

ICS 11.120.10

CCS C23

T

团 体 标 准

T/CATCM XXX-2026

陈皮中有机磷和氨基甲酸酯类农药的
快速检测 酶抑制法

Rapid Detection of Organophosphorus and Carbamate Pesticides in Citri
Reticulatae Pericarpium via Enzyme Inhibition Method

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中国中药协会 发布

目 次

前言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 原理	2
5 试剂和材料	2
6 仪器	3
7 试样制备与储存	3
8 分析步骤	4
9 结果判定	4
附录 A	6
附录 B	7

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。

请注意本文件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。

本文件由中国中药协会提出并归口。

本标准起草单位：深圳市药品检验研究院、天津中医药大学、中国食品药品检定研究院、江门市药品检验所、暨南大学。

本标准主要起草人：王冰、喻谢安、葛园园、常艳旭、王莹、林永强、程显隆、雷伟、刘晓艺、王淑红、曾志坚、王平、江正瑾、金一宝、李美芳、杜昆泽。

中国中药协会团体标准

陈皮中有机磷和氨基甲酸酯类农药的快速检测 酶抑制法

1 范围

本标准规定了陈皮中有机磷和氨基甲酸酯类农药的快速检测——酶抑制法。

本标准适用于中药陈皮中有机磷和氨基甲酸酯类农药的快速测定。

2 规范性引用文件

下列文件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。

《中华人民共和国药典》2025年版。

3 术语和定义

本文件无需要界定的术语和定义。

4 原理

试样按《中国药典》农药残留量测定法中供试品溶液制备方法进行提取，用荧光传感技术结合酶抑制法间接实现中药陈皮中有机磷和氨基甲酸酯类农药的快速测定。

5 试剂和材料

5.1 试剂

所用乙腈、甲醇、乙醇均为色谱级，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ，CAS号：75-05-8）。

5.1.2 甲醇（ CH_3OH ，CAS号：67-56-1）。

5.1.3 乙醇（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ，CAS号：64-17-5）。

5.1.4 乙酰胆碱酯酶（Acetylcholinesterase，CAS号：9000-81-1）

5.1.5 氯化铜·二水 ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CAS 号: 10125-13-0)。

5.1.6 氯化乙酰硫代胆碱 ($\text{C}_7\text{H}_{16}\text{NOSCl}$, CAS 号: 6050-81-3)。

5.2 标准品

甲醇中三唑磷溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3\text{PS}$, CAS 号: 24017-47-8)。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 乙酰胆碱酯酶溶液: 精密称取乙酰胆碱酯酶适量, 用无菌生理盐水溶解, 配制成 0.01 U/ μL 溶液。-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光贮存。

5.3.2 氯化乙酰硫代胆碱溶液: 精密称取氯化乙酰硫代胆碱适量, 用无菌生理盐水溶解, 配制成 0.01 mg/ μL 溶液。-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光贮存。

5.3.3 氯化铜溶液: 精密称取氯化铜二水适量, 用超纯水溶解, 配制成 50 mmol/L 溶液。-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光贮存。

5.3.4 探针 Azo-Bodipy 685 溶液: 精密称取 Azo-Bodipy 685 适量, 用乙腈溶解, 配制成 10 mmol/L 溶液。-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光贮存。

6 仪器

6.1 酶标仪: 检测荧光和紫外。

6.2 电子分析天平: 感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.3 生化培养箱: 温度可控, 包含 37 $^{\circ}\text{C}$ 。

6.4 恒温混匀仪: 转速可调, 包含 1400 rpm。

7 传感器制备

将 Azo-Bodipy 685 溶解在水系-有机系溶剂中, 滴加 CuCl_2 母液, 快速震荡, 得到 AB-Cu NPs (80 μL 50% 的乙腈溶液混合物, 其中包含 39.5 μL 乙腈、38.5 μL 纯化水、0.5 μL 10 mM Azo-Bodipy 685 溶液以及 1.5 μL 50 mM CuCl_2 溶液)。其中 Azo-Bodipy 685 与 CuCl_2 摩尔比为 1:15, 所述的水系:有机系的体积比例为 1:1, 制备的时间为 5 秒。

8 分析步骤

8.1 样品提取

根据《中国药典》四部“2341 农药残留量测定法第二法有机磷类农药残留量测定法”中供试品溶液制备方法进行提取，取供试品，粉碎成粉末（过三号筛），取约 5g，精密称定，加无水硫酸钠 5g，加入乙酸乙酯 50ml，依法操作，用乙酸乙酯转移至 5ml 量瓶中，作为供试品溶液。

8.2 样品测定

将 3 μL 不同浓度的陈皮提取溶液和 10 μL AChE 置于含有 17 μL 生理盐水的 EP 管中，继续 37°C 下孵育 20 min，然后加入 20 μL ATChCl（50 mM），再继续孵育混合物 30 min。随后，向上述溶液中加入 50 μL 的乙腈用于终止反应。之后，取 40 μL 的终止后反应液与 40 μL 的传感器混合均匀并室温振荡反应 20 min。最终体系均为 80 μL ，AChE 浓度为 500 U/L，并收集发射波长 720 nm 下的荧光信号强度记为 F。以仅含有 AChE 组作为空白对照，AChE 浓度为 500 U/L，并收集发射波长 720 nm 下的荧光信号强度记为 $F_{(\text{Control})}$ 。AChE 应在 7 天内使用。所有溶液均储存于 -20°C，以备后续使用。

9 结果判定

供试品经测定后在激发波长 685 nm 和发射波长 720 nm 下的荧光信号数值 $F - F_{(\text{Control})}$ 不得小于 0。

附录 A

(资料性)

传感器验证试验

1. Azo-Bodipy 685 表征及检测环境

Azo-Bodipy 685 荧光最大激发波长为 685 nm，最大发射波长为 720 nm。Azo-Bodipy 685 在 600 nm 到 800 nm 处出现明显的吸收峰，50% 乙腈溶液作为检测环境将 Azo-Bodipy 685 的紫外-荧光双模式的特性用于农残检测。

2. AB-Cu NPs 检测乙酰胆碱酯酶活性

取 10 μL 不同浓度的乙酰胆碱酯酶溶液置于 20 μL 生理盐水中，在 37 $^{\circ}\text{C}$ 中孵育 10 min。加入 20 μL 50 mM 的氯化乙酰硫代胆碱溶液，孵育 30 min。再加入 50 μL 的乙腈混合均匀用于终止酶促反应。取 40 μL 反应液加入到 40 μL 传感器中，混合均匀并室温振荡 20 min。最终，收集发射波长 720 nm 下的荧光信号强度和 685 nm 处的紫外吸收强度用于检测乙酰胆碱酯酶的活性，乙酰胆碱酯酶应在 7 天内使用。所有溶液均储存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ ，以备后续使用。

在 0.1 U/L~50 U/L 之间，乙酰胆碱酯酶浓度的对数和紫外吸收变化比例之间存在线性关系， $y = 0.1813x + 0.2859$ ， $R^2 = 0.9922$ ，LOD 为 0.0327 U/L；在 0.5 U/L~100 U/L 之间，乙酰胆碱酯酶浓度的对数和荧光强度变化比例之间存在线性关系 $y = 0.8361x + 0.9091$ ， $R^2 = 0.9932$ ，LOD 为 0.0861 U/L。

3. AB-Cu NPs 检测农药三唑磷含量

将 1 μL 不同浓度的三唑磷甲醇-水溶液和 10 μL 乙酰胆碱酯酶置于含有 19 μL 生理盐水的 EP 管中，继续 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min，然后加入 20 μL 氯化乙酰硫代胆碱 (50 mM)，再继续孵育混合物 30 min。随后，向上述溶液中加入 50 μL 的乙腈用于终止反应。之后，取 40 μL 的终止后反应液与 40 μL 的传感器混合均匀并室温振荡 20 min。最终体系均为 80 μL ，乙酰胆碱酯酶浓度为 500 U/L，并收集发射波长 720 nm 下的荧光信号强度和 685 nm 处的紫外吸收强度用于检测三唑磷含量。乙酰胆碱酯酶应在 7 天内使用。所有溶液均储存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ ，以备后续使用。

在 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间三唑磷浓度的对数和荧光强度变化比例之间存在线性关系， $y = -2.7533x + 3.3213$ ， $R^2 = 0.9916$ ，LOD = 1.72 ng/mL；在 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间，三唑磷浓度的对数和紫外吸收强度变化比例之间存在线性关系， $y = -0.6945x + 0.4507$ ， $R^2 = 0.9940$ ，LOD = 8.98 ng/mL。