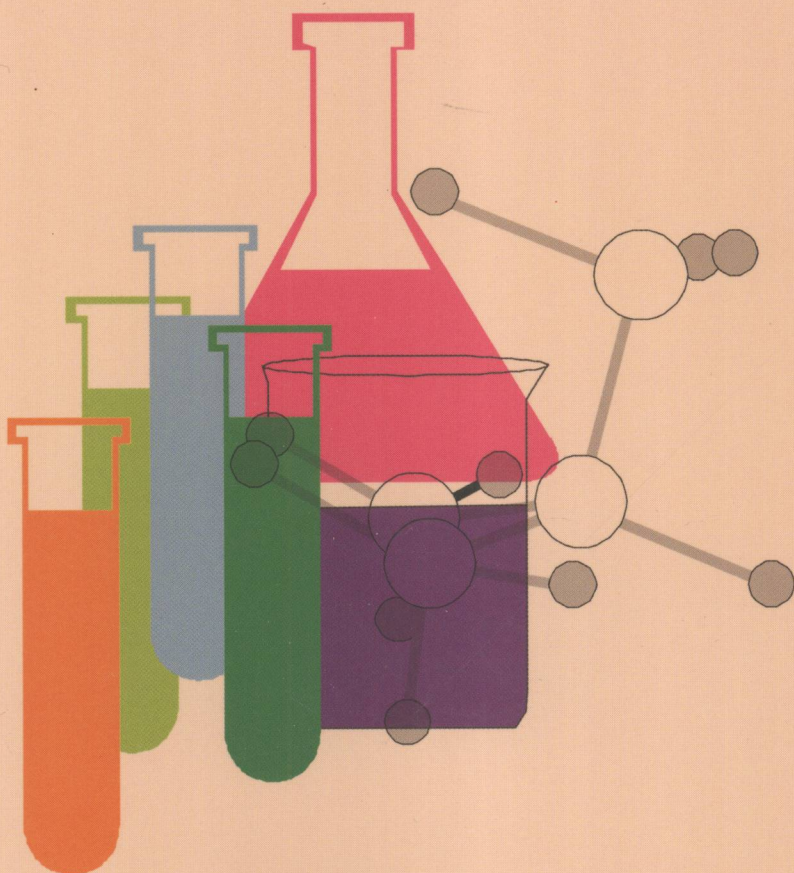


国家“十一五”重点规划图书

中国农业标准汇编

兽药残留卷 (下)

中国标准出版社第一编辑室 编



 中国标准出版社

国家“十一五”重点规划图书

中国农业标准汇编

兽药残留卷(下)

中国标准出版社第一编辑室 编

中国标准出版社

北京

图书在版编目 (CIP) 数据

中国农业标准汇编. 兽药残留卷. 下/中国标准出版社第一编辑室编. —北京: 中国标准出版社, 2010

国家“十一五”重点规划图书

ISBN 978-7-5066-5611-5

I. 中… II. 中… III. ①农业-标准-汇编-中国②兽医学-药物-残留量测定-标准-汇编-中国 IV. S-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 219483 号

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码: 100045

网址 www.spc.net.cn

电话: 68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 44.25 字数 1 310 千字

2010 年 1 月第一版 2010 年 1 月第一次印刷

*

定价 225.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 68533533

出版说明

《中国农业标准汇编》是我国农业标准化方面的一套大型系列丛书,是国家“十一五”重点规划图书。它在一定程度上反映了我国农业标准化事业的发展进程,尤其是“十一五”期间的发展状况和成就,是各级农业标准化管理机构,科研、生产、检验、监督、教学等单位必不可少的工具书。

农业作为我国第一产业,是关系国计民生的基础产业。农业标准是农业科研、技术和实践经验的结晶,是组织现代化农业生产的重要科学技术依据,对发展农村社会主义市场经济,促进科技进步,增强农业综合生产能力,改善农产品质量,扩大农产品对外出口,增加农民收入,提高社会、经济及生态效益具有重要意义。《中国农业标准汇编》系列丛书旨在引导和规范农业标准化生产、加工、经营和管理活动,为农业领域的相关部门提供比较全面的农业标准信息。

本系列丛书的出版,将对推行农业标准化,提高农业科技创新和转化生产力,健全农业技术推广,确保农产品的质量安全,发展现代农业具有重要意义。

本系列汇编以国家标准为主,同时收录部分相关的行业标准。为了给读者提供更多信息,书后附有未收录的相关行业标准目录,以便读者查询。

本系列汇编共设 19 卷 23 个分册,具体如下:

- 质量管理卷;
- 土壤和肥料卷;
- 农药管理和使用卷;
- 农药残留卷(上、下);
- 兽药残留卷(上、下);
- 种子苗木卷;
- 粮油作物卷;

- 果蔬卷(上、下);
- 纤维作物卷;
- 香辛料和药用植物卷;
- 茶叶和咖啡卷;
- 食用菌卷;
- 动物防疫卷(上、下);
- 畜禽卷;
- 饲料产品卷;
- 饲料添加剂卷;
- 饲料检测方法卷;
- 水产养殖卷;
- 水产加工品卷。

本卷是《中国农业标准汇编》中的一卷,内容包括:牛奶和奶粉检测方法标准、蜂产品检测方法标准,收集截至2009年10月底由国务院标准化行政主管部门和相关行业标准主管部门正式批准发布的国家标准76项。

中国标准出版社第一编辑室

2009年11月

目 录

牛奶和奶粉检测方法

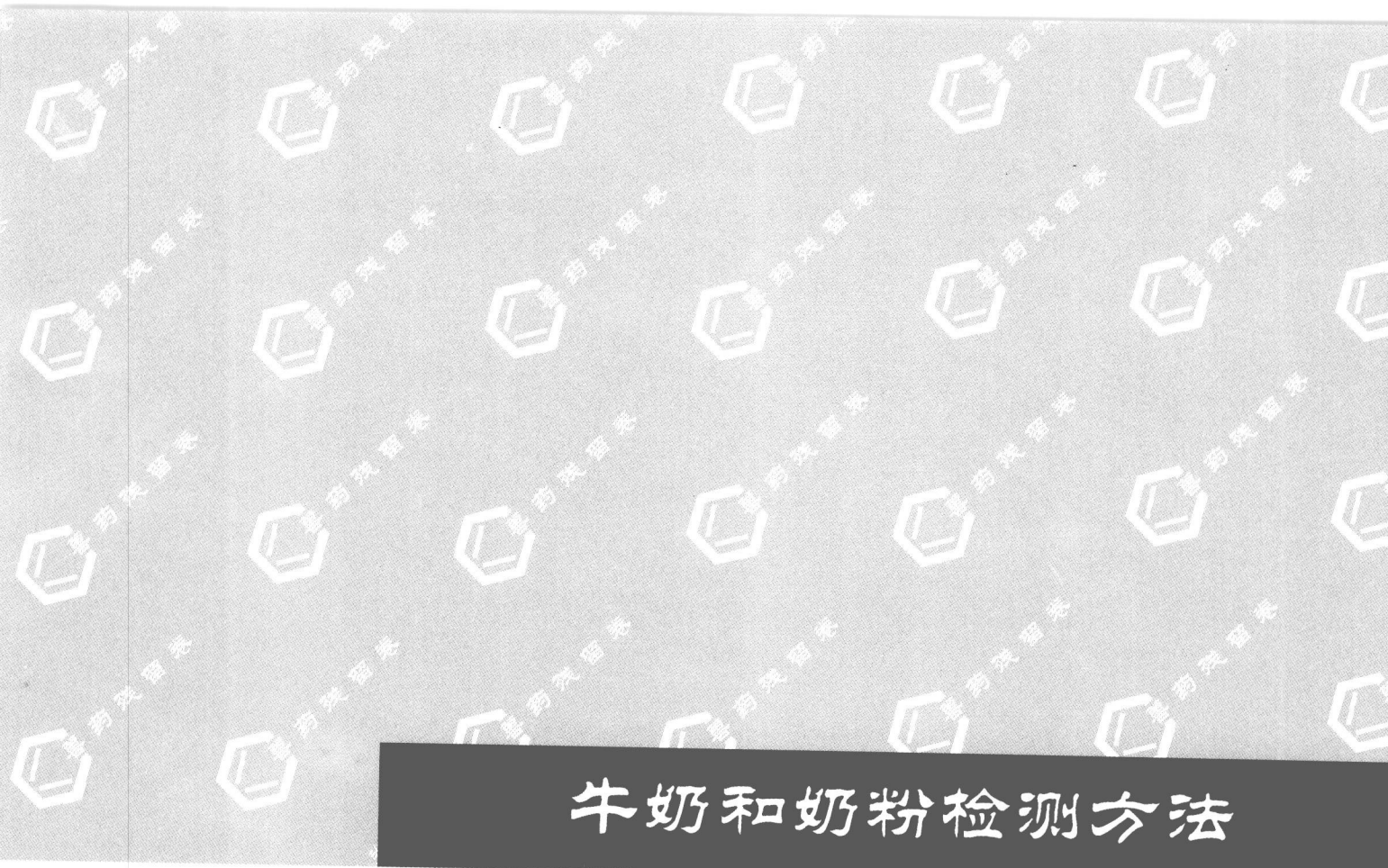
GB/T 4789.27—2008	食品卫生微生物学检验 鲜乳中抗生素残留检验	3
GB/T 22965—2008	牛奶和奶粉中 12 种 β -兴奋剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	13
GB/T 22966—2008	牛奶和奶粉中 16 种磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	25
GB/T 22967—2008	牛奶和奶粉中 β -雌二醇残留量的测定 气相色谱-负化学电离质谱法	37
GB/T 22968—2008	牛奶和奶粉中伊维菌素、阿维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	47
GB/T 22969—2008	奶粉和牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	57
GB/T 22971—2008	牛奶和奶粉中安乃近代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	67
GB/T 22972—2008	牛奶和奶粉中噻苯达唑、阿苯达唑、芬苯达唑、奥芬达唑、苯硫氨酯残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	77
GB/T 22973—2008	牛奶和奶粉中醋酸美仑孕酮、醋酸氯地孕酮和醋酸甲地孕酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	87
GB/T 22974—2008	牛奶和奶粉中氮氨菲啶残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	97
GB/T 22975—2008	牛奶和奶粉中阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	105
GB/T 22976—2008	牛奶和奶粉中 α -群勃龙、 β -群勃龙、19-乙烯去甲睾酮和 epi-19-乙烯去甲睾酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	115
GB/T 22977—2008	牛奶和奶粉中保泰松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	125
GB/T 22978—2008	牛奶和奶粉中地塞米松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	133
GB/T 22979—2008	牛奶和奶粉中啉酰菌胺残留量的测定 气相色谱-质谱法	141
GB/T 22980—2008	牛奶和奶粉中氟胺烟酸残留量的测定 液相色谱-紫外检测法	149
GB/T 22981—2008	牛奶和奶粉中杆菌肽残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	157
GB/T 22982—2008	牛奶和奶粉中甲硝唑、洛硝哒唑、二甲硝唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	165
GB/T 22983—2008	牛奶和奶粉中六种聚醚类抗生素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	175
GB/T 22984—2008	牛奶和奶粉中卡巴氧和喹乙醇代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	187
GB/T 22985—2008	牛奶和奶粉中恩诺沙星、达氟沙星、环丙沙星、沙拉沙星、奥比沙星、二氟沙星和麻保沙星残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	197
GB/T 22986—2008	牛奶和奶粉中氢化泼尼松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	207
GB/T 22987—2008	牛奶和奶粉中呋喃它酮、呋喃西林、呋喃妥因和呋喃唑酮代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	215
GB/T 22988—2008	牛奶和奶粉中螺旋霉素、吡利霉素、竹桃霉素、替米卡星、红霉素、泰乐菌素	

	残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	227
GB/T 22989—2008	牛奶和奶粉中头孢匹林、头孢氨苄、头孢洛宁、头孢唑肟残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	237
GB/T 22990—2008	牛奶和奶粉中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定 液相色谱-紫外检测法	247
GB/T 22991—2008	牛奶和奶粉中维吉尼霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	255
GB/T 22992—2008	牛奶和奶粉中玉米赤霉醇、玉米赤霉酮、己烯雌酚、己烷雌酚、双烯雌酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	265
GB/T 22993—2008	牛奶和奶粉中八种镇定剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	275
GB/T 22994—2008	牛奶和奶粉中左旋咪唑残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	287

蜂产品检测方法

GB/T 5009.95—2003	蜂蜜中四环素族抗生素残留量的测定	297
GB/T 18932.3—2002	蜂蜜中链霉素残留量的测定方法 液相色谱法	303
GB/T 18932.4—2002	蜂蜜中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定方法 液相色谱法	311
GB/T 18932.5—2002	蜂蜜中磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺氯嘧啶、磺胺甲基异噻唑、磺胺二甲氧嘧啶残留量的测定方法 液相色谱法	319
GB/T 18932.7—2002	蜂蜜中苯酚残留量的测定方法 液相色谱法	327
GB/T 18932.8—2002	蜂蜜中红霉素残留量的测定方法 杯碟法	335
GB/T 18932.9—2002	蜂蜜中青霉素残留量的测定方法 杯碟法	345
GB/T 18932.10—2002	蜂蜜中溴螨酯、4,4'-二溴二苯甲酮残留量的测定方法 气相色谱-质谱法	353
GB/T 18932.13—2003	蜂蜜中苯酚残留量的测定方法 高效液相色谱-荧光检测法	363
GB/T 18932.14—2003	蜂蜜中苯甲醛残留量的测定方法 液相色谱-荧光检测法	369
GB/T 18932.17—2003	蜂蜜中16种磺胺残留量的测定方法 液相色谱-串联质谱法	377
GB/T 18932.18—2003	蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法 液相色谱-紫外检测法	387
GB/T 18932.19—2003	蜂蜜中氯霉素残留量的测定方法 液相色谱-串联质谱法	395
GB/T 18932.20—2003	蜂蜜中氯霉素残留量的测定方法 气相色谱-质谱法	403
GB/T 18932.21—2003	蜂蜜中氯霉素残留量的测定方法 酶联免疫法	411
GB/T 18932.22—2003	蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量的测定方法 液相色谱示差折光检测法	419
GB/T 18932.23—2003	蜂蜜中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定方法 液相色谱-串联质谱法	425
GB/T 18932.24—2005	蜂蜜中呋喃它酮、呋喃西林、呋喃妥因和呋喃唑酮代谢物残留量的测定方法 液相色谱-串联质谱法	433
GB/T 18932.25—2005	蜂蜜中青霉素G、青霉素V、乙氧萘青霉素、苯唑青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素残留量的测定方法 液相色谱-串联质谱法	443
GB/T 18932.26—2005	蜂蜜中甲硝哒唑、洛硝哒唑、二甲硝咪唑残留量的测定方法 液相色谱法	453
GB/T 18932.27—2005	蜂蜜中泰乐菌素残留量测定方法 酶联免疫法	461

GB/T 18932.28—2005	蜂蜜中四环素族抗生素残留量测定方法 酶联免疫法	467
GB/T 20744—2006	蜂蜜中甲硝唑、洛硝哒唑、二甲硝咪唑残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	475
GB/T 20757—2006	蜂蜜中十四种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	483
GB/T 21164—2007	蜂王浆中链霉素、双氢链霉素残留量测定 液相色谱法	493
GB/T 21167—2007	蜂王浆中硝基咪唑类代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	499
GB/T 21168—2007	蜂蜜中泰乐菌素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	507
GB/T 21169—2007	蜂蜜中双甲脒及其代谢物残留量测定 液相色谱法	515
GB/T 22940—2008	蜂蜜中氨苯砒残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	521
GB/T 22941—2008	蜂蜜中林可霉素、红霉素、螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素、交沙霉素、吉他霉素、竹桃霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	529
GB/T 22942—2008	蜂蜜中头孢唑啉、头孢匹林、头孢氨苄、头孢洛宁、头孢唑肟残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	541
GB/T 22943—2008	蜂蜜中三甲氧苄氨嘧啶残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	549
GB/T 22944—2008	蜂蜜中克伦特罗残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	557
GB/T 22945—2008	蜂王浆中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	565
GB/T 22946—2008	蜂王浆和蜂王浆冻干粉中林可霉素、红霉素、替米考星、泰乐菌素、螺旋霉素、克林霉素、吉他霉素、交沙霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法 ...	575
GB/T 22947—2008	蜂王浆中十八种磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	587
GB/T 22948—2008	蜂王浆中三甲氧苄氨嘧啶残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	599
GB/T 22949—2008	蜂王浆及冻干粉中硝基咪唑类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	607
GB/T 22995—2008	蜂蜜中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	619
GB/T 23405—2009	蜂产品中环己烷氨基磺酸钠的测定 液相色谱-质谱/质谱法	629
GB/T 23407—2009	蜂王浆中硝基咪唑类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法	637
GB/T 23408—2009	蜂蜜中大环内酯类药物残留量测定 液相色谱-质谱/质谱法	647
GB/T 23409—2009	蜂王浆中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法	657
GB/T 23410—2009	蜂蜜中硝基咪唑类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法	665
GB/T 23411—2009	蜂王浆中 17 种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法	675
GB/T 23412—2009	蜂蜜中 19 种喹诺酮类药物残留量的测定方法 液相色谱-质谱/质谱法	687
附录	相关行业标准目录	698



牛奶和奶粉检测方法



中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.27—2008
代替 GB/T 4789.27—2003



2008-11-21 发布

2009-03-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准修改采用了国际分析家学会(AOAC)AOAC 982.18《液体牛奶制品中的 β -乳胺抗生素定性的颜色反应试验》(AOAC Official Method 982.18: Beta-lactam antibiotics in fluid milk products—Qualitative color reaction tests)作为第二法。

本标准与 AOAC 982.18 相比主要区别如下:

- 扩大适用范围为鲜乳中能抑制嗜热脂肪芽胞杆菌卡利德变种(*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*)的抗生素的检验,也可用于复原乳、消毒灭菌乳、乳粉中抗生素的检测;
- 修改了试剂盒加营养片方法,直接将含有试验菌株芽胞的培养基制备在小试管内;
- 将“注:偶尔有特殊批次的试剂盒可能需要较长的温育时间才能完全显色。如果……每隔 10 min 检查一次颜色显示情况,并记录每个批号产品所需要的最适当的温育时间。(Note: Occasionally kits of a particular Lot No. may require a longer incubation time for color to fully develop. If ……Check color development at 10 min intervals and record optimum incubation time required for each Lot No.)”程序修改为“如果颜色没有变化,须再于水浴中培养 30 min 作最终观察”;
- 删除青霉素酶确证程序。

本标准代替 GB/T 4789.27—2003《食品卫生微生物学检验 鲜乳中抗生素残留量检验》。

本标准与 GB/T 4789.27—2003 相比主要修改如下:

- 标准名称修改为“食品卫生微生物学检验 鲜乳中抗生素残留量检验”;
- 增加了第二法,将原标准的嗜热乳酸链球菌方法确定为第一法;
- 增加了附录 A“培养基和试剂”。

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中华人民共和国卫生部负责解释。

本标准负责起草单位:福建省疾病预防控制中心。

本标准参加起草单位:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所、中国检验检疫科学研究院、河南省疾病预防控制中心、湖北省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:马群飞、郭云昌、李瑾、田卫、廖兴广、马弋、田静。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB 4789.27—1984、GB/T 4789.27—1994、GB/T 4789.27—2003。

食品卫生微生物学检验 鲜乳中抗生素残留检验

1 范围

本标准规定了鲜乳中抗生素残留的检验方法。

本标准的第一法适用于鲜乳中能抑制嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)的抗生素的检验;第二法适用于鲜乳中能抑制嗜热脂肪芽胞杆菌卡利德变种(*Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*)的抗生素的检验,也可用于复原乳、消毒灭菌乳、乳粉中抗生素的检测。

第一法 嗜热链球菌抑制法

2 原理

样品经过 80 ℃ 杀菌后,添加嗜热链球菌菌液。培养一段时间后,嗜热链球菌开始增殖。这时候加入代谢底物 2,3,5-氯化三苯四氮唑(TTC),若该样品中不含有抗生素或抗生素的浓度低于检测限,嗜热链球菌将继续增殖,还原 TTC 成为红色物质。相反,如果样品中含有高于检测限的抑菌剂,则嗜热链球菌受到抑制,因此指示剂 TTC 不还原,保持原色。

3 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

- 3.1 冰箱:2 ℃~5 ℃、-20 ℃~-5 ℃。
- 3.2 恒温培养箱:36 ℃±1 ℃。
- 3.3 带盖恒温水浴锅:36 ℃±1 ℃、80 ℃±2 ℃。
- 3.4 天平:感量 0.1 g、0.001 g。
- 3.5 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度),10.0 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。
- 3.6 无菌试管:18 mm×180 mm。
- 3.7 温度计:0 ℃~100 ℃。
- 3.8 旋涡混匀器。

4 菌种、培养基和试剂

- 4.1 菌种:嗜热链球菌。
- 4.2 灭菌脱脂乳:见第 A.1 章。
- 4.3 4% 2,3,5-氯化三苯四氮唑(TTC)水溶液:见第 A.2 章。
- 4.4 青霉素 G 参照溶液:见第 A.3 章。

5 检验程序

鲜乳中抗生素残留检验程序见图 1。

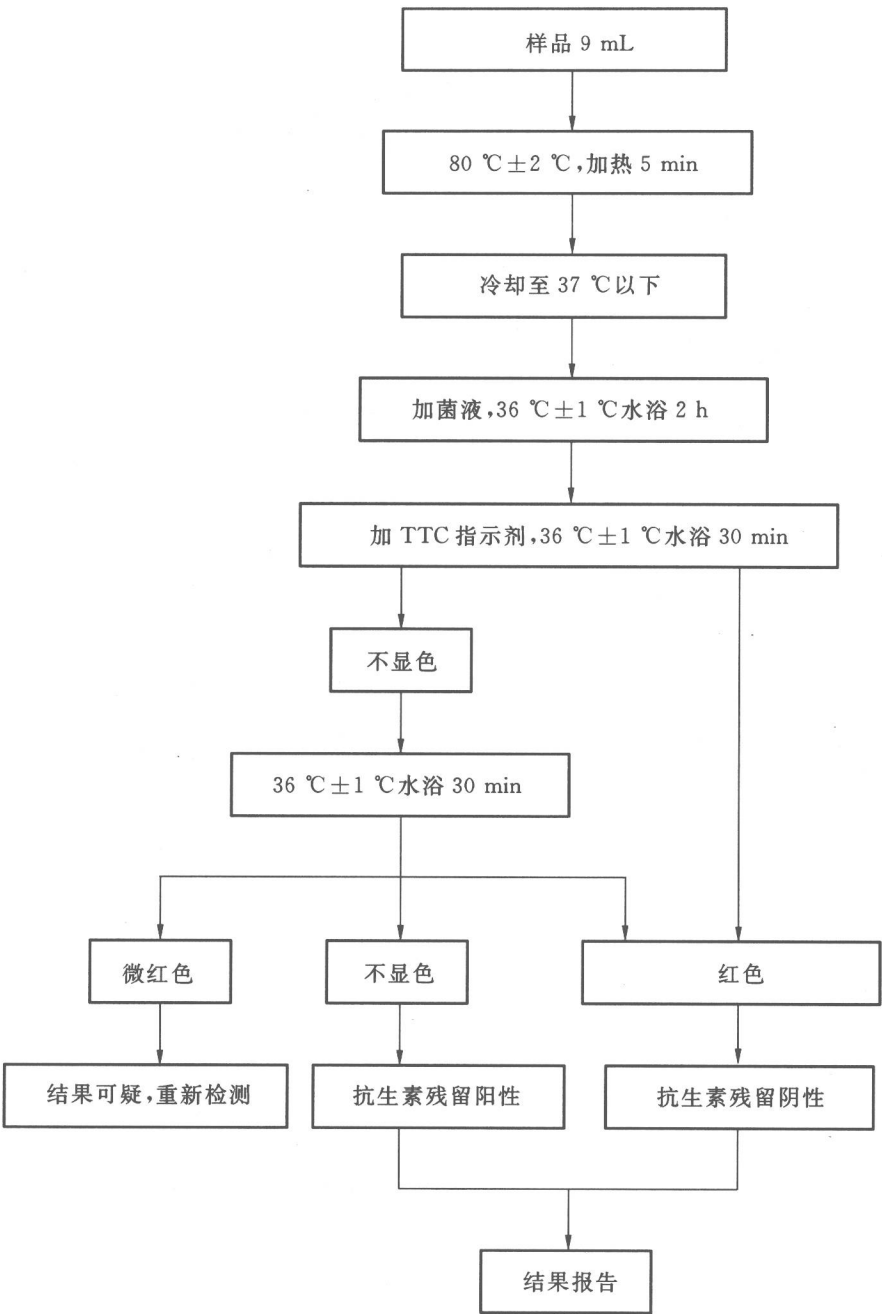


图 1 鲜乳中抗生素残留检验流程图

6 操作步骤

6.1 活化菌种

取一接种环嗜热链球菌菌种,接种在 9 mL 灭菌脱脂乳中,置 36 °C ± 1 °C 恒温培养箱中培养 12 h ~ 15 h 后,置 2 °C ~ 5 °C 冰箱保存备用。每 15 d 转种一次。

6.2 测试菌液

将经过活化的嗜热链球菌菌种接种灭菌脱脂乳,36 °C ± 1 °C 培养 15 h ± 1 h,加入相同体积的灭菌脱脂乳混匀稀释成为测试菌液。

6.3 培养

取样品 9 mL,置 18 mm × 180 mm 试管内,每份样品另外做一份平行样。同时再做阴性和阳性对

照各一份,阳性对照管用 9 mL 青霉素 G 参照溶液,阴性对照管用 9 mL 灭菌脱脂乳。所有试管置 $80\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 5 min,冷却至 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下,加入测试菌液 1 mL,轻轻旋转试管混匀。 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴培养 2 h,加 4% TTC 水溶液 0.3 mL,在旋涡混匀器上混合 15 s 或振动试管混匀。 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴避光培养 30 min,观察颜色变化。如果颜色没有变化,于水浴中继续避光培养 30 min 作最终观察。观察时要迅速,避免光照过久出现干扰。

6.4 判断方法

在白色背景前观察,试管中样品呈乳的原色时,指示乳中有抗生素存在,为阳性结果。试管中样品呈红色为阴性结果。如最终观察现象仍为可疑,建议重新检测。

7 报告

最终观察时,样品变为红色,报告为抗生素残留阴性。样品依然呈乳的原色,报告为抗生素残留阳性。

本方法检测几种常见抗生素的最低检出限为:青霉素 0.004 IU,链霉素 0.5 IU,庆大霉素 0.4 IU,卡那霉素 5 IU。

第二法 嗜热脂肪芽胞杆菌抑制法

8 原理

培养基预先混合嗜热脂肪芽胞杆菌芽胞,并含有 pH 指示剂(溴甲酚紫)。加入样品并孵育后,若该样品中不含有抗生素或抗生素的浓度低于检测限,细菌芽胞将在培养基中生长并利用糖产酸,pH 指示剂的紫色变为黄色。相反,如果样品中含有高于检测限的抗生素,则细菌芽胞不会生长,pH 指示剂的颜色保持不变,仍为紫色。

9 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

- 9.1 冰箱: $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}\sim -5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 9.2 恒温培养箱: $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $56\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 9.3 恒温水浴锅: $65\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $80\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 9.4 无菌吸管或 100 μL 、200 μL 微量移液器及吸头。
- 9.5 无菌试管:18 mm $\times$ 180 mm、15 mm $\times$ 100 mm。
- 9.6 温度计: $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 9.7 离心机:转速 5 000 r/min。

10 菌种、培养基和试剂

- 10.1 菌种:嗜热脂肪芽胞杆菌卡利德变种。
- 10.2 无菌磷酸盐缓冲液:见第 A.4 章。
- 10.3 灭菌脱脂乳:见第 A.1 章。
- 10.4 溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨培养基:见第 A.5 章。
- 10.5 青霉素 G 参照溶液:见第 A.3 章。

11 检验程序

样品中抗生素残留检验程序见图 2。

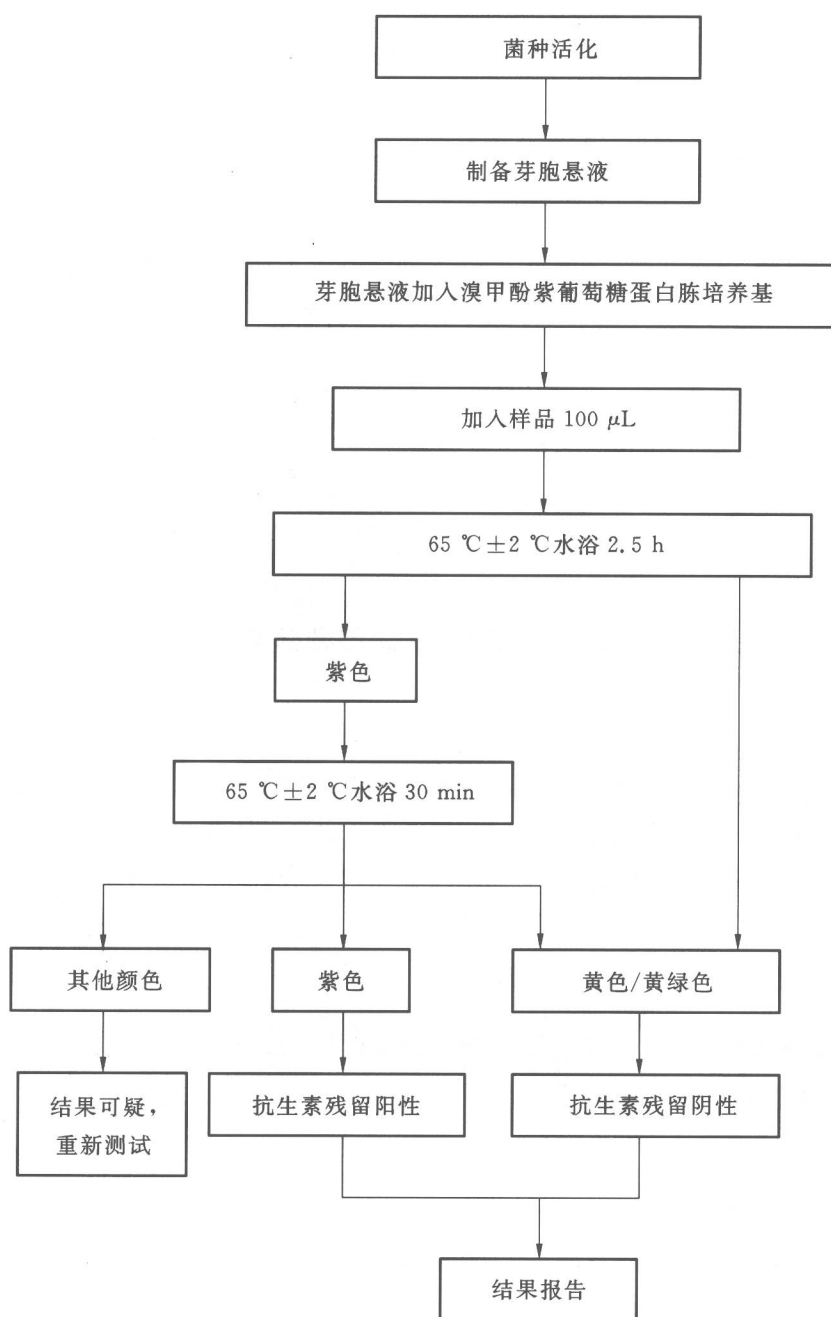


图2 样品检验流程图

12 操作步骤

12.1 芽胞悬液

将嗜热脂肪芽胞杆菌菌种划线移种于营养琼脂平板表面, $56\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后挑取乳白色半透明圆形特征菌落, 在营养琼脂平板上再次划线培养, $56\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后转入 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 3 d~4 d, 镜检芽胞产率达到 95% 以上时进行芽胞悬液的制备。每块平板用 1 mL~3 mL 无菌磷酸盐缓冲液洗脱培养基表面的菌苔(如果使用克氏瓶, 每瓶使用无菌磷酸盐缓冲液 10 mL~20 mL)。将洗脱液 5 000 r/min 离心 15 min。取沉淀物加 0.03 mol/L 的无菌磷酸盐缓冲液(pH7.2), 制成 10^9 CFU/mL 芽胞悬液, 置 $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中 10 min 后, 密封防止水分蒸发, 置 $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

12.2 测试培养基

在溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨培养基中加入适量芽胞悬液,混合均匀,使最终的芽胞浓度为 8×10^5 CFU/mL $\sim 2 \times 10^6$ CFU/mL。混合芽胞悬液的溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨培养基分装小试管,每管 200 μ L,密封防止水分蒸发。配制好的测试培养基可以在 2 $^{\circ}$ C $\sim$ 5 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

12.3 培养操作

吸取样品 100 μ L 加入含有芽胞的测试培养基中,轻轻旋转试管混匀。每份检样做两份,另外再做阴性和阳性对照各一份,阳性对照管为 100 μ L 青霉素 G 参照溶液,阴性对照管为 100 μ L 无抗生素的脱脂乳。于 65 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C 水浴培养 2.5 h,观察培养基颜色的变化。如果颜色没有变化,须再于水浴中培养 30 min 作最终观察。

12.4 判断方法

在白色背景前从侧面和底部观察小试管内培养基颜色。保持培养基原有的紫色为阳性结果,培养基变成黄色或黄绿色为阴性结果,颜色处于二者之间,为可疑结果。对于可疑结果应继续培养 30 min 再进行最终观察。如果培养基颜色仍然处于黄色-紫色之间,表示抗生素浓度接近方法的最低检出限,此时建议重新检测一次。

13 报告

最终观察时,培养基依然保持原有的紫色,可以报告为抗生素残留阳性。

培养基变为呈黄色或黄绿色时,可以报告为抗生素残留阴性。

本方法检测几种常见抗生素的最低检出限为:青霉素 3 μ g/L,链霉素 50 μ g/L,庆大霉素 30 μ g/L,卡那霉素 50 μ g/L。