GB/T XXXXX—XXXX

中华人民共和国国家标准

ICS 07.080

A 20/39

生物产品降解拟除虫菊酯农药功效评价

技术规范

**Technical specifications for efficacy evaluation of degradation of pyrethroids by biological products**

（征求意见稿）



发布

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局

中国国家标准化管理委员会

201X-XX-XX 发布

201X-XX-XX实施

1. 前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位：

本标准主要起草人：

生物产品降解拟除虫菊酯类农药功效评价技术规范

1 范围

本标准规定了生物产品降解拟除虫菊酯类农药的功效评价原理、试剂与材料、仪器设备与器具、分析步骤和结果分析。

本标准适用于微生物和酶生物产品降解拟除虫菊酯类农药降解效果评价。

2 规范性引用文件

本标准内容引用了下列文件和其中的条款，凡是注日期的引用文件，仅所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 23200.85 拟除虫菊酯农药气相色谱方法

GB/T 6682 分析实验室用水

GB/T 15818 培养基配置方法

NY/T 761-2008 降解产物拟除虫菊酯农药的提取方法

NY/788-2018 相对标准偏差要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文本。

3.1

生物产品 biologic products

利用生物技术获得的产品。

3.2

拟除虫菊酯类农药 pyrethroids

模拟天然除虫菊素合成的含有多个苯环结构的农药。

3.3

降解效果 degradation effect

生物产品降解拟除虫菊酯类农药的能力。

4 原理

用生物产品对拟除虫菊酯类农药进行处理，采用液液萃取法萃取生物制品降解反应结束后反应体系中拟除虫菊酯农药，用气相色谱测定拟除虫菊酯含量，计算生物产品对拟除虫菊酯类农药的降解率，评价生物产品降解拟除虫菊酯农药的降解效果。

5 试剂和材料

所有试剂除另有说明外，均为分析纯，水为符合GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 拟除虫菊酯农药

拟除虫菊酯农药纯度均≥99％。

5.2 基础液体培养基

按照GB/T 15818中方法配制

5.3 0.01 mol/L磷酸盐缓冲液，pH 8.0

分别配制0.2 mol/L的Na2HPO4和0.2 mol/L的NaH2PO4，量取Na2HPO4 61mL, NaH2PO4 39 mL, 用3 mol/L的稀盐酸和1 mol/L的氢氧化钠调节溶液pH备用。

6 仪器和设备

6.1 气相色谱仪：配有电子轰击源（EI）。

6.2 分析天平：感量为0.0001 g。

6.3 离心机：转速不低于4000 r/min。

6.4 氮吹仪

6.5 涡流混匀机

6.6 生化培养箱

6.7 气浴恒温振荡器：转速范围，起动-300r/min；温控范围，室温-100℃。

6.9 低温冷冻多管离心机：转速可达10000rpm以上。

6.10 旋转蒸发仪：转速范围：20-280rpm；恒温锅最高温度：185℃。

7 分析步骤

7.1 试验设计

不同类型生物产品降解拟除虫菊酯农药效果试验设计应符合表1要求。

表1 生物产品降解拟除虫菊酯类农药效果试验设计

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 项目 | 产品种类 | |
| 微生物产品 | 酶产品 |
| 处理设计 | 1.供测样品  2.失活样品  3.空白对照 | |
| 拟除虫菊酯农药选择 | 按照结构选择4种：环丙烷羧酸类：甲氰菊酯；卤代环丙烷羧酸类：氯氰菊酯；非环丙烷羧酸类：氟氰菊酯；非羧酸酯类：肟醚菊酯。 | |
| 农药处理 | 拟除虫菊酯农药标准品用正己烷配制成储备溶液，4℃保存备用，试验时稀释成一定浓度的工作液，现用现配。 | |
| 重复次数 | 不少于3次 | |
| 降解反应条件 | 按正交试验结果确定 | |

7.2 供试微生物产品试验实施

7.2.1 培养基制备

选择基础培养基，或根据微生物特殊生长需要对培养基进行改良。

7.2.2 供试样品处理

块状固体产品应进行研磨处理。

7.2.3 失活样品处理

取供试的固体或液体微生物样品进行121ºC，30 min杀菌处理。

7.2.4 最佳反应体系确定

设计正交试验，影响因素宜选取微生物添加量、反应温度、反应转速、反应时间、底物浓度等，确定最佳反应体系条件。

7.2.5 降解试验

取250 mL三角瓶9个，空白样3个，供试样品瓶3个，失活样品瓶3个。按照最佳反应体系确定的底物浓度，制备底物溶液，灭菌后备用。然后根据微生物添加量，制备成反应体系为100 mL的培养液，在最佳反应体系条件下进行降解反应。

7.3 供测酶试验实施

7.3.1 供试样品处理

固体酶产品应进行研磨处理，称取一定质量的供测固体酶粉，采用不同pH的磷酸盐缓冲液按要求稀释为不同浓度（g/mL）备用；若供测样品为液体，用不同pH的磷酸盐缓冲液按要求稀释为不同浓度（mL/mL）备用。

7.3.2 失活样品处理

取供试的固体或液体酶样品在100 ºC环境下进行30 min的去酶活处理。

7.3.3 最佳反应条件确定

设计正交实验，影响因素宜选择酶浓度、底物浓度、反应温度、反应时间、pH值等，确定最佳反应体系条件。

7.3.4 降解试验

取25 mL离心管9个，空白样3个，供试样品瓶3个，失活样品瓶3个。按照最佳反应体系确定的微生物添加量、底物浓度，制备成反应体系为10 mL的反应液，在最佳反应体系条件下进行降解反应。

7.4 浓度测定

反应液按照NY/T 761要求进行处理，然后按照GB 23200.85要求进行测定。

8 分析分析

8.1 结果计算

降解率按照式（1）计算：：

..............................(1)

式中：

*R*——降解率（%）；

*Xi*——底物原始浓度（mg/L）；

*Xa*——为供试样品降解反应终点底物浓度（mg/L）；

*Xb*——为失活样品降解反应终点底物浓度（mg/L）；

*Xc*——为空白样品降解反应终点底物浓度（mg/L）。

以平行样的平均值为最终的降解率值，计算结果保留到小数点后两位。

8.2 结果判定

以降解率的大小评价被测试生物产品的降解功效：降解率大于等于80%，小于100%时，降解效果为好；降解率大于等于60%，小于80%时，降解效果为良好；降解率大于等于40%，小于60%时，降解效果为较好；降解率大于等于20%，小于40%时，降解效果为一般；降解率小于20%时，降解效果为差。

8.3 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对标准偏差（RSD）不超过10%。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_