

文章编号:1671-6833(2005)01-0073-06

# 空气消毒剂过氧乙酸含量的酶催化光度法测定

毛陆原<sup>1</sup>, 罗成果<sup>1</sup>, 李玉娜<sup>1</sup>, 李琳<sup>1, 2</sup>, 厉留柱<sup>1</sup>, 任方方<sup>1, 2</sup>

(1. 郑州大学材料工程学院, 河南 郑州 450052; 2. 河南省化学生物和有机化学重点实验室, 河南 郑州 450052)

**摘要:** 过氧乙酸(PAcA)室内作消毒剂时,在空气中的含量很低,用通常的化学分析方法很难检测到.通过用过氧乙酸以喷雾法和熏蒸法进行空气消毒,用气体吸收管现场采样,以酶催化分光光度法测定室内环境中的微量过氧乙酸消毒剂的含量.实验证明,PAcA在辣根过氧化物酶(HRP)催化作用下,当磷酸盐缓冲液存在时能和苯酚、4-氨基安替比林发生Tinder反应.与过氧化氢的酶催化分光光度法相似,35℃生成的醌式染料30 min显色完全,在505 nm处有最大吸收,对应该波长的吸光系数为12.72 L/(mmol·cm),测量过氧化物工作曲线的线性回归方程为 $A = 0.0038 + 12.72c$  ( $c$ 为 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),线性相关系数 $\rho > 0.99$ ,溶液组分(PAcA+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)的检出浓度为 $3.09 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对应25 mL过氧化物检出限为7.73 nmol,过氧乙酸的检出限为0.235  $\mu\text{g}$ ,发展了一种过氧乙酸痕量分析的简便、准确和灵敏的酶促反应显色方法.

**关键词:** 过氧乙酸;辣根过氧化物酶;在线预富集;空气消毒;酶法分析

**中图分类号:** TQ 223.25; N 072

**文献标识码:** A

## 0 引言

过氧乙酸是一个具有重要用途的有机合成氧化剂和化工原料,它是过氧有机酸中结构较为简单、制造比较容易的化合物.与双氧水相比,过氧乙酸的水溶液具有更强的氧化性和优良的杀菌性能,因此它又是一个高效、广谱的化学消毒剂.近年来,随着应用范围的不断扩大,人们对它日益重视,生产和科研发展较快<sup>[1,2]</sup>.随着消毒剂的大量生产和广泛使用,一方面需要分析产品中有效成分,用于检查消毒剂原药是否合格;另一方面需要测定进入环境中的消毒剂含量.由于微量过氧化物在环境分析、活性氧生化作用、酶催化聚合反应以及Tinder酶试剂偶联系统中占有重要的地位,近年来有关酶法分析过氧化氢和模拟酶研究的文献很多<sup>[3~5]</sup>,鲜见利用辣根过氧化物酶(HRP)及其模型物用于生物催化分光光度测定微量过氧乙酸消毒剂的报道;另外,过氧化物类消毒剂大规模使用可能造成的环境污染,也没有得到足够的重视<sup>[6~8]</sup>.

2003年春,肆虐环球30多个国家和地区的SARS(非传染性肺炎)成了当时全世界关注的大事,我国是重灾区,为切断传染源,有效遏制SARS疫情传播,消毒剂成了热点;过氧乙酸因其毒副作用小,生产方便、经济,并能够有效杀死多种病毒和细菌,一时间成了抢手货,空气中弥漫着异味,弱势群体误食误用、爆炸烧伤等消息也见诸各种媒体<sup>[1,2]</sup>;人类和传染性病毒的斗争是长期的,正确认识和使用消毒剂不仅是至关重要的,也有继续深入研究的必要.这种研究应该包括宏观的、微观的,常量的、微量的,内源的、外源的,室内的、户外的等等.本研究针对过氧化物类消毒剂的制备、使用和分解性质进行了探讨,用气体吸收管现场采集以喷雾法和熏蒸法进行空气消毒的过氧乙酸,在磷酸盐缓冲液存在和HRP作用下,酶法分析(固定时间酶催化分光光度法测定)室内环境中的微量过氧乙酸消毒剂,发展了一种过氧乙酸监测的简便、准确和灵敏的酶试剂催化显色方法,并对相关反应的机理进行了推测和初步验证.

**收稿日期:**2004-10-17;**修订日期:**2005-01-15

**基金项目:**河南省自然科学基金资助项目(0211021000)

**作者简介:**毛陆原(1959-),男,湖北省武汉市人,郑州大学教授,博士,主要从事仿生高分子材料及分析化学方面的研究.

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

紫外-可见分光光度计和 1 cm 的石英比色皿;UV 2401PC-SH MADZU 日本岛津公司;恒温水浴锅;电热单列式,300W,恒温范围  $27^{\circ}\text{C}\sim 100(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ ;动槽式水银气压表;YML 型,上海天宇科技研究所;喷雾器:高压气筒式(0.5L)和手持压缩式(1L,余姚市巨峰喷雾器公司产品);气体吸收管<sup>[9]</sup>;15 mL 大包气泡吸收管(市售)和 15 mL 多孔筛板吸收管(郑州大学化学系玻璃加工产品)。

冰乙酸;AR,天津市化学试剂三厂;过氧化氢;AR,上海桃浦化工厂;辣根过氧化物酶(HRP);250 u/mg,  $R_z > 3$ ,华美生物工程公司;牛血红蛋白(BHb);生化试剂,上海伯奥生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液:一定量 0.050 mol/L NaOH 溶液和 50.00 mL 0.10 mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶液按适当比例混合,去离子水定容至 100 mL,用酸度计测量,即得  $\text{pH}=6.0\sim 8.0$  的缓冲溶液;高锰酸钾标准溶液:标定  $c(\text{KMnO}_4)=0.020\ 2\ \text{mol/L}$ ;硫代硫酸钠标准溶液:标定  $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.041\ 0\ \text{mol/L}$ ;4-氨基安替比林(4-AAP);AR,配制成质量浓度为 0.1% 的水溶液;其余试剂均为分析纯,所用水为离子交换一反渗析膜过滤纯净水。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 过氧乙酸产品浓度的测定

取 100 mL 乙酸于烧杯中,加质量分数为 98% 的硫酸 5.3 mL,再取 50.0 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  加入其中,摇匀,贮存于 500 mL 的塑料瓶中。3 h 后取新配制的过氧乙酸溶液 2.0 mL,稀释到 50.0 mL。取已稀释的溶液 5.0 mL 于锥形瓶中,加 3 mL/L 的硫酸 5.0 mL,少量  $\text{MnSO}_4$ ,高锰酸钾标准溶液滴定至刚变色,为第一终点;再加入 KI 0.8 g,加入质量浓度为 3% 的钼酸铵 3 滴,用已标定的浓度为 0.041 0 mol/L 硫代硫酸钠滴定至淡黄色,加质量浓度为 5% 的淀粉溶液 3 滴,再滴定至无色。算出所用的硫代硫酸钠的体积,根据换算,得出过氧乙酸的浓度。以后在 24 h、100 h 间隔取样,按上述方法测定溶液中过氧乙酸的浓度。

从制得的过氧乙酸中取出 35 mL,用水稀释至 1 L。从配制好 1 L 的过氧乙酸溶液的时间算起,在 1 d、2 d、4 d 和 15 d 时按上述同样的方法对过氧乙酸溶液中的过氧化氢和过氧乙酸的浓度进行连续滴定<sup>[7,9]</sup>。

#### 1.2.2 微量过氧乙酸的酶法分析

在若干 25 mL 的容量瓶中分别加入 0.00~4.00 mL 的浓度为 0.965 mmol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$ (或 PAcA)溶液,5.0 mL 的  $\text{pH}=7.9$  的磷酸盐缓冲溶液,依次加入 2.0 mL 的质量浓度为 0.1% 的 4-APP 溶液、2.0 mL 的质量浓度为 0.5% 的苯酚溶液和 2.0 mL 的浓度为 48 mg/L 的 HRP 溶液,用水稀释至刻度,摇匀。 $35^{\circ}\text{C}$  的水浴中保温 30 min。选用 1 cm 比色皿,以试剂空白为参比,在紫外-可见分光光度计 505 nm 处测量显色溶液的吸光度,作工作曲线;或室温放置 60 min,在 300~600 nm 范围内扫描吸收曲线。

新配置的质量浓度为 0.5% 的过氧乙酸溶液,水稀释 100 倍后分取 2.0 mL,连同未知浓度样品溶液分别于 25 mL 容量瓶中,按上述方法步骤显色,在以上工作曲线上读出过氧化物浓度  $c(\text{H}_2\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{COOOH})$ 。

#### 1.2.3 过氧乙酸溶液分析浓度的标定

取新配置的质量浓度为 0.5% 的过氧乙酸溶液 5.00 mL 于深色磨口带塞锥形瓶中,依次加入 2 mL/L 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液 5.00 mL、1.6 g KI、20.0 mL 的蒸馏水,摇匀后置于暗处反应 5~10 min。以 0.040 3 mol/L  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  标准溶液进行滴定,颜色变为淡黄色后加入质量浓度为 5% 的淀粉溶液 0.25 mL,蓝色褪去为滴定终点,计算过氧化物浓度  $c(\text{H}_2\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{COOOH})$ 。

#### 1.2.4 过氧乙酸的采集与测量

取浓度为 2% 的过氧乙酸(市售)250 mL 于喷雾器中,在约  $12\ \text{m}^2$  ( $33\ \text{m}^3$ ) 的屋中均匀喷洒。约 30 min 喷洒完毕,房间密闭。5 min 后,用已装入 5.0 mL 磷酸盐缓冲溶液的气泡吸收管进行吸气,采集 200 mL 气体,然后将缓冲溶液倒入 25 mL 的容量瓶中。以后,每隔 10 min 于室中央高 1.2 m 处取一次样,每次均取 200 mL 气体,30 min 后,强制通风 20 min,再取样一次。然后将采集的样品转移至 25 mL 容量瓶中,按 1.2.2 的实验步骤操作。

取 33 mL 过氧乙酸(自制,加稳定剂),放入已煮沸的水浴中,房间密封。5 min 进去取样,10 min 时,取样后将烧杯拿出,倒出剩余液体,测量约为 9.0 mL。以后 20 min、30 min 用多孔筛板吸收管,各采样 200 mL 消毒空气。然后将采集的样品转移至 25 mL 容量瓶中,按 1.2.2 节的实验步骤操作。

## 2 结果与讨论

### 2.1 过氧乙酸的生成和分解

过氧乙酸的生成方法有 3 种:过氧化氢法、乙

酸氧化法及催化抑制法<sup>[9]</sup>。本研究采用第一种方法:在硫酸存在下,将乙酸和过氧化氢混合反应。过氧化氢浓度以高锰酸钾滴定,过氧乙酸浓度采用碘量法分析。由图 1 中可以看出,当把乙酸和过氧化氢混合后,反应比较快,3 h 后作为过氧乙酸产品的浓度就可以达到很大;随着时间的增加,过氧乙酸的浓度也增加,并在 50 h 左右达到最大。然后随着时间的增加,过氧乙酸的浓度逐渐减小,但下降的并不明显。在这个过程中,过氧化氢的初始浓度很大,但是随着时间的增加,它的浓度急剧的下降,当反应 24 h 达到一定的浓度,下降的速度减缓,质量分数基本恒定。

浓度为 0.50% 的过氧乙酸溶液,其分解速度是很快。从图 2 可见,48 h 时间其浓度下降超过了 50%,15 d 后溶液中过氧乙酸的浓度已经非常的低;但是随着时间的增加,过氧化氢的浓度却逐渐升高,应该这是由于过氧乙酸和过氧化氢之间的可逆反应和在过氧乙酸的分解过程中一部分又转化为过氧化氢。

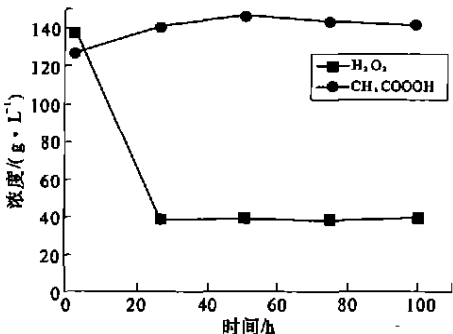


图 1 不同反应时间下过氧乙酸产品的浓度分析 (20℃, 0.995 MPa)

Fig. 1 Concentration analysis of peracetic acid product in different time of reaction

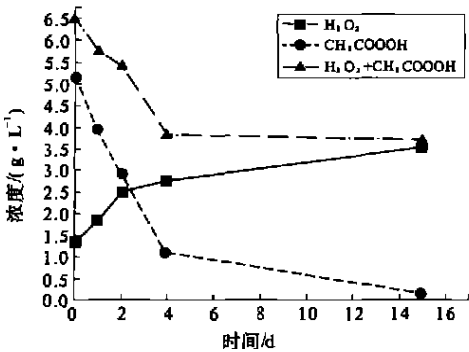


图 2 过氧乙酸稀溶液的稳定性分析 (20~22℃, 0.995 MPa)

Fig. 2 Stability analysis for dilute concentration solution of peracetic acid in different time

对过氧乙酸稀溶液 (0.1%~1%), 浓度越低, 其分解速度越快, 过氧化物分析浓度 (PAA + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 始终呈下降趋势, 4 d 后趋势减缓。因此对于浓度较小的过氧乙酸溶液, 精确测量或消毒使用时要新鲜配置。

2.2 微量过氧乙酸酶法分析的线性回归方程

按 1.2.2 中的实验步骤, 固定时间 HRP 酶催化分光光度法测定微量过氧乙酸, 反应在 4-AAP 和苯酚存在下按计量关系生成红色的醌类色素, 在 500~510 nm 处有最大吸收。因此, 可通过测定该物质在 505 nm 处的吸光度, 计算生成的醌的物质的量, 从而可得到消耗的 PAA 的物质的量。反应时, 让 4-AAP 和苯酚过量, 使反应充分进行, 30 min 后, 当生成的醌的吸光度不再增加时, 即可认为 PAA + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 完全分解并反应生成醌类物质。由图 3 斜率可算出 505.0 nm 处有光吸收的醌类产物的表观吸光系数  $\epsilon'$  为 12.6 L / (mmol · cm), 以醌类色素的浓度为自变量  $c$ , 以吸光度为因变量 ( $A$ ), 令  $y = 10A$ , 则线性回归方程<sup>[9]</sup>

$$y = 0.037\ 88 + 0.127\ 2\ c,$$

即  $A = 0.003\ 788 + 0.012\ 72\ c$  .

回归方程通过 ( $\bar{c}$ ,  $\bar{y}$ ) 或 ( $\bar{c}$ ,  $\bar{A}$ ) 点, 由回归系数计算毫摩尔吸光系数  $\epsilon = 12.72\ L / (mmol \cdot cm)$  . 设  $i = 0 \sim 6$ , 自由度  $f = i - 1$ , 置信度为 99%, 即  $f = 5$ , 显著性水准  $\alpha = 0.01$ , 相关系数  $\rho$  实际值计算为

$$\rho = \frac{\sum (c_i - \bar{c})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (c_i - \bar{c})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}} = \frac{562.546\ 7}{562.645\ 4} = 0.999\ 8.$$

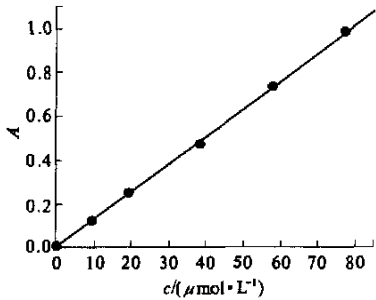


图 3 固定时间法 HRP 催化测定不同浓度过氧乙酸的工作曲线 (35℃, 30 min, 试剂空白参比)

Fig. 3 Work curve of UV-Vis spectrum of phenol / PAA / 4-AAP solution reaction catalyzed by HRP

线性相关系数大于 0.99, 远超出临界值  $\rho_{0.01,5} = 0.874\ 5$  ( $\rho_{0.01,3} = 0.990\ 0$ )<sup>[9]</sup>, 说明含量在 0~40 μmol / L 过氧乙酸的酶法分析有很好的精密度和线性相关性。7 个空白样品按酶法分析步骤

进行平行测定,测得浓度(PAcA + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 标准偏差  $S_c = 1.03 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 则 25 mL 溶液组分的最低检测浓度  $3S_c = 3.09 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 对应的检出限为  $7.72 \text{ nmol} \text{ (PAcA + H}_2\text{O}_2\text{)}$ , 过氧乙酸的检出限  $0.235 \mu\text{g}$ , 说明该法有很好的分析灵敏度.

2.3 喷雾法和熏蒸法中的过氧乙酸的浓度分析

本文作者曾经以血红素衍生物作为模拟酶,以动态分子光谱法测量环境中痕量过氧化氢<sup>[3~3]</sup>;参考文献[5, 10, 11]的思路,以3种仿生催化方法,试图用HRP、血红蛋白(BHb)或壳聚糖交联聚合物固定的HRP,催化显色测定微量消毒剂PAcA中的过氧化氢,实验发现所得结果是过氧乙酸的分析浓度.过氧乙酸由BHb催化显色反应的条件和结果如图4所示,说明BHb催化过氧乙酸反应,也可以按比例生成红色的醌类色素.在505 nm处有一特征吸收峰,使4-AAP和苯酚过量至1.0 mmol/L,当PAcA不足量时(小于0.500 mmol/L)使反应充分进行,60 min后,当生成物的吸光度不再增加时,即可认为PAcA完全分解并反应生成醌类物质.通过作工作曲线也可算出505.0 nm处显色产物的表观毫摩尔吸光系数  $\epsilon'' = 5.20 \text{ L} / (\text{mmol} \cdot \text{cm})$ .结果表明:模拟酶和固定化HRP催化过氧乙酸反应速度比较慢,且灵敏度略低,这可能是过氧乙酸分子体积比H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>大,在模拟酶(BHb为四聚体)和固定化酶载体扩散较慢的缘故.因此进行空气消毒时,选用灵敏度较高的HRP催化法测定微量过氧乙酸,使用显色反应的图3工作曲线或线性回归方程进行分析.

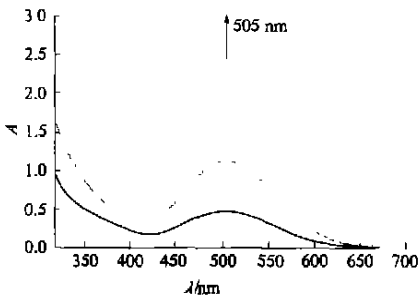


图4 BHb催化不同浓度过氧化物反应的吸收光谱曲线  
(25℃, 60 min, 1 cm比色皿, 水参比)

Fig. 4 UV-Vis spectrum of phenol/PAcA/4-AAP solution reaction at different  $c(\text{PAcA})$  catalyzed by hemoglobin

在约33 m<sup>3</sup>的密闭室内消毒采样时,喷雾法、熏蒸法所用过氧乙酸总量均为5 g左右,温度为18~22℃,气压0.993~0.995 MPa.从表1可以看出,喷雾法在室内进行消毒,在开始的阶段过氧乙

酸的浓度随着时间的增长下降的很快,但是一段时间以后,浓度就保持在一个范围内.用熏蒸法消毒时,10 min停止加热,在取第二个样时过氧乙酸的浓度要大于第一次;但是和喷雾法相比,在开始的阶段,空气中过氧乙酸浓度下降依然较快,在20 min以后,浓度下降的就比较慢.对比喷雾法和熏蒸法两组数据,可以看出在喷雾的过程中,其在空气中的浓度要低于熏蒸法在空气中的浓度,原因可能是已经有一部分的过氧乙酸在喷洒的过程中消耗掉了;在浓度保持上,熏蒸法持续的时间长,在消毒效果上应该比喷雾法好.但是在熏蒸中,室内长期存留的特别强的刺激性气味,可能是在加热的过程中,由于温度过高,促使过氧乙酸分解,产生了大量自由基的缘故.

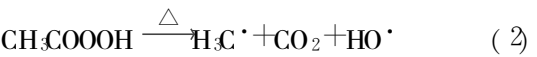
表1 进行空气消毒时过氧乙酸的浓度监测

Tab. 1 Indoor concentration of PAcA and humidity in air at different time when spray and fumy disinfecting

时间 $t/\text{min}$	喷雾法		熏蒸法	
	湿度/%	$c(\text{PAcA}) / (\text{g} \cdot \text{m}^{-3})$	湿度/%	$c(\text{PAcA}) / (\text{g} \cdot \text{m}^{-3})$
5	84	0.042 820	76	0.168 30
10	84	0.010 710	76	0.198 70
20	84	0.007 648	76	0.059 65
30	84	0.006 060	76	0.030 59
50	80	0.004 586	70	0.021 41

2.4 过氧乙酸的分解机理和HRP酶法分析原理探讨

过氧乙酸分解速度受温度、浓度、纯度的影响<sup>[1]</sup>.在一定的温度和浓度范围内,过氧乙酸比较稳定,只发生缓慢的分解作用,处于相对静止的状态,这时,只有数量上的减少没有发生质的变化.随着温度的升高,分解速度逐渐加快.在低温的情况下,分解反应主要是按方程式(1)式进行的,当温度较高时,如在60℃以上,反应方程式(2)则进行得较快:

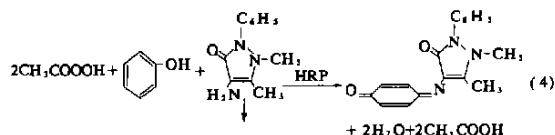
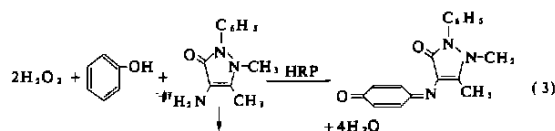


常温下,在这两个反应中,反应方程式(1)的反应速度比反应方程式(2)快,故反应方程(1)是主要的.热分解反应方程式(2)中,由于生成了游离基,它又会进一步诱导过氧乙酸发生分解作用,这样能够发生连锁反应,当分解反应进行很剧烈时就有发生爆炸的可能<sup>[7, 13]</sup>.新生成的游离基不

但可以促进过氧乙酸的分解,而且当大量 $\text{CH}_3\cdot$ 和 $\text{HO}\cdot$ 组合结合时,有可能产生甲醇、乙烷或其它过氧化物等多种污染物质。

过氧化氢法制备的过氧乙酸含有过氧化氢和乙酸,连续(两步)滴定法利用过氧化氢既是氧化剂又是还原剂而过氧乙酸仅是氧化剂的性质,用高锰酸钾滴定过氧化氢至终点后,再用硫代硫酸钠滴定过氧乙酸氧化碘化钾的产物,方法相对误差小,但不适于微量分析<sup>[7,9]</sup>。不进行预先氧化处理,按照实验步骤1.2.3用碘量法对0.5%的过氧乙酸溶液直接进行滴定,测得过氧化物总浓度 $c(\text{H}_2\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{COOOH})$ ,平行测定的实验结果为 $c(\text{H}_2\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{COOOH}) = 0.1033 \text{ mol/L}$ 。

已知 $\text{H}_2\text{O}_2$ 在HRP或模拟酶的作用下,可以和苯酚、4-AAP反应,生成醌类色素<sup>[3~5]</sup>。这种色素在500~510nm处有吸收峰。在苯酚和4-氨基安替比林过量的情况下,通过对过氧乙酸在苯酚/4-AAP/模拟酶催化显色反应体系的UV-Vis吸收曲线的分析,我们认为 $\text{CH}_3\text{COOOH}$ 有类似 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的反应:



新配置的质量分数为0.5%的过氧乙酸溶液,水稀释100倍后按照实验步骤1.2.2酶法分析,原溶液的分析浓度为: $c = 0.1034 \text{ mol/L}$ ;由酶法分析所得的数据和滴定法测得的数据进行比较可以看出,两者相对误差不超过0.1%,认为是相等的。初步证明过氧乙酸在苯酚/4-AAP/HRP酶促反应体系中与过氧化氢的酶促反应体系相似,反应计量关系可以确认。

### 3 结束语

过氧乙酸产品可以由过氧化氢和乙酸在无机酸催化下合成,任何浓度的过氧乙酸中都含有原料成分。两步连续滴定法利用过氧化氢既是氧化剂又是还原剂而过氧乙酸仅是氧化剂的性质,用高锰酸钾滴定过氧化氢至终点后,再用硫代硫酸钠滴定过氧乙酸氧化碘化钾的产物,方法相对误

差小,但不适于微量分析。

一般认为,HRP是一种对氢受体 $\text{H}_2\text{O}_2$ 有特异性而对氢供体缺乏选择性的酶试剂,本研究发现微量过氧乙酸能够发生与 $\text{H}_2\text{O}_2$ 类似的Tinder显色反应,已用滴定分析法和UV-Vis吸收曲线初步验证;酶催化分光光度法,提高了测试灵敏度,可适用于大气中微量和痕量过氧乙酸的检测,该方法的操作条件和选择性尚需优化;以HRP酶催化分析方法测定微量过氧乙酸,方法简便、灵敏、快速,若能改变氢供体底物,采用动态分子光谱法也是发展过氧化物消毒剂灵敏检测手段的有效途径。

与其它化学消毒剂相比,过氧化物类的杀灭作用主要依靠氧化作用,其优点以往普遍认为:不仅是具有广谱、高效、快速的杀毒灭菌效果,而且分解后的产物无毒、无残留毒性。但大规模的使用造成的自由基污染应该给予新的关注,相应的环境毒理学和环境分析机理是值得深入探讨的问题。

### 参考文献:

- [1] 刘曾宁,王光建. 消毒剂生产及应用[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [2] 张荻华,周铁军,刘亚萍,等. 医院内室空气消毒方法研究进展[J]. 中国消毒学杂志,2003,20(4):312~315.
- [3] LIU Z H, CAI R X, MAO L Y, et al. Highly sensitive spectrophotometric determination of hydrogen peroxide with  $\beta$ -CD-Hemin as catalyst[J]. Analyst, 1999, 124(3):173~176.
- [4] ZHANG K, MAO L Y, CAI R X. Stopped-flow spectrophotometric determination of hydrogen peroxide with hemoglobin as catalyst[J]. Talanta, 2000, 51(1):179~186.
- [5] YANG Y, MAO L Y, LI Y N, et al. Enzymatic catalysis of hemoglobin immobilized by chitosan polymer [A]. Huaiqiao University. Proceedings of International Symposium on FCFP - XIII [C]. Quanzhou: Huaiqiao University, 2003. 187~188.
- [6] 周中平,赵寿堂,朱力,等. 室内污染检测与控制[M]. 北京:化学工业出版社,2002.
- [7] 袁治功,凌波. 实用消毒技术[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [8] 李本斌,赵红坤,刘国际. 硫酸钠过氧化氢加合物的制备及表征[J]. 郑州大学学报(工学版),2004,25(2):40~44.
- [9] 孙炳耀,白雁,毛陆原,等. 分析化学(I、II)[M]. 开封:河南大学出版社,1993(I):165~168. 1995(II):

132~141.

[ 10 ] MAO Lu yuan ·LI Liu zhu ·LI Zao ying ·et al ·Supramolec -  
ular architecture of enzyme like regents (I) Immobilizing  
prosthetic group of peroxidase and its application [ J ] ·  
Chemical Research in Chinese University , 2001,17(s) ;28

~29.

[ 11 ] 杨 勇·血红蛋白作为模拟酶和固定化酶的研究  
[ D ] ·郑州:郑州大学,2004.46~55.

[ 12 ] 李世新·过氧乙酸的性质和应用[ M ] ·上海:上海科  
学技术出版社,1984.

Enzymatic Assay of Peracetic Acid Content in Disinfection Air with Spectrophotometer

MAO Lu -yuan<sup>1</sup> ·LUO Cheng -guo<sup>1</sup> , LI Yu -na<sup>1</sup> , LI Lin<sup>1,2</sup> , LI Liu -zhu<sup>1</sup> , REN Fang -fang<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>School of Materials Engineering ,Zhengzhou University ,Zhengzhou 450052,China ;<sup>2</sup>Key Lab of Chemical Biology & Organic Chem -  
istry of Henan Province , Zhengzhou 450052, China)

**Abstract** : Peracetic acid , which is a kind of excellent disinfectant , can be produced easily and kill many kinds of bacteria and virus effectively , SARS included .The indoor concentration of air disinfectant is necessary to be detected online because of the erosion and toxicity .When peracetic acid is used as air disinfectant of indoor ,the concentration is too low to be measured by common methods of chemical analysis .The method of sprayer and fumigating method can be used when peracetic acid is used as air disinfectant .Different concentrations of micro dosage of indoor per -  
acetic acid absorbed by gas absorption tube are measured by biocatalytic spectrophotometry .Trinder coloring reaction of peracetic acid , phenol and 4 -AAP , which is similar to that of hydrogen peroxide affecting horseradish peroxi -  
dase in existing phosphate buffer solution , are demonstrated in experiment and created the quinone dye matter .The biocatalytic photometry of color reaction at 35℃ in 30 min had the absorption peak at 505 nm , the absorptivity of corresponding wavelength of it is 12.72 L ·mmol<sup>-1</sup> ·cm<sup>-1</sup> .Equation of linear regression with workplot of determina -  
tion of microscale peroxide is  $A = 0.003\ 8 + 12.72\ c\ (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$  and linear regression coefficient  $\rho > 0.99$  .The limit of detection is 3.09  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  to 25 mL solution component , corresponding limits of detections to peroxide disinfectant and to peracetic acid are 7.73 n mol and 0.235  $\mu\text{g}$  .The selectivity of analysis is improved to determine the trace amount of peroxyacetic acid .The chromogenic reaction method catalyzed by HRP is employed to measure peracetic acid in the air by means of enzymatic photometry showing its simplicity , accuracy and high sensitivity .  
**Key words** : peracetic acid(PAcA) ; horseradish peroxidase ( HRP ) ; online preconcentration ; air disinfection ; en -  
zymatic analysis