

SN

中华人民共和国进出口商品检验行业标准

SN 0296—93

出口禽肉中莫能菌素残留量检验方法 生物自显影法

Method for the determination of monensin
residues in poultry meat for export
—Bioautography method

1993-12-28 发布

1994-05-01 实施

中华人民共和国国家进出口商品检验局 发布

中华人民共和国进出口商品检验行业标准

出口禽肉中莫能菌素残留量检验方法 生物自显影法

SN 0296—93

Method for the determination of monensin
residues in poultry meat for export
—Bioautography method

1 主题内容与适用范围

本标准规定了出口禽肉中莫能菌素残留量的抽样、制样和生物自显影测定法。
本标准适用于出口冻鸡中莫能菌素残留量的检验。

2 抽样和制样

2.1 检验批

以不超过 2 500 件商品为一检验批。

同一检验批的商品应具有相同特征,如包装、标记、产地、规格和等级等。

2.2 抽样数量

批量,件	最低抽样数,件
1~25	1
26~100	5
101~250	10
251~500	15
501~1 000	17
1 001~2 500	20

2.3 抽样方法

按 2.2 规定的抽样件数随机抽取,逐件开启。每件至少取一袋作为原始样品,原始样品总量不少于 2 kg,放入清洁容器内,加封后标明标记,及时送交实验室。

2.4 样品制备

从每袋原始样品中取出部分有代表性样品,将可食部分放入高速组织捣碎机中捣碎均匀,充分混匀,用四分法缩分出不少于 1 kg 试样。装入清洁容器内,加封后标明标记。

2.5 样品保存

将试样于-18℃冷冻保存。

注:在抽样及制样过程中,必须防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

用甲醇提取肉样中莫能菌素,经四氯化碳萃取后浓缩至干,以甲醇溶解残留物,用薄层分离,再用生

物自显影法测定。

3.2 设备和材料

- 3.2.1 微量注射器:50 μL 。
- 3.2.2 薄层板:硅胶,Q/YT 257-85SG,5 cm \times 20 cm,使用前 110 $^{\circ}\text{C}$ 活化 2 h。
- 3.2.3 展开缸:240 mm \times 57 mm \times 32 mm。
- 3.2.4 游标卡尺:测量范围 0~200 mm,精度 0.02 mm 或使用抑菌圈测量仪测量。
- 3.2.5 离心机:转速 3 000 r/min。
- 3.2.6 旋转浓缩器。
- 3.2.7 恒温培养箱:37 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.2.8 高压灭菌器。
- 3.2.9 长方形培养皿:20 cm \times 10 cm \times 5 cm。
- 3.2.10 均质器:带均质杯 250 mL。

3.3 试剂和培养基

3.3.1 试剂

- 3.3.1.1 甲醇:分析纯。
- 3.3.1.2 四氯化碳:分析纯。
- 3.3.1.3 乙酸乙酯:分析纯。
- 3.3.1.4 莫能菌素标准品:960 μg (效价)/mg(中国兽药监察所提供)。
- 3.3.1.5 试验菌种:枯草杆菌(*Bacillus subtilis*),菌种号 ATCC 6633(卫生部药品生物制品检定所提供)。

3.3.2 培养基

- 3.3.2.1 菌种用培养基(见附录 A 第 A1 章)。
- 3.3.2.2 生物自显影用培养基(见附录 A 第 A2 章)。
- 3.3.2.3 肉汤培养基(见附录 A 第 A3 章)。

3.4 测定步骤

3.4.1 工作液制备

3.4.1.1 莫能菌素标准贮备液

准确称取适量的莫能菌素标准品,用甲醇溶解配制成浓度为 500 μg (效价)/mL 的莫能菌素标准溶液。配制后于冰箱中保存,一周内使用。

3.4.1.2 莫能菌素标准工作液

吸取标准贮备液,用甲醇分别稀释成 2,3,4,5,10,和 15 μg (效价)/mL 的标准工作标准液。以上稀释液均须当日配制。

3.4.1.3 菌种培养及芽胞菌悬浮液制备

将菌种安瓿瓶的上部消毒后敲碎,加入少量肉汤培养基,使其溶解并移至肉汤管中混匀。置 37 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 温箱中培养 24 h。将培养物接种于菌种培养基中,置于 37 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 培养一周,镜检含芽胞菌数达 85% 以上,便可制备芽胞悬浮液。

用适量灭菌生理盐水冲洗菌苔,然后将该菌液转移至离心管中,充分摇匀后,于 3 000 r/min 离心 30 min,弃去上清液,再加入同样量的灭菌生理盐水重复离心一次。弃去上清液,再加入适量灭菌生理盐水,摇匀后于 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加热 30 min,然后,于 1 000 r/min 离心 5 min,取上清液并转入灭菌试管中,即为芽胞菌悬浮液,置于冰箱中保存,可使用一个月。

3.4.2 试液制备:准确称取绞碎试样 10 g(精确至 0.1 g)于均质杯中,加入 20 mL 甲醇,均质 2 min 后,移入离心管中,于 3 000 r/min 离心 20 min。取其上清液 15 mL,转入盛有 5 mL 蒸馏水的 250 mL 分液漏斗中,混合后加入 10 mL 四氯化碳,充分振摇,静置分层,放出四氯化碳层于 150 mL 茄形瓶中。用四