

无公害食品生产检测  
与管理规范实务全书

# 无公害食品 卫生标准 (四)

卢炳瑞 主编

中国言实出版社

图书在版编目(CIP)数据

无公害食品生产检测与管理规范实务全书/卢炳瑞主编.

—北京:中国言实出版社, 2004.9

ISBN 7-80128-319-4

I. 无…

II. 卢…

III. 绿色食品—食品加工—汇编

IV. TS207.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 103279 号

中国言实出版社出版发行

(北京市西城区府右街 2 号 邮政编码 100017)

中铁十六局印刷厂

787×1092 32 418.75 印张

2004 年 9 月第 1 版 2004 年 9 月第 1 次印刷

印数:1~1 000 册

定价:3200.00 元(本卷 16.00 元)

# 目 录

◎马传染性贫血病间接 ELISA 技术规程.....	1
◎苹果苗木产地检疫规程.....	9
◎食用菌粗蛋白质含量测定方法.....	13
◎食用菌粗脂肪含量测定方法.....	19
◎水果、蔬菜及其制品氯化物含量的测定.....	24
◎饲料用皮大麦.....	30
◎椰油 食用椰子油.....	32
◎饲料中钾的测定 火焰光度法.....	39
◎配合饲料粉碎粒度测定法.....	42
◎种畜禽调运检疫技术规范.....	43
◎茶尺蠖防治标准.....	46
◎哈密瓜种子国家标准.....	49
◎出口肉及肉制品中蝇毒、磷残留量检验方法.....	51
◎碳酸饮料卫生标准.....	57
◎高温复制冻鸡全蛋卫生标准.....	59
◎肉干、肉脯卫生标准.....	60
◎食品中镉限量卫生标准.....	63
◎食品中铬限量卫生标准.....	64
◎食品中辛硫磷最大残留限量标准.....	66
◎食品中 N-亚硝胺限量卫生标准.....	67

◎食品中苯并(A)芘限量卫生标准.....	68
◎出口果汁样品留取.保存及开袋取样要求.....	83
◎宿根糖料甘蔗生产技术规范.....	85
◎出口食品中沙门氏菌(辛酯酶荧光)检验方法.....	89
◎食品中稷杀得.精稷杀得残留量的测定.....	95
◎出口粮谷中甲基谷硫磷.乙基谷硫磷残留量检验方法...	100
◎食品中地亚农最大残留限量标准.....	109
◎大米中禾大壮最大残留限量标准.....	110
◎食品中双甲脒残留量的测定.....	115
◎粮食中二溴乙烷残留量卫生标准及检验方法.....	121
◎花生仁.食用油.(花生油.棉籽油)中涕灭威最大 残留限量标准.....	126
◎食品中溴氰菊酯最大残留限量标准.....	127
◎食品中阿特拉津最大残留限量标准.....	129
◎粮食中绿麦隆残留量的测定.....	130
◎食品中多菌灵最大残留限量标准.....	135
◎食品中地亚农(二嗪农)残留量的测定方法.....	137
◎食品中辛硫磷农药残留量的测定方法.....	141
◎食品中五氯硝基苯残留量的测定.....	145
◎食品中二氯苯醚菊酯最大残留限量标准.....	149
◎食品中乙酰甲胺磷最大残留限量标准.....	150
◎食品中氰戊菊酯最大残留限量标准.....	151

◎大米中杀虫环最大残留限量标准.....	153
◎食品中西维因最大残留限量标准.....	153
◎食品中甲基嘧啶硫磷最大残留限量标准.....	155
◎食品中草甘膦最大残留限量标准.....	156
◎出口蜂蜜中杀虫脒残留量检验方法.....	156
◎出口水果中甲霜灵残留量检验方法.....	163
◎大米中稻瘟灵残留量的测定.....	168
◎商品猪场建设标准.....	171
◎食用植物油厂卫生规范.....	182
◎罐头厂卫生规范.....	193

## ◎马传染性贫血病间接 ELISA 技术规程

马传染性贫血病(简称马传贫,下同)的流行,曾给我国养马业造成巨大的经济损失。经过多年的防治,在全国范围内取得显著成效,已达到控制标准。为消灭马传贫,提供一个先进有效、特异敏感、反应快速、操作方便、易于推广的检测方法,是十分必要的。为此制定马传染性贫血病间接 ELISA 技术规程。

马传贫间接 ELISA 技术自 1983 年建立以来,已在全国主要养马省区推广应用十余年之久,在马传贫防治工作中发挥了重要作用。特别是研制的试剂实现了标准化、商品化,并以低耗优质的产品,为该方法推广应用奠定了基础,在这方面我们已走在世界前列。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由中华人民共和国农业部畜牧兽医司归口。

本标准由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所负责起草。

本标准起草人:戴玉坤。

## 1 范围

本标准规定了马传染性贫血病间接 ELISA 技术规程的测定原理. 仪器设备. 试剂. 配制溶液. 操作步骤. 结果判定。

本标准适用于检测马血清中的马传贫疫毒抗体。可用于生产和经营马匹者对未注射马传贫疫苗马匹的检疫，马传贫病马的定性；也可用于对注射马传贫疫苗马匹的免疫状态进行测定。

## 2 引用标准

下列标准所包含的条文，通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时，所示版本均为有效。所有标准都会被修订，使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

NY127 1987 马传贫酶联免疫吸附试验(ELISA 间接法)抗原. 酶标记抗体制造及检验试行规程

## 3 测定原理

用特制的马传贫病毒抗原(NY127)，包被聚苯乙烯微量板孔，使免疫反应在固相载体上进行。当被检血清中有马传贫病毒抗体存在时，则与孔壁上的抗原形成抗原-抗体复合物，再与酶标记的抗体(抗马免疫球蛋白)反应，最后通过测定酶作用底物催化后的产物，进行定性. 定量抗体测定。

#### 4 仪器设备

吸管：1mL.5mL.10mL；

量桶：50mL.100mL.1000mL；

烧杯：50mL.100mL；

玻璃滴管：每滴体积约 20~30  $\mu$ L；

血清稀释板：20 孔板每孔容积为 1mL；

定量加液器：1mL 分装定量；

微量吸液器：50  $\mu$ L.100  $\mu$ L；

分析天平：感量 0.001g；

托盘天平：感量 0.01g；

水浴锅；

酶标测试仪。

#### 5 试剂

除特别注明外，所用试剂皆为分析纯。

磷酸氢二钠；

磷酸二氢钠；

氯化钠；

柠檬酸；

磷苯二胺(化学纯)；

过氧化氢(浓度 30%)；

吐温-20(Tween-20)；

白明胶(Gelatin white)(E.Merck)；

健康牛血清(无污染);

浓硫酸(纯度 95%~98%);

酶标记抗体(冻干品,活性和特异性应符合 NY127,见附录 A);

马传贫病毒抗原包被板(活性和特异性应符合 NY127,见附录 B);

阴性及阳性对照血清(冻干品,活性和特异应符合 NY127)。

## 6 配制溶液

6.1 磷酸盐缓冲液(0.02mol/L pH7.2 PBS)

6.1.1 0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液:称取磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )71.64g,先加适量的去离子水加热溶解,最后定容至 1000mL,混匀。

6.1.2 0.2mol/L 磷酸二氢钠溶液:称取磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )31.21g,先加适量的去离子水加热溶解,最后定容至 1000mL,混匀。

6.1.3 量取 0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液 360mL, 0.2mol/L 磷酸二氢钠溶液 140mL,称取氯化钠 38g,混在一起,用去离子水溶解稀至 5000mL。

6.2 洗液(0.02mol/L pH7.2 PBS-0.05%吐温-20)

量取 0.02mol/L pH7.2 PBS1000mL,加入 0.5mL

吐温-20，混匀。

6.3 血清及酶标记抗体稀释液(0.02mol/L pH7.2 PBS-0.05%吐温-20-0.1% 白明胶-10%健康牛血清)

量取洗液(6.2)100mL，加入 100mg 白明胶加热溶解，冷却后量取 90mL，加入健康牛血清 10mL，混匀。

6.4 底物溶液(pH5.0 磷酸盐-柠檬酸缓冲液，内含 0.04%邻苯二胺及 0.045%过氧化氢)

6.4.1 pH5.0 磷酸盐-柠檬酸缓冲液：称取柠檬酸(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O)21.01g，用去离子水溶解，定容至 1000mL。量取 243mL 与 0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液(6.1.1)257mL 混合，于 4℃冰箱中保存不超过一周。

6.4.2 称取 40mg 邻苯二胺，溶于 100mL pH5.0 磷酸盐-柠檬酸缓冲液(6.4.1)中(用前从 4℃冰箱中取出，在室温下放置 20~30min 平衡温度)，待溶解后，加入 150μL 过氧化氢混匀。根据试验所需量按此比例增减。现用现配，剩余液废弃。

6.5 终止剂：2mol/L 硫酸

量取浓硫酸 4mL 加入 32mL 去离子水中，混匀。

## 7 操作步骤

### 7.1 洗板

去掉抗原包被板的密封条及板孔保护膜，向各孔注入洗液，浸泡约 3min，甩干，再重新注入洗液，重复洗三次，甩净孔内残液，再在滤纸上拍打吸干。

#### 7.2 加被检血清及对照血清

将被检血清登记编号后，用 50 $\mu$ L 微量吸液器依次各取 50 $\mu$ L 加入到血清稀释板的各孔内(每份血清各用 1 个加样嘴)。用定量加液器，将 0.95mL 的稀释液(6.3)依次加入装有血清的各孔内，使血清做 1:20 倍稀释。混匀后用 100 $\mu$ L 微量吸液器将被检血清依次加入抗原包被板孔内(每份血清各用 1 个加样嘴)，每份血清加两个孔。

每块反应板均需设阳性对照及阴性对照血清。冻干的阴、阳性对照血清，按瓶上标注量加入稀释液(6.3)，溶解后加入上述包被板孔内。阴、阳性对照血清各两孔，每孔 100 $\mu$ L。盖好板盖，置 37 $^{\circ}$ C 水浴中，保温 1h。

#### 7.3 洗板

甩掉板孔内的血清，向各孔注入洗液，按(7.1)方法洗三次，甩净孔内残液，再在滤纸上拍打吸干。

#### 7.4 加酶标记抗体

按瓶签标注量，用稀释液(6.3)将冻干酶标记抗体溶解混匀后，每孔加 100 $\mu$ L，盖好板盖，置 37 $^{\circ}$ C 水浴中，保温 1h。

### 7.5 洗板

甩掉板孔内的酶标记抗体，向各孔注入洗液，按(7.1)方法洗三次，甩净孔内残液，再在滤纸上拍打吸干。

### 7.6 加底物溶液

用 100 $\mu$ L 微量吸液器，每孔加新配制的底物溶液 100 $\mu$ L，在室温下避光反应大约 5~10min(见附录 C)。

### 7.7 终止反应

用玻璃滴管每孔滴加终止剂 1 滴。

## 8 结果判定

### 8.1 目测法

阳性对照血清孔呈鲜明的桔黄色，阴性对照血清孔无色或基本无色，被检血清孔凡显色者即判为马传贫病毒抗体阳性。如遇颜色反应较弱，但与阴性对照血清孔还有差异者，用目测法难以判定时，则以比色法测定结果为最终结果。

### 8.2 比色法

用酶标测试仪，在波长 492nm 下，测定各孔 OD

值，阳性对照血清的两孔平均 OD 值大于 1.0，阴性对照血清的两孔平均 OD 值小于或等于 0.2 为正常反应。按以下两个条件判定结果：被检血清的两孔平均 OD 值与阴性对照血清的两孔平均 OD 值之比，大于或等于 2，且被检血清的两孔平均 OD 值在 0.2 以上者，判为马传贫病毒抗体阳性，否则为阴性。

#### 附录 A

##### (标准的附录)

##### 马传贫酶标记抗体质量的说明

马传贫酶标记抗体(冻干品)，系山羊抗马 IgG 与辣根过氧化物酶的结合物。对标准阳性血清的平切终点(PEP)应 $\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ ，平切滴度(PT)应 $\geq 1:10240$  倍。酶标记抗体用二倍平切终点的浓度，对标准阳性血清与标准阴性血清的 1:20 倍稀释液进行测定，阳性吸收值应 $>1.0$ ，阴性吸收值应 $\leq 0.2$ 。在 $-20^{\circ}\text{C}$ 下可保存 2 年。

#### 附录 B

##### (标准的附录)

##### 马传贫病毒抗原包被板质量的说明

马传贫病毒抗原包被板，系马传贫病毒抗原包被 40 孔或 96 孔聚苯乙烯板制备而成，对标准阳性血清的终点滴度 $\geq 1:20480$  倍。在 $-20^{\circ}\text{C}$ 下可保存 2

年。

## 附录 C

(标准的附录)

### 底物溶液作用时间的说明

底物溶液的作用时间与环境温度有关，如温度较高，酶催化作用就快，颜色反应则快。如温度低，酶的催化作用就慢，颜色反应则慢。因此底物的作用时间多依阳性和阴性对照血清颜色变化为准。当阳性对照血清孔呈鲜明的黄色，而阴性对照血清孔无色或基本无色时即要终止反应。标准中规定的底物作用时间 5~10min，是在不同温度条件下的大致范围。

## ◎苹果苗木产地检疫规程

### 1 适用范围

本规程适用于所有繁育苹果苗木的单位或农户。

### 2 名词解释

2.1 产地检疫：本规程所称产地检疫是指苗木繁育过程中的全部检疫工作，包括繁育无检疫对象的苗木（或接穗）和苗木生长期间的田间检验及必要的室内检验等。

2.2 健康苗木：是指按本规程所列检验方法检

验未发现检疫对象和控制病害的健壮苗木或接穗。

3 检疫对象.应控制病害和应施检疫的繁殖材料

### 3.1 检疫对象

苹果绵蚜 *eriosoma lanigerum* hausmann

苹果蠹蛾 *laspeyresia pomonella* linne

美国白蛾 *hyphantria cunea* (drury)

### 3.2 控制病害:

苹果黑星病 *venturia inaequalis* (cke)  
winter (有性世代)

*spilocaea pomi* fr. (无性世代)

*fusicladium dendriticum* (wallr.) fuckel  
(无性世代异名)

### 3.3 应施检疫的繁殖材料

砧木种子.砧木.接穗.苗木。

## 4 健康苗木的繁育

### 4.1 苗圃地选定

4.1.1 应在无检疫对象.无控制病害区。

4.1.2 如果在检疫对象零星发生区, 必须在有自然隔离条件.无检疫对象.未种过苹果的地块。

### 4.2 繁殖材料的采集和处理

4.2.1 砧木种子的来源和处理

4.2.1.1 砧木种子应立足自给或从无检疫对象发生区调入。

4.2.1.2 对调入的砧木种子应核对检疫证书，并进行复检，发现疫情必须进行彻底处理，同时应注意对包装材料进行检验。

#### 4.2.2 接穗的来源和处理

4.2.2.1 接穗应从本单位健康母本树上采集或从无检疫对象发生区调入。

4.2.2.2 从外地引进的良种接穗应查验检疫证书并进行复检。发现有苹果绵蚜的应立即销毁；科研用的少量良种接穗，可采用敌敌畏（DDVP）加热熏蒸或敌敌畏稀释液浸泡（方法见附件）经过处理复检确认无活虫方可使用。

#### 4.3 母本园的建立

4.3.1 苗木基地应建有健康的母本园，以提供健康的接穗。

4.3.2 母本园必须建立在无检疫对象和控制病害的发生区。

4.3.3 母本园内应有计划地更换老树，补栽新树。

4.3.4 母本园内补栽的新母本树应采用无检疫对象和无控制病害的良种接穗培育。

## 5 苗圃.母本园防疫措施

5.1 禁止携带未经检疫的砧木种子.砧木.接穗.苗木.果实和包装器材进入。

5.2 工具要消毒专用

5.3 凡外出到别的苗圃.果园归返人员或外来人员进入苗圃.母本园前,要消毒或穿备用工作服。

6 加强母本园.苗圃地的管理,及时防治其他病虫害

## 7 苗圃和母本园的检疫检验及签证

### 7.1 田间调查

7.1.1 由植物检疫机构会同苗圃或母本园的管理单位进行。

7.1.2 分别在 5~6 月, 7~9 月, 9~12 月及苗木出圃前检疫对象及控制病害症状明显时进行,一般调查 2~4 次。

7.1.3 母本园应逐株调查,苗圃地应在普查的基础上,采取多点随机进行细查,每点不少于 50~100 株。

7.1.4 根据检疫对象的形态特征.生活习性.为害情况和控制病害的症状特点进行田间鉴别(见附录 A.附录 B)。

7.1.5 记录调查结果并载入母本园和苗圃检疫