

# 生鲜牛奶与消毒鲜牛奶中抗生素残留的检测比较<sup>①</sup>

陈雪华<sup>②</sup>

(中国热带农业科学院分析测试中心 海南海口 571101)

**摘要** 根据抗生素对微生物的生理功能和代谢的抑制作用, 选用微生物的 TTC 法和普通平板抑菌圈 2 种方法, 通过 8 组试验分别对含抗生素的消毒鲜牛奶与不消毒鲜牛奶、不含抗生素的消毒鲜牛奶与不消毒鲜牛奶中抗生素的残留进行定性检测比较。结果表明, 消毒牛奶与不消毒牛奶在 TTC 法中显色状态相同, 在普通平板抑菌圈法中均出现直径大小相近的抑菌圈。说明经加热灭菌处理后的消毒鲜牛奶与生鲜牛奶一样, 其抗生素残留依然存在, 没有受到影响。

**关键词** 牛奶; 抗生素; 残留

**分类号** TS207.5; S859.24

## Comparison of Antibiotics Residual in Fresh Milk and Disinfected Milk

CHEN Xuehua

(Analytic and Testing Center, CATAS, Haikou, Hainan 571101)

**Abstract** Antibiotics have inhibitory action on the physiological function and metabolism of microorganisms. Two methods, i.e. the TTC method and the ordinary plate inhabitation zone method, were used to compare the antibiotics residual qualitatively in fresh milk and disinfected milk with or without antibiotics through 8 groups of experiments. The results showed that the fresh milk and disinfected milk had similar colored conditions derived from the TTC method, and that the diameter of the inhibition zones was almost the same for the fresh milk and the disinfected milk, indicating that the antibiotics residual was not affected and still existed in the disinfected milk through heating treatment as in the fresh milk.

**Keywords** milk; antibiotic; residual

抗生素在畜牧业中广泛应用, 牧场内经常应用抗生素治疗乳牛的各种疾病, 特别是乳牛的乳房炎。有时用抗生素直接注射乳房部位进行治疗, 不可避免地造成牛乳中残留抗生素。凡经抗生素治疗过的乳牛, 其牛奶在一定时期内仍残留着抗生素。如果人们长期食用含有抗生素残留的牛奶, 易造成体内的有益菌群失调。残留在牛奶中的抗生素不仅危害人类的健康, 同时也影响牛奶的品质。世界卫生组织 1979 年正式将抗生素列为被检测的污染物, 以后许多国家都规定了消毒牛奶中不得检出抗生素。我国食品卫生标准也规定, 消毒牛奶中不得检出抗生素。农业部 2001 年发布的无公害食品行业

标准中, 也明确规定牛奶中“抗生素不得检出”<sup>[1, 2]</sup>。但是消毒鲜牛奶中抗生素残留现象屡有发生, 这是由于养殖户及奶产品企业对抗生素的残留缺乏足够的认识, 有的甚至认为高压灭菌会消除残留在牛奶中的抗生素。而事实上, 消毒牛奶与生鲜牛奶中抗生素残留情况是否一样呢, 必须通过科学的试验, 让广大的奶制品企业和消费者得以了解。在此笔者选择了微生物 TTC 法和普通平板抑菌圈(纸片法 Paper Disc) 2 种方法进行了试验比较。TTC 法即氯化三苯基四氮唑法(triphey tetrazolium chloride), 该方法利用嗜热乳酸链球菌, 当被检牛奶中有抗生素存在时, 加入菌种经培养后, 菌种受乳中抗生素的抑制而不

① 收稿日期: 2007-09-12

版面编辑/曾莉娟

编辑部 E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn 或 rdnk@163.com

② 陈雪华(1960~), 女, 实验师。电话: (0898)66895007; E-mail: chenxuehua2116@163.com。

增殖,此时加入的TTC指示剂不发生还原反应,即为阳性;反之若牛乳中没有抗生素存在,则加入菌种后即行增殖,TTC还原成红色,即为阴性。普通平板抑菌圈法则是通过圆盘纸在特定培养基平面上得到的抑菌圈直径大小来判断该牛奶中是否有抗生素的存在<sup>[3-6]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

鲜牛乳、脱脂乳,市售,113℃灭菌20 min,备用。嗜热乳酸链球菌,购自中科院微生物研究所。恒温水浴箱;100℃温度计;消毒锅;培养箱;灭菌吸管等微生物室常用材料。TTC水溶液,装在褐色瓶内,置于7℃冰箱保存,临用时用灭菌蒸馏水1:5稀释。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌液的制备

用活化培养基(酪蛋白胨10.0g、牛肉提取物10.0g、酵母提取物5.0g、葡萄糖5.0g、乙酸钠5.0g、柠檬酸二铵2.0g、吐温80 1.0g、磷酸氢二钾2.0g、硫酸镁0.2g、硫酸锰0.05g、碳酸钙15.0g、琼脂15g、蒸馏水1000mL,pH 6.8,培养温度37℃)活化嗜热乳酸链球菌菌种,然后将菌种移种于经灭菌的脱脂乳,置于(36±1)℃培养箱培养15h后与灭菌脱脂乳1:1稀释待用。

#### 1.2.2 含抗生素消毒鲜牛奶的制备

量取100 mL含抗生素鲜牛奶,置于三角烧瓶经113℃灭菌20 min待用。

#### 1.2.3 不含抗生素消毒鲜牛奶的制备

量取100 mL不含抗生素鲜牛奶,置于三角烧瓶经113℃灭菌20 min待用。

#### 1.2.4 嗜热乳酸链球菌平板的制备

将1.2.1制备好的菌液按一定的量与经灭菌并冷却到45℃的活化培养基混均后制成约1.0 mm的平板。

#### 1.2.5 圆盘灭菌纸的制备

自制直径为8 mm的圆盘纸,经121℃灭菌20 min待用。

#### 1.2.6 TTC检测

##### 1.2.6.1 含抗生素消毒鲜牛奶

取经1.2.2制备好的制备液9 mL,置于15

mm×150 mm试管中,80℃水浴加热5 min,然后冷却至37℃以下,加1 mL菌液,(36±1)℃水浴培养2 h后,加0.3 mL TTC,继续(36±1)℃水浴培养30 min,观察,2支试管(另一支为平行)均为原乳色,再培养30 min后第二次观察,均为原乳色。

##### 1.2.6.2 不含抗生素消毒鲜牛奶

均匀取经1.2.3制备好的制备液9 mL,置于15 mm×150 mm试管中,80℃水浴加热5 min,然后冷却至37℃以下,加1 mL菌液,(36±1)℃水浴培养2 h后,加0.3 mL的TTC,继续(36±1)℃水浴培养30 min,观察,两支试管(另一支为平行)均为桃红色。

含抗生素不消毒鲜牛奶和不含抗生素不消毒鲜牛奶方法同上。

#### 1.2.7 抑菌圈试验

用灭菌吸管将浸渍在1.2.2制备液中的圆盘纸放置于1.2.4制备的平板培养基上,每个平皿放4片,同时用另一灭菌吸管将浸渍在1.2.3制备液中的圆盘纸放置于1.2.4制备的平板培养基上。在37℃下培养24 h后观察抑菌圈的直径。

抗生素未经消毒鲜牛奶与不含抗生素未经消毒鲜牛奶抑菌试验同上。

## 2 结果与分析

TTC法检测抗生素的结果如表1。从表1可知,TTC法中含抗生素的消毒与不消毒牛奶的2组实验显色状态相同,不含抗生素的消毒与不消毒牛奶的两组实验显

色状态相同。

普通抑菌圈试验结果见表2。从表2可知,平板抑菌圈法中含抗生

素的消毒与不消毒牛奶抑菌圈直径大小相近,不含抗生素的消毒与不消毒牛奶均

表1 TTC法显色状态标准判断

组别	显色状态	判断
含抗生素消毒鲜牛奶	原乳色	阳性
不含抗生素消毒鲜牛奶	桃红色	阴性
含抗生素鲜牛奶	原乳色	阳性
不含抗生素鲜牛奶	桃红色	阴性

表2 抑菌圈直径

组别	直径/mm
含抗生素消毒鲜牛奶	12.5
不含抗生素消毒鲜牛奶	8
含抗生素鲜牛奶	12.6
不含抗生素鲜牛奶	8

出现相同的抑菌圈。说明生鲜牛奶中抗生素的残留,不会因加热消毒处理而减少或消除,所以要消除或减少牛奶中抗生素的残留,关键在于控制饲养乳牛所用饲料中添加的抗生素成分以及兽医在临床上的正确选药和科学合理的用药。

### 3 讨论

TTC法是我国关于奶制品中抗生素残留检测的国家标准方法(GB5409-85),也是农业部发布的《无公害食品生鲜牛乳》以及《绿色食品消毒牛乳标准》中规定的检测标准方法。抑菌圈法是传统的普通检测法,这两种方法都比较直观、简便、快速、无需特殊设备。2种实验方法的各种抗生素灵敏度(最低检出量)分别为:TTC法,青霉素0.004 U/mL,链霉素0.5 U/mL,庆大霉素0.4 U/mL,卡那霉素5 U/mL;抑菌圈法,氯霉素0.01 mg/kg,土霉素0.05 mg/kg,链霉素1 mg/kg,红霉素0.05 mg/kg,

青霉素0.0025 mg/kg<sup>[7]</sup>。

#### 参考文献

- 1 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业行业标准《无公害食品生鲜牛乳》(NY5045-2001). 北京: 中国标准出版社, 2002
- 2 鲜乳中抗生素残留量检测(GB4789.27-94). 国家标准汇编. 1996年修订. 北京: 中国标准出版社, 1997. 675~677
- 3 张彦明, 余锐萍, 薛慧文. 动物性食品卫生学. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2002
- 4 郭文欣, 王国忠, 孙丹, 等. 鲜奶抗生素残留的检测. 黑龙江畜牧兽医, 2001(3): 33
- 5 杜雅楠, 孙国庆, 苗丽, 等. 市售消毒纯牛乳中抗生素残留的检测. 中国奶牛, 2005(2): 52
- 6 王春奕, 赵青, 叶成江, 等. 消毒鲜牛奶中抗生素残留的检测. 中国兽医科技, 1996, 26(11): 31~32
- 7 邓斌, 邓春来, 张曦. 牛奶中抗生素残留及其检测方法研究进展. 饲料广角, 2002(24): 19~22

(上接第28页)

关系数(0.3469)大于初生、1月龄、3月龄体重与周岁体重的相关系数(分别为0.1382、0.2479、0.3448),而接近6月龄体重与周岁体重的相关系数(0.4685)。因此,可以考虑用2月龄体重作为海南黑山羊体重早期选择的指标。

3.4 生长曲线也称S型曲线,是描述单一种群受空间约束的生长过程曲线,在生命科学领域得到广泛应用<sup>[4]</sup>。笔者采用Logistic模型研究海南黑山羊早期生长发育规律,其拟合度 $R^2$ 达到0.9910,说明所选资料用来拟合海南黑山羊早期生长曲线方程是合适的。

3.5 根据拟合的Logistic生长曲线,计算出海南黑山羊的拐点月龄为1.0728(32.184d)。这是海南黑山羊生长的一个关键时期,应加强饲养管理。

3.6 本文仅是笔者针对舍饲条件下海南黑山羊的生长发育规律的初步探讨,而在放牧条件下以及饲养管理模式进一步优化后的生长发育规律,尚需要进一步的研究。

#### 参考文献

- 1 李恒德. 对不同生长曲线模型的讨论[A]. 见: 中国畜牧兽医学数量遗传研究会. 中国动物遗传育种研究进展[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2003. 72~74
- 2 杨运清. 动物生长模型的优化拟合方法[J]. 数理统计与管理, 2001(5): 43~48
- 3 《中国羊品种志》编写组. 中国羊品种志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989
- 4 陶国玉. 一种确定生长曲线参数的新方法[J]. 北京农业工程大学学报, 1986(1): 74~80