

ICS 07.100.30
C 53



中华人民共和国国家标准

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

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

Microbiological examination of food hygiene—
Examination of residue of antibiotics in fresh milk

中华人民共和国
国家标准
食品卫生微生物学检验
鲜乳中抗生素残留检验
GB/T 4789.27—2008

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

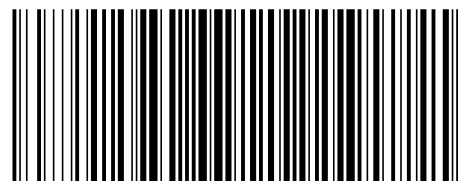
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字
2009年3月第一版 2009年3月第一次印刷

书号: 155066·1-36228 定价 14.00 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



GB/T 4789.27—2008

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

附 录 A
(规范性附录)
培养基和试剂

A.1 灭菌脱脂乳

A.1.1 成分

无抗生素的脱脂乳。

A.1.2 制法

经 115 ℃ 灭菌 20 min。也可采用无抗生素的脱脂牛乳粉,以蒸馏水 10 倍稀释,加热至完全溶解,115 ℃ 灭菌 20 min。

A.2 4% 2,3,5-氯化三苯四氮唑(TTC)水溶液

A.2.1 成分

2,3,5-氯化三苯四氮唑(TTC)	1 g
灭菌蒸馏水	5 mL

A.2.2 制法

称取 TTC,溶于灭菌蒸馏水中,装褐色瓶内于 2 ℃~5 ℃ 保存。如果溶液变为半透明的白色或淡褐色,则不能再用。临用时用灭菌蒸馏水 5 倍稀释,成为 4% 水溶液。

A.3 青霉素 G 参照溶液

A.3.1 成分

青霉素 G 钾盐	30.0 mg
无菌磷酸盐缓冲液	适量
无抗生素的脱脂乳	适量

A.3.2 制法

精密称取青霉素 G 钾盐标准品,溶于无菌磷酸盐缓冲液中,使其浓度为 100 IU/mL~1 000 IU/mL。再将该溶液用灭菌的无抗生素的脱脂乳稀释至 0.006 IU/mL,分装于无菌小试管中,密封备用。-20 ℃ 保存不超过 6 个月。

A.4 无菌磷酸盐缓冲液

A.4.1 成分

磷酸二氢钠	2.83 g
磷酸二氢钾	1.36 g
蒸馏水	1 000 mL

A.4.2 制法

将上述成分混合,调节 pH 至 7.3±0.1,121 ℃ 高压灭菌 20 min。

A.5 溴甲酚紫葡萄糖蛋白胨培养基

A.5.1 成分

蛋白胨	10.0 g
葡萄糖	5.0 g

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-乳酸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

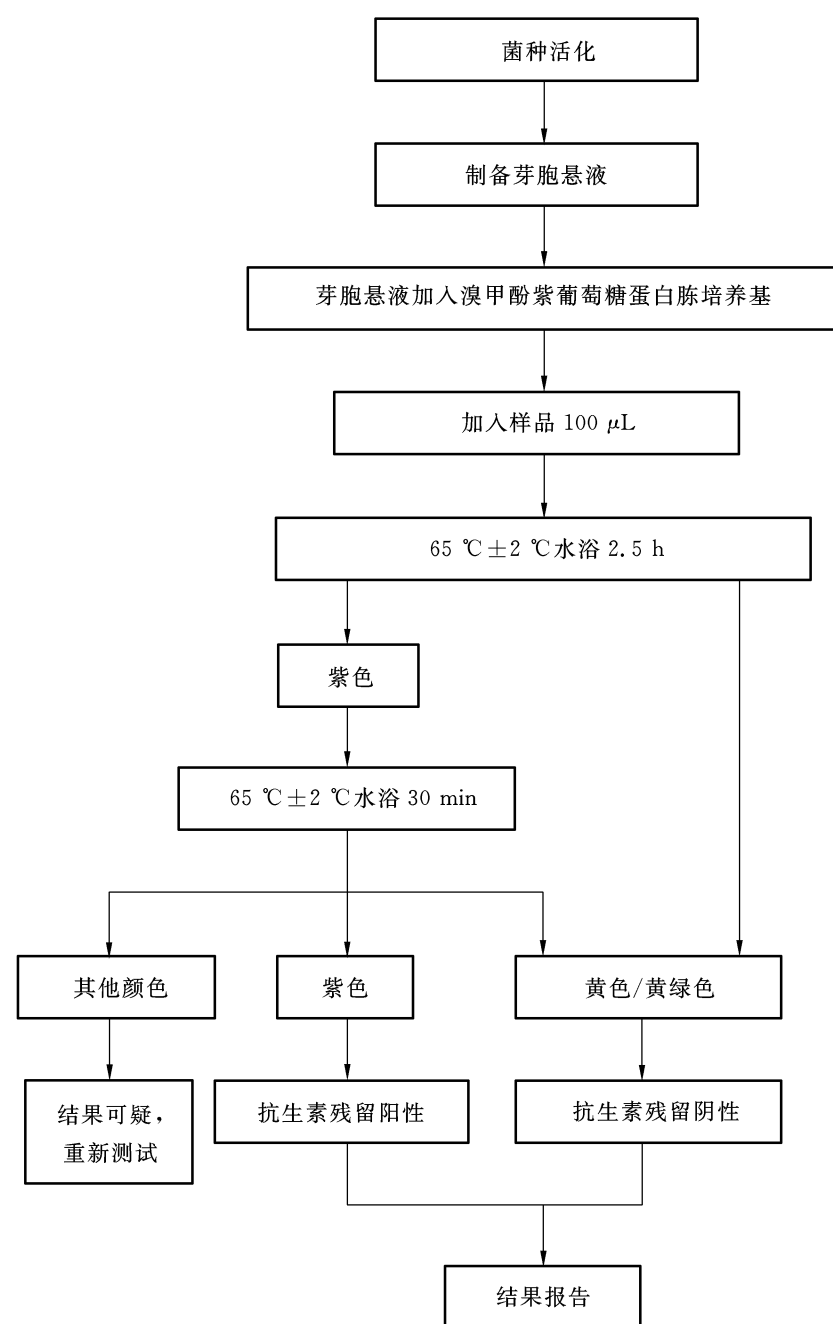


图 2 样品检验流程图

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。

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 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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: $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.2 恒温培养箱: $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.3 带盖恒温水浴锅: $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 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: $0\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 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。