

文章编号: 1001-2486 (2001) 05-0045-03

一种胆碱酯酶贮存寿命的预测方法*

杜廷发

(国防科技大学航天与材料工程学院, 湖南长沙 410073)

摘要: 用差热分析 (DTA) 和等温加速老化法, 测定了用生物化学方法检测有机磷、氨基甲酸酯类农药或毒剂的试剂——胆碱酯酶的贮存寿命。获得了所测定的该种胆碱酯酶的贮存寿命与贮存温度之间的关系式。这种测定方法简便快捷、实用可靠。

关键词: 胆碱酯酶; 贮存寿命; 差热分析 (DTA); 等温加速老化

中图分类号: O657.99 **文献标识码:** A

A Calculation Method of Storage Life for Cholinesterase Enzyme

DU Ting-fa

(College of Aerospace and Material Engineering, National Univ. of Defense Technology, Changsha 410073, China)

Abstract: This paper presents a calculation method of storage life for cholinesterase enzyme which is a reagent to detect organophosphorus and carbamate pesticides or toxicants by the biochemical method. A relational expression of the storage life to the storage temperature is obtained. This calculation method is simple, rapid, practical and reliable.

Key words: Cholinesterase enzyme; storage life; differential thermal analysis (DTA); isothermal accelerated ageing

用生物化学法检测有机磷、氨基甲酸酯类农药或毒剂, 胆碱酯酶是不可缺少的重要试剂, 但该试剂稳定性较差, 常在贮存中失效。造成失效的主要原因, 通常认为: 一是贮存的高温造成热分解, 二是吸湿造成水解。尽管我们用差热分析表明, 干燥的胆碱酯酶, 即使加热到 150°C 冷至室温后, 仍有良好的活性, 足见高温分解不是造成酶失效的主要原因, 但和大多数化学品一样, 长期贮存, 仍有贮存寿命问题。除去其它影响因素, 如湿度之外, 贮存温度就和它有直接的关系。各种不同来源的胆碱酯酶, 如马血清酶, 鸭血清酶、鸡血清酶, 等等, 以及不同的提取、制备和处理方法, 都会有不同的贮存寿命。为此, 预测胆碱酯酶的贮存寿命, 对用生化法检测有机磷、氨基甲酸酯类农药或化学毒剂具有重大意义。用长期贮存而定期检查失效的原始方法, 显然是费时费力的。我们采用等温加速老化试验, 配合差热分析, 预测了胆碱酯酶的贮存寿命, 并获得了所测定的胆碱酯酶寿命与温度之间的定量关系。

1 实验部分

1.1 原理

化学品在贮存期间发生的化学变化, 一般可认为基本符合 Arrhenius 方程^[1], 即

$$K = Ae^{-\frac{E}{RT}} \quad (1)$$

式中 K —反应速率常数; A —频率因子(指前因子); R —通用气体常数(8.314 焦耳/度·摩尔); E —反应活化能; T —绝对温度。

由此方程可以得到反应延滞期(贮存期或寿命) t 和进行反应的温度(贮存温度) T 之间的关系^[2]:

$$t = Be^{\frac{E}{RT}} \quad (2)$$

即

* 收稿日期: 2001-01-16
作者简介: 杜廷发(1942-), 男, 高级工程师。

$$\ln t = \ln B + \frac{E}{RT} \quad (3)$$

从(3)式可知, 贮存温度 T 越高, 寿命 t 就越短。由此我们可以用此式表达的等温老化法, 通过提高温度加速老化, 预测化学品的寿命。(3)式中活化能 E 可用 DTA 仪器, 采用 Kissinger 方程³¹ 获得, 即

$$\ln \frac{\phi}{T_p^2} = C - \frac{E}{RT_p} \quad (4)$$

以不同升温速率 ϕ 对酶样加热, 获得不同 ϕ 下的 DTA 曲线(图 1), 从曲线上可以得到不同的分解吸热峰温 T_p , 用所得数据由 $\ln \frac{\phi}{T_p^2}$ 对 $\frac{1}{T_p}$ 作直线, 由方程(4)从直线斜率中求出活化能 E 。通过在较高温度 T_1 下每隔一定时间取样测酶活性, 直至失效, 从而获得 t_1 。由所测得的 E 及 t_1 和 T_1 , 由(3)式可获得常数 B , 于是由(3)式便可获得任意贮存温度 T 下的贮存寿命 t 。

1.2 试剂与仪器

胆碱酯酶(解放军某部化学试剂厂), 活性 0.75IU/mg (1 IU = 1 μ mol/min, 乙酰胆碱, PH7.5, 25 $^{\circ}$ C)。仪器: Thermoflex 热分析仪(日本理学公司)。

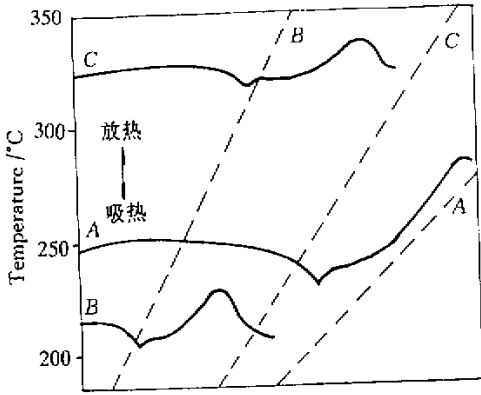


图 1 不同加热速率下酶的 DTA 曲线

Fig.1 The DTA curves of the enzyme at different heating rates. —DTA curve, ... Temperature line.

A: 5 $^{\circ}$ C min $^{-1}$, B: 10 $^{\circ}$ C min $^{-1}$, C: 15 $^{\circ}$ C min $^{-1}$.

1.3 实验方法

以 5、10、15 $^{\circ}$ C/min 的升温速率对酶样在 DTA 仪器上加热, 参比为 α -Al $_2$ O $_3$, DTA 量程 $\pm 25\mu$ V。由此获得三条 DTA 曲线, 并从曲线上的吸热峰温求活化能。另取一份酶样, 置于 150 $^{\circ}$ C (T_1) 的恒温箱中恒温, 加速老化。每隔 4 小时取出一部分酶样测其活性, 直至失去活性为止, 其间所经历的时间即为该酶在 150 $^{\circ}$ C 下的贮存寿命 t_1 。

2 结果与讨论

图 1 是不同升温速率下的 DTA 曲线, 可以看出, 它们都有一个分解吸热峰和一个氧化放热峰。表 1 列出了该酶吸热峰温 T_p 以及 $\ln \phi / T_p^2$ 和 $1000 / T_p$ 等数据。根据方程(4), 用表 1 数据作 $\ln \phi / T_p^2$ 对 $1000 / T_p$ 图, 得直线斜率为 $-\frac{E}{R}$, 由此求得活化能 E 为 52.46 kJ \cdot mol $^{-1}$ 。

另外, 该酶在 $T_1 = 150^{\circ}$ C (423K) 恒温加速老化实验, 获得其失效时间(寿命) $t_1 = 60$ 小时 (2.5 天)。根据(3)式有

$$\ln t_1 = \ln B + \frac{E}{RT_1}$$

即

$$\ln 2.5 = \ln B + \frac{52.46 \times 1000}{8.314 \times 423} \quad (5)$$

表 1 不同加热速率下酶的 DTA 吸热峰温及相关数据

Tab.1 Endothermic peak temperatures on the DTA curves of the enzyme at different heating rates and related data

$\phi/^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	T_p/K	$\ln\phi/T_p^2$	$\frac{1000}{T_p}/\text{K}^{-1}$
5	480	-10.783	2.083
10	482	-10.053	2.075
15	483	-9.652	2.070

此方程解得 $\ln B = -14.01$ 。这样就可得到任一贮存温度 T 与寿命 t 之间的关系式：

$$\ln t(\text{天}) = \frac{6310}{7} - 14.01 \quad (6)$$

例如，当该胆碱酯酶始终在 20°C 下贮存时，其寿命为 1847 天（五年）；在 40°C 下贮存时，寿命为 467 天（1 年 3 个月），等等。当然，应用于检测有机磷、氨基甲酸酯农药或化学毒剂的该胆碱酯酶，不会在恒温条件下贮存，其贮存温度通常以所在地的年平均气温计算，由（6）式求出其预测寿命。

3 结论

用差热分析及 Kissinger 方程 $\ln \frac{\phi}{T_p^2} = C - \frac{E}{RT}$ 可以测得胆碱酯酶贮存期间化学反应活化能 E ；用等

温加速老化法，可以测得胆碱酯酶贮存寿命方程 $\ln t = \ln B + \frac{E}{RT}$ 中的常数 B 。由此便可用实验手段得到胆碱酯酶的贮存温度与贮存寿命之间的具体关系式。

参考文献：

- [1] 炸药理论编写组. 炸药理论 [M]. 北京：国防工业出版社，1982：23-28.
- [2] 杜廷发，周世光等. 热分析在红外遮蔽烟幕剂的某些热相关性能测试中的应用 [J]. 防化学报，1991，5(2)：61-66.
- [3] 杜廷发. 现代仪器分析 [M]. 长沙：国防科技大学出版社，1994，31-32.

