

中华人民共和国农业行业标准

NY 5070—2002
代替 NY 5070—2001

无公害食品 水产品中渔药残留限量

2002-07-25 发布

2002-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准是对 NY 5070—2001《无公害食品 水产品中渔药残留限量》的修订。

本标准的修订主要参考了国际食品法典委员会(CAC)《食品中兽药残留》(“Residue of Veterinary Drugs in Foods”)第二版第三卷(1995 修订)和《食品中兽药最大残留限量标准》(“Codex Maximum Residue Limit For Veterinary Drugs in Foods”),同时根据我国水产品贸易情况参考了欧盟法规(EEC Regulation 2377/90.),美国食品与药品管理局(FDA)法规[21CFR Ch. I(4-1-01 Edition)Part 556-Tolerance for Residue of New Animal Drugs in Food]以及日本、加拿大、韩国和我国香港地区的动物性食品中兽药最大残留限量标准(MRL),并结合我国水产品养殖生产过程中渔药的使用情况。

本标准保持了原标准的结构形式;在内容上保留了原标准中科学、合理的内容,删除了目前我国水产养殖中没有使用的药物,修订了氯霉素测定方法,增加了附录 A、附录 B,同时对部分内容作了修改和补充。

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:国家水产品质量监督检验中心、青岛出入境检验检疫局、广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:周德庆、李晓川、李兆新、冷凯良、林黎明、宜齐、吴建丽。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:NY 5070—2001。

无公害食品 水产品中渔药残留限量

1 范围

本标准规定了无公害水产品中渔药及通过环境污染造成的药物残留的最高限量。
本标准适用于水产养殖品及初级加工水产品、冷冻水产品,其他水产加工品可以参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

NY 5029—2001 无公害食品 猪肉
NY 5071 无公害食品 渔用药物使用准则
SC/T 3303—1997 冻烤鳗
SN/T 0197—1993 出口肉中喹乙醇残留量检验方法
SN 0206—1993 出口活鳗鱼中噻嗪酸残留量检验方法
SN 0208—1993 出口肉中十种磺胺残留量检验方法
SN 0530—1996 出口肉品中呋喃唑酮残留量的检验方法 液相色谱法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

渔用药物 fishery drugs

用以预防、控制和治疗水产动、植物的病、虫、害,促进养殖品种健康生长,增强机体抗病能力以及改善养殖水体质量的一切物质,简称“渔药”。

3.2

渔药残留 residues of fishery drugs

在水产品的任何食用部分中渔药的原型化合物或/和其代谢产物,并包括与药物本体有关杂质的残留。

3.3

最高残留限量 maximum residue Limit, MRL

允许存在于水产品表面或内部(主要指肉与皮或/和性腺)的该药(或标志残留物)的最高量/浓度(以鲜重计,表示为:μg/kg 或 mg/kg)。

4 要求

4.1 渔药使用

水产养殖中禁止使用国家、行业颁布的禁用药物,渔药使用时按 NY 5071 的要求进行。

4.2 水产品中渔药残留限量要求

水产品中渔药残留限量要求见表 1。

表 1 水产品中渔药残留限量

药物类别		药物名称		指标(MRL)/(μg/kg)
		中文	英文	
抗生素类	四环素类	金霉素	chlortetracycline	100
		土霉素	Oxytetracycline	100
		四环素	Tetracycline	100
	氯霉素类	氯霉素	Chloramphenicol	不得检出
磺胺类及增效剂		磺胺嘧啶	Sulfadiazine	100 (以总量计)
		磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	
		磺胺二甲基嘧啶	Sulfadimidine	
		磺胺甲噁唑	sulfamethoxazole	
		甲氧苄啶	Trimethoprim	50
喹诺酮类	噁喹酸	Oxilinic acid	300	
硝基咪唑类	呋喃唑酮	Furazolidone	不得检出	
其他	己烯雌酚	Diethylstilbestrol	不得检出	
	喹乙醇	Olaquinox	不得检出	

5 检测方法

5.1 金霉素、土霉素、四环素

金霉素测定按 NY 5029—2001 中附录 B 规定执行,土霉素、四环素按 SC/T 3303—1997 中附录 A 规定执行。

5.2 氯霉素

氯霉素残留量的筛选测定方法按本标准中附录 A 执行,测定按 NY 5029—2001 中附录 D(气相色谱法)的规定执行。

5.3 磺胺类

磺胺类中的磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶的测定按 SC/T 3303 的规定执行,其他磺胺类按 SN/T 0208 的规定执行。

5.4 噁喹酸

噁喹酸的测定按 SN/T 0206 的规定执行。

5.5 呋喃唑酮

呋喃唑酮的测定按 SN/T 0530 的规定进行。

5.6 己烯雌酚

己烯雌酚残留量的筛选测定方法按本标准中附录 B 规定执行。

5.7 喹乙醇

喹乙醇的测定按 SN/T 0197 的规定执行。

6 检验规则

6.1 检验项目

按相应产品标准的规定项目进行。

6.2 抽样

6.2.1 组批规则

同一水产养殖场内,在品种、养殖时间、养殖方式基本相同的养殖水产品为一批(同一养殖池,或多个养殖池);水产加工品按批号抽样,在原料及生产条件基本相同下同一天或同一班组生产的产品为一批。

6.2.2 抽样方法

6.2.2.1 养殖水产品

随机从各养殖池抽取有代表性的样品,取样量见表2。

表2 取样量

生物数量/(尾、只)	取样量/(尾、只)
500 以内	2
500~1 000	4
1 001~5 000	10
5 001~10 000	20
≥10 001	30

6.2.2.2 水产加工品

每批抽取样本以箱为单位,100 箱以内取 3 箱,以后每增加 100 箱(包括不足 100 箱)则抽 1 箱。

按所取样本从每箱内各抽取样品不少于 3 件,每批取样量不少于 10 件。

6.3 取样和样品的处理

采集的样品应分成两等份,其中一份作为留样。从样本中取有代表性的样品,装入适当容器,并保证每份样品都能满足分析的要求;样品的处理按规定的方法进行,通过细切、绞肉机绞碎、缩分,使其混合均匀;鱼、虾、贝、藻等各类样品量不少于 200 g。各类样品的处理方法如下:

- a) 鱼类:先将鱼体表面杂质洗净,去掉鳞、内脏,取肉(包括脊背和腹部)肉和皮一起绞碎,特殊要求除外。
- b) 龟鳖类:去头、放出血液,取其肌肉包括裙边,绞碎后进行测定。
- c) 虾类:洗净后,去头、壳,取其肌肉进行测定。
- d) 贝类:鲜的、冷冻的牡蛎、蛤蜊等要把肉和体液调制均匀后进行分析测定。
- e) 蟹:取肉和性腺进行测定。
- f) 混匀的样品,如不及时分析,应置于清洁、密闭的玻璃容器,冰冻保存。

6.4 判定规则

按不同产品的要求所检的渔药残留各指标均应符合本标准的要求,各项指标中的极限值采用修约值比较法。超过限量标准规定时,允许加倍抽样将此项指标复验一次,按复验结果判定本批产品是否合格。经复检后所检指标仍不合格的产品则判为不合格品。

附录 A

(规范性附录)

氯霉素残留的酶联免疫测定法

A.1 适用范围

本方法适用于测定水产品肌肉组织中氯霉素的残留量。

A.2 原理

利用抗体抗原反应。微孔板包被有针对兔免疫球蛋白(IgG)(氯霉素抗体)的羊抗体,加入氯霉素抗体、氯霉素标记物、标准和样品溶液。游离氯霉素与氯霉素酶标记物竞争氯霉素抗体,同时氯霉素抗体与羊抗体连接。没有连接的酶标记物在洗涤步骤中被洗去。将酶基质(过氧化尿素)和发色剂(四甲基联苯胺)加入到孔中并孵育;结合的酶标记物将无色的发色剂转化为蓝色的产物。加入反应停止液后使颜色由蓝变为黄,在 450 nm 处测量,吸光度与样品的氯霉素浓度成反比。

A.3 检测限

筛选方法的检测下限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

A.4 仪器

- A.4.1 微孔酶标仪(450 nm)。
- A.4.2 离心机。
- A.4.3 旋转蒸发仪。
- A.4.4 混合器。
- A.4.5 移液器。
- A.4.6 50 μL , 100 μL , 450 μL 微量加液器等。

A.5 药品和试剂

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

- A.5.1 乙酸乙酯。
- A.5.2 乙腈。
- A.5.3 正己烷。
- A.5.4 磷酸盐缓冲液(PBS)(pH7.2): 0.55 g 磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 2.85 g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 9 g 氯化钠(NaCl)加入蒸馏水至 1 000 mL。

A.6 标准溶液

分别取标准浓缩液 50 μL 用 450 μL 缓冲液 1(试剂盒提供)稀释并混均匀,制成 0、50 ng/L、150 ng/L、450 ng/L、1 350 ng/L、4 050 ng/L 的标准溶液。

A.7 样品提取和纯化

- A.7.1 取 5.0 g 粉碎的鱼肉样品(样品先去脂肪组织),与 20 mL 乙腈水溶液(86+16)混合 10 min, 15 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min(4 000 r/min)。
- A.7.2 取 3 mL 上清液与 3 mL 蒸馏水混合,加入 4.5 mL 乙酸乙酯混合 10 min, 15 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min

(4 000 r/min)。

A. 7.3 将乙酸乙酯层转移至另一瓶中继续干燥,用 1.5 mL 缓冲液 1 溶解干燥的残留物,加入 1.5 mL 正己烷混合。

A. 7.4 完全除去正己烷层(上层),取 50 μ L 水相进行分析。

A. 8 样品测定程序

A. 8.1 将足够标准和样品所用数量的孔条插入微孔架,记录下标准和样品的位置,每一样品和标准做两个平行实验。

A. 8.2 加入 50 μ L 稀释了的酶标记物到微孔底部,再加入 50 μ L 的标准或处理好的样品液到各自的微孔中。

A. 8.3 加入 50 μ L 稀释了的抗体溶液到每一个微孔底部充分混合,在室温孵育 2 h。

A. 8.4 倒出孔中的液体,将微孔架倒置在吸水纸上拍打(每行拍打 3 次)以保证完全除去孔中的液体,然后用 250 μ L 蒸馏水充入孔中,再次倒掉微孔中的液体,再重复操作两次。

A. 8.5 加入 50 μ L 基质、50 μ L 发色试剂到微孔中,充分混合并在室温、暗处孵育 30 min。

A. 8.6 加入 100 μ L 反应停止液到微孔中,混合好,以空气为空白,在 450 nm 处测量吸光度值(注意:必须在加入反应停止液后 60 min 内读取吸光度值)。

A. 9 结果

所获得的标准和样品吸光度值的平均值除以第一个标准(0 标准)的吸光度值再乘以 100,得到以百分比给出的吸光度值,以式(A. 1)表示:

$$E(\%) = \frac{A}{A_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A. 1)$$

式中:

E ——吸光度值, %;

A ——标准或样品的吸光度值;

A_0 ——0 标准的吸光度值。

以计算的标准值绘成一个对应氯霉素浓度(ng/L)的半对数坐标系统曲线图,校正的曲线在 50 ng/L~1 350 ng/L 的范围内应成为线性,相对应的每一个样品的浓度,可以从曲线上读出。乘以稀释倍数即可得到样品中氯霉素的实际浓度(ng/kg)。

附录 B

(规范性附录)

己烯雌酚(DES)残留的酶联免疫测定法

B.1 适用范围

本方法适用于测定水产品肌肉等可食组织中己烯雌酚的残留量。

B.2 原理

测定的基础是利用抗体抗原反应。微孔板包被有针对兔 IgG(DES 抗体)的羊抗体,加入 DES 抗体、标准和样品溶液。DES 与 DES 抗体连接,同时 DES 抗体与羊抗体连接。洗涤步骤后,加入 DES 酶标记物,DES 酶标记物与孔中未结合的 DES 抗体结合,然后在洗涤步骤中除去未结合的 DES 酶标记物。将酶基质和发色剂(四甲基联苯胺)加入到孔中并孵育;结合的酶标记物将无色的发色剂转化为蓝色的产物。加入反应停止液后使颜色由蓝变为黄,在 450 nm 处测量,吸光度与样品的己烯雌酚浓度成反比。

B.3 检测限

己烯雌酚检测的下限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

B.4 仪器

- B.4.1 微孔酶标仪(450 nm)。
- B.4.2 离心机。
- B.4.3 37℃恒温箱。
- B.4.4 移液器。
- B.4.5 50 μL , 100 μL , 450 μL 微量加液器。
- B.4.6 RIDA C₁₈柱等。

B.5 试剂和标准溶液

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。

- B.5.1 叔丁基甲基醚。
- B.5.2 石油醚。
- B.5.3 二氯甲烷。
- B.5.4 6 mol/L 磷酸。
- B.5.5 乙酸钠缓冲液等。
- B.5.6 提供的 DES 标准液为直接使用液,浓度为 0、 12.5×10^{-9} mol/L、 25×10^{-9} mol/L、 50×10^{-9} mol/L、 100×10^{-9} mol/L、 200×10^{-9} mol/L。

B.6 样品处理

- B.6.1 取 5.0 g 肌肉(除去脂肪组织),用 10 mL pH 为 7.2 的 67 mmol/L 磷酸缓冲液研磨后,用 8 mL 叔丁基甲基醚提取研磨物,强烈振荡 20 min;离心 10 min(4 000 r/min);移去上清液,用 8 mL 叔丁基甲基醚重复提取沉淀物。
- B.6.2 将两次提取的醚相合并,并且蒸发;用 1 mL 甲醇(70%)溶解干燥的残留物;用 3 mL 石油醚洗涤甲醇溶液(研磨 15 s,短时间离心,吸除石油醚)。

B.6.3 蒸发甲醇溶液,用 1 mL 二氯甲烷溶解后,再用 3 mL 1 mol/L 的氢氧化钠(NaOH)溶液提取;然后 300 μ L 6 mol/L 磷酸中和提取液,用 RIDA.C₁₈柱进行纯化。

B.7 测定程序(室温 20℃~24℃条件下操作)

B.7.1 将足够标准和样品所用数量的孔条插入微孔架,标准和样品做两个平行实验,记录下标准和样品的位置。

B.7.2 加入 20 μ L 的标准和处理好的样品到各自的微孔中,标准和样品做两个平行实验。

B.7.3 加入 50 μ L 稀释后的 DES 抗体到每一个微孔中,充分混合并在 2℃~8℃孵育过夜(注意:在第二天早上继续进行实验之前,微孔板应在室温下放置 30 min 以上,稀释用缓冲液也应回到室温,因此最好将缓冲液放在室温下过夜)。

B.7.4 倒出孔中的液体,将微孔架倒置在吸水纸上拍打(每行拍打 3 次)以保证完全除去孔中的液体,用 250 μ L 蒸馏水充入孔中,再次倒掉微孔中液体,再重复操作一次。

B.7.5 加入 50 μ L 稀释的酶标记物到微孔底部,室温孵育 1 h。

B.7.6 倒出孔中的液体,将微孔架倒置在吸水纸上拍打(每次拍打 3 次)以保证完全除去孔中的液体,用 250 μ L 蒸馏水充入孔中,再次倒掉微孔中液体,再重复操作两次。

B.7.7 加入 50 μ L 基质和 50 μ L 发色试剂到微孔中,充分混合并在室温暗处孵育 15 min。

B.7.8 加入 100 μ L 反应停止液到微孔中,混合好在 450 nm 处测量吸光度值(可选择>600 nm 的参比滤光片),以空气为空白,必须在加入停止液后 60 min 内读取吸光度值。

B.8 结果

所获得的标准和样品吸光度值的平均值除以第一个标准(0 标准)的吸光度值再乘以 100,得到以百分比给出的吸光度值,以式(B.1)表示:

$$E(\%) = \frac{A}{A_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots(B.1)$$

式中:

E ——吸光度值, %;

A ——标准或样品的吸光度值;

A_0 ——0 标准的吸光度值。

以计算的标准值绘成一个对应 DES 浓度(ng/L)的半对数坐标系统曲线图,校正的曲线在 25 ng/L~200 ng/L 的范围内应成为线性,相对应的每一个样品的浓度,可以从曲线上读出。乘以稀释倍数即可得到样品中 DES 的实际浓度(ng/kg)。