

快速测定水中有机磷农药方法的研究

韩承辉 谷 巍 王乃岩 王正萍

(南京理工大学化学学院, 南京, 210094)

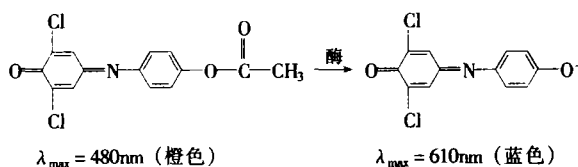
摘 要

研制出一种能快速测定水中有机磷农药的植物酯酶片和底物片. 这种酶片和底物片具有价格低、易获取、稳定性好等优点, 适用于野外无仪器设备条件下快速检测有机磷农药危险水平. 对常用几种有机磷农药来说, 其检出限在 $0.04\text{--}10.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 范围.

关键词: 有机磷农药, 植物酯酶片, 底物.

有机磷杀虫剂的特点是: 杀虫力强、残留性低、易被生物体代谢为无害成分(磷酸盐). 它的缺点是对哺乳动物的毒性大, 易造成人畜急性中毒, 有关人们因误食含磷农药中毒的事件时有报导. 因此, 自有机磷农药问世以来, 国内外在对其检测、防护、急救上进行了大量的工作. 目前, 检测有机磷农药的方法很多, 其中酶法由于灵敏度高、测定快速等优点而被广泛应用. 大部分酶法基于胆碱酯酶被有机磷农药抑制的原理^[1-4], 但胆碱酯酶需从动物体中或血液中提取, 价格贵. 也有文献介绍使用植物酯酶测定, 但所制酶液保存期短, 而且底物和显色剂分别为乙酸萘酯和固蓝 B 盐溶液, 两者混合成的显色基质溶液不稳定, 需现用现配^[5].

植物酯酶能促使底物 2,6-二氯萘酚乙酯分解, 反应如下:



底物水解前后颜色变化很大, 很容易鉴别. 当样品溶液依次加入酶片和底物后, 若样品中不含有机磷农药, 底物迅速分解, 样品溶液很快由橙变蓝, 否则酶受抑制, 底物分解变慢或不分解, 导致样品溶液较长时间保持橙色不变或呈浅蓝色. 通过与对照样比较可确定样品中是否含有机磷农药.

本文使用的植物酯酶片和底物片具有价格低、保存期长等特点, 具有较高的实用价值.

1 酶片的制备

面粉酶溶液^[5]: 取面粉(市售通粉)按 1:5 (W/V) 的比例加入蒸馏水在振荡机上振荡 30min, 以 $2000\text{--}3000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10min. 上清液经滤纸过滤后, 按 1:1 (V/V) 的比例加入磷酸盐缓冲液 ($1/15\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}\text{KH}_2\text{PO}_4:1/15\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 1:4$) 混匀, 即为面

粉酶溶液。

酶片：将纸浆片（实验室自制）浸泡在酶液中 15min，取出自然晾干，然后切成大小相等的纸片，即为酶片。

底物片：底物 2,6-二氯靛酚乙酯加上适量助剂，研磨至无粒度感，然后压成片即为底物片。每片约含 0.1mg 2,6-二氯靛酚乙酯。

2 检测步骤

取 2 支带刻度的透明试管（直径 1cm，长 5cm），1 支取 2ml 水样，作样品管，另 1 支取 2ml 自来水作对照管。然后取两个酶片，分别加到样品管和对照管中，浸泡 3min，并振荡数次。各加 1 片底物片于试管中，摇匀，5min 后对比 2 支试管中溶液的颜色。

实验结果判断：对照管中溶液呈蓝色。若样品管中溶液颜色与对照管相同，则试样中没有有机磷农药；若样品管中溶液呈橙色或浅兰色，则试样中含有有机磷农药。

3 检测灵敏度

用农药配成一系列不同浓度的样品，然后按上述测定步骤进行测定，能检出的最小有机磷农药浓度即为最低检出限。目前常用的几种有机磷农药检出限见表 1。

表 1 几种有机磷农药检出限 ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)

Table 1 The detection limits of some organophorous pesticides

农药	敌敌畏	敌百虫	1605	氧乐果	甲胺磷	甲基-1605	乐果
检出限	0.04	1.0	2.0	5.0	10.0	1.5	10.0

4 检测灵敏度

通过分光光度法测定酶的活性来研究酶片活性下降规律。实验结果表明：酶活性下降的对数与时间呈正比。酶片在 25℃，活性下降 70% 需要 1 年半。底物片非常稳定，其保质期为二年。

5 温度和 pH 值的影响

用底物分解后产物的吸光度值来表示酶的活性，吸光度值越大，酶的活性越大。

从图 1 可以看出，温度过高或过低都使酶的活性降低，最佳温度为 18—32℃。本实验在春、夏、秋三季进行，气温对反应速度影响不大。

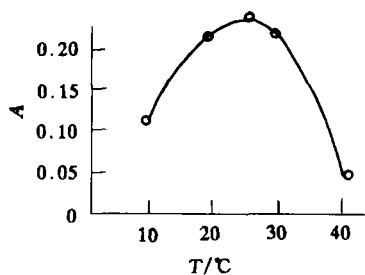


图 1 温度对酶活性的影响

Fig. 1 Temperature effect on the enzyme activity

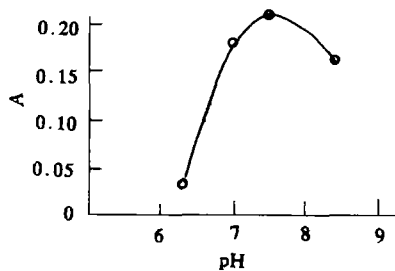


图 2 pH 对酶活性的影响

Fig. 2 pH effect on the enzyme activity

从图 2 可看出, pH 值过大或过小都使酶的活性降低, 最佳 pH 值范围为 7.0—8.0. 本酶片具有调节 pH 值的功能, 可使溶液 pH 值保持在 7.5 左右.

6 实用性评价

(1) 成本低. 由于采用植物酯酶制作酶片, 来源广, 价格低, 因此测定成本也低. 测定一个样品约 0.1 元.

(2) 灵敏度高. 对施用在蔬菜上的几种常用有机磷农药, 其检出限低于 $10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. 从避免造成急性中毒的角度出发, 本方法可以对水中残留有机磷农药提供安全与不安全指标.

(3) 操作简单、测定快速. 既不需要复杂的样品预处理, 也不需要严格的操作条件. 对一名非化学分析人员来说, 做一次测定只需 8min 左右.

综上所述, 本方法操作简单, 测定快速, 成本低廉. 它不仅适用于野外无仪器设备条件下对水中有机磷农药进行快速检测, 其应用范围还可以扩大到对蔬菜、土壤和其它农产品中有机磷农药的测定. 因此, 用植物酯酶片和底物片快速检测有机磷农药方法是一种有实用价值和发展前途的快速检测技术.

参 考 文 献

- [1] Drevenkar V, A Test for Monitoring Traces of Cholinesterase Inhibitors in Surface Waters. *Mikrochim. Acta*, 1981, II (1—2): 46—56
- [2] Bernabei M, Determination of Organophosphorous and Carbamic Pesticides with a Choline and Acetylcholine Electrochemical Biosensor. *Anal. Lett.*, 1991, 24 (8): 1317—1331
- [3] 杜廷发, 用酶分析法直接测定含氯水中痕量有机磷化合物. 分析化学, 1987, 15 (2): 109—112
- [4] 黄雁, 简易、快速检测有机磷农药的酶片和生色基质片. 环境科学, 1995, 16 (3): 52—54
- [5] 李治祥, 应用植物酯酶抑制技术测定蔬菜水果中农药残留量. 环境科学学报, 1987, 7 (4): 472—478

1999 年 1 月 20 日收到.

A RESEARCH ON THE METHOD FOR RAPID DETERMINATION OF ORGANOPHOSPHOROUS PESTICIDES IN WATER

Han Chenghui Gu Wei Wang Naiyan Wang Zhengping

(Chemical School, Nanjing University of Sciences & Technology, Nanjing, 210094)

ABSTRACT

Plant-esterase tablet and substrate tablet were developed for rapid detection of organophosphorous pesticides in water. The enzyme tablet and substrate are cheap, easily obtained and stable. This method can be used to check for hazardous levels of pesticides in field without other instrumentation. The detection limits are from 0.04 to $10.0\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ for organophosphorous pesticides in common use.

Keywords: organophosphorous pesticides, plant-esterase tablet, substrate.