前　言

冻烤鳗是一种加工要求高、营养丰富的食品，目前在我国主要是供出口用。本标准在编制过程中参考了很多贸易合同中对规格、感官的要求和主要进口国对鳗鲡及其产品的卫生要求。

冻烤鳗产品中农药及渔药残留量是各国严格检查的项目，其控制应从活的原料鳗开始，为方便烤鳗生产者，本标准将我国有关部门对鱼类食品中兽药的最高残留量列出，并以提示的附录将日本厚生省对进口鳗鲡的规定列出。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准的附录 B 和附录 C 是提示的附录。

本标准由农业部渔业局提出。

本标准由中国水产科学研究院黄海水产研究所归口。

本标准起草单位：广东金曼集团股份有限公司、潮州市技术监督局、汕头商检局、汕头大学、汕头市技术监督局。

本标准主要起草人：张旭强、张兆彬、陈会波、蔡继伟、林永胜、陈镇安、蔡东生。

中华人民共和国水产行业标准

冻　　烤　　鳗

SC/T 3303—1997

Frozen roasted eel

1　范围

本标准规定了冻烤鳗的技术要求、检验规则、试验方法、标志、标签、包装、运输与贮存。

本标准适用于以活鳗鲡(*Anguilla japonicus*、*Anguilla anguilla*)经宰杀、去内脏、烤制后冷冻而成的冻烤鳗产品。冻烤鳗鱼肝可相应参照。

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。

GB 2828—87　逐批检查计数抽样程序及抽样表(适用于连续批的检查)

GB 4789.2—94　食品卫生微生物学检验　菌落总数测定

GB 4789.3—94　食品卫生微生物学检验　大肠菌群测定

GB 4789.4—94　食品卫生微生物学检验　沙门氏菌检验

GB 4789.10—94　食品卫生微生物学检验　金黄色葡萄球菌检验

GB 5009.19—1996　食品中六六六、滴滴涕残留量的测定方法

GB 5749—85　生活饮用水卫生标准

GB 7718—94　食品标签通用标准

3　定义

本标准采用下列定义。

3.1　冻烤鳗

以养殖活鳗鲡为原料,经去除内脏及骨加工处理和烤制后,冷冻而成的熟制品。

3.2　冻原味烤鳗(冻白烧烤鳗)

未加入调味配料的冻烤鳗。

3.3　冻调味烤鳗(冻蒲烧烤鳗)

加入调味配料的冻烤鳗。

3.4　冻有头整条烤鳗(冻有头长烧烤鳗)

鳗体完整的有头冻烤鳗。

3.5　冻无头整条烤鳗(冻无头长烧烤鳗)

鳗体完整的去头冻烤鳗。

3.6　冻串块烤鳗(冻串烧烤鳗)

条鳗去头、去骨、去内脏后切成块状,穿入竹签成串,然后进行烤制冷冻的串状冻烤鳗。

中华人民共和国农业部 1997-12-19 批准　　1998-05-01 实施

4 技术要求

4.1 品种

冻烤鳗按加工工艺不同分为有头整条原味、无头整条原味、串块原味、有头整条调味、无头整条调味、串块调味等品种。

4.2 规格

冻整条烤鳗按每条质量定规格；冻串块烤鳗按每串质量定规格。

4.2.1 各规格的整条冻烤鳗的条质量，每箱成品包装含量规定见表1。

表1 整条规格包装含量规定

规格代号	冻烤鳗质量 g/条	每箱成品包装含量	
		条数	净含量
7L	311_{-5}^{0}～360_{0}^{+5}	30	10 kg； 负偏差≤0.01 kg
6L	271_{-5}^{0}～310_{0}^{+5}	35±1	
5L	236_{-5}^{0}～270_{0}^{+5}	40	
4L	211_{-5}^{0}～235_{0}^{+5}	45±1	
3L	191_{-5}^{0}～210_{0}^{+5}	50	
2L	176_{-5}^{0}～190_{0}^{+5}	55±1	
L	156_{-5}^{0}～175_{0}^{+5}	60	
M	136_{-5}^{0}～155_{0}^{+5}	70	
S2	116_{-5}^{0}～135_{0}^{+5}	80	
S1	106_{-5}^{0}～115_{0}^{+5}	90	
2S2	96_{-5}^{0}～105_{0}^{+5}	100	
2S1	86_{-5}^{0}～95_{0}^{+5}	110	
3S	76_{-5}^{0}～85_{0}^{+5}	120	
注：每箱2盒，每盒5 kg。			

4.2.2 各规格的串块冻烤鳗质量及每箱成品包装含量规定见表2。

表2 串块规格包装含量规定

规格 g/串	质量范围 g/串	每箱成品包装含量
60	56_{-3}^{0}～65_{0}^{+3}	100串
70	66_{-3}^{0}～75_{0}^{+3}	
80	76_{-3}^{0}～88_{0}^{+3}	
90	89_{-3}^{0}～92_{0}^{+3}	

表 2(完)

规　　格 g/串	质量范围 g/串	每箱成品包装含量
100	93_{-3}^{0}～108^{+3}_{0}	100 串
110	109_{-3}^{0}～112^{+3}_{0}	
120	113_{-3}^{0}～129^{+3}_{0}	
140	130_{-3}^{0}～150^{+3}_{0}	
160	151_{-3}^{0}～170^{+3}_{0}	
注：每箱 5 盒，每盒 20 串。		

4.2.3　冻烤鳗的规格质量及每箱成品包装含量，合同中另有要求的按合同执行。

4.3　感官

冻烤鳗的感官指标见表 3。

表 3　感官指标

项　　目	指　　标
色泽	原味烤鳗呈乳白色或淡黄色；调味烤鳗呈黄色、棕黄色或褐色，有光泽感
组织形态	切面有光泽，刀口平滑，鱼片平整，无破损，无软化融解现象；整条烤鳗体表完整，无异常的边缘卷起及尾鳍分叉；烘烤焦斑均匀
气味及滋味	具有烤鳗特有的气味，滋味鲜美、淳厚；调味烤鳗咸甜适度、口感好；无泥土味、油脂及蛋白变质等异味
杂质	不应有内脏遗留物、寄生虫及其他外来杂质

4.4　冻品中心温度

冻品中心温度不得高于－15℃。

4.5　微生物

冻烤鳗的微生物指标见表 4。

表 4　微生物指标

项　　目	指　　标
细菌总数，个/g	$\leqslant 5.0\times10^{4}$
大肠菌群，个/100 g	≤3
沙门氏菌	不得检出
金黄色葡萄球菌	不得检出

4.6　农药及渔药残留量

4.6.1　土霉素最高残留量为 0.1 mg/kg(肌肉)和 0.3 mg/kg(肝脏)。

4.6.2　其他农药和渔药最高残留量见附录 B(提示的附录)或执行合同规定。

4.7　原料鳗

采用形态正常无病、无寄生虫的活鳗鲡加工烤制。

5 试验方法

5.1 感官

5.1.1 外观：启箱后，带上经消毒的医用乳胶手套，逐条(串)翻动，观察色泽、组织状态是否正常；检验是否混有杂质。

5.1.2 水煮：判断气味及滋味时，需进行水煮试验。

水煮用水应符合 GB 5749 的要求，容器应清洁卫生，无异味，水煮时不加任何调料。

将 250 g 样品切成宽为 2 cm 条状，与适量的水放入大小适宜的密封容器内煮沸 2 min，打开容器盖，用手煽蒸气，嗅气味，看颜色，尝口味。

5.2 规格、包装含量与中心温度

5.2.1 主要设备要求：衡器最大称量值应低于被衡样品质量的 5 倍；温度计的分度值为 0.5℃。

5.2.2 冻烤鳗规格及每箱成品包装含量。

5.2.2.1 每箱成品净含量为毛重减去内、外包装物总重。检验时直接称重(不必解冻)，先称毛重，后称包装物总重。

5.2.2.2 条(串)质量检验在操作台上进行，逐条(串)称重(不必解冻)。

5.2.3 成品中心温度：将样品从冷库取出后立即放在 0～20℃场所内，启箱后取中层的烤鳗，将温度计探头插到肉质最厚部分中间，待温度指示稳定后读数。

5.3 微生物

细菌总数按 GB 4789.2、大肠菌群按 GB 4789.3、沙门氏菌按 GB 4789.4、金黄色葡萄球菌按 GB 4789.10规定的方法进行。

5.4 农药及渔药残留量

5.4.1 土霉素(OTC)残留量的检验方法见附录 A(标准的附录)。

5.4.2 其他农药和渔药残留量的检验方法见附录 C(提示的附录)或按合同方法执行。

5.5 原料鳗

将活鳗鲡放入水槽中，随机抽取 5～10 条用肉眼观察鱼体有无出血、溃疡及水霉现象，当发现鳗鲡游动缓慢或有其他异常状态时，应至少抽取 20 条鳗鲡(特别是有不良症状的)用肉眼或显微镜从表到里仔细检查下颌、鱼体有否出血；体表有否可见虫体或由虫体入侵引起的红肿发溃、寄生大量水霉菌现象及由粘孢子虫类入侵、繁殖引起的乳白色斑纹等。

6 检验规则

6.1 抽样

以同原料、同条件下同一天加工的同一品种、同一规格的冻烤鳗构成一检验批。

6.1.1 冻品中心温度：从提交批产品中抽取一箱检验，不符合要求者另抽两箱复检。

6.1.2 每箱包装含量：从提交批产品中按 GB 2828 的正常检查两次(特定情况下用加严检查两次或放宽检查两次)抽样方案中的 S-4 检查水平随机抽取样本，批量、样本、A_c、R_e 以箱为单位。

6.1.3 规格、感官：按 GB 2828 正常检查两次(特定情况下用加严检查两次或放宽检查两次)抽样方案中的 S-4 检查水平从经每箱包装含量检验的产品中抽取样本(不足时从提交批产品中补抽)，批量、样本、A_c、R_e 以 kg 为单位。

气味及滋味需水煮试验时，从三箱已开封的产品中各抽取试样 1 条或几串(不足 250 g 者取足 250 g)，分别检验，有一个以上试样不符合要求者，加倍抽样复检。

6.1.4 微生物：随机抽取三箱样品，在无菌条件下，每箱取 1～3 条或几串(不足 250 g 者取足 250 g)。微生物指标不合格时，不得进行第二次抽样。

6.1.5 农药及渔药残留量：抽取 3 条或几串烤鳗(不足 300 g 者取足 300 g)。农药、渔药残留量不合格

时，不得进行第二次抽样。

6.1.6 原料鳗：同一供养户、品种的原料鳗为一批，随机抽取 20 条进行活力及鱼病、寄生虫检验。

6.2 抽样方案转换规则

6.2.1 每箱包装含量、规格、感官项目通常采用正常检查抽样方案。

6.2.2 使用正常检查抽样连续 5 批中有 2 批不合格时，应及时转向加严检查抽样；加严检查抽样连续 5 批合格，可转回正常检查抽样。

6.2.3 使用正常检查抽样连续 10 批合格时，可转向放宽检查抽样；放宽检查抽样发现一批不合格时，应转向正常检查抽样。

6.3 判定规则

6.3.1 应检项目全部合格判为批产品合格。

6.3.2 允许复验的项目，以复验结果为判定依据。

6.3.3 箱包装含量、规格、感官各项的合格质量水平(AQL)见表 5。

表 5 合格质量水平

序　　号	检　验　项　目	合格质量水平(AQL)
1	每箱净含量	0.65
2	每箱条(串)数	4.0
3	条(串)规格	4.0
4	感官	2.5

规格、感官试验结果，若第一次抽检不合格品总重小于或等于 A_c 的数字，判该批合格；等于或大于 R_e 数字，判该批不合格；介于 A_c、R_e 数字间，进行第二次抽检，并将第一、二次抽检中不合格品重量累加，依照四舍五入法取整数位，按第二次抽检的 A_c、R_e 数字判别。

6.3.4 微生物、农药及渔药残留量、标志、标签、包装各项，其中有一项不合格即判为不合格，不得复验。

6.3.5 原料鳗中有一条不符合要求时，应对该批原料逐条检查，剔除所有死、病、有寄生虫的。

7 标志、标签、包装、运输与贮存

7.1 标志及标签

外包装上应有标志，标示产品名称、生产厂名、商标、规格、批号等。标志应清晰、易懂，位置醒目。国内销售的烤鳗应有标签，标签内容符合 GB 7718 规定。合同另有规定的按合同执行。

7.2 包装

内包装用食品塑料薄膜，塑料膜外加纸盒包装，塑料薄膜及包装用纸应无异臭；外包装用瓦楞纸箱。内外包装紧密、完整、清洁、牢固、不破裂。

7.3 标志、标签及包装作为必检项目，根据 7.1 和 7.2 要求在每一检验批中随机抽取一箱进行检验。判定规则同 6.3.4。

7.4 运输

采用专用冷藏车，车厢内应清洁卫生，温度保持在－18℃以下，装卸应轻拿轻放快捷，不得与有污染物品混装，不得日晒雨淋。

7.5 贮存

产品应贮存在清洁的冷库内，库温保持在－18℃以下，有防水、防霉、防鼠、防虫害等措施，不得同有异味、有污染物品及杂物一起堆放。

7.6 保质期

在符合上述规定的贮运条件、包装完整、未经启封的情况下，本产品保质期为一年。

附 录 A
（标准的附录）
土霉素(OTC)残留量的试验方法

A1 原理

样品经 XAD-2 树脂吸收后，用甲醇洗脱，经 CLC-CN 柱分离后，用紫外检测器检测。

A2 试剂和材料

乙腈(CH_3CN)：分析纯。

EDTA 二钠盐：0.005 mol/L。

磷酸氢二钾(K_2HPO_4)：0.005 mol/L，用 2 mol/L 磷酸调至 pH 为 2.5。

提取液(用 1 mol/L 盐酸溶解的 EDTA 二钠盐溶液)：0.05 mol/L。

工作液：称取 OTC 10.0 mg(精确至 0.1 mg)，用 0.01 mol/L 磷酸定容至 100 mL 为储备液。再取上述储备液 1.0 mL，置于 100 mL 容量瓶中，用水定容，然后分别取该溶液 1.0，2.0，3.0，4.0，5.0 mL 于 25 mL 容量瓶中，用水定容后为工作液。该工作系列溶液的浓度分别为：0.04，0.08，0.12，0.16，0.20 μg/mL。

XAD-2 树脂：粒度直径为 0.3～1 mm(相当于 20～40 目的树脂)。使用时将树脂用甲醇浸泡一夜，弃去甲醇。用水充分洗涤后，装入 200 mm×10 mm 的玻璃柱内，柱高 10 cm，依次用甲醇、去离子水各 50 mL 冲洗后备用。用后经上述步骤处理，可反复使用。

A3 仪器设备

高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

匀浆机：转速大于 1 000 r/min。

离心机：转速 3 000 r/min。

A4 色谱条件

色谱柱：Shim-pack、CLC-CN，150 mm×6 mm(内径)柱或与之相当的液相柱。

流动相：0.005 mol/L，其中磷酸氢二钾(K_2HPO_4)为 75%，乙腈(CH_3CN)为 25%。

流速：1.0 mL/min。

柱温：30℃。

检测波长：λ=367 nm。

进样体积：20 μL。

A5 试样的制备

A5.1 提取：称取捣碎均匀的去皮鱼肉 10.0 g(精确至 0.1 g)，加 40 mL 提取液，匀浆 5 min。然后在离心机上以 3 000 r/min 离心 5 min。用 G2 砂芯漏斗过滤上层清液。按同样步骤，用 30 mL 提取液对样品残渣再提取一次，合并滤液。

A5.2 净化：将上述合并滤液以每秒 3～4 滴的速度过 XAD-2 层析柱，用 200 mL 去离子水洗涤，随后用 80 mL 甲醇洗脱。收集甲醇洗脱液，用无水硫酸钠脱水。

将脱水后的甲醇洗脱液，在 35℃水浴上，用旋转蒸发器浓缩至约 0.5 mL，然后用流动相定容至 2 mL。

A6 测定步骤

取 20 μL 标准液注入液相色谱仪，以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标做标准曲线。

再将等体积的对照工作液、样液，经 0.45 μm 滤膜，滤液取 20 μL，注入液相色谱仪进行测定。由所得到的峰面积，从标准曲线查得样品液中的含量。

A7 测定结果的表述

土霉素残留量按式(A1)计算：

$$X = \frac{c}{m \times \frac{1}{V}} \qquad \cdots\cdots(A1)$$

式中：X——样品中残留土霉素的含量，mg/kg；

c——由所得到的峰面积查得的被测提取液中土霉素浓度，μg/mL；

m——试样的质量，g；

V——经稀释后，提取液的体积，mL。

A8 重复性

同时做两个平行样，结果取两次测定的算术平均值。两次测定的相对偏差不得超过 10%。

A9 检测限度

本方法最低检测限为 10 μg/kg。

附 录 B
（提示的附录）
冻烤鳗中农药、渔药残留量指标

冻烤鳗中农药、渔药残留量指标见表 B1。

表 B1 冻烤鳗中农药、渔药残留量指标 mg/kg

项目		指标
农药残留量	六六六	≤0.05
	滴滴涕	≤0.05
	获氏剂	≤0.02
	七氯	≤0.02
	呋喃唑酮(痢特灵)	≤0.03
渔药残留量	恶喹酸	≤0.05
	磺胺甲基嘧啶	≤0.01
	磺胺二甲基嘧啶	≤0.04
	抗生素	阴性

附 录 C
（提示的附录）
烤鳗中农药、渔药残留量试验方法

C1 六六六、滴滴涕、荻氏剂、七氯

C1.1 六六六、滴滴涕按 GB 5009.19 规定的方法检验。

C1.2 荻氏剂、七氯的试验方法

C1.2.1 原理：荻氏剂、七氯的试验方法采用与 GB 5009.19 相同的方法。

C1.2.2 试剂：使用的试剂一般系分析纯，有机溶剂需经重蒸馏。

a）荻氏剂、七氯标准溶液：称取荻氏剂或七氯 10.0 mg(精确至 0.1 mg)溶于苯中，再移入 100 mL 容量瓶中，加苯至刻度，混匀。此液荻氏剂或七氯 100 μg/mL，作为储备液存于冰箱中。

b）荻氏剂、七氯标准使用液：临用时，各吸取 2.0 mL 分别移入 10 mL 容量瓶中，加石油醚至刻度，相当七氯或荻氏剂 20 μg/mL，此浓度用于薄层色谱法。用气相色谱法时，根据仪器灵敏度稀释至适当浓度。

c）其他试剂同 GB 5009.19—1996 中 3.1～3.7，7.1～7.4。

C1.2.3 仪器：与 GB 5009.19 相同。

C1.2.4 分析步骤与 GB 5009.19 相同。

C2 呋喃唑酮(痢特灵)

C2.1 原理

用二氯甲烷提取样品中的痢特灵残留，浓缩提取液，用乙腈溶解残渣并用正已烷微量液液萃取去除脂肪及其杂质，清液作高效液相色谱仪(HPLC)测定用。

C2.2 试剂

乙腈：分析纯。

二氯甲烷：分析纯。

正已烷：分析纯。

磷酸：0.017 mol/L。

乙腈水溶液：乙腈：水＝80：20。

无水硫酸钠：分析纯。

呋喃唑酮标准溶液：称取呋喃唑酮 10.0 mg(精确至 0.1 mg)，用乙腈溶解并定容于 50 mL 棕色容量瓶中，该储备液浓度为 200 μg/mL，冰箱内保存。测定时用水将储备液稀释至 10 μg/mL 的标准工作液，冰箱内保存。

C2.3 仪器

高效液相色谱仪配备紫外检测器。

KD-真空浓缩器。

旋涡混匀器。

高速离心机。

25 μL 微量进样器。

C2.4 样品处理

将抽取的烤鳗绞碎，均匀混合，作为试样备用，冰箱内保存。

C2.5 测定步骤

C2.5.1 提取与净化：称取 10 g 均匀样品（精确至 0.1 g），加 25 mL 二氯甲烷，用旋涡混匀器提取 2 min。提取液过无水硫酸钠柱滤入磨口烧瓶中，残渣重复提取二次，合并滤液，50℃真空浓缩至干。用 1.0 mL乙腈水溶液溶解残渣，同时加入 1 mL 正己烷振荡 1 min，移入 5 mL 离心管中，3 000 r/min 离心 2 min，用尖嘴吸管弃去上层正己烷层，再向离心管加入 1 mL 正己烷，混匀，离心，弃去上层正己烷层，下层清液作 HPLC 分析用。

C2.5.2 色谱条件：ODS 柱（4 mm×250 mm），测定波长 365 nm，流动相为乙腈、磷酸混合液（乙腈：0.017 mol/L 磷酸＝40：60），流速 1.0 min。

C2.5.3 测定：配制 0.03，0.1，0.2，0.4 μg/mL 四种浓度标准溶液，各取 20 μL 分别注入 HPLC 测得积分面积。以浓度为 X 坐标，积分面积为 Y 坐标，在 XOY 坐标系上绘制标准曲线。取样品溶液 20 μL 注入 HPLC 测得积分面积后从标准曲线图中查出相应的浓度再折算样品呋喃唑酮含量。

C2.5.4 计算：呋喃唑酮残留量按式(C1)计算：

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots(C1)$$

式中：X——样品中呋喃唑酮浓度，mg/kg；

A——样品中呋喃唑酮含量，μg；

m——样品质量，g。

C2.5.5 方法的测定低限和回收率：本方法的测定低限为 0.01 mg/kg。呋喃唑酮添加 0.03 μg/g，平均回收率为 84.3%。

C3 恶喹酸

C3.1 原理

用二氯甲烷提取样品中的恶喹酸残留，浓缩提取液，用流动相溶解残渣并用正己烷微量液萃取去除脂肪及杂质，清液作 HPLC 测定用。

C3.2 试剂

甲醇：分析纯。

二氯甲烷：分析纯。

正己烷：分析纯。

盐酸：浓度分别为 0.1 mol/L 和 0.03 mol/L。

恶喹酸标准溶液：称取 10.0 mg 恶喹酸（精确至 0.1 mg），用 0.1 mol/L 盐酸溶解并定容至 100 mL，此储备液浓度为 0.1 mg/mL，冰箱内保存。用流动相将储备液稀释至 1.0 μg/mL 作为标准工作液，冰箱内保存。

C3.3 仪器

高效液相色谱仪配备紫外检测器。

KD-真空浓缩器。

旋涡混匀器。

高速离心机。

C3.4 样品处理

同 C2.4。

C3.5 测定步骤

C3.5.1 提取与净化：称取 10 g 均匀样品（精确至 0.1 g），加 25 mL 二氯甲烷，用旋涡混匀器提取 2 min。提取液过无水硫酸钠柱滤入磨口烧瓶中，残渣重复提取二次，合并滤液，40℃真空浓缩至干。准确加入 1 mL 流动相、1 mL 正己烷，混匀 1 min，移入 5 mL 离心管，3 000 r/min 离心 2 min，用尖嘴吸管弃去上层正己烷层，再向离心管加入 1 mL 正己烷重复净化一次。下层清液作 HPLC 分析用。

C3.5.2 色谱条件：ODS 柱(4 mm×250 mm)，测定波长 254 nm，流动相为甲醇、水、盐酸混合液(甲醇：水：0.03 mol/L 盐酸=70：20：10)，流速为1.0 mol/min。

C3.5.3 测定：配制 0.05，0.1，0.2，0.4 μg/mL 四种浓度标准溶液，各取 20 μL 分别注入 HPLC 测得积分面积。以浓度为 X 坐标，积分面积为 Y 坐标，在 XOY 坐标系上绘制标准曲线。取样品溶液20 μL注入 HPLC 测得积分面积后从标准曲线图中查出相应的浓度再折算样品恶喹酸含量。

C3.5.4 计算：恶喹酸残留量按式(C2)计算：

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots(C2)$$

式中：X——样品中恶喹酸浓度，mg/kg；

A——样品中恶喹酸含量，μg；

m——样品质量，g。

C3.6 方法的测定低限和回收率

本方法的测定低限为 0.05 mg/kg。恶喹酸添加 0.05 μg/g，平均回收率为 85.8%。

C4 磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶

C4.1 原理

用二氯甲烷提取样品中的磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶，浓缩，流动相溶解，过滤，取清液作 HPLC 分析。

C4.2 试剂

二氯甲烷：分析纯。

乙腈：分析纯。

冰醋酸：分析纯。

磺胺甲基嘧啶标准溶液：称取 10.0 mg 磺胺甲基嘧啶(精确至 0.1 mg)，用甲醇溶解并稀释至 100 mL，此储备液浓度为 100 μg/mL，冰箱内保存。用流动相逐级稀释至 10 μg/mL，作为标准工作液冰箱内保存。

磺胺二甲基嘧啶标准溶液：同上配制成 100 μg/mL 的储备液和 10 μg/mL 的标准液，冰箱内保存。

无水硫酸钠：分析纯。

C4.3 仪器

高效液相色谱仪配备紫外检测器。

KD-真空旋转浓缩器。

旋涡混匀器。

高速离心机。

亲水性滤膜(0.45 μm，Millpore)。

C4.4 样品处理

同 C2.4。

C4.5 测定步骤

C4.5.1 提取与净化：称取 10 g 均匀样品(精确至 0.1 g)，加 25 mL 二氯甲烷，用旋涡混匀器提取 15 min。过无水硫酸钠柱滤入磨口烧瓶中，重复操作二次，合并滤液，40℃真空浓缩至干。用 1 mL 流动相溶解残渣，移入 5 mL 离心管中，3 000 r/min 离心 2 min，清液经 0.45 μm 滤膜过滤，滤液作 HPLC 分析用。

C4.5.2 色谱条件：ODS 柱(4 mm×250 mm)，测定波长 272 nm，流动相为乙腈、水、冰乙酸混合液(乙腈：水：冰乙酸=20：80：0.5)，流速 1.0 mol/L。

C4.5.3 测定：配制 0.01、0.05、0.1、0.2 μg/mL 四种浓度磺胺甲基嘧啶标准溶液，各取 20 μL 分别注

入 HPLC 测得积分面积。以浓度为 X 坐标，积分面积为 Y 坐标，在 XOY 坐标系上绘制标准曲线。取样品溶液 20 μL 注入 HPLC 测得积分面积后从标准曲线图中查出相应的浓度再折算样品中磺胺甲基嘧啶含量。

C4.5.4 计算：磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶残留量按式(C3)计算：

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots(C3)$$

式中：X——样品中磺胺甲基嘧啶(或磺胺二甲基嘧啶)单一浓度，mg/kg；

A——样品中磺胺甲基嘧啶(或磺胺二甲基嘧啶)单一浓度含量，μg；

m——样品质量，g。

C4.6 方法的测定低限和回收率

本方法的测定低限为 0.01 mg/kg。磺胺甲基嘧啶添加 0.05 μg/g，平均回收率为 77.7%；磺胺二甲基嘧啶添加 0.05 μg/g，平均回收率为 95.3%。

C5 抗生素

C5.1 原理

烤鳗样品中所含的抗生素经适当方法提取后，滴注到贴在已接种试验菌的琼脂平板的滤纸片中，经培养后，距纸片一定范围内的试验菌的生长受到抑制，形成明显的抑制环，借此可以定性地鉴别烤鳗样品中抗生素残留。

C5.2 菌种、培养基和试剂

C5.2.1 菌种：大肠杆菌 K12 菌株(E. Coli K12)。

C5.2.2 培养基：

C5.2.2.1 成分：

牛肉膏 5 g；

蛋白胨 10 g；

氯化钠 5 g；

琼脂 15 g。

C5.2.2.2 制法：将上述成分的牛肉膏、蛋白胨、氯化钠混合，用蒸馏水溶解、配至 1 000 mL，pH 调至 7.2～7.4。分装烧瓶，121℃高压灭菌 20 min，形成液体培养基，制备试验菌液用。将上述培养基加入琼脂15 g，加热煮沸，使琼脂充分熔化。分装烧瓶，121℃高压灭菌 20 min，形成固体培养基，供制平板、斜面用。

C5.2.3 试剂：

乙酸乙酯：分析纯。

正己烷：分析纯。

pH 6.0 磷酸缓冲溶液：磷酸二氢钾(KH_2PO_4)8 g，亚磷酸氢钾($KHPO_3$)2 g，用蒸馏水配至 1 000 mL。

pH 3.0 柠檬酸缓冲溶液：柠檬酸 7 g，磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)3 g，用蒸馏水配至1 000 mL。

C5.3 设备和材料

培养皿(φ90 mm)。

台式离心机。

恒温培养箱。

无菌操作台。

微量注射器。

分液漏斗。

减压干燥器。

无菌试管(内放入适量玻璃珠)。

无菌刻度吸管。

ϕ5 mm 圆形灭菌滤纸片。

C5.4 样品处理

在无菌条件下按 C2.4 规定处理样品。

C5.5 测定步骤

C5.5.1 试验菌液的制备:将试验菌种接种斜面,经 35～37℃培养 18～24 h,以白金耳接种置于试管内的液体培养基,在 35～37℃培养 18 h,将液体培养物以无菌生理盐水稀释至 1/10 000,冰箱内存放备用。

C5.5.2 试验平板的制备:将 C5.2.2 制备的固体培养基用开水融化,冷却至 50℃左右,倒入若干个灭菌培养皿中(厚度约 2 mm),充分凝固后制成平板,每个平板加入 C5.5.1 制备的菌液 0.1 mL,用 L 形玻璃棒涂布均匀。在其上均匀放进 6 片 ϕ5 mm 圆滤纸片。

C5.5.3 四环素类抗生素:称取 10 g 均匀样品(精确至 0.1 g),置于无菌试管内,加入 pH3.0 柠檬酸缓冲溶液 20 mL,充分振摇,3 000 r/min 离心 20 min,吸取上层清液 5 μL 注入平板上的圆形滤纸片(平行做 3 片滤纸),经 35～37℃培养(17±1) h,有 2 片以上滤纸片周围呈现明显抑菌环者为阳性,否则为阴性。

C5.5.4 氯霉素:称取 10 g 均匀样品(精确至 0.1 g),置于无菌试管内,加入乙酸乙酯 40 mL,充分振摇,3 000 r/min 离心 20 min,取上层清液在 40℃以下真空干燥,干燥样品加入 10 mLpH6.0 磷酸缓冲溶液,用适量正己烷脱脂,吸取 5 μL 下层清液注入平板上的圆形滤纸片(平行做 3 片滤纸),经 35～37℃培养(17±1) h,有 2 片以上滤纸片周围呈现明显抑菌环者为阳性,否则为阴性。

C5.5.5 其他水溶性抗生素:称取 10 g 均匀样品(精确至 0.1 g),置于无菌试管中,加入无菌水 20 mL,充分振摇,3 000 r/min 离心 20 min,吸取上层清液 5 μL 注入平板上的圆形滤纸片(平行做 3 片滤纸),经 35～37℃培养(17±1) h,有 2 片以上滤纸周围呈现抑菌环者为阳性,否则为阴性。

C5.6 方法的测定低限

本方法中各种抗生素的最低检出量见表 C1。

表 C1 抗生素最低检出量

抗生素名称	最低检出量(单位)
氯霉素	6.3×10^{-4}
硫酸庆大霉素	2.0×10^{-3}
硫酸卡那霉素	8.0×10^{-2}
硫酸链霉素	3.9×10^{-3}
土霉素	1.6×10^{-2}
青霉素	0.20