸡肉中常山酮残留检测,与使用相同抗体的竞争法相比,非竞争性 ELISA 方法在灵敏度和检测范围方面显示出明显优势,检出限为 0.13 ng/mL ,线性检测范围为 1.3~53.4 ng/mL 。ELISA 方法中常用的辣根过氧化物酶等天然酶的催化活性有限,稳定性受环境、温度等因素的影响较大。在检测过程中,抗体和包被原浓度、各操作过程的反应时间都会影响 ELISA 结果,大量的手动加样步骤易导致人为误差。

2.3 免疫层析试纸法

免疫层析试纸法是在单克隆技术、免疫层析技术及标记技术基础上发展起来的一种快速检测方法,具有灵敏度高、特异性强、携带方便等优点,在兽药残留的快速检测方面发展迅速。免疫层析试纸条主要由带压敏胶的支撑底板、NC 膜、吸水纸、胶金垫、样品垫按序组装而成[如图 1(a)],根据检测所需在 NC 膜上喷涂 C 线和 T 线,其中 C 线作为质控线始终显色,若不显色即为试纸失效。

在检测抗球虫药这类小分子物质时,多以胶体金为显色媒介构建胶体金免疫层析试纸^[32-35]。反应原理如图 1(b) 所示,当样品中不含待测物时,金标抗体先后与 T 线上的包被抗原以及 C 线上的羊抗鼠二抗反应,T、C 线均显色,呈阴性;当样品中含有待测物时,待测物与包被原竞争有限的金标抗体,且待测物含量越高,T 线显色越浅,呈阳性。Wang 等^[36]建立了胶体金免疫层析试纸法用于检测鸡肉样品中的地克珠利,15 min 即可完成检测过程,定性及半定量临界值为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$,机读检出限为 1.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Chao 等^[37]用高灵敏度单克隆抗体创建胶体金免疫层析试纸法,用于快速筛查生鸡肉样品中氯羟吡啶残留,定性及半定量临界值为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,机读检出限为 0.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。尽管基于胶体金免疫层析试纸法的建立已经成熟化,但针对抗球虫药的检测靶标相对单一,无法满足多种药物同时检测的需求,而且其灵敏度依赖于抗体的特性和标记物的稳定性,灵敏度与假阴性问题始终是困扰该方法的关键问题。

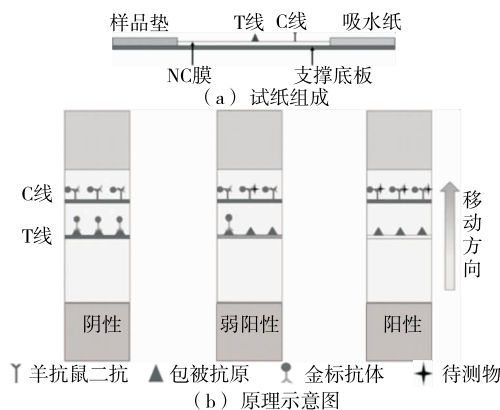


图 1 免疫层析试纸的组成及原理示意图^[32]

Figure 1 Composition of the test strip and the schematic for samples detection

2.4 表面增强拉曼光谱法

表面增强拉曼光谱(SERS)法是一种灵敏度更高、信号更强的拉曼技术^[38],已被应用于动物性食品中抗球虫药残留检测。金纳米粒子(AuNPs)是 SERS 法常用的活性基底,可显著增强 SERS 信号强度^[39],提供好的化学稳定性和生物相容性。Li 等^[40]以微波法合成磁性离子液体/金纳米粒子(MIL-AuNPs)作为 SERS 底物,用于测定鸡蛋样品中的氯羟吡啶残留,MIL-AuNPs 粒径均一分散,SERS 信号明显高于普通 AuNPs(见图 2),该方法检出限低至 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。银纳米粒子(AgNPs)表面增强活性高于 AuNPs^[41],在实际应用中效果更佳。Shao 等^[42]将 AgNPs 应用于 SERS 法检测鸭肉和鸡肉样品中二硝托胺和托曲珠利残留,线性浓度范围分别为 0.30~33.30, 0.30~66.70 nmol/L ,检出限分别为 0.915, 1.03 nmol/L 。双金属纳米结构相比于单一金属基底具有更好的 SERS

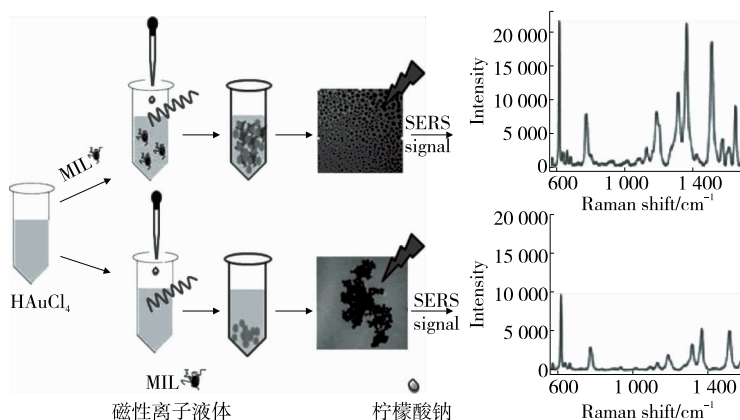


图2 微波法合成磁性离子液体/金纳米粒子作为超灵敏 SERS 基底用于痕量氯吡啶检测^[40]

Figure 2 Microwave method synthesis of magnetic ionic liquid/gold nanoparticles as ultrasensitive SERS substrates for trace clodol detection

活性, Bi 等^[43]基于 AuNPs 和 AgNPs 制备出核壳结构作为 SERS 底物, 检测鸡、鸭样品中盐酸氨丙啉残留。在检测过程中药物分子固定于金核和银壳之间, 显著增强了药物的拉曼信号, 且 Au@Ag 纳米粒子的负电性使其通过静电作用均匀地分散在水中, 形成稳定的胶体。随着检测灵敏度的提高, 对 SERS 基底性能的要求越来越高, 合成优良性能的基底成为新的研究方向。

2.5 毛细管电泳法

毛细管电泳法是一种依据带电化合物在高压电场中分配系数和淌度差异达到鉴定和分离目的的强大工具^[44], 因其快速、高效率、样品消耗量少的显著优势而被广泛应用^[45]。样品前处理是毛细管电泳法开发的关键, 在线固相萃取技术的应用是样品净化的重要手段, 同时也是提高实验室通量的最佳策略之一。Ma 等^[46]在毛细管电泳法中应用了离线分散液-液微萃取与在线放大样品进样相结合的双富集方法, 用于同时测定包括磺胺二甲嘧啶在内的 4 种磺胺类药物, 为复杂水基质中磺胺

类药物测定提供了广阔前景。张建等^[47]使用胶束溶剂堆积法在线富集模式并进行条件优化, 建立了高效毛细管电泳法检测鸡蛋中 3 种磺胺类药物残留, 检出限约 1.0 ng/mL。实际检测过程中, 现有技术与毛细管电泳法结合使用, 有利于提高检测灵敏度。

2.6 电化学传感器

电化学传感器可在复杂基质中实现抗球虫药残留的快速检测, 其灵敏度与电极的性能息息相关。而在电极表面修饰碳纳米管、石墨烯、石墨碳氮化物等不同的材料, 可提高电极灵敏度、选择性和稳定性^[48]。Huang 等^[49]将合成分子印迹聚合物固定在氧化石墨烯和二氧化钛修饰的铂电极表面, 制备了分子印迹电化学传感器 (图 3), 用于鸡肌肉和鸡蛋样品中托曲珠利检测。氧化石墨烯和二氧化钛具有较大的活性表面积和较高的催化活性, 可放大电化学信号, 提高传感器的灵敏度。改性碳糊电极可同时修饰多种生物传感器材料, 具有较宽的工作电位范围, 且易制备、成本低、表面构建过程方便快捷, 近

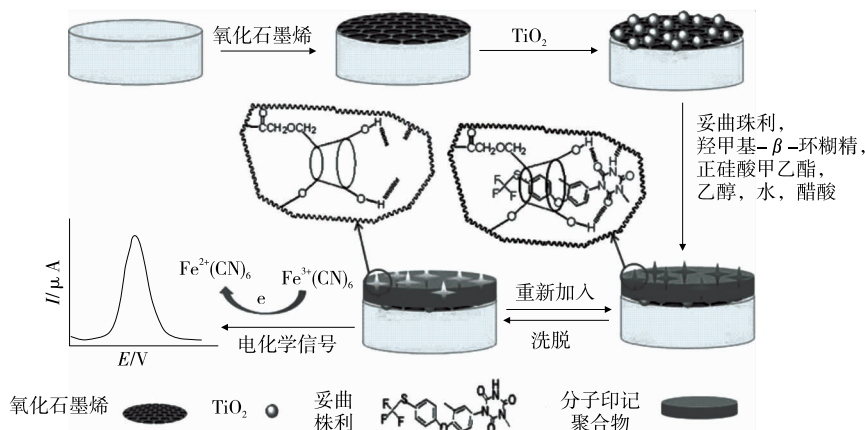


图3 分子印迹电化学传感器示意图^[49]

Figure 3 The schematic illustration of the molecularly imprinted electrochemical sensor

年来被广泛应用^[50]。Soleymanpour 等^[51]用磺胺喹啉钠与 2,3,5-三苯基四唑氯化物制备离子络合物应用于碳糊电极,制备了电化学传感器传感器,并用于测定生物样品和牛奶中磺胺喹啉,检出限低至 3.0×10^{-6} mol/L。Abdel-Raouf 等^[52]制备了氧化镍纳米粒子修饰多壁碳纳米管作为传感材料,用于鸡肉中盐酸氨丙啉的残留检测。与裸碳糊电极相比,该电极响应时间短、重现性良好,方法检出限低至 6.3×10^{-7} mol/L,线性范围为 $10^{-6} \sim 10^{-2}$ mol/L。目前大多数电化学传感器的构建都处于实验室阶段,实现批量化生产需要考虑不同修饰材料的稳定性、生产成本以及携带便捷性等问题。

3 总结与展望

化学合成类抗球虫药常在家禽的生产养殖过程中使用,出于对消费者健康考虑,近年来中国已经为动物源性食品中的抗球虫药残留设定了相关限量标准,促使抗球虫药残留检测方法朝着灵敏度更高、特异性更好的方向发展。色谱法检测极性抗球虫药残留物时,常规的反相色谱吸附剂不能达到理想的分析效果,需要开发更有效的样品制备程序,以减少由样品基质引起的离子抑制或增强作用。目前已有的免疫学检测方法中,天然酶的活性限制了研究的发展,而纳米材料的酶模拟物(纳米酶)作为一种新型的人工酶,具有合成容易、稳定性好、成本低、设计灵活等显著特性,不仅有望替代天然酶在 ELISA 中广泛应用,还可作为标记物用于免疫层析试纸法。同时,开发新型高效基底是 SERS 法发展的关键,新型稀土掺杂半导体基底^[53]、MOF 基底^[54]以及仿生结构的 SERS 基底^[55]已分别应用至医学、药残检测领域,未来会有更多的新型材料用于基底研发,实现食品中抗虫球药残留的快速灵敏检测。毛细管电泳与质谱法、化学发光法等现有技术联用是未来发展的重点,既提高了检测效率和精确度,也为药残检测提供了新的方向。对于电化学传感器来说,功能化界面的不可再生性导致电极只能满足单个样品的测试,难以通过批量化检测来降低成本,因此开发灵敏度高、稳定性好、可重复使用的电极应用于电化学传感器,将推动电化学传感器朝着小型化、便捷化方向发展。

参考文献

[1] LILLEHOJ H S, TROUT J M. Avian gut-associated lymphoid tissues and intestinal immune responses to *Eimeria* parasites[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 1996, 9(3): 349-360.

[2] BO Ruo-nan, DAI Xing-ru, HUANG Jie, et al. Evaluation of optimum conditions for decoquinate nanoliposomes and their anticoccidial efficacy against diclazuril-resistant *Eimeria tenella* infections in broilers[J]. *Veterinary Parasitology*, 2020, 283: 109186.

[3] BREMNER A, KIM S, MORRIS K M, et al. Kinetics of the cellular

and transcriptomic response to *Eimeria maxima* in relatively resistant and susceptible chicken lines[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 882.

[4] SOKALE A O, WILLIAMS C J, HOERR F J, et al. Effects of administration of an in ovo coccidiosis vaccine at different embryonic ages on vaccine cycling and performance of broiler chickens[J]. *Poult Science*, 2021, 100(3): 100914.

[5] 刘欢. 2018—2019 年全国食品安全监督抽检情况分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(7): 2 347-2 351.

LIU Huan. Analysis of food safety supervision and sampling inspection of China in 2018—2019[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(7): 2 347-2 351.

[6] KADYKALO S, ROBERTS T, THOMPSON M, et al. The value of anticoccidials for sustainable global poultry production[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2018, 51(3): 304-310.

[7] 尹志强, 宋月, 柴婷婷, 等. 液相色谱—串联质谱法应用于动物源性食品中多类药物筛查确证的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 43(4): 286-294.

YIN Zhi-qiang, SONG Yue, CHAI Ting-ting, et al. Recent development in multi-residue determination of drugs in animal derived food by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry research[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2017, 43(4): 286-294.

[8] 中华人民共和国农村农业部, 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品中兽药最大残留限量: GB 31650—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019: 11-30.

Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China, National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. Maximum residue limits of veterinary drugs in food: GB 31650—2019[S]. Beijing: China Quality and Standards Press, 2019: 11-30.

[9] 陈莹娴, 马月皎, 李建成. 抗球虫药物残留的免疫检测技术[J]. *畜牧兽医学报*, 2021, 52(4): 899-908.

CHEN Ying-xian, MA Yue-jiao, LI Jian-cheng. A review of immunoassay for the determination of coccidiostats residues[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2021, 52(4): 899-908.

[10] 王雅娟, 张杨杨, 郭亚文, 等. 动物源性食品中抗球虫药物残留的色谱和质谱检测技术研究进展[J]. *中国兽医学报*, 2018, 38(12): 2 424-2 431.

WANG Ya-juan, ZHANG Yang-yang, GUO Ya-wen, et al. An overview on chromatographic and mass spectrometry analytical methods for the multiresidue detection of anticoccidiosis drug in tissues of animal origin [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2018, 38(12): 2 424-2 431.

[11] 王敏, 王丽萍, 韩天龙, 等. 鸡常用抗球虫药的应用[J]. *中国兽医杂志*, 2014, 50(6): 92-95.

WANG Min, WANG Li-ping, HAN Tian-long, et al. Application of common anticoccidial drugs in chickens[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2014, 50(6): 92-95.

[12] FRY M, WILLIAMS R B. Effects of decoquinate and clopidol on

- electron transport in mitochondria of *Eimeria tenella* (Apicomplexa: coccidia)[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1984, 33(2): 229-240.
- [13] 赵晓, 张丽芳, 郭春娜, 等. 新型三嗪类抗球虫药沙咪珠利在鸡体外各组织中的代谢比较[J]. *中国动物传染病学报*, 2017, 25(4): 40-44.
- ZHAO Xiao, ZHANG Li-fang, GUO Chun-na, et al. Metabolism of the novel triazine anticoccidial drug ethanamizuril in chicken tissues[J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2017, 25(4): 40-44.
- [14] CLARKE L, FODEY T L, CROOKS S R H, et al. A review of coccidiostats and the analysis of their residues in meat and other food[J]. *Meat Science*, 2014, 97(3): 358-374.
- [15] NOACK S, CHAPMAN H D, SELZER P M. Anticoccidial drugs of the livestock industry[J]. *Parasitology Research*, 2019, 118(7): 2 009-2 026.
- [16] CACHO E D, GALLEG0 M, PAGES M, et al. Effect of the quinolone coccidiostat decoquinate on the rearrangement of chromosomes of *Eimeria tenella*[J]. *International Journal for Parasitology*, 2006, 36(14): 1 515-1 520.
- [17] 陈玲, 朱焕星, 李桂华, 等. 抗球虫药常山酮的研究与应用[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2012(19): 34-36.
- CHEN Ling, ZHU Huan-xing, LI Gui-hua, et al. Research and application of anticoccidial drug halofuginone [J]. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary*, 2012(19): 34-36.
- [18] NEWBERNE P M, BUCK W B. Studies on drug toxicity in chicks2: The influence of various levels of sulfaquinoxaline on growth and development of chicks[J]. *Narnia*, 1956, 35(6): 1 259-1 264.
- [19] 姜中其, 包鸿俊, 史晓丽. 氯羟吡啶的特殊毒性: 致畸作用[J]. *中国兽医学报*, 1999(4): 390-392.
- JIANG Zhong-qi, BAO Hong-jun, SHI Xiao-li. Teratogenic effect of clopitol in rats[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 1999(4): 390-392.
- [20] 包鸿俊, 姜中其, 龚国华. 氯羟吡啶的特殊毒性: 致突变作用的研究[J]. *南京农业大学学报*, 1992(2): 89-95.
- BAO Hong-jun, JIANG Zhong-qi, GONG Guo-hua. Study on the mutagenicity of clopidol[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1992(2): 89-95.
- [21] DORNE J L C M, FERNÁNDEZ-CRUZ M L, BERTELSEN U, et al. Fink-Gremmels. Risk assessment of coccidiostats during feed cross-contamination: animal and human health aspects[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013, 270(3): 196-208.
- [22] 梁飞燕, 林小莹, 辛丽娜, 等. RSPE-UPLC-MS/MS 法测定禽蛋中氯羟吡啶残留[J]. *广西大学学报(自然科学版)*, 2020, 45(6): 1 492-1 497.
- LIANG Fei-yan, LIN Xiao-ying, XIN Li-na, et al. Determination of the clopidol residues in poultry eggs by RSPE-UPLC-MS/MS[J]. *Journal of Guangxi University(Natural Science Edition)*, 2020, 45(6): 1 492-1 497.
- [23] 栾庆祥, 黄鑫, 孙鹏, 等. 超高效液相色谱法测定鸡肉中氯羟吡啶和磺胺类药物残留的方法研究[J]. *中国家禽*, 2018, 40(11): 33-36.
- LUAN Qing-xiang, HUANG Xin, SUN Juan, et al. Determination method of clopidol and sulfonamides residues in chicken muscle by ultra performance liquid chromatography[J]. *China Poultry*, 2018, 40(11): 33-36.
- [24] ZHAO Xia, WANG Bo, XIE Kai-zhou, et al. Development and comparison of HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS methods for determining eight coccidiostats in beef [J]. *Journal of Chromatography B*, 2018, 1 087/1 088: 98-107.
- [25] BROEKAERT N, VAN PETEGHEM C, DAESELEIRE E, et al. Development and validation of an UPLC-MS/MS method for the determination of ionophoric and synthetic coccidiostats in vegetables[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011, 401(10): 3 335-3 344.
- [26] 张光胤, 鲁迨, 邓放明, 等. 基于纳米材料改良酶联免疫吸附法的研究进展[J]. *食品与机械*, 2020, 36(3): 225-231.
- ZHANG Guang-yin, LU Dai, DENG Fang-ming, et al. Research progress of improved enzyme-linked immunosorbent assay based on nanomaterials[J]. *Food & Machinery*, 2020, 36(3): 225-231.
- [27] 张梦, 刘迎春, 蒋蔚, 等. 磺胺氯吡嗪钠单克隆抗体的制备及鉴定[J]. *中国动物传染病学报*, 2015, 23(3): 36-41.
- ZHANG Meng, LIU Ying-chun, JIANG Wei, et al. Generation of a monoclonal antibody against sulfachloropyrazine sodium [J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2015, 23(3): 36-41.
- [28] 龚云飞, 王唯芬, 张明洲, 等. 禽类食品中磺胺二甲嘧啶间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(6): 55-59.
- GONG Yun-fei, WANG Wei-fen, ZHANG Ming-zhou, et al. Development of detection indirect competition ELISA for sulfamethazine residue in poultry[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2011, 38(6): 55-59.
- [29] LI Cheng-long, LUO Xiang-shu, LI Yong-han, et al. A class-selective immunoassay for sulfonamides residue detection in milk using a superior polyclonal antibody with broad specificity and highly uniform affinity[J]. *Molecules*, 2019, 24(3): 443.
- [30] ZHANG Yan-fang, LI Shu-fang, PENG Tao, et al. One-step icELISA developed with novel antibody for rapid and specific detection of diclazuril residue in animal-origin foods[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2020, 37(10): 1 633-1 639.
- [31] BAI Yu-chen, WANG Ya-hui, LI Qiang, et al. Binding affinity-guided design of a highly sensitive noncompetitive immunoassay for small molecule detection [J]. *Food Chemistry*, 2021, 351: 129270.
- [32] LIU Jie, SONG Shan-shan, WU Ai-hong, et al. Development of a gold nanoparticle-based lateral-flow strip for the detection of dinilotimide in chicken tissue[J]. *Analytical Methods*, 2020, 12(25): 3 210-3 217.

- [33] XU Xiao-xin, LIU Li-qiang, WU Xiao-ling, et al. Ultrasensitive immunochromatographic strips for fast screening of the nicarbazin marker in chicken breast and liver samples based on monoclonal antibodies[J]. *Analytical Methods*, 2020, 12(16): 2 143-2 151.
- [34] LIN Lu, SONG Shan-shan, WU Xiao-ling, et al. Determination of robenidine in shrimp and chicken samples using the indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay and immunochromatographic strip assay[J]. *The Analyst*, 2020, 146(2): 721-729.
- [35] SONG S, SURYOPRABOWO S, LIU L, et al. Development of monoclonal antibody-based colloidal gold immunochromatographic assay for analysis of halofuginone in milk[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2019, 30(1): 112-122.
- [36] WANG Zhong-xing, WU Xiao-ling, LIU Li-qiang, et al. Rapid and sensitive detection of diclazuril in chicken samples using a gold nanoparticle-based lateral-flow strip [J]. *Food Chemistry*, 2020, 312: 126116.
- [37] CHAO Meng-jia, LIU Li-qiang, SONG Shan-shan, et al. Development of a gold nanoparticle-based strip assay for detection of clopidol in the chicken[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 2020, 31(1): 489-500.
- [38] 陶进江, 桂根, 刘木华, 等. 基于表面增强拉曼光谱的鸭肉中己烯雌酚残留检测[J]. *食品与机械*, 2019, 35(2): 82-86, 195.
- TAO Jin-jiang, GUI Gen, LIU Mu-hua, et al. Detection of diethylstilbestrol residues in duck meat using surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(2): 82-86, 195.
- [39] NENG Jing, ZHANG Qi, SUN Pei-long. Application of surface-enhanced Raman spectroscopy in fast detection of toxic and harmful substances in food [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2020, 167: 112480.
- [40] LI Hong-mei, YUE Xia-xia, GAO Ning-ning, et al. Microwave method synthesis of magnetic ionic liquid/gold nanoparticles as ultrasensitive SERS substrates for trace clopidol detection[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2020, 412(13): 3 063-3 071.
- [41] ATHUKORALE S, LENG X, XU J X, et al. Surface plasmon resonance, formation mechanism, and surface enhanced Raman spectroscopy of Ag^+ -Stained gold nanoparticles[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2019, 7: 27.
- [42] SHAO Di, BI Shu-yun, ZHAO Rui, et al. Selective determination of dinitolmide and toltrazuril by surface-enhanced raman spectroscopy (SERS) using AgNPs as substrate[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 307: 1127644.
- [43] BI Shu-yun, ZHAO Rui, YUAN Yue, et al. Highly sensitive SERS determination of amprolium HCl based on Au@Ag core-shell alloy nanoparticles[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 167: 106343.
- [44] KARTSOVA L A, MAKEEVA D V, KRAVCHENKO A V, et al. Capillary electrophoresis as a powerful tool for the analyses of bacterial samples[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 134: 116110.
- [45] VOETEN ROBERT L C, VENTOURI IRO K, HASELBERG R, et al. Capillary electrophoresis: Trends and recent advances[J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(3): 1 464-1 481.
- [46] MA Su-ya, YANG Shi-xuan, SONG Zhi-hua, et al. A twin enrichment method based on dispersive liquid-liquid microextraction and field-amplified sample injection for the simultaneous determination of sulfonamides[J]. *The Analyst*, 2020, 145(5): 1 825-1 832.
- [47] 张健, 李利军. 高效毛细管电泳胶束溶剂堆积法检测鸡蛋中磺胺甲噁二唑、磺胺二甲氧嘧啶和磺胺对甲氧嘧啶的药物残留[J]. *分析试验室*, 2020, 39(9): 1 024-1 029.
- ZHANG Jian, LI Li-jun. Determination of sulfamethizole, sulfadimethoxine and sulfameter residues in egg by high performance capillary electrophoresis using micelle to solvent stacking[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2020, 39(9): 1 024-1 029.
- [48] KÖKSOY B, AKYÜZ D, ŞENOCAK A, et al. Sensitive, simple and fast voltammetric determination of pesticides in juice samples by novel BODIPY-phthalocyanine-SWCNT hybrid platform [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2021, 147: 111886.
- [49] HUANG Xiang-jin, WEI Shou-lin, YAO Su, et al. Development of molecularly imprinted electrochemical sensor with reduced graphene oxide and titanium dioxide enhanced performance for the detection of toltrazuril in chicken muscle and egg[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2019, 164: 607-614.
- [50] DEMIR E, GÖKTUG Ö, INAM R, et al. Development and characterization of iron (III) phthalocyanine modified carbon nanotube paste electrodes and application for determination of fluometuron herbicide as an electrochemical sensor[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2021, 895: 115389.
- [51] SOLEYMANPOUR A, REZVANI S A. Development of a novel carbon paste sensor for determination of micromolar amounts of sulfaquinoxaline in pharmaceutical and biological samples[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2016, 58: 504-509.
- [52] ABDEL-RAOOF A M, ELSONBATY A, ABDULWAHAB S, et al. Potentiometric determination of amprolium drug at a carbon nanotubes/nickel oxide nanoparticles paste electrode[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 165: 106185.
- [53] YANG Shuo, YAO Jia-cheng, QUAN Ying-nan, et al. Monitoring the charge-transfer process in a Nd-doped semiconductor based on photoluminescence and SERS technology[J]. *Light: Science & Applications*, 2020, 9(1): 8 199-8 208.
- [54] LI Qian-qian, GONG Shan-shan, ZHANG Hui, et al. Tailored necklace-like Ag@ZIF-8 core/shell heterostructure nanowires for high-performance plasmonic SERS detection[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 371: 26-33.
- [55] WANG Pan, WU Long, LU Zhi-cheng, et al. Gecko-Inspired nanotactile surface-enhanced Raman spectroscopy substrate for sampling and reliable detection of pesticide residues in fruits and vegetables[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(4): 2 424-2 431.