

团 体 标 准

T/GDAQ 00001.X—2022

农产品中菊酯类农药残留量的快速检测 羧酸酯酶法

Rapid determination for Pyrethrins pesticide residues

征求意见稿

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2022 - XX - XX 发布

2022 - XX - XX 实施

广东省质量协会 发布

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 原理.....	错误! 未定义书签。
3 仪器和设备.....	2
4 试剂和材料.....	2
5 样品处理.....	3
6 分析步骤.....	3
7 结果的表述计算.....	3
8 灵敏度.....	3
9 说明.....	4
参考文献.....	1

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院广州化学研究所中科检测有限公司提出。

本文件由广东省质量协会归口。

本文件起草单位：中国科学院广州化学研究所中科检测有限公司、广东省质量协会、XXX。

本文件主要起草人：

农产品中菊酯类农药残留量的快速检测 羧酸酯酶法

1 范围

本文件规定了羧酸酯酶法测定农产品中甲氰菊酯、联苯菊酯等I型拟除虫菊酯类农药残留量的快速检测方法。

本文件适用于农产品中甲氰菊酯、联苯菊酯等I型拟除虫菊酯类农药残留量的快速筛选测定。

2 原理

样品中的菊酯类农药经有机溶剂萃取、浓缩后再用磷酸盐缓冲液复溶。样品复溶液与动物源羧酸酯酶发生显色反应，其中羧酸酯酶与底物 α -乙酸萘酯进行酶促反应生成 α -萘酚， α -萘酚在可见光范围内是无色的，当与显色剂固兰 B 相互结合时生成紫色的重氮化合物，在可见波长 535nm 处测定。

3 仪器和设备

- 3.1 紫外双光束分光光度计。
- 3.2 酸度计。
- 3.3 旋转蒸发器。
- 3.4 低速离心机。
- 3.5 分析天平：感量 0.1 mg。
- 3.6 恒温水浴锅。

4 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682中规定的一级水。

4.1 试剂

- 4.1.1 羧酸酯酶液（猪肝酶源）。
- 4.1.2 固蓝 B 盐溶液：浓度为 0.02 %。
- 4.1.3 α -乙酸萘酯溶液：浓度为 0.015mol/L。
- 4.1.4 十二烷基硫酸钠(SDS)水溶液：浓度为 3 %。
- 4.1.5 无水磷酸氢二钾。
- 4.1.6 无水乙醇。
- 4.1.7 甲氰菊酯标准溶液：浓度为 100 μ g/mL。
- 4.1.8 联苯菊酯标准溶液：浓度为 100 μ g/mL。
- 4.1.9 浓盐酸：浓度为 12 mol/L。
- 4.1.10 α -萘酚系列标准溶液：

4.2 试剂配制

4.2.1 稀盐酸溶液 (0.1 mol/L)：取浓盐酸 (4.1.13) 5 mL，加蒸馏水定容至10mL。

4.2.2 磷酸盐缓冲液 (pH 6.5)：称取无水磷酸氢二钾 (4.1.5) 11.9 g与磷酸二氢钾 (4.1.6) 3.2 g，用蒸馏水1000 mL溶解，用稀盐酸溶液 (4.2.1) 调节溶液的pH值至6.5。

5 样品处理

选取有代表性的蔬菜样品，清洗掉表面泥土，剪成1 cm左右见方碎片，称取样品3 g，加入乙腈溶液 (4.1.12) 10 mL振摇2 min，用低速离心机 (3.4) 离心，取上清液5 mL氮吹至近干，再加入磷酸盐缓冲液 (3.2.2) 5 mL溶解，待测。

6 分析步骤

量取羧酸酯酶液 (4.1.1) 0.25 mL，与样品待测液混匀，加入磷酸盐缓冲液 (4.2.2) 5 mL、加入 α -乙酸萘酯溶液 (4.1.3) 0.3 mL，于恒温水浴 (温度37℃) 反应5 min；加入显色剂0.5mL (固兰B盐+SDS=2+5)，混匀计时30 s后，再加入稀盐酸溶液 (4.2.1) 0.2 mL终止显色反应，混匀后以把酶液换成蒸馏水的溶液作空白，用分光光度检测并记录数据。

7 结果的表述计算

7.1 α -萘酚曲线的绘制

分别向一系列比色管中依次加入磷酸盐缓冲液5.0mL, 0.3 mL一系列 α -萘酚溶液，混合均匀后于恒温水浴 (温度37℃) 反应5 min，再依次加入加入显色剂0.5 mL (固兰B盐+SDS=2+5)，混匀计时30 s后，再加入稀盐酸溶液 (4.2.1) 0.2 mL终止显色反应。摇匀后吸取2.5 mL待测液于比色皿中，放入分光光度计中，于525 nm波长处测定吸光度值，绘制 α -萘酚标准曲线。

7.2 结果计算

7.2.1 酶的活力

见式 (1)。

$$U = (A - A_0) \times (V/t) \times (n/m) \dots\dots\dots (1)$$

式中：U为酶活力 (U/mg)；A为酶解底物的吸光度值；A₀为对照组的吸光度值；V为酶解体系的总体积 (mL)；t为反应时间 (min)；n为稀释倍数；m为每种蛋白质的质量。

7.2.1 抑制率

见式 (2)。

$$\text{抑制率 (\%)} = [(\Delta A_0 - \Delta A_t) / \Delta A_0] \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中： ΔA_0 ——对照溶液吸光度值； ΔA_t ——样品溶液吸光度测定值。

7.3 结果判定

结果以酶被抑制的程度（抑制率）表示。当抑制率 $\geq 50\%$ 时，表示蔬菜中拟除虫菊酯类农药残留高于检测限，判定为阳性，阳性结果的样品需要重复检验2次以上（酶活 $> 2U/mg$ ）。

对阳性结果的样品，可用其他方法进一步确定具体农药品种和含量。

8 灵敏度

酶抑制率法对部分农药的检出限见表1。

表 1 酶抑制率法对部分拟除虫菊酯类农药的检出限

农药名称	检出限/ (mg/kg)
甲氰菊酯	1.0
联苯菊酯	1.0

9 说明

9.1 快速检测方法容易受个别颜色较深物质影响，比如菠菜、火龙果等等，需要在前处理方法上做进一步优化。

9.2 实验需要用到个别强酸强碱，使用过程中应做好实验防护。

参考文献

- [1] GB/T 5009.146 植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯类农药多种残留量的测定
- [2] GB/T 5009.199 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留量的快速检测
- [3] GB 23200.113 食品安全国家标准 植物源性食品中208种农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱-质谱联用法
- [4] GB 31658.8 食品安全国家标准 动物性食品中拟除虫菊酯类药物残留量的测定 气相色谱-质谱法
- [5] GB/T 38148 生物产品降解拟除虫菊酯类农药功效评价技术规范
- [6] NY/T 761 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定
- [7] SN/T 0217 出口植物源性食品中多种菊酯残留量的检测方法 气相色谱-质谱法
- [8] DB34/T 1075 蔬菜、水果、粮食、茶叶中30种有机氯和拟除虫菊酯类农药多残留同时测定方法 气相色谱法
- [9] 赵文婷, 李硕, 赵汗青, 刘春晓, 王莹. 咖啡渣生物炭在富集水体中拟除虫菊酯类农药中的应用 [P]. CN113943029A, 2022-01-18.
- [10] 张维谊, 丰东升, 王敏, 王霞, 梅博, 陈美莲, 沈斯文, 高猛峰, 童金蓉, 汪弘康. 一种对10种拟除虫菊酯类农药残留进行原位快速检测的方法及其试剂盒 [P]. CN113933446A, 2022-01-14.
- [11] 徐斐, 朱念辛, 叶泰, 袁敏, 曹慧, 于劲松. 一种快速检测拟除虫菊酯类农药残留的方法 [P]. CN106124433A, 2016-11-16.
- [12] 白冰, 张耀丹, 司文帅, 王守英, 黄志英. 一种农药残留的测定方法 [P]. CN113433247A, 2021-09-24.
- [13] 王秀国, 刘通, 陈丹, 郑晓, 徐光军. 一种测定农作物中菊酯类农药残留的检测方法 [P]. CN111766382A, 2020-10-13.
- [14] 梅跃进, 姜沁成. 一种亚临界萃取除虫菊酯的方法 [P]. CN107445924B, 2020-05-08.
- [15] 赵妍. 拟除虫菊酯类农药残留快速检测方法的建立 [D]. 上海交通大学, 2020. DOI:10.27307/d.cnki.gs.jtu.2020.001890.