GB/T XXXXX—XXXX

中华人民共和国国家标准

ICS 07.080

A 20/39

生物产品降解有机磷农药功效评价

技术规范

**Technical specifications for efficacy evaluation of degradation of organophosphorous pesticide 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：

生物产品降解拟有机磷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有机磷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有机磷农药效果评价。

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 23200.91有机磷农药的气相色谱测定方法

GB/T 6682 分析实验室用水

GB/T 15818 培养基配置方法

NY/T 761-2008 降解产物有机磷农药的提取方法

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

有机磷农药 organophosphorus pesticides

含磷元素的有机化合物农药。

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

用生物产品对有机磷农药进行处理，采用液液萃取法萃取反应体系中的有机磷农药，经萃取、浓缩、净化、定容后，通过配有火焰光度检测器的气相色谱仪检测，外标法定量，计算生物制品对有机磷农药的降解效率。

5 仪器和设备

5.1 气相色谱仪：配有火焰光度检测器（FPD磷滤光片）。

5.2 旋转蒸发仪：转速20-280 rpm。

5.3 微量进样器：0.5-500 ul。

5.4 恒温振荡器：0-300 r/min；温控范围，室温-100℃。

5.5 分光光度计：波长330nm-800nm。

5.6 pH计：精度0.1。

5.7 高速冷冻离心机：转速可达10000rpm以上。

5.8 分析天平：精度0.0001g。

6 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。

6.1 有机磷农药

有机磷农药纯度≥99％。

6.2 基础液体培养基

按照GB/T 15818中方法配制

6.3 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。

7 分析步骤

7.1 试验设计

不同类型生物产品降解有机磷类农药效果试验设计应符合表1要求。

表1 生物产品降解有机磷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 | |
| 有机磷农药选择 | 按结构选择5种类型：一硫代磷酸酯，甲基对硫磷；二硫代磷酸酯，甲拌磷；磷酸酯，敌敌畏；膦酸酯，敌百虫；磷酰胺或硫代磷酰胺，甲胺磷 | |
| 农药处理 | 首先将有机磷农药标准物质用丙酮配制成储备溶液，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 23200.91要求进行测定。

8 结果分析

8.1 结果计算

将将诶率按照式（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%。

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