ICS 67.040
C 53

中华人民共和国国家标准

GB/T 18630—2002

蔬菜中有机磷及氨基甲酸酯农药残留量的简易检验方法　酶抑制法

Method for simple determination of organophosphorus and carbamate pesticide residues in vegetables_Enzyme inhibition method

2002-01-28 发布　　2002-06-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局　发布

需要全本请访问 www.ertongbook.com

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
蔬菜中有机磷及氨基甲酸酯农药
残留量的简易检验方法 酶抑制法
GB/T 18630—2002
*
中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电话:68523946 68517548
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
*
开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 10 千字
2002年4月第一版 2002年4月第一次印刷
印数 1—3 000
*
书号:155066·1-18315 定价 8.00 元
网址 www.bzcbs.com

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

前　　言

本标准在制定过程中主要参考了以下标准：

食品中有机磷农药残留测定　胆碱酯酶抑制法(AOAC 12th 29.049-29.055)

本标准的附录 A 是规范性附录。

本标准由辽宁省质量技术监督局提出。

本标准由沈阳农业大学、沈阳市质量技术监督局苏家屯分局负责起草。

本标准主要起草人：周艳明、高淑英、张会娟、王晓光、李亮亮、李海峰、吴小琳、牛森。

蔬菜中有机磷及氨基甲酸酯农药残留量的简易检验方法　酶抑制法

1　范围

本标准规定了用酶抑制法测定蔬菜中有机磷农药及氨基甲酸酯农药残留的简易检验方法。

本标准适用于蔬菜中有机磷农药及氨基甲酸酯农药残留的测定。

2　原理

有机磷农药及氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶的活性有抑制作用，在一定条件下，其抑制率取决于农药种类及其含量。

在 pH7～8 的溶液中，碘化硫代乙酰胆碱被胆碱酯酶水解，生成硫代胆碱。硫代胆碱具有还原性，能使蓝色的 2，6-二氯靛酚褪色，褪色程度与胆碱酯酶活性正相关，可在 600 nm 比色测定，酶活性愈高时，吸光度值愈低。当样品提取液中有一定量的有机磷农药或氨基甲酸酯类农药存在时，酶活性受到抑制，吸光度值则较高。据此，可判断样品中有机磷农药或氨基甲酸酯类农药的残留情况。样品提取液用氧化剂氧化，可提高某些有机磷农药的抑制率，因而可提高其测定灵敏度，过量的氧化剂再用还原剂还原，以免干扰测定。

3　试剂或材料

3.1　底物溶液：2%碘化硫代乙酰胆碱水溶液，1 g 碘化硫代乙酰胆碱，加缓冲液溶解并定容至 50 mL。

3.2　缓冲液：

pH7.71 磷酸盐缓冲液：

A 液：1/15 mol/L 磷酸氢二钠溶液：称取磷酸氢二钠（$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$）2.387 6 g 加水定容至 100 mL。

B 液 1/15 mol/L 磷酸二氢钾溶液：称取磷酸二氢钾 0.907 8 g 加水定容至 100 mL。

取 A 液 90 mL、B 液 10 mL 混合，即得 pH7.71 磷酸盐缓冲液。

3.3　显色剂：0.04% 2，6-二氯靛酚水溶液。

3.4　氧化剂：0.5%次氯酸钙水溶液。

3.5　还原剂：10%亚硝酸钠水溶液。

3.6　胆碱酯酶液，0.2 g 酶粉（其制备方法见附录 A）加 10 mL 缓冲液溶解。

3.7　脱色剂：活性炭。

3.8　丙酮：分析纯。

3.9　碳酸钙：分析纯。

4　装置

4.1　分光光度计。

5 分析步骤

以下操作可在 15℃～30℃温度下进行。

5.1 试样的制备

蔬菜样品擦去表面泥水，取代表性食部，剪碎，取 2 g 置于 10 mL 烧杯中，加 5 mL 丙酮浸泡 5 min，不时振摇，加 0.2 g 碳酸钙(对于番茄等酸性较强的样品可加 0.3～0.4 g)。若颜色较深，可加 0.2 g 活性炭，摇匀，过滤。

5.2 氧化

取 0.5 mL 丙酮滤液于 5 mL 烧杯中，吹干丙酮后，加 0.3 mL 缓冲液溶解。加入氧化剂 0.1 mL，摇匀后放置 10 min。再加入还原剂 0.3 mL，摇匀。

5.3 酶解

加入酶液 0.2 mL，摇匀，放置 10 min，再加入底物溶液 0.2 mL，显色剂 0.1 mL，放置 5 min 后测定。

5.4 测定

分光光度计波长调至 600 nm，其他按常规操作，读取测定值。

6 结果的表述

6.1 测定结果的使用

当测定值在 0.7 以下时，为未检出。

当测定值在 0.7～0.9 之间时，为可能检出，但残留量较低。

当测定值为 0.9 以上时，为检出。

测定值与农药残留量正相关，测定值越高时，说明农药残留量越高。

6.2 方法最低检出浓度

本方法最低检出浓度见表 1。

表 1 最低检出浓度

单位为毫克每千克

农药	西红柿	黄瓜	茼蒿	生菜	甘蓝
抗蚜威	0.1	0.2	0.1	0.1	0.3
伏杀磷	0.3	0.6	0.2	0.5	0.5
敌敌畏	1.0	0.8	0.8	1.0	1.3
内吸磷	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0
辛硫磷	0.5	0.4	0.4	0.5	1.0
西维因	1.0	1.0	0.5	0.5	0.5
甲拌磷	1.0	1.0	0.5	0.2	0.5
敌百虫	0.3	0.8	0.3	0.4	1.0
乐果	0.5	0.5	0.4	0.4	1.5
甲基对硫磷	0.5	0.3	0.3	0.1	0.1
乙酰甲胺磷	0.5	1.0	0.2	0.1	0.5
对硫磷	2.1	1.0	5.0	4.5	4.5
氧化乐果	0.1	0.3	0.1	0.1	0.1
呋喃丹	3.0	3.0	2.0	2.0	3.0
甲胺磷	10	15	12	15	15
二嗪磷	1.0	3.5	3.0	2.0	3.0

需要全本请访问 www.ertongbook.com

附 录 A
（规范性附录）
胆碱酯酶粉的制备

A.1 试剂

A.1.1 0.1 mol/L pH6.0 磷酸缓冲液

0.1 mol/L **磷酸氢二钠溶液**：17.56 g **磷酸氢二钠**（$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$）**溶于** 1 000 mL **水**。

0.1 mol/L **磷酸二氢钠溶液**：13.80 g **磷酸二氢钠**（$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$）**溶于** 1 000 mL **水**。

将 12.3 mL 0.1 mol/L **磷酸氢二钠溶液与** 87.7 mL 0.1 mol/L **磷酸二氢钠溶液混合，即为** 0.1 mol/L pH6.0 **磷酸缓冲液**。

A.1.2 0.005 mol/L pH6.0 磷酸缓冲液

取 50 mL 0.1 mol/L pH6.0 **磷酸缓冲液**（A.1.1）**液加水稀释至** 1 000 mL。

A.1.3 0.5 mol/L 氢氧化钠-0.5 mol/L 氯化钠溶液

1.0 mol/L **氢氧化钠溶液**：**取** 40 g **氢氧化钠溶于** 1 000 mL **水中**。

1.0 mol/L **氯化钠溶液**：**取** 58.5 g **氯化钠溶于** 1 000 mL **水中**。

将上两液 1∶1 **混合，即得** 0.5 mol/L **氢氧化钠**-0.5 mol/L **氯化钠溶液**。

A.1.4 0.5 mol/L 盐酸-0.5 mol/L 氯化钠溶液

1.0 mol/L **盐酸溶液**：**取** 83.33 mL **浓盐酸溶于** 1 000 mL **水中**。

将 1.0 mol/L **盐酸溶液与** 1.0 mol/L **氯化钠溶液** 1∶1 **混合，即得** 0.5 mol/L **盐酸**-0.5 mol/L **氯化钠溶液**。

A.1.5 羧甲基纤维素（CM-纤维素）干粉

A.2 装置

A.2.1 梯度混合器：**两瓶连通式，每瓶容量** 200 mL。

A.2.2 柱层析系统：1.5×40 cm **玻璃层析柱，流量可达** 2 mL/min **蠕动泵**。

A.2.3 冷冻干燥机。

A.3 程序

A.3.1 羧甲基纤维素的处理

取 10 g **羧甲基纤维素**（CM-**纤维素**）**干粉置于烧杯中，加入** 100 mL 0.5 mol/L **氢氧化钠**-0.5 mol/L **氯化钠溶液，混匀，静置** 15 min **后，用布氏漏斗抽滤，水洗滤饼至中性。将此滤饼再悬浮于** 100 mL 1 mol/L**盐酸溶液中，混匀，静置** 10 min **后再用布氏漏斗抽滤，水洗滤饼至中性。再将滤饼悬浮于** 100 mL 0.5 mol/L **盐酸**-0.5 mol/L **氯化钠溶液中，混匀，静置** 15 min **后用布氏漏斗抽滤，水洗滤饼至中性。将滤饼悬浮于** 0.005 mol/L pH6.0 **磷酸缓冲液**（A.1.2）**中**。

A.3.2 胆碱酯酶的提取

取 50 g **新鲜食用面粉置三角瓶中，加** 250 mL **蒸馏水，振荡** 30 min。

静置 30 min **以上，取上清液经** 5 000 r/min **离心** 20 min。

收集上清液用冷冻干燥机浓缩至 20 mL **左右，为胆碱酯酶粗提掖，保存于冰箱中待纯化**。

A.3.3 胆碱酯酶粗提掖的纯化

将处理好的羧甲基纤维素悬浮液加入层析柱中，加 150 mL 0.005 mol/L pH6.0 **磷酸缓冲液**

(A.1.2)于梯度混合器的初始液瓶中，加 150 mL 0.1 mol/L pH6.0 磷酸缓冲液(A.1.1)于梯度混合器的高浓度液瓶中。连接柱层析装置，以 2 mL/min 流速做梯度洗脱，收集后 1/2 流出液。

A.3.4 冷冻干燥

将 A.3.3 中的流出液用冷冻干燥机干燥成干粉，以 0.2 g/瓶封装于安瓿瓶中备用。置 4 C 冰箱中可保存 1 年有效。

版权专有 侵权必究

*

书号：155066·1-18315

定价： 8.00 元

*

科 目 —

GB/T 18630-2002