



中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6139—2020

粮油检验 粮食及其制品中有机磷类和 氨基甲酸酯类农药残留的快速定性检测

Inspection of grain and oils—Rapid screen determination for organophosphate and
carbamate pesticide residues in grains

行业标准信息服务平台

2020-01-21 发布

2020-07-21 实施

国家粮食和物资储备局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家粮食和物资储备局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会(SAT/TC 270)归口。

本标准起草单位：国家粮食和物资储备局科学研究院、广东省粮食科学研究所、山东省粮油检测中心、陕西省粮油产品质量监督检验中心、中国储备粮管理集团有限公司、北京市粮油食品检验所、黑龙江省粮食质量安全监测中心、安徽省粮油产品质量监督检测站、内蒙古自治区粮油质量检测中心、湖北省粮油食品质量监督检测中心、山西粮食质量监测中心、河南省粮食科学研究所有限公司、北京中检葆泰生物技术有限公司。

本标准主要起草人：叶金、王松雪、王亚军、王培、蒋国振、李克强、芮琴、季澜洋、胡斌、邱庆丰、孙婷琳、康然、牛梦宇、李华。

行业标准信息服务平台

粮油检验 粮食及其制品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留的快速定性检测

1 范围

本标准规定了粮食及其制品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留的快速定性检测的原理、试剂和材料、仪器和设备、样品制备和结果分析等内容。

本标准适用于粮食及其制品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留的快速定性检测。

本标准的方法检出限见附录 A。

2 规范性引用文件

下列标准对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

样品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留抑制昆虫酯酶和酶受体反应,荧光底物被激活发出荧光信号减弱,通过荧光信号的变化计算该样品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药的酶抑制率并与对应限量酶抑制率比较,从而快速定性判定样品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药是否超标。

4 试剂和材料

除另有规定外,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

4.1 丙酮。

4.2 乙酸乙酯。

4.3 无水硫酸钠。

4.4 乙酸乙酯-丙酮溶液(95:5,体积比):取 5 mL 丙酮加入 95 mL 乙酸乙酯,混匀。

4.5 硫酸钠溶液:取 200 g 无水硫酸钠,用水溶解后稀释至 1 000 mL,混匀。

4.6 磷酸盐缓冲溶液(以下简称 PBS):称取 8.00 g 氯化钠、1.20 g 磷酸氢二钠(或 2.92 g 十二水磷酸氢二钠)、0.20 g 磷酸二氢钾、0.20 g 氯化钾,用 900 mL 水溶解,用盐酸调节 pH 至 7.4 ± 0.1 ,加水稀释至 1 000 mL。

4.7 1% TritonX-100(或吐温-20)的 PBS:取 10 mL TritonX-100(或吐温-20),用 PBS 稀释至 1 000 mL。

4.8 昆虫酯酶溶液¹⁾:取 30.0 mg 昆虫酯酶加入 PBS,混匀。由农药残留快速检测产品配套提供,或按照其说明书进行配制。

4.9 荧光素酶受体溶液¹⁾:取 0.5 mg 荧光素酶受体加入 10 mL 水,混匀。由农药残留快速检测产品配套提供,或按照其说明书进行配制。

4.10 荧光底物溶液¹⁾:取 1.0 mg 荧光底物加入 10 mL 1% TritonX-100(或吐温 20)的 PBS,混匀。可由农药残留快速检测产品配套提供,或按照其说明书进行配制。

5 仪器和设备

5.1 天平:感量 0.01 g。

5.2 粉碎机:电机转速 $\geq 1\ 000$ r/min,可使试样粉碎后全部通过 20 目(0.850 mm)筛。

5.3 吹干仪:温度 ≥ 45 °C。

5.4 漩涡振荡器。

5.5 离心机:转速 $\geq 4\ 500$ r/min。

5.6 离心管:10 mL。

5.7 螺口带盖检测微管:1.5 mL。

5.8 孵育器:温度 ≥ 35 °C。

5.9 荧光检测仪:激发波长 460 nm~550 nm,发射波长 590 nm。

6 样品制备

6.1 扦样与分样

按照 GB/T 5491 执行。

6.2 样品粉碎

用粉碎机(5.2)将样品粉碎至全部通过 20 目筛,充分混合均匀。

6.3 样品提取

称取试样 0.5 g(精确至 0.01 g)于 10 mL 的离心管(5.6)中,加入 2 mL 硫酸钠溶液(4.5),再加入 2 mL 乙酸乙酯-丙酮溶液(4.4),混匀。在 4 500 r/min 下离心 2 min,取 100 μ L 上清液至 2 mL 离心管中,在 45 °C 下吹至近干。加入 1 mL 水复溶,此溶液为待测溶液 A。

注:不同厂家的样品提取可能会略有不同,应按照产品使用说明中规定方法进行操作。

6.4 测定步骤

准确吸取 100 μ L 待测溶液 A(6.3)加入检测微管(5.7)中,然后加入 50 μ L 昆虫酯酶溶液(4.8),混匀。将微管置于 35 °C 的孵育器(5.8)中,孵育 10 min。向微管底部加入 50 μ L 荧光素酶受体溶液(4.9),混匀。将微管置于 35 °C 的孵育器(5.8)中,孵育 5 min。然后微管加入 1 mL 荧光底物溶液(4.10),用荧光检测仪(5.9)读取数据。

注 1: 30 s 内完成荧光底物溶液(4.10)的添加,避免产生气泡影响检测。

注 2: 不同厂家的样品测定可能会略有不同,应按照产品使用说明中规定方法进行操作。

1) 从 Charm Sciences, Inc 获得,提供此信息仅为了方便使用本标准,而不是对该品牌的认可,任何具有相同技术参数和性能的产品均可使用。

6.5 空白试验

除不加试样外,按照 6.3~6.4 的规定进行平行操作。

7 结果分析

7.1 结果计算

计算结果以酶抑制率表示,按式(1)计算:

$$y = \frac{I_0 - I_1}{I_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

y ——酶抑制率, %;

I_0 ——空白试验响应值;

I_1 ——待测样品响应值。

计算结果保留 3 位有效数字。

7.2 结果判定

7.2.1 选择目标农药种类

根据检测目的或样品基质种类、来源及产地农残监测和施药指南等信息,确定目标农药种类。

7.2.2 确定判定酶抑制率

根据目标农药的限量值和对应的限量酶抑制率,选取最低限量酶抑制率作为判定酶抑制率。

7.2.3 判定方法

7.2.3.1 当样品的酶抑制率高于判定酶抑制率,表示样品中可能有高剂量有机磷类或氨基甲酸酯类农药残留存在,该样品判定为疑似阳性样品;对疑似阳性样品,需用参考方法确定具体农药的种类和含量。

7.2.3.2 当样品的酶抑制率低于判定酶抑制率,表示样品中有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留较低,该样品判定为阴性样品。

注:报告时应标明对何种农药呈疑似阳性或阴性。

附 录 A
(规范性附录)
方法检出限

表 A.1 方法检出限

英文名称	中文名称	检出限 μg/kg	英文名称	中文名称	检出限 μg/kg	英文名称	中文名称	检出限 μg/kg
Phoxim	辛硫磷	0.50	Fenamiphos	苯线磷	7.0	Parathion	对硫磷	20
Azinphosmethyl	谷硫磷	0.30	Fensulfothion	丰索林	75	Phorate	甲拌磷	0.60
Carbophenothion	三硫磷	2.0	Fenitrooxon	杀螟氧磷	0.10	Phorateoxon	氧甲拌磷	0.60
Carbophenoxon	杀螨硫磷	0.30	Fenitrothion	杀螟硫磷	20	Phosalone	伏杀硫磷	60
Chlorfenvinphos	毒虫畏	0.50	Fonofos	地虫硫磷	75	Phosphamidon	磷胺	20
Chlorpyrifos	毒死蜱	50	Leptophos	溴苯磷	0.2	Phosmet	亚胺硫磷	0.50
Coumaphos	蝇毒磷	50	Leptophosoxon	溴苯氧磷	0.20	Primiphosmethyl	甲基嘧啶磷	50
Crotoxyphos	巴毒磷	0.25	Malaoxon	马拉氧磷	0.70	Profenofos	丙溴磷	0.50
Crufomate	育畜磷	4.0	Malathion	马拉硫磷	2.0	Tetrachlorvinphos	杀虫畏	0.30
Diazinon	二嗪磷	2.5	Methidathion	杀扑磷	0.60	Triazophos	三唑磷	0.10
Dichlorvos (DDVP)	敌敌畏	0.25	Methyl paraoxon	甲基对氧磷	0.10	Trichlorfon	敌百虫	10
Dimethoate	乐果	12.5	Methyl parathion	甲基对硫磷	0.10	Aldicarb	涕灭威	12
Disulfoton	乙拌磷	3.5	Mevinphos	速灭磷	0.10	Carbaryl	甲萘威	0.20
EPN	苯硫磷	0.10	Monocrotophos	久效磷	50	Carbofuran	克百威	5.0
Ethion	乙硫磷	2.5	Naled	二溴磷	0.20	Isoprocarb	异丙威	2.5
Ethoprop	灭线磷	5.0	Paraoxon	对氧磷	0.20	Methiocarb	甲硫威	0.30
Oxamyl	杀线威	12	Propoxur	残杀威	11.0			

附 录 B
(资料性附录)
限量酶抑制率的计算

以 GB 2763 食品中农药最大残留限量为基础,进行空白基质限量浓度加标,分别测定每个样品的抑制率,每天测试 6 个平行样,连续测试 3 d,该基质下该农药的限量酶抑制率按式(B.1)计算。

$$y_{\text{MRL}} = (y_{\text{m}} - 1.74S) \times 100 \quad \dots\dots\dots (\text{B.1})$$

式中:

y_{MRL} ——限量酶抑制率, %;

y_{m} ——空白基质限量浓度加标的抑制率平均值;

S ——标准偏差。

日内相对标准偏差应小于 15%, 日间相对标准偏差应小于 25%。

行业标准信息服务平台

附 录 C
(资料性附录)

部分常见农药残留的限量酶抑制率

表 C.1 部分常见农药残留的限量酶抑制率

名称	限量酶抑制率/%		
	糙米	玉米	小麦
敌敌畏	45.6	50.6	37.0
对硫磷	43.6	41.0	44.0
甲萘威	65.0	—	—
克百威	48.4	—	38.6
辛硫磷	40.6	43.0	43.2
^a 该品种无此农药的限量要求。			

行业标准信息平台