

金属有机骨架化合物 PCN 222 对酶抑制法的增敏研究

徐霞红 郭玉娜 王新全 王祥云 齐沛沛 汪志威

(浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 杭州 310021)

**摘要:** 合成了一种命名为多孔配位网络结构 222 (PCN 222) 的金属有机骨架化合物(MOFs), 并将其用作农药残留检测中酶抑制法的新型增敏剂。对所制备的 PCN 222 微观形态、结构、X 射线衍射 (XRD) 和热稳定性进行了系统表征。证明该 MOFs 是一种多孔的棒状结构(棒状结构主轴为六面体), 并具有大的表面积和强的热稳定性。基于 PCN 222 的性能, 在有机磷农药快检中添加 PCN 222 材料, 增强了传统酶抑制法的灵敏性。为进一步研究, 将毒死蜱选为模型分析物, 在最佳条件下, 吸光度变化量提高了 68.8% (3 min 内)。此外, 该方法具有简单、快速、成本低的优点, 为复杂样品基质中有机磷农药的测定提供了一种实用工具。

**关键词:** 金属有机骨架化合物; 多孔配位网络结构 222; 毒死蜱; 酶抑制法; 增敏

**中图分类号:** S481+.8; X502      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-1298(2017)05-0193-06

Porous Metal-organic Frameworks: PCN 222 Sensitization to Ache Inhibition Method

XU Xiaohong GUO Yu'na WANG Xinquan WANG Xiangyun QI Peipei WANG Zhiwei

(Institute of Quality and Standard for Agro-products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

**Abstract:** Food safety issues caused by pesticide residues become the spotlight of public concerns all over the world. Metal-organic frameworks: porous coordination network 222 (MOFs: PCN 222) were synthesized and investigated as a novel sensitizer for AChE-inhibited method. TCPP (Tetrakis (4-carboxyphenyl)porphyrin) was employed as a ligand and highly stable Zr<sub>6</sub> clusters were chosen as nodes for the assembly of stable Zr-MOFs. With carefully selected starting materials, a 3D porous MOFs was successfully constructed. Some properties of the prepared PCN 222, including structure, morphology X-ray diffraction (XRD) and thermostability were studied systematically. Porous virgate structure (spindle hexahedron), large surface area and strong thermostability were obtained for the MOFs. Based on the PCN 222, a sensitive AChE-inhibited method was developed. As a proof of concept, chlorpyrifos was used as a model analyte. Under the optimal conditions, absorbance increasing efficiency was increased by 68.8% (in 3 min), which substantially improved the sensitivity of the colorimetric method compared with traditional ache inhibition method. The results revealed that the sensitization range obtained for chlorpyrifosis was approximately 0.01 ~ 10 μg/mL. Furthermore, the biosensor was successfully applied to the quantitative assay of chlorpyrifos in synthetic sample (vegetable matrix). In addition, the method possessed the advantages of simplicity, rapidity and cost-effective. Hence, the developed sensitized AChE-inhibited method might provide a useful and practical tool for organophosphorus pesticide determination and related food safety analysis.

**Key words:** metal-organic frameworks; porous coordination network 222; chlorpyrifos; AChE-inhibited method; sensitization

引言

农药长期大量使用甚至滥用对空气、水源、土壤

和农牧产品造成了严重污染,破坏了生态环境,人类健康也因此受到影响<sup>[1-2]</sup>。自 20 世纪 80 年代以来,有机磷农药由于其见效快、效果好且使用方便逐

收稿日期: 2017-03-26 修回日期: 2017-04-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671940)

作者简介: 徐霞红(1983—),女,副研究员,主要从事农产品质量安全研究,E-mail: xiahongxu126@126.com

通信作者: 王新全(1979—),男,副研究员,主要从事农药残留检测技术研究,E-mail: wangxinquan212@163.com

步成为世界上使用最多的农药<sup>[3]</sup>。据世界卫生组织统计,全世界每年有机磷农药中毒者约300万人,其中多达220 000人死亡<sup>[4]</sup>。因此,对蔬菜、水果中的有机磷农药进行快速测定成为亟待解决的问题。

目前蔬菜和水果产品中农药残留的检测方法包括气相色谱法、液相色谱法及液相色谱-质谱联用等,这些大型精密仪器检测结果准确、可靠,但仪器价格昂贵、检测成本高,检测费时,不能实现现场检测,无法在基层单位推广使用<sup>[5-7]</sup>。酶抑制法是研究最多且相对成熟的一种对部分农药残留进行快速检测的技术,我国已将其列入国家标准<sup>[8-9]</sup>。该法由于其具有快速、简便、成本低及易于现场检测等优点,已经成为国内外快速检测农药残留的主流技术<sup>[10]</sup>。然而,传统酶抑制法却存在很大的局限性,如灵敏度常不能满足实际应用的需要<sup>[11]</sup>。

金属有机骨架化合物(Metal-organic frameworks, MOFs)是由金属离子与有机配体通过自组装过程杂化生成的一类具有周期性多维网状结构的多孔晶体材料,具有纳米级的骨架和规整的孔道结构,大的比表面积和孔隙率以及小的固体密度<sup>[12-14]</sup>。在吸附、分离、催化等方面均表现出了优异的性能,已成为新材料领域的研究热点<sup>[15-17]</sup>。MOFs材料的改性研究在真菌毒素<sup>[18]</sup>、细胞<sup>[19]</sup>、生物大分子<sup>[20]</sup>的分析领域已广受关注。而将MOFs材料与酶抑制法结合起来,充分利用MOFs材料的吸附和催化性质实现更高效的酶抑制法检测,却未见报道。

为将MOFs材料与酶抑制法结合起来,探究更灵敏的农药速测技术,本文使用H<sub>2</sub>-TCPP(TCPP=5,10,15,20-四(4-羧基苯基)卟啉)作为MOFs配体,并选择高度稳定的Zr<sub>6</sub>簇作为节点组装稳定Zr-MOFs,命名为多孔配位网络结构222(PCN 222,也称MOF-545或MMPF-6),并研究该材料在酶抑制法增敏上的效果。

## 1 原理

### 1.1 理论基础

有机磷和氨基甲酸酯类农药对动物体内乙酰胆碱酯酶(AChE)具有抑制作用,其抑制率与农药的浓度呈正比。正常情况下的反应如图1所示,酶催化神经传导代谢产物(硫代乙酰胆碱)水解,其水解产物与显色剂二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)反应,产生黄色物质(TNB-C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>N),用分光光度计在412 nm处测定吸光度随时间的变化量,可计算出抑制率,通过抑制率可以判断出样中是否有高剂量有机磷或氨基甲酸酯类农药的存在。



图1 酶抑制法反应的原理

Fig. 1 Reaction principle of AChE-inhibited method

### 1.2 实验原理

本实验的改良如图2所示。在一定条件下,在乙酰胆碱酯酶及其底物(乙酰胆碱)的共存体系中加入农产品样品提取液,如果样品中不含有有机磷或氨基甲酸酯类农药,酶的活性就不被抑制,乙酰胆碱就会被酶水解,水解产物与加入的显色剂反应就会产生颜色。3 min内的吸光度(A)变化量为 $\Delta A$ 。金属-有机框架材料PCN 222具有高孔隙率和比表面积<sup>[12,21]</sup>,能有效富集AChE及农药分子,且该MOFs配体H<sub>2</sub>-TCPP具有优良的催化活性,在一定空间内增强反应物浓度并提高显色反应速率,3 min内的吸光度(A')变化量为 $\Delta A'$ ,在PCN 222作用下显色速率将大大提高, $\Delta A' > \Delta A$ ,从而改善酶抑制法的灵敏度<sup>[22]</sup>;反之,如果试样提取液中含有一定量的有机磷或氨基甲酸酯类农药,酶的活性就被抑制,试样中加入的底物就不能被酶水解,从而不显色。

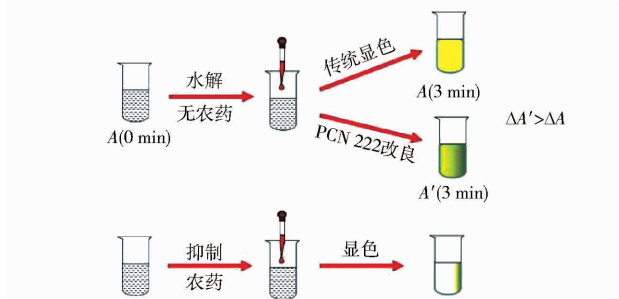


图2 酶抑制法增敏示意图

Fig. 2 Schematic illustration of sensitized ache inhibition method

### 1.3 抑制率计算方法

抑制率I的计算公式为

$$I = \frac{\Delta A_0 - \Delta A_t}{\Delta A_0} \times 100\%$$

式中  $\Delta A_0$ ——空白样品3 min内412 nm处吸光度变化量

$\Delta A_t$ ——待测样品(含农药)3 min内412 nm处吸光度变化量

## 2 试验

### 2.1 仪器及试剂

S/M 100型高压反应釜(北京世纪森朗实验室仪器有限公司);SU8010型场发射扫描电子显微镜(日立高新技术公司);Q500 TGA型热重分析仪(美国TA仪器公司);Primo R型低温冷冻离心机(美国

热电公司);SpectraMax M5 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);96 型微孔板(德国 Greiner Bio - One 有限公司);Mini 型金属浴装置(杭州奥盛仪器有限公司);SCILOGEX MX - S 型旋涡混合器(美国赛洛捷克公司)。

5,10,15,20-四(4-羧基苯基)卟啉(TCPP)、氯化锆( $\text{ZrCl}_4$ )、苯甲酸、磷酸氢二钾( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )、磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )、二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)、硫代乙酰胆碱(ATCh)和乙酰胆碱酯酶(AChE)均为分析纯,都购自美国 Sigma 公司。

2.2 PCN 222 的合成

取  $\text{ZrCl}_4$  140 mg、TCPP 100 mg 及苯甲酸 5 400 mg 于烧杯中,加入 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)16 mL,超声处理使其均匀;将混合均匀的溶液倒入反应釜,120℃反应 48 h;水热反应完成后将产物离心去除上层液体,乙醇反复离心洗涤 3 次;100℃干燥 10 h 即可得到 PCN 222 固体粉末。

2.3 分析步骤

实验选取有机磷农药毒死蜱为研究对象。其中空白加入 0.5 mL 磷酸盐缓冲液(PBS,pH 值 7.4),再依次加入 10  $\mu\text{L}$  的 PCN 222 乙醇分散液(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),5  $\mu\text{L}$  的 AChE (1 U/ $\mu\text{L}$ ),20  $\mu\text{L}$  的 DTNB(8  $\mu\text{g}/\text{L}$ ),摇匀后于 37℃放置 15 min(控制每批样品放置时间一致)。提前设置好紫外分光光度计各项检测参数,取 100  $\mu\text{L}$  混合液于 96 型微孔板中,迅速加入 2  $\mu\text{L}$  ATCh (8.3  $\mu\text{g}/\text{L}$ ),记录反应 3 min 内的 412 nm 吸光度随时间的变化。对照溶液除加入一定量的毒死蜱外保证其他操作与空白一致。

2.4 实际样品检测

青菜叶搅拌成泥,称取 1 g,加入 2 mL PBS 分散,离心分离取上清液于低温(4℃)保存备用。分别取青菜基质和 PBS 溶液,均添加 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的毒死蜱,其余实验条件保持一致(如 2.3 节)。用 MOFs 材料改良 AChE 的酶促反应,测定酶反应体系的动力学数据。

3 结果与讨论

3.1 PCN 222 的表征

3.1.1 SEM 表征

为研究 PCN 222 晶体生长的微观形貌,也为了表征 MOFs 材料是否成功制备,对所制备的 PCN 222 进行扫描电子显微镜(SEM)(图 3)的表征。从图 3a 可以看出,制备的 PCN 222 晶体材料为六面棱柱结构,从棒状结构不规则断裂的横截面(图 3b)可清楚地观察到,棒状形貌由层叠分布的片状多晶形

成,并吸附有其他小颗粒晶型碎片。这一表征同时证明,晶型 PCN 222 MOFs 材料已成功制备。

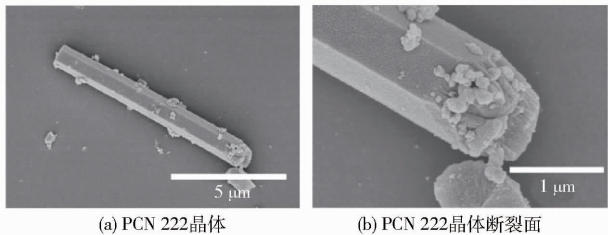


图 3 PCN 222 的 SEM 表征

Fig. 3 SEM images of PCN 222

3.1.2 热重表征

为研究 PCN 222 的热稳定性,对 PCN 222 进行热重分析(TGA),在氮气气氛下以 10℃/min 升温速率由 0℃升温至 600℃。其实验结果如图 4a 所示,该 PCN 222 材料具有非常好的热稳定性,升温至 450℃基本无明显失重(质量分数 85% 以上),即使升温至 600℃,仍保持有 65% 左右的质量。

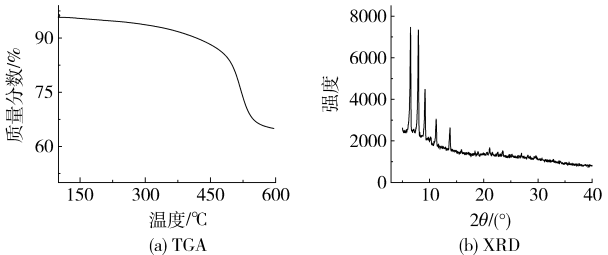


图 4 PCN 222 的 TGA 与 XRD 表征

Fig. 4 TGA and XRD patterns obtained for PCN 222

3.1.3 X 单晶衍射(XRD)表征

为研究 PCN 222 的结晶情况,对 PCN 222 进行 XRD 表征,其结果如图 4b 所示,图中 2 $\theta$  表示 X 射线衍射角度。可以看出 XRD 谱图峰型较好,峰值为 5.86°、7.86°、8.30°和 10.63°,证明了结晶晶体主轴为六面体<sup>[19]</sup>,这与 SEM 表征结果高度一致。同时该表征也进一步证明了晶型材料 PCN 222 已成功合成。

3.2 PCN 222 的用量与优化

3.2.1 PCN 222 的使用对酶反应的影响

选取毒死蜱为典型的有机磷农药,分析 PCN 222 对酶抑制法的影响。固定检测波长及其他条件,按照 2.3 节实验方法配制 2 份溶液,其中 1 份含 PCN 222,另 1 份中不含 PCN 222,然后在 412 nm 波长下,测定 2 份溶液吸光度随时间的变化。结果如图 5a 所示,实验表明 PCN 222 的加入使显色体系在 3 min 内的吸光度变化量增大,较未使用 PCN 222 系统的吸光度变化量增敏 68.8%。同时,还测定了 3 min 时的波谱图。其结果如图 5b 所示,可以看出,加入 PCN 222 较未使用 PCN 222 的显色体系在反应至 3 min 时,只有吸光度(412 nm 处)明显增大且

无其他区别。

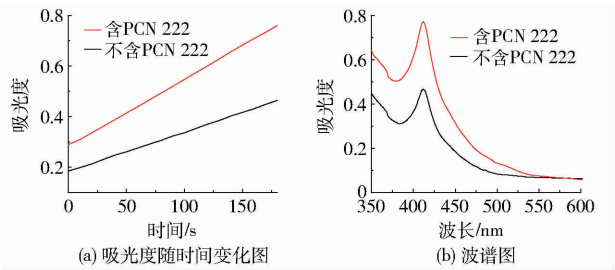


图 5 PCN 222 对酶抑制法的影响

Fig. 5 Effect of PCN 222 on ache inhibition method

3. 2. 2 PCN 222 用量的优化

为了实现最佳的增敏效果,对 PCN 222 的用量进行优化。选取质量浓度为 1、5、10、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 PCN 222 进行实验。其结果表明,质量浓度低于 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,抑制率随 PCN 222 用量的增加而增大,这可归因于局部的富集与催化作用随 PCN 222 用量的增加而增大;质量浓度大于 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,抑制率随 PCN 222 用量的增加而降低,这可能是浓度高时,PCN 222 某些特性影响了显色反应的进行。为进一步研究其原因,对不同质量浓度 PCN 222 对酶反应的影响进行研究(均未添加农药),结果如表 1 所示,可以看出,PCN 222 质量浓度为 1~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,3 min 内的吸光度变化量随 PCN 222 用量的增多逐步增大;而 PCN 222 质量浓度为 10~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,在 3 min 内的吸光度变化量随 PCN 222 用量的增多虽也在增大但其幅度大大降低;PCN 222 质量浓度为 50~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,在 3 min 内的吸光度变化量随 PCN 222 用量的增多反而降低,其原因很可能是较高质量浓度的 PCN 222 对酶活产生了抑制。为确保最佳实验效果,选取 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  作为最佳质量浓度。

表 1 不同浓度的 PCN 222 对酶反应的影响  
Tab. 1 Effect of concentrations of PCN 222 on enzyme reaction

| PCN 222 质量浓度/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 吸光度     |         | 吸光度<br>变化量 |
|-------------------------------------------------------|---------|---------|------------|
|                                                       | 0 min   | 3 min   |            |
| 1                                                     | 0.977 7 | 1.374 1 | 0.396 4    |
| 5                                                     | 0.499 5 | 0.975 6 | 0.476 1    |
| 10                                                    | 0.447 2 | 1.012 4 | 0.565 2    |
| 50                                                    | 0.284 7 | 0.907 2 | 0.622 5    |
| 100                                                   | 0.623 5 | 1.023 7 | 0.400 2    |

3. 3 PCN 222 对不同浓度毒死蜱的增敏效果

为进一步分析 PCN 222 对酶抑制法的增敏作用,配置了系列质量浓度的毒死蜱标准溶液,包括 0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将此系列质量浓度标液按照 2.3 节的方法同时进行 2 组测定。其中 1 组加入 PCN 222 而另 1 组不加,保持其他条件

一致,测定 3 min 内 412 nm 波长处吸光度随时间的变化,并分别计算 2 组溶液每个浓度对应的抑制率,其结果如图 6 及表 2、3 所示。实验表明 PCN 222 在 0.01~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  质量浓度范围内均明显提高了抑制率,改善了传统酶抑制法的灵敏度。也可看出,未加入 PCN 222 时空白对照 3 min 内吸光度变化量  $\Delta A_0$  为 0.901 7,加入 PCN 222 时空白对照 3 min 内吸光度变化量  $\Delta A'_0$  为 1.15,  $\Delta A'_0 > \Delta A_0$ ,进一步验证了实验的原理。

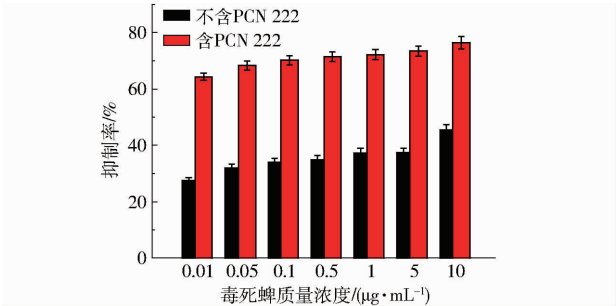


图 6 PCN 222 对毒死蜱的增敏效果

Fig. 6 Effect of PCN 222 on sensitization of chlorpyrifos

表 2 无 PCN 222 增敏时的酶抑制情况

| Tab. 2 Situation of ache inhibition without PCN 222 |         |         |            |           |
|-----------------------------------------------------|---------|---------|------------|-----------|
| 毒死蜱质量浓度/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )    | 吸光度     |         | 吸光度<br>变化量 | 抑制率/<br>% |
|                                                     | 0 min   | 3 min   |            |           |
| 0                                                   | 0.705 7 | 1.607 4 | 0.901 7    | 0         |
| 0.01                                                | 0.334 7 | 0.987 3 | 0.652 6    | 27.63     |
| 0.05                                                | 0.255 0 | 0.867 1 | 0.612 1    | 32.12     |
| 0.1                                                 | 0.270 6 | 0.864 8 | 0.594 2    | 34.10     |
| 0.5                                                 | 0.273 7 | 0.860 0 | 0.586 3    | 34.98     |
| 1                                                   | 0.295 4 | 0.859 5 | 0.564 1    | 37.44     |
| 5                                                   | 0.259 1 | 0.821 9 | 0.562 8    | 37.58     |
| 10                                                  | 0.216 6 | 0.707 0 | 0.490 4    | 45.61     |

表 3 PCN 222 增敏时的酶抑制情况

| Tab. 3 Situation of ache inhibition method with PCN 222 |         |         |            |           |
|---------------------------------------------------------|---------|---------|------------|-----------|
| 毒死蜱质量浓度/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )        | 吸光度     |         | 吸光度<br>变化量 | 抑制率/<br>% |
|                                                         | 0 min   | 3 min   |            |           |
| 0                                                       | 1.161 5 | 2.311 5 | 1.150 0    | 0         |
| 0.01                                                    | 0.256 5 | 0.666 9 | 0.410 4    | 64.31     |
| 0.05                                                    | 0.220 0 | 0.579 7 | 0.359 7    | 68.72     |
| 0.1                                                     | 0.205 1 | 0.547 9 | 0.342 8    | 70.19     |
| 0.5                                                     | 0.177 5 | 0.505 8 | 0.328 3    | 71.45     |
| 1                                                       | 0.182 0 | 0.502 2 | 0.320 2    | 72.16     |
| 5                                                       | 0.150 2 | 0.455 4 | 0.305 2    | 73.46     |
| 10                                                      | 0.151 2 | 0.423 4 | 0.272 2    | 76.33     |

3. 4 实际样品分析

为验证 PCN 222 增敏的酶抑制法是否可应用于实际样品检测,以青菜基质为例进行研究。将添加有 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  毒死蜱的青菜基质与 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的毒死蜱标液同时按照 2.3 节的方法进行实验,测定

3 min内 412 nm 波长处吸光度随时间的变化,其变化量及抑制率如表 4 所示,可以看出,以实际样品作为反应介质与 PBS 的抑制情况相差无几,且实际样品对本研究干扰很小,同时说明该研究可用于实际样品的检测。

表 4 实际样品的酶抑制情况

Tab.4 Situation of ache inhibition method in real sample

| 反应<br>介质 | 毒死蜱质量浓<br>度/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 吸光度     |         | 吸光度<br>变化量 | 抑制率/<br>% |
|----------|--------------------------------------------------|---------|---------|------------|-----------|
|          |                                                  | 0 min   | 3 min   |            |           |
| PBS      | 0                                                | 0.205 3 | 0.955 1 | 0.749 8    | 0         |
|          | 10                                               | 0.461 0 | 1.738 8 | 1.277 8    | 41.32     |
| 青菜基质     | 0                                                | 0.264 0 | 1.140 7 | 0.876 7    | 0         |
|          | 10                                               | 0.521 0 | 1.997 0 | 1.476 0    | 40.60     |

4 结束语

制备了一种比表面积高、热稳定强的 MOF 材料 (PCN 222),并将其成功应用于酶抑制法的增敏。对所制备的 PCN 222 的微观形态、结构、XRD 和热稳定性进行了系统的表征。证明该 MOFs 是一种多孔的棒状结构(棒状结构主轴为六面体),具有大的表面积和强的热稳定性。PCN 222 可有效富集 AChE 及农药分子,在一定空间内增强反应物浓度并提高抑制效率,增敏幅度高达 68.8%,从而大大改善酶抑制法的灵敏度。与此同时,蔬菜基质也不会对酶反应造成干扰,因此该方法推广到实际应用中也有很高的潜力。

参 考 文 献

1 YANG L, HAN J, LIU W, et al. Conversion of inhibition biosensing to substrate-like biosensing for quinalphos selective detection [J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(10): 5270 – 5277.

2 马海乐,孙宝胜,何荣海,等. 果蔬清洗废水中乐果农药扫频超声波降解工艺优化[J/OL]. 农业机械学报, 2012, 43(11): 169 – 173, 179. [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?flag=1&file\\_no=20121132&journal\\_id=jcsam](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20121132&journal_id=jcsam). DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2012.11.032.

MA Haile, SUN Baosheng, HE Ronghai, et al. Process optimization of dimethoate pesticide degradation by ultrasound in aqueous solution [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(11): 169 – 173, 179. (in Chinese)

3 SINGH B K. Organophosphorus-degrading bacteria: ecology and industrial applications [J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(2): 156 – 164.

4 JEYARATNAM J. Acute pesticide poisoning: a major global health problem [J]. World Health Statistics Quarterly, 1990, 43: 139 – 144.

5 孙俊,蒋淑英,毛罕平,等. 基于线性判别法的生菜农药残留定性检测模型研究[J/OL]. 农业机械学报, 2016, 47(1): 234 – 239. [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?flag=1&file\\_no=20160131&journal\\_id=jcsam](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20160131&journal_id=jcsam). DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2016.01.031.

SUN Jun, JIANG Shuying, MAO Hanping, et al. Nondestructive identification of pesticide residues in lettuce leaves based on linear discriminant method [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2016, 47(1): 234 – 239. (in Chinese)

6 孙俊,张梅霞,毛罕平,等. 基于高光谱图像的桑叶农药残留种类鉴别研究[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(6): 251 – 256. [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?flag=1&file\\_no=20150636&journal\\_id=jcsam](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20150636&journal_id=jcsam). DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2015.06.036.

SUN Jun, ZHANG Meixia, MAO Hanping, et al. Identification of pesticide residues on mulberry leaves based on hyperspectral imaging [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(6): 251 – 256. (in Chinese)

7 ARMSTRONG J L, DILLS R L, YU J B, et al. A sensitive LC – MS/MS method for measurement of organophosphorus pesticides and their oxygen analogs in air sampling matrices [J]. Journal of Environmental Science and Health Part B, 2014, 49(2): 102 – 108.

8 王琳玲,王耀,杨海,等. 亚临界水萃取-酶抑制法快速检测蔬菜中的灭多威农药[J]. 分析科学学报, 2009, 25(1): 90 – 92.

WANG Linling, WANG Yao, YANG Hai, et al. A rapid method based on subcritical water extraction and acetylcholinesterase inhibition assay for the determination of methomyl pesticide in vegetables [J]. Journal of Analytical Science, 2009, 25(1): 90 – 92. (in Chinese)

9 谢俊平,陈威,卢新,等. 改良酶抑制法快速检测稻谷中有机磷农药残留[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(23): 3387 – 3391.

XIE Junping, CHEN Wei, LU Xin, et al. Improvement of enzyme inhibition method for rapid detection of organophosphate pesticide residues in rice [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2014, 24(23): 3387 – 3391. (in Chinese)

10 王小瑜,王相友,孙霞,等. 蔬菜有机磷农药残留检测试剂包检测条件的优化[J]. 农业机械学报, 2008, 39(4): 97 – 100.

WANG Xiaoyu, WANG Xiangyou, SUN Xia, et al. Optimization of determination for pesticide residues in vegetables [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(4): 97 – 100. (in Chinese)

11 赵永福,董学芝,胡卫平,等. 十二烷基硫酸钠对酶抑制光度法测定农药残留的增敏作用[J]. 化学研究, 2006, 17(1): 89 – 91.

ZHAO Yongfu, DONG Xuezhi, HU Weiping, et al. Detection of pesticide residues by enzyme inhibition method with sodium dodecylsulfate as sensitizer [J]. Chemical Research, 2006, 17(1): 89 – 91. (in Chinese)

12 FENG D, GU Z Y, LI J R, et al. Zirconium-metalloporphyrin PCN 222: mesoporous metal-organic frameworks with ultrahigh stability as biomimetic catalysts [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2012, 51(41): 10453 – 10456.

- 13 ABRAHAM M S, OMAR K F, JOSEPH T H, et al. A catalytically active, permanently microporous MOF with metalloporphyrin struts[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(12): 4204–4205.
- 14 QI Z W, CHEN Y. Charge-transfer-based terbium MOF nanoparticles as fluorescent pH sensor for extreme acidity[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 87: 236–241.
- 15 许红, 童敏曼, 吴栋, 等. 金属-有机骨架材料用于去除天然气中  $\text{H}_2\text{S}$  的计算研究[J]. *物理化学学报*, 2015, 31(1): 41–50.  
XU Hong, TONG Minman, WU Dong, et al. Computational study of metal-organic frameworks for removing  $\text{H}_2\text{S}$  from natural gas [J]. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 2015, 31(1): 41–50. (in Chinese)
- 16 CHEN Y W, LÜ D F, WU J L, et al. A new MOF–505@GO composite with high selectivity for  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2/\text{N}_2$  separation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 308: 1065–1072.
- 17 王丽苹, 王公应, 汪帆, 等. 含  $\text{Zn}^{2+}$  的金属有机骨架材料对碳酸二苯酯与 1,4-丁二醇酯交换反应的催化性能[J]. *高分子材料科学与工程*, 2009, 29(3): 82–85.  
WANG Liping, WANG Gongying, WANG Fan, et al. Transesterification between diphenyl carbonate and 1,4-butanediol catalyzed by metal-organic framework based on  $\text{Zn}^{2+}$  [J]. *Polymer Materials Science and Engineering*, 2009, 29(3): 82–85. (in Chinese)
- 18 HU Z, LUSTIG W P, ZHANG J, et al. Effective detection of mycotoxins by a highly luminescent metal-organic framework[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(51): 16209–16215.
- 19 LING P, LEI J, JU H. Nanoscaled porphyrinic metal-organic frameworks for electrochemical detection of telomerase activity via telomerase triggered conformation switch[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(21): 10680–10686.
- 20 WANG Y, ZHU Y, BINYAM A, et al. Discovering the enzyme mimetic activity of metal-organic framework (MOF) for label-free and colorimetric sensing of biomolecules[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 86: 432–438.
- 21 LEE J, FARHA O K, ROBERTS J, et al. Metal-organic framework materials as catalysts[J]. *Chemical Society Reviews*, 2009, 38: 1450–1459.
- 22 ZHANG G Y, ZHUANG Y H, SHAN D, et al. A zirconium based porphyrinic metal-organic framework (PCN 222): enhanced photoelectrochemical response and its application for label-free phosphoprotein detection [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(22): 11207–11212.

(上接第 178 页)

- 13 王传宇, 郭新宇, 肖伯祥, 等. 玉米叶片生长状态的双目立体视觉监测技术[J/OL]. *农业机械学报*, 2014, 45(9): 268–273. [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?file\\_no=20140943&flag=1](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20140943&flag=1). DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2014.09.043.  
WANG Chuanyu, GUO Xinyu, XIAO Boxiang, et al. Maize leaf movement monitoring base on binocular stereo vision[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2014, 45(9): 268–273. (in Chinese)
- 14 苏伟, 郭皓, 赵冬玲, 等. 基于地基激光雷达的玉米真实叶面积提取方法研究[J/OL]. *农业机械学报*, 2016, 47(7): 345–353. [http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view\\_abstract.aspx?file\\_no=20160747&flag=1](http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20160747&flag=1). DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.07.047.  
SU Wei, GUO Hao, ZHAO Dongling, et al. Estimation of actual leaf area of maize based on terrestrial laser scanning[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2016, 47(7): 345–353. (in Chinese)
- 15 赵春江, 杨亮, 郭新宇, 等. 基于立体视觉的玉米植株三维骨架重建[J]. *农业机械学报*, 2010, 41(4): 157–162.  
ZHAO Chunjiang, YANG Liang, GUO Xinyu, et al. Corn skeleton reconstruction based on stereo vision[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2010, 41(4): 157–162. (in Chinese)
- 16 GE Y, BAI G, STOERGER V, et al. Temporal dynamics of maize plant growth, water use, and leaf water content using automated high throughput RGB and hyper spectral imaging[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2016, 127: 625–632.
- 17 DESTA Z A, ORTIZ R. Genomic selection: genome-wide prediction in plant improvement[J]. *Trends in Plant Science*, 2014, 19(9): 592–601.
- 18 ORT D R, LONG S P. Limits on yields in the corn belt[J]. *Science*, 2014, 344(6183): 484–485.
- 19 YANG W, GUO Z, HUANG C, et al. Combining high-throughput phenotyping and genome-wide association studies to reveal natural genetic variation in rice[J]. *Nature Communications*, 2014: article number 5087.
- 20 OTSU N. A threshold selection method from gray-level histograms[J]. *Automatic*, 1975, 11(285–296): 23–27.
- 21 牟少敏, 杜海洋, 苏平, 等. 一种改进的快速并行细化算法[J]. *微电子学与计算机*, 2013, 30(1): 53–55.  
MOU Shaomin, DU Haiyang, SU Ping, et al. A new improved fast parallel thinning algorithm[J]. *Microelectronics & Computer*, 2013, 30(1): 53–55. (in Chinese)
- 22 吴刚, 谭璇, 郑永军, 等. 基于改进 Hough 变换的收获机器人行走目标直线检测[J]. *农业机械学报*, 2010, 41(2): 176–179.  
WU Gang, TAN Yu, ZHENG Yongjun, et al. Walking goal line detection based on improved Hough transform on harvesting robot [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2010, 41(2): 176–179. (in Chinese)