ICS 65.100.01
CCS B17

T/GSQA

甘 肃 省 质 量 协 会 团 体 标 准

T/GSQA 008—2020

高原夏菜农药残留快速检测规范

Specification for determination of dehydrated vegetable pesticide residues

（征求意见稿）

2020-XX-XX 发布　　2020-XX-XX 实施

甘肃省质量协会
甘肃省物流行业协会　发布
甘肃省交通运输协会

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。

本文件由兰州市流通领域现代供应链试点城市标准化体系建设项目组提出。

本文件由甘肃省质量协会归口。

本文件起草单位：兰州高原蔬菜物流股份有限公司、兰州陇海绿色产业集团有限公司、甘肃陇源生态农业有限公司、兰州优冷供应链管理有限公司、兰州陆港国际商贸有限公司。

本文件主要起草人：蒋建伟、杨得军、戴雅仙、黄耀翔、李臻、马海滨、周涛、周红宇。

请注意本文本的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

高原夏菜农药残留快速检测规范

1 范围

本文件规定了高原夏菜农药残留检测项目、样本抽样、速测卡法（纸片法）检测及酶抑制率法（分光光度法）检测等内容。

本文件适用于兰州市流通领域现代供应链体系建设试点企业和甘肃省物流行业协会、甘肃省质量协会、甘肃省交通运输协会内的相关企业。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 762 蔬菜农药残留检测抽样规范

NY/T 1667.6 农药登记管理术语 第6部分：农药残留

3 术语和定义

NY/T 1667.6界定的术语和定义适用于本文件。

4 检测项目

有机磷类、氨基甲酸脂类农药残留。

5 样本抽样

高原夏菜农药残留检测样本抽样要求及抽样方法应符合NY/T 762的要求。

6 速测卡法（纸片法）检测

6.1 原理

胆碱酯酶可催化靛酚乙酸酯（红色）水解为乙酸与靛酚（蓝色），有机磷或氨基甲酸脂类农药对胆碱酯酶有抑制作用，使催化、水解、变色的过程发生改变，由此可判断出样品中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在。

6.2 试剂

6.2.1 固化有胆碱酯酶和靛酚乙酸酯试剂的纸片（速测卡）。

6.2.2 PH7.5缓冲溶液。分别取15.0g磺酸氨二钠[Na2HPO4•12H2O]与1.59g无水磷酸二氢钾[KH2 PO4]，用500mL蒸馏水溶解。

6.3 仪器

应配备常量天平，有条件时配备37℃±2℃恒温装置。

6.4 分析步骤

6.4.1 整体测定法

6.4.1.1 选取有代表性的蔬菜样品，擦去表面泥土，剪成 1cm 左右见方碎片，取 5g 放入带盖瓶中，加入 10mL 缓冲溶液，振摇 50 次，静置 2min 以上。

6.4.1.2 取一片速测卡，用白色药片沾取提取液，放置 10min 以上进行预反应，有条件时在 37℃恒温装置中放置 10min。预反应后的药片表面应保持湿润。

6.4.1.3 将速测卡对折，用手捏 3min 或用恒温装置恒温 3min，使红色药片与白色药片叠合发生反应。

6.4.1.4 每批测定应设一个缓冲液的空白对照卡。

6.4.2 表面测定法（粗筛法）

6.4.2.1 擦去蔬菜表面泥土，滴 2 滴~3 滴缓冲溶液在蔬菜表面，用另一片蔬菜在滴液处轻轻摩擦。

6.4.2.2 取一片速测卡，将蔬菜上的液滴滴在白色药片上。

6.4.2.3 放置 10min 以上进行预反应，有条件时在 37℃恒温装置中放置 10min，预反应后的药片表面应保持湿润。

6.4.2.4 将速测卡对折，用手捏 3min 或用恒温装置恒温 3min,使红色药片与白色药片叠合发生反应。

6.4.2.5 每批测定应设一个缓冲液的空白对照卡。

6.5 结果判定

6.5.1 结果以酶被有机磷或氨基甲酸酯类农药抑制（为阳性）、未抑制（为阴性）表示。

6.5.2 空白对照卡比较，自色药片不变色或略有浅蓝色均为阳性结果。白色药片变为天蓝色或与空自对照卡相同，为明性结果。

6.5.3 对阳性结果的样品，可用其它分析方法进一步确定具体农药品种和含量。

6.6 速测卡技术指标

6.6.1 灵敏度指标

速测卡对部分农药的检出限见表1。

表 1 部分农药的检出限

农药名称	检出限 /（mg/kg）	农药名称	检出限 /（mg/kg）	农药名称	检出限 /（mg/kg）
甲胺磷	1.7	乙酰甲胺磷	3.5	久效磷	2.5
对硫磷	1.7	敌敌畏	0.3	甲萘威	2.5
水胺硫磷	3.1	敌百虫	0.3	好年冬	1.0

马拉硫磷	2.0	乐果	1.3	呋喃丹	0.5
氧化乐果	2.3	/	/	/	/

6.6.2 符合率

在检出的30份以上阳性样品中，经气相色谱法验证，阳性结果的符合率应在80%以上。

6.7 检测说明

6.7.1 葱、蒜、萝卜、韭菜、芹菜、香菜、茭白、蘑菇及番茄汁液中，含有对酶有影响的植物次生物质，容易产生假阳性。处理这类样品时，可采取整株（体）蔬菜浸提或采用表面测定法。对一些含叶绿素较高的蔬菜，也可采取整株（体）蔬菜浸提的方法，减少色素的干扰。

6.7.2 当温度条件低于 37℃,酶反应的速度随之放慢，药片加液后放置反应的时间应相对延长，延长时间的确定，应以空白对照卡用手指（体温）捏 3min 时可以变蓝，即可往下操作，注意样品放置的时间应与空白对照卡放置的时间一致才有可比性。空白对照卡不变色的原因：一是药片表面缓冲溶液加的少，预反应后的药片表面不够湿润，二是温度太低。

6.7.3 红色药片与白色药片叠合反应的时间以 3min 为准，3min 后的蓝色会逐渐加深，24h 后颜色会逐渐退去。

7 酶抑制率法（分光光度法）检测

7.1 原理

在一定条件下，有机磷和氨基甲酸酯类农药对胆碱酯酶正常功能有抑制作用，其抑制率与农药的浓度呈正相关，正常情况下，酶催化神经传导代谢产物（乙酰胆碱）水解，其水解产物与显色剂反应，产生黄色物质，用分光光度计在412nm处测定吸光度随时间的变化值，计算出抑制率，通过抑制率可以判断出样品中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在。

7.2 试剂

7.2.1 PH8.0 缓冲溶液：分别取 11.9g 无水磷酸氨二钾与 3.2g 磷酸二氢钾，用 1000mL 蒸馏水溶解。

7.2.2 显色剂：分别取 160mg 二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)和 15.6mg 碳酸氢钠，用 20mL 缓冲溶液溶解，4℃冰箱中保存。

7.2.3 底物：取 25.0mg 硫代乙酰胆碱，加 3.0mL 蒸馏水溶解，摇匀后置 4℃冰箱中保存备用。保存期不应超过两周。

7.2.4 乙酰胆碱酯酶：根据酶的活性情况，用缓冲溶液溶解，3min 的吸光度变化 DA_0 值应控制在 0.3 以上。摇匀后置 4℃冰箱中保存备用，保存期不超过四天。

7.2.5 可选用由以上试剂制备的试剂盒。乙酰胆碱酯酶的 DA_0 值应控制在 0.3 以上。

7.3 仪器

仪器包括分光光度计或相应测定仪、常量天平、恒温水浴或恒温箱。

7.4 分析步骤

7.4.1 样品处理

选取有代表性的蔬菜样品，冲洗掉表面泥土，剪成1cm左右见方碎片，取样品1g,放入烧杯或提取瓶中，加入5mL缓冲溶液，振荡1 min~2min,倒出提取液，静置3min~5min,待用。

7.4.2 对照溶液测试

先于试管中加入2.5mL缓冲溶液，再加入0.1mL酶液、0.1mL显色剂，摇匀后于37℃放置15min以上（每批样品的控制时间应一致）。加入0.1mL底物摇匀，此时检液。

7.4.3 显色反应

开始显色反应后，应立即放入仪器比色池中，记录反应3min的吸光度变化值DA_0。

7.4.4 样品溶液测试

先于试管中加入2.5mL样品提取液，其它操作与对照溶液测试相同，记录反应3min的吸光度变化值DA_t。

7.5 结果计算

结果计算公式见公式(1)。

$$\alpha = \frac{DA_0}{DA_t} \times 100\%$$

式中：

α——酶被抑制的程度（抑制率）；

DA_0——对照溶液反应3min吸光度的变化值；

DA_t——样品溶液反应3min吸光度的变化值。

7.6 结果判定

7.6.1 果以酶被抑制的程度（抑制率）表示。

7.6.2 当蔬菜样品提取液对酶的抑制率α ≥50%时，表示蔬菜中有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药存在，样品为阳性结果，阳性结果的样品需要重复检验 2 次以上。

7.6.3 阳性结果的样品，可用其它方法进一步确定具体农药品种和含量。

7.7 酶抑制率法技术指标

7.7.1 灵敏度指标

抑制率法对部分农药的检出限见表2。

表 2 酶抑制率法对部分农药的检出限

农药名称	检出限 /（mg/kg）	农药名称	检出限 /（mg/kg）	农药名称	检出限 /（mg/kg）
甲胺磷	2.0	甲基异柳磷	5.0	灭多威	0.1
对硫磷	1.0	敌敌畏	0.1	丁硫克百威	0.05
马拉硫磷	4.0	敌百虫	0.2	呋喃丹	0.5

氧化乐果	0.8	乐果	3.0	/	/

7.7.2 符合率

在检出的抑制率≥50%的30份以上样品中，经气相色谱法验证，阳性结果的符合率应在80%以上。

7.8 检测说明

7.8.1 葱、蒜、萝卜、韭菜、芹菜、香菜、茭白、蘑菇及番茄汁液中，含有对酶有影响的植物次生物质，容易产生假阳性。处理这类样品时，可采取整株（体）蔬菜浸提。对一些含叶绿素较高的蔬菜，也可采取整株（体）蔬菜浸提的方法，减少色素的干扰。

7.8.2 当温度条件低于 37℃,酶反应的速度随之放慢，加入酶液和显色剂后放置反应的时间应相对延长，延长时间的确定，应以胆碱酯酶空日对照测试 3min 的吸光度变化DA_0值在 0.3 以上，即可往下操作。注意样品放置时间应与空日对照溶液放置时间一致才有可比性。胆碱酯酶空日对照溶液 3min 的吸光度变化DA_0值小于 0.3 的原因：一是酶的活性不够，二是温度太低。