

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第1期

Vol.37 No.1

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

碳质大气颗粒物的扫描质子微探针分析	包良满, 刘江峰, 雷前涛, 李晓林, 张桂林, 李燕 (1)
中国8个城市大气多溴联苯醚的污染特征及人体暴露水平	林海涛, 李琦路, 张干, 李军 (10)
广州城区秋冬季大气颗粒物中 WSOC 吸光性研究	黄欢, 毕新慧, 彭龙, 王新明, 盛国英, 傅家谟 (16)
南京地区大气 PM _{2.5} 潜在污染源硫碳同位素组成特征	石磊, 郭照冰, 姜文娟, 芮茂凌, 曾钢 (22)
青奥会前后南京 PM _{2.5} 重金属污染水平与健康风险评估	张恒, 周自强, 赵海燕, 熊正琴 (28)
南昌市秋季大气 PM _{2.5} 中金属元素富集特征及来源分析	林晓辉, 赵阳, 樊孝俊, 胡恭任, 于瑞莲 (35)
南京北郊冬春季大气能见度影响因子贡献研究	马佳, 于兴娜, 安俊琳, 朱彬, 于超, 朱俊, 夏航 (41)
边界层低空急流导致北京 PM _{2.5} 迅速下降及其形成机制的个例分析	廖晓农, 孙兆彬, 何娜, 赵普生, 马志强 (51)
电厂燃煤烟尘 PM _{2.5} 中化学组分特征	王毓秀, 彭林, 王燕, 张腾, 刘海利, 牟玲 (60)
2014 年 APEC 期间北京市空气质量改善分析	程念亮, 李云婷, 张大伟, 陈添, 孙峰, 李令军, 李金香, 周一鸣, 杨妍妍, 姜磊 (66)
APEC 会议期间北京机动车排放控制效果评估	樊守彬, 田灵娣, 张东旭, 郭津津 (74)
晋城城市扬尘化学组成特征及来源解析	王燕, 彭林, 李丽娟, 王毓秀, 张腾, 刘海利, 牟玲 (82)
北京市混凝土搅拌站颗粒物排放特征研究	薛亦峰, 周震, 钟连红, 闫静, 曲松, 黄玉虎, 田贺忠, 潘涛 (88)
长株潭地区人为源氨排放清单及分布特征	尤翔宇, 刘湛, 张青梅, 漆燕, 向仁军, 苏艳蓉 (94)
长春城市水体夏秋季温室气体排放特征	温志丹, 宋开山, 赵莹, 邵田田, 李思佳 (102)
查干湖和新立城水库秋季水体悬浮颗粒物和 CDOM 吸收特性	李思佳, 宋开山, 赵莹, 穆光熠, 邵田田, 马建行 (112)
不同地质背景下河流水化学特征及影响因素研究: 以广西大溶江、灵渠流域为例	孙平安, 于爽, 莫付珍, 何师意, 陆菊芳, 原雅琼 (123)
大渡河老鹰岩河段的水生生物群落结构及水质评价	黄允优, 曾燊, 刘守江, 马永红, 胥晓 (132)
西湖龙泓洞流域暴雨径流氮磷流失特征	杨帆, 蒋铁峰, 王翠翠, 黄晓楠, 吴芝菱, 陈琳 (141)
合肥城郊典型农业小流域土壤磷形态及淋失风险分析	樊慧慧, 李如忠, 裴婷婷, 张瑞钢 (148)
辽河入海口及城市段柱状沉积物金属元素含量及分布特征	王维斐, 周俊丽, 裴淑玮, 刘征涛 (156)
水源水库沉积物中营养元素分布特征与污染评价	黄廷林, 刘飞, 史建超 (166)
低分子量有机酸对三峡水库消落区土壤中汞赋存形态及其活性的影响	游蕊, 梁丽, 覃蔡清, 邓吟, 王定勇 (173)
北京市凉水河表层沉积物中砷含量及其赋存形态	王馨慧, 单保庆, 唐文忠, 张超, 王闯 (180)
紫外辐射对小球藻混凝效果作用途径探讨	王文东, 张轲, 许洪斌, 刘国旗 (187)
二氧化钛光催化氧化阿散酸	许文泽, 杨春风, 李静, 李建斐, 刘会芳, 胡承志 (193)
紫外光照下盐酸环丙沙星的光解性能	段伦超, 王凤贺, 赵斌, 陈亚君 (198)
氢氧化钡-天然沸石复合材料对水中低浓度磷酸盐的吸附作用	林建伟, 王虹, 詹艳慧, 陈冬梅 (208)
纳米 TiO ₂ 吸附 HgCl ₂ 水溶液中 Hg(II)	周雄, 张金洋, 王定勇, 覃蔡清, 徐凤, 罗程钟, 杨熹 (220)
好氧生化污水处理厂化学品暴露预测模型构建	周林军, 刘济宁, 石利利, 冯洁, 徐炎华 (228)
3 种苯胺类化学品在好氧污水处理模拟系统中的降解特性	古文, 周林军, 刘济宁, 陈国松, 石利利, 徐炎华 (240)
Fe(II) 活化过硫酸钠深度处理工业园区污水处理厂出水	朱松梅, 周振, 顾凌云, 蒋海涛, 任佳慧, 王罗春 (247)
长江三角洲区域表土中多环芳烃的近期分布与来源	李静雅, 吴迪, 许芸松, 李向东, 王喜龙, 曾超华, 付晓芳, 刘文新 (253)
直链烷基苯指示城市化过程初步研究	徐特, 曾辉, 倪宏刚 (262)
龙口煤矿区土壤重金属污染评价与空间分布特征	刘硕, 吴泉源, 曹学江, 王集宁, 张龙龙, 蔡东全, 周历媛, 刘娜 (270)
水分减少与增温处理对冬小麦生物量和土壤呼吸的影响	吴杨周, 陈健, 胡正华, 谢燕, 陈书涛, 张雪松, 申双和, 陈曦 (280)
中水浇灌对土壤重金属污染的影响	周益奇, 刘云霞, 傅慧敏 (288)
生物质炭对果园土壤团聚体分布及保水性的影响	安艳, 姬强, 赵世翔, 王旭东 (293)
3 种工业有机废弃物对铅锌尾矿生物化学性质及植物生长的影响	彭禧柱, 杨胜香, 李凤梅, 曹建兵, 彭清静 (301)
丛枝菌根真菌对镉污染土壤上玉米生长和镉吸收的影响	王芳, 郭伟, 马朋坤, 潘亮, 张君 (309)
珠江三角洲典型区域农产品中邻苯二甲酸酯 (PAEs) 污染分布特征	李彬, 吴山, 梁金明, 邓杰帆, 王珂, 梁文立, 曾彩明, 彭四清, 张天彬, 杨国义 (317)
三峡库区重金属的生物富集、生物放大及其生物因子的影响	韦丽丽, 周琼, 谢从新, 王军, 李君 (325)
起源喀斯特溶洞湿地稻田与旱地土壤的微生物数量、生物量及土壤酶活性比较	靳振江, 曾鸿鹄, 李强, 程亚平, 汤华峰, 李敏, 黄炳富 (335)
序批式生物反应器填埋场脱氮微生物多样性分析	李卫华, 孙英杰, 刘子梁, 马强, 杨强 (342)
铁氮掺杂碳纳米管/纤维复合物制备及其催化氧还原的效果	杨婷婷, 朱能武, 芦昱, 吴平霄 (350)
运行微生物燃料电池减排稻田土壤甲烷的研究	邓欢, 蔡旅程, 姜允斌, 钟文辉 (359)
通风策略对污泥生物干化过程中含氮气体和甲烷排放的影响	齐鲁, 魏源送, 张俊亚, 赵晨阳, 才兴, 张媛丽, 邵春岩, 李洪枚 (366)
高温生物滤塔处理污泥干化尾气的研究	陈文和, 邓明佳, 罗辉, 丁文杰, 李琳, 林坚, 刘俊新 (377)
应用 FCM-qPCR 方法定量检测水中常见病原体	王明星, 柏耀辉, 梁金松, 霍旻, 杨婷婷, 袁林江 (384)
乙腈和正己烷对环境特征污染物免疫传感分析的影响	娄雪宁, 周丽萍, 宋丹, 杨荣, 龙峰 (391)
废弃菌糠资源化过程中的成分变化规律及其环境影响	楼子墨, 王卓行, 周晓馨, 傅瑞琪, 刘榆, 徐新华 (397)

乙腈和正己烷对环境特征污染物免疫传感分析的影响

娄雪宁, 周丽萍, 宋丹, 杨荣, 龙峰*

(中国人民大学环境学院, 北京 100872)

摘要: 利用前期研发的倏逝波全光纤免疫传感系统, 使用间接竞争免疫模式对双酚 A (bisphenol A, BPA) 进行了定量分析, 其检测灵敏度可达 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 线性检测区间为 $0.3 \sim 33.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。重点考察了乙腈和正己烷两种常用有机溶剂对双酚 A 免疫传感分析的影响, 初步探讨了有机溶剂对免疫传感分析的影响机制。结果表明, 正己烷含量高达 10% 都不会对双酚 A 免疫传感分析产生明显影响, 而乙腈的影响比较大。当乙腈含量较低时, 可用于双酚 A 的定量检测; 而当乙腈含量较高时, 可完全抑制均相溶液中抗体抗原之间的亲和反应, 不能用于双酚 A 的定量分析。其原因可能是乙腈取代了一部分结合在抗体表面的水分子, 导致抗体构象改变或者抗体与抗原的亲合力变化而造成的。

关键词: 光纤免疫传感器; 倏逝波; 双酚 A; 乙腈; 正己烷; 免疫分析

中图分类号: X830.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)01-0391-06 DOI: 10.13227/j.hjxx.2016.01.050

Effect of Acetonitrile and *n*-hexane on the Immunoassay of Environmental Representative Pollutants

LOU Xue-ning, ZHOU Li-ping, SONG Dan, YANG Rong, LONG Feng*

(School of Environment and Natural Resources, Renmin University of China, Beijing 100872, China)

Abstract: Based on indirect competitive immunoassay mechanism, bisphenol A (BPA) was detected by the evanescent wave all-fiber immunosensor previously developed with the detection limit of $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and the linear detection range of $0.3 \sim 33.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The effects of two commonly used organic solvents, including acetonitrile and *n*-hexane, on the immunosensing assay of BPA were investigated. The influence mechanism of organic solvents on immunosensing assay was discussed. The experimental results showed that the effect of *n*-hexane on immunosensing assay was negligible even at a high concentration of up to 10%, whereas the effect of acetonitrile on the immunosensing assay was relatively great. BPA could be detected in solutions containing a low concentration of acetonitrile. However, the specific binding reaction between antibody and antigen in homogeneous solution was completely inhibited by high concentrations of acetonitrile, and the quantitative analysis of BPA was not achieved. This might result from the changes of antibody conformation or binding capability between antibody and antigen because acetonitrile replaced a part of the water molecules on the antibody surface.

Key words: optical-fiber immunosensor; evanescent; bisphenol A; acetonitrile; *n*-hexane; immunoassay

免疫传感器由于具有灵敏度高、特异性强、检测速度快、无需或仅需简单样品预处理等特点, 已发展成为分析微量/痕量环境特征污染物的前沿技术^[1]。现有大多数的免疫分析都是在水溶液中进行, 这主要是由于抗体等生物大分子在水溶液中能保持较好的反应活性, 有利于免疫反应的进行^[2]。然而, 环境中内分泌干扰物 (EDCs) 和持久性有机污染物 (POPs) 等特征污染物在水中的溶解度是非常有限的, 如双酚 A (bisphenol A, BPA)、多氯联苯和芳香烃等。特别是在检测土壤、污泥和食品中的该类污染物时, 无论是使用传统的方法还是免疫传感器, 常常需要使用有机溶剂对待测样品进行适当的预处理, 包括萃取分离与富集等^[3~6]。为运用免疫传感器直接快速分析此类样品, 就需要考察有机溶剂对免疫传感分析的影响。目前, 该方面的研究极为有限, 一般认为低浓度的有机溶剂对免疫分析的

影响不大^[2], 且不同有机溶剂对免疫反应的影响也不尽相同。深入地研究并阐明有机溶剂对环境特征污染物免疫分析的影响机制, 不仅可以大大拓宽免疫传感器在环境检测中的应用范围, 而且可为复杂环境特征污染物的免疫传感分析提供重要的理论基础, 具有显著的科学意义和实用价值。

本研究利用前期发展的倏逝波全光纤免疫传感系统考察了不同有机溶剂对双酚 A 免疫传感分析的影响并初步探讨了影响机制。倏逝波光纤维生物传感器是利用光波在光纤内以全反射方式传输时在光纤传感器所处的介质中产生的倏逝波, 该倏逝波可以激发光纤传感器表面连接的抗体/抗原标记的荧

收稿日期: 2015-06-20; 修订日期: 2015-09-01

基金项目: 中国人民大学明德青年计划项目 (13XNLJ01)

作者简介: 娄雪宁 (1992~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境监测与生物传感器, E-mail: llkrisll@ruc.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: longf04@ruc.edu.cn

光物质,同时结合免疫反应原理,实现待测目标物质的定量检测^[7,8].本研究之所以选择 BPA 作为研究对象,是因为 BPA 是最为重要的化工原料之一.它主要用于生产聚碳酸酯、环氧树脂、聚砜树脂等多种高分子材料,也被用于生产增塑剂、抗氧化剂等一系列化工产品^[9].更为重要的是,BPA 也是制造婴儿奶瓶、水瓶、其他食品和饮料容器等与生活息息相关的日常用品的关键物质,残留的 BPA 可通过食物或饮料被摄入机体,从而对健康造成潜在的危害^[10].具有类似雌性激素作用的 BPA 不仅可导致各种生殖异常和扰乱生物正常内分泌功能,而且可致癌或致婴幼儿性早熟^[11,12].鉴于双酚 A 在环境中的广泛存在性及危害,为保障环境和食品安全,发展适应于非水溶液中双酚 A 灵敏度高、特异性强、快速检测新技术显得尤为重要^[13,14].乙腈和正己烷分别是提取有机污染物常用的极性和非极性有机溶剂,本研究着重考察这两种有机溶剂对 BPA 免疫传感分析的影响.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

所有试剂均为分析纯或更好.3-氨丙基三乙氧基硅烷 (APTS)、戊二醛、BPA、牛血清蛋白 (BSA)、二甲基甲酰胺 (DMF) 均购自 Sigma 中国公司.浓硫酸、过氧化氢、甲苯、正己烷、乙腈购自北京化学试剂公司. pH = 1.9 的 SDS 溶液, PBS 缓冲溶液由本实验室配制. OVA-BPA 和 Cy5.5 标记抗 BPA 抗体均为课题组自行制备^[9].为配制 BPA 标准样品,准确称取 0.1 mg BPA,用 10 μL 的 DMF 溶解,然后使用 PBS 缓冲溶液定容,配制成 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 储备液备用.

600 μm 石英光纤 (NA = 0.22, 南京春辉); 烘箱; 氮吹仪; 倏逝波全光纤传感器.

1.2 光纤传感器的制作、清洗与修饰

配制 Piraha 溶液 (浓 H_2SO_4 : H_2O_2 = 3:1), 将探头浸入其中 30 min; 然后放入超声波清洗仪中洗涤,并用超纯水进行充分清洗,直到清洗液的 pH 值为中性,然后在室温下用氮气吹干,保存于真空干燥箱中备用.

为进行免疫分析,须将抗体或抗原固定到探头表面上,本实验采用的是固定抗原法.按照文献中的方法^[15,16],先将探头硅烷化,将探头放入含 2% APTS 的甲苯溶液中反应 2 h,后用甲苯溶液清洗 3 次,氮吹,并在 120 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中烘 1 h,然后将光纤传

感器放入 5% 的戊二醛溶液中反应 1 h,洗净.最后,将探头放入 1.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 OVA-BPA 中过夜反应,用超纯水冲洗后,放入 4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ BSA 溶液中 2 h 以封闭非特异性吸附位点.制备好的光纤放在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用.

1.3 BPA 免疫传感分析及标准曲线绘制

采用间接竞争抑制的方法对 BPA 进行免疫传感分析.首先,将一定体积的不同浓度 (0.1、0.3、1、3、10、30、100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 BPA 溶液分别与一定体积和浓度的 Cy5.5 荧光标记抗体混合,预反应 5 min.然后将预反应后的混合物输入到样品池 (20s).停止进样后,荧光标记抗体继续与光纤传感器表面修饰的包被抗原反应,系统检测到的信号继续增大.考虑检测周期和信号值大小,取 10 min 时的信号值作为检测的有效信号值.检测完成后,使用 0.5% SDS 溶液 (pH 1.9) 对光纤传感器表面进行再生.一个样品的检测周期约为 20 min (包括进样、检测和传感探头再生过程).为绘制标准曲线,将使用系列标准样品得到的荧光信号值归一化,然后使用 4 参数 Logistic 方程拟合,绘制 BPA 的检测标准曲线.

1.4 有机溶剂对 BPA 免疫传感分析的影响

为有效考察有机溶剂对 BPA 免疫传感分析的影响,选择 BPA 检测标准曲线的线性区间浓度值进行有机溶剂影响实验.为消除样品配制和仪器系统的影响,每次检测时,同时设置一组空白实验作为对照.有机溶剂则选取了乙腈和正己烷作为研究对象,分别考察了有机溶剂含量为 1%、2%、5% 和 10% 的情况下传感器系统检测荧光信号值的结果.与之前实验中 BPA 的检测程序相同,只是预反应过程中在 BPA 和荧光标记抗体的混合溶液中加入不同体积分数 (0%、1%、2%、5%、10%) 的有机溶剂混合,预反应 5 min.

2 结果与讨论

2.1 BPA 光纤传感器的修饰与表征

如方法部分所述,BPA 光纤传感器是采用固定 BPA 包被抗原的方法进行修饰的.图 1 是一条典型的 BPA 荧光标记抗体与 BPA 包被抗原特异性结合的反应曲线,实时反映了标记抗体与光纤传感器固定抗原的动态反应过程.在进样期间,仪器检测到的荧光信号迅速增大,停止进样后,仪器检测到的荧光信号随反应进程继续升高,但增幅逐渐回落,并逐渐达到一种平衡状态.这是固液界面传感分析过程中典型

的免疫反应曲线,反映了溶液中的荧光标记抗体与光纤传感器表面抗原结合的动力学过程. 由于激发光是一直开启的,因此,该仪器能够实时检测抗体抗原之间的亲和动力学过程,为后续有机溶剂对免疫传感分析的影响研究提供了良好的技术基础.

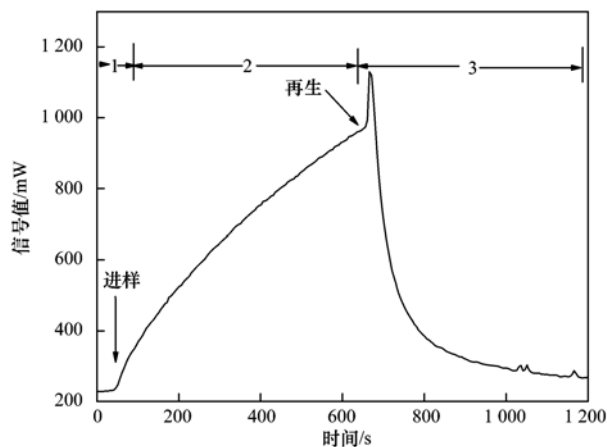


图1 BPA 的免疫传感分析特征曲线

Fig. 1 Typical curve of BPA immunoassay

为考察 BPA 包被抗原的固定效果及 BPA 抗体抗原特异性亲和反应,本研究进行了几组对照实验,结果如图 2 所示. 当 $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 荧光标记抗微囊藻毒素抗体输入样品池时,传感器没有检测到明显的荧光信号,这不仅表明荧光标记抗体不会非特异性吸附到光纤传感器表面,而且由于倏逝波的渗入深度有限,溶液中的荧光染料很少被激发,对仪器系统检测的荧光信号值贡献很少. 然后,将 $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 荧光标记的 BPA 抗体输入到样品池,仪器检测到的荧光信号值与仪器基线值比可以达到 3 以上. 而当 $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 荧光标记的 BPA 抗体与 100

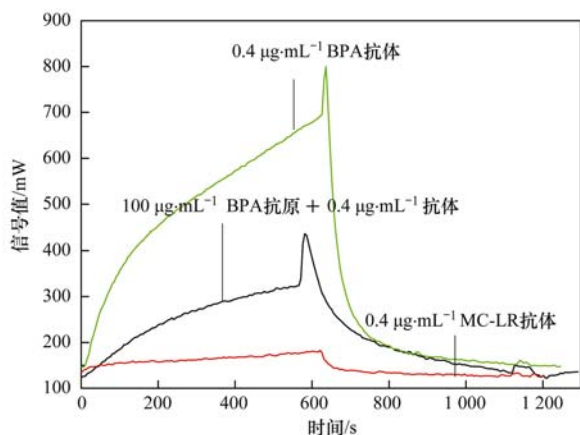


图2 光纤传感器 BPA 包被抗原修饰效果表征

Fig. 2 Characterization of optic fiber sensor modified by the coated-antigen of BPA

$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ BPA 混合反应后输入到样品池,仪器检测到信号值明显降低. 这说明大部分荧光标记抗体的亲和位点已被溶液中 BPA 结合,不能再与光纤传感器表面的抗原结合. 以上结果不仅表明传感器系统检测到的信号值来自 BPA 抗原抗体之间的特异性反应,而且进一步证明了游离的荧光分子不会对检测信号值产生明显影响.

为有效评价有机溶剂对 BPA 免疫传感分析的影响,传感器良好的再生与重复使用性能至关重要. 该研究中采用固定包被抗原方法,避免了传统传感器修饰抗体的局限性,即苛刻的再生试剂导致传感器的再生性能差,仅可重复使用几次. 本研究已通过大量的实验表明,使用该修饰方法可使得传感器至少可以使用 100 次以上^[9],而且不会明显影响传感器的检测性能. 图 3 为连续检测后的再生性能曲线,可以看出经过多次检测后信号值并没有明显的下降.

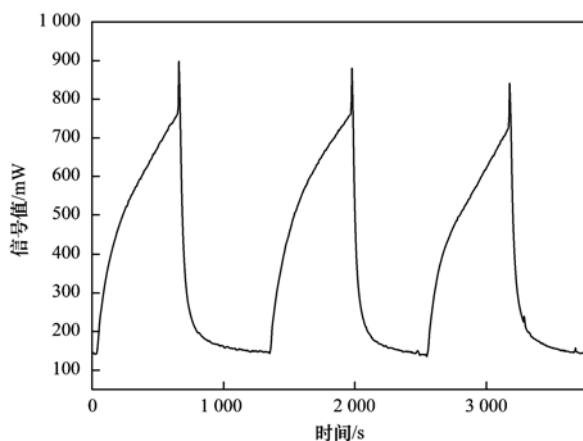


图3 BPA-OVA 修饰的光纤探头再生性能验证

Fig. 3 Verification of regeneration performance of the optical fiber probe modified by BPA-OVA

2.2 倏逝波全光纤传感系统检测 BPA 的标准曲线建立

图 4 是使用倏逝波全光纤免疫传感检测 BPA 的标准曲线,每个点的值均用空白值归一化,然后使用 4 参数 Logistic 方程拟合,曲线呈现明显的反 S 型. 从中可以看出,在间接竞争检测模式下,系统检测到的荧光信号随 BPA 浓度的提高而降低,该系统的检测限 (LOD) 可达 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. 定量检测区间为 $0.3 \sim 33.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. 因此,在后续实验中,选取线性区间内的浓度 ($1, 3, 10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 进行有机溶剂的影响研究.

2.3 有机溶剂对 BPA 免疫传感分析的影响

2.3.1 乙腈对 BPA 免疫传感分析的影响

图 5 是乙腈对倏逝波光纤维免疫传感器检测双酚

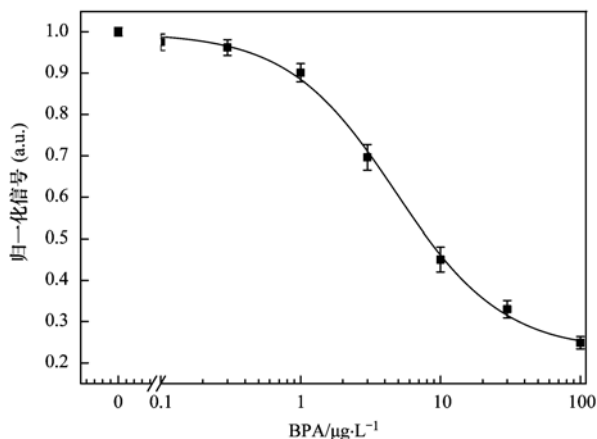


图4 倏逝波全光纤免疫传感系统检测双酚A的标准曲线

Fig. 4 Standard curve of BPA detection by evanescent wave all-fiber immunosensing system

A的影响实验结果. 当乙腈加入检测体系后, 无论乙腈含量和BPA的浓度如何, 传感器系统检测的信号都有所升高. 这表明当检测体系加入乙腈时, BPA抗体与光纤传感器表面包被抗原的结合效率有所提高, 而溶液中BPA与BPA抗体的结合效率降低. 当乙腈的含量为1%和2%时, 虽然传感器的检测信号比未添加乙腈的检测信号有所升高, 但传感器检测信号随BPA浓度的升高而降低, 具有较好的线性关系. 因此, 在一定条件下, 该传感器仍然能用于BPA的检测. 当乙腈含量提高到5%以上时, 乙腈对传感器检测的影响越来越大, 传感器检测信号已与BPA浓度无关, 并趋于稳定, 这表明溶液中BPA已不能与BPA抗体结合. 但是, BPA抗体仍然能与光纤传感器表面固定化的包被抗原结合.

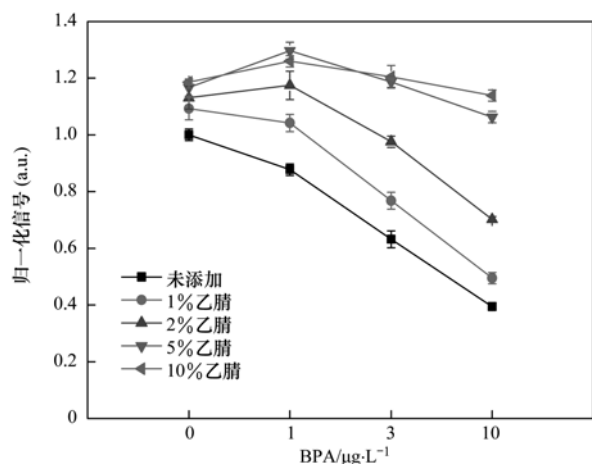


图5 乙腈对倏逝波全光纤免疫传感系统检测BPA的影响

Fig. 5 Effect of acetonitrile on BPA detection using evanescent wave all-fiber immunosensing system

2.3.2 正己烷对BPA免疫传感分析的影响

从图6可知, 实验浓度下的正己烷加入体系后,

系统检测的信号值相较于未添加时变化并不大, 其检测信号随BPA浓度增加而降低, 传感器检测信号与BPA浓度具有较好的线性关系. 总体来说, 正己烷含量为5%和10%时比含量为1%、2%影响略大, 但是, 添加正己烷的体系传感器检测到的信号值相较于未添加的体系检测信号值来说, 总体偏差基本都在10%以内. 因此, 正己烷对于倏逝波全光纤免疫传感系统的检测性能影响不大, 可以用于非水溶液、固相或半固相样品的萃取试剂, 经一定浓度稀释后, 可以进行特征污染物的直接检测.

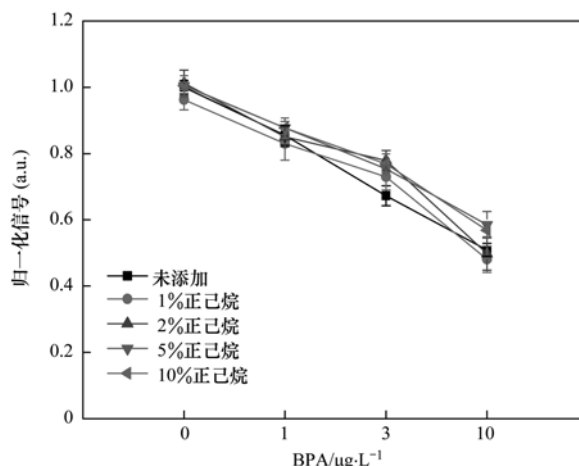


图6 正己烷对倏逝波全光纤免疫传感系统检测BPA的影响

Fig. 6 Effect of *n*-hexane on BPA detection using evanescent wave all-fiber immunosensing system

2.4 有机溶剂对BPA免疫传感分析影响机制的探讨

抗体与抗原之间的亲和反应和酶与底物之间的结合一样, 不属于化学反应, 而是非共价键之间的可逆性结合^[2]. 抗原决定簇和抗体分子的可变区(V区)互补构型, 使得抗体抗原之间具有较强的亲和力, 空间构型互补程度不同, 结合力就不同, 这与酶与底物的结合是相类似的^[2,17]. 有研究表明^[17,18]: 与传统观念不同, 在一定条件下, 有机溶剂并不一定会使蛋白变性, 酶在部分有机溶剂中可比在水溶液的催化性能更佳, 这是因为水几乎参与了所有的非共价键作用, 但对水的需求量其实仅限于蛋白质的亲水基团与水分子结合的那部分, 剩余的那部分水完全可以由有机溶剂代替^[19~23]. 因此, 考虑抗体与酶一样均属于蛋白质类, 抗体抗原免疫亲和反应理论上讲也可以在一定比例的有机溶剂中进行. 本实验结果也证明了这一点, 在低浓度的乙腈和较高浓度的正己烷溶液中, 均可实现小分子有机污染物的免疫传感检测.

但不同的有机溶剂、不同含量的有机溶剂对免疫反应的影响是不同的. 乙腈对免疫传感检测影响

较大,而正己烷的影响较少,这与选取的乙腈和正己烷两种典型有机溶剂亲水性能可能是密切相关的^[24]。研究表明,蛋白质分子带有负电荷,其亲水基团与水分子结合,在蛋白质分子外形成了一层水膜,当加入受体后,蛋白质配体与受体对应的极性相互吸附而得以结合^[18,25]。正己烷属于非极性溶剂,几乎不溶于水,很难取代蛋白质分子外层的水膜。而乙腈是极性溶剂,可与水完全互溶,当加入检测体系后,乙腈可能取代了一部分结合在抗体表面的水分子,从而导致抗体构象的改变或者抗体与抗原的亲合力变化,因而对传感分析体系信号值产生较大的影响^[18,26]。但是,这种亲和力的改变对均相和固液表面免疫结合的影响是不同的。从本实验结果看,加入乙腈浓度较低时,传感器检测信号升高,这表明乙腈可能促进固液表面抗体抗原的结合;然而,当乙腈浓度较高时,明显抑制溶液中的抗体抗原结合,具体机制有待进一步详细研究。

3 结论

(1)使用倏逝波全光纤免疫传感系统实现了BPA的超灵敏检测,其检测限可达 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,定量检测区间为 $0.3 \sim 33.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。以BPA包被抗原修饰的光纤传感器能实时反映抗体抗原固相表面的反应动力学过程,并具有良好的再生性能。

(2)乙腈对BPA免疫传感分析有较大影响,当其浓度较低时,传感器系统检测信号随BPA浓度的提高而降低,具有一定的线性关系,可以用于BPA的定量检测。而当乙腈浓度较高时,其可完全抑制均相溶液中抗体抗原之间的亲和反应,但对固液界面的抗体抗原亲和反应影响不大,此时,已完全不能用于BPA的定量分析。其原因可能是乙腈取代了一部分结合在抗体表面的水分子,从而导致抗体构象的改变或者抗体与抗原的亲合力变化。

(3)己烷含量高达10%都不会对BPA免疫传感分析产生明显影响,可能是由于正己烷是疏水性的,其与水不互溶。因此,正己烷可用于食品或固相环境样品中BPA的萃取,然后在稀释一定倍数后,直接用于BPA的免疫传感分析。研究成果为拓宽免疫传感器的应用范围提供良好的理论基础和数据支持。

参考文献:

[1] Long F, He M, Zhu A N, *et al.* Portable optical immunosensor for highly sensitive detection of microcystin-LR in water samples [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, **24**(8): 2346-2351.

[2] Russell A J, Trudel L J, Skipper P L, *et al.* Antibody-antigen binding in organic solvents [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1989, **158**(1): 80-85.

[3] 司秀荣, 徐东耀. 环境内分泌干扰物前处理方法研究新进展 [J]. *环境科学与管理*, 2011, **36**(8): 60-64.

[4] Mita L, Baldi A, Diano N, *et al.* Differential accumulation of BPA in some tissues of offspring of Balb-C mice exposed to different BPA doses [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2012, **33**(1): 9-15.

[5] 静平, 张金斗, 朱文彬, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定饮料、牛奶盒奶粉中双酚A和15种邻苯二甲酸酯[J]. *食品安全质量检测学报*, 2014, **5**(8): 2462-2470.

[6] 田泉, 王静, 刘英丽, 等. 食品及包装材料中双酚A的检测方法[J]. *中国食品学报*, 2013, **13**(3): 156-162.

[7] Rabbany S Y, Donner B L, Ligler F S. Optical immunosensors [J]. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 1994, **22**(5-6): 307-346.

[8] Slovacek R E, Furlong S C, Love W F. Feasibility study of a plastic evanescent-wave sensor [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1993, **11**(1-3): 307-311.

[9] Rudel R A, Gray J M, Engel C L, *et al.* Food packaging and bisphenol A and Bis(2-ethylhexyl) phthalate exposure: findings from a dietary intervention [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2011, **119**(7): 914-920.

[10] Van Winkle L S, Murphy S R, Boetticher M V, *et al.* Fetal exposure of rhesus macaques to bisphenol A alters cellular development of the conducting airway by changing epithelial secretory product expression [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2013, **121**(8): 912-918.

[11] 徐玮琦, 张永明, 周小红, 等. 基于平面波导型荧光免疫传感器的双酚A检测适用性研究[J]. *环境科学*, 2015, **36**(1): 338-342.

[12] Vandenberg L N, Hauser R, Marcus M, *et al.* Human exposure to bisphenol A (BPA) [J]. *Reproductive Toxicology*, 2007, **24**(2): 139-177.

[13] Rubio S, Ballesteros-Gómez A. Recent advances in environmental analysis [J]. *Analytical Chemistry*, 2011, **83**(12): 4579-4613.

[14] Mello L D, Kubota L T. Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries [J]. *Food Chemistry*, 2002, **77**(2): 237-256.

[15] Long F, Zhu A N, Zhou X H, *et al.* Highly sensitive and selective optofluidics-based immunosensor for rapid assessment of Bisphenol A leaching risk [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, **55**(1): 19-25.

[16] 龙峰, 施汉昌, 王洪臣, 等. 用于1,3-二硝基苯快速检测的免疫传感器研究[J]. *环境科学*, 2014, **35**(4): 1561-1565.

[17] Zaks A, Klivanov A M. Enzyme-catalyzed processes in organic solvents [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1985, **82**(10): 3192-3196.

[18] Setford S J. Immunosensing in organic and mixed aqueous-

- organic phase environments [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2000, **19**(5): 330-339.
- [19] Stöcklein W F M, Scheller F W, Abuknesha R. Effects of organic solvents of semicontinuous immunochemical detection of coumarin derivatives [J]. *Sensor and Actuators B: Chemical*, 1995, **24**(1-3): 80-84.
- [20] Klibanov A M. Improving enzymes by using them in organic solvents[J]. *Nature*, 2001, **409**: 241-246.
- [21] Rogers J A, Metz L, Yong V W. Review: Endocrine disrupting chemicals and immune responses; a focus on bisphenol-A and its potential mechanisms [J]. *Molecular Immunology*, 2013, **53**(4): 421-430.
- [22] Esteve-Turrillas F A, Abad-Fuentes A, Mercader J V. Determination of fenhexamid residues in grape must, kiwifruit, and strawberry samples by enzyme-linked immunosorbent assay [J]. *Food chemistry*, 2011, **124**(4): 1727-1733.
- [23] Horáček J, Skládal P. Effect of organic solvents on immunoassays of environmental pollutants studied using a piezoelectric biosensor[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2000, **412**(1-2): 37-45.
- [24] Rehan M, Younus H. Effect of organic solvents on the conformation and interaction of catalase and anticatalase antibodies [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2006, **38**(3-5): 289-295.
- [25] Soto A M, Sonnenschein C. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens [J]. *Nature Reviews Endocrinology*, 2010, **6**(7): 363-370.
- [26] Weetall H H. Antibodies in water immiscible solvents immobilized antibodies in hexane[J]. *Journal of Immunological Methods*, 1991, **136**(1): 139-142.

CONTENTS

Investigation of Carbonaceous Airborne Particles by Scanning Proton Microprobe	BAO Liang-man, LIU Jiang-feng, LEI Qian-tao, <i>et al.</i> (1)
Atmospheric Polybrominated Diphenyl Ethers in Eight Cities of China; Pollution Characteristics and Human Exposure	LIN Hai-tao, LI Qi-lu, ZHANG Gan, <i>et al.</i> (10)
Light Absorption Properties of Water-Soluble Organic Carbon (WSOC) Associated with Particles in Autumn and Winter in the Urban Area of Guangzhou	 HUANG Huan, BI Xin-hui, PENG Long, <i>et al.</i> (16)
Investigations on Sulfur and Carbon Isotopic Compositions of Potential Polluted Sources in Atmospheric PM _{2.5} in Nanjing Region	SHI Lei, GUO Zhao-bing, JIANG Wen-juan, <i>et al.</i> (22)
Pollution Level and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Atmospheric PM _{2.5} in Nanjing Before and After the Youth Olympic Games	 ZHANG Heng, ZHOU Zi-qiang, ZHAO Hai-yan, <i>et al.</i> (28)
Enrichment Characteristics and Source Analysis of Metal Elements in PM _{2.5} in Autumn in Nanchang City	LIN Xiao-hui, ZHAO Yang, FAN Xiao-jun, <i>et al.</i> (35)
Contributions of Factors That Influenced the Visibility In North Suburb of Nanjing In Winter and Spring	MA Jia, YU Xing-na, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (41)
A Case Study on the Rapid Cleaned Away of PM _{2.5} Pollution in Beijing Related with BL Jet and Its Mechanism	LIAO Xiao-nong, SUN Zhao-bin, HE Na, <i>et al.</i> (51)
Characteristics of Chemical Components in PM _{2.5} from the Coal Dust of Power Plants	WANG Yu-xiu, PENG Lin, WANG Yan, <i>et al.</i> (60)
Improvement of Air Quality During APEC in Beijing in 2014	CHENG Nian-liang, LI Yun-ting, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (66)
Evaluation on the Effectiveness of Vehicle Exhaust Emission Control Measures During the APEC Conference in Beijing	FAN Shou-bin, TIAN Ling-di, ZHANG Dong-xu, <i>et al.</i> (74)
Chemical Compositions and Sources Apportionment of Re-suspended Dust in Jincheng	WANG Yan, PENG Lin, LI Li-juan, <i>et al.</i> (82)
Characteristic of Particulate Emissions from Concrete Batching in Beijing	XUE Yi-feng, ZHOU Zhen, ZHONG Lian-hong, <i>et al.</i> (88)
Anthropogenic Ammonia Emission Inventory and Its Spatial Distribution in Chang-Zhu-Tan Region	YOU Xiang-yu, LIU Zhan, ZHANG Qing-mei, <i>et al.</i> (94)
Seasonal Variability of Greenhouse Gas Emissions in the Urban Lakes in Changchun, China	WEN Zhi-dan, SONG Kai-shan, ZHAO Ying, <i>et al.</i> (102)
Absorption Characteristics of Particulates and CDOM in Waters of Chagan Lake and Xinlicheng Reservoir in Autumn	LI Si-jia, SONG Kai-shan, ZHAO Ying, <i>et al.</i> (112)
Hydrochemical Characteristics and Influencing Factors in Different Geological Background; A Case Study in Darongjiang and Lingqu Basin, Guangxi, China	 SUN Ping-an, YU Shi, MO Fu-zhen, <i>et al.</i> (123)
Community Structure of Aquatic Community and Evaluation of Water Quality in Laoyingyan Section of Dadu River	HUANG You-you, ZENG Yu, LIU Shou-jiang, <i>et al.</i> (132)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Losses in Longhong Ravine Basin of Westlake in Rainstorm Runoff	YANG Fan, JIANG Yi-feng, WANG Cui-cui, <i>et al.</i> (141)
Soil Phosphorus Forms and Leaching Risk in a Typically Agricultural Catchment of Hefei Suburban	FAN Hui-hui, LI Ru-zhong, PEI Ting-ting, <i>et al.</i> (148)
Concentrations and Distribution of Metals in the Core Sediments from Estuary and City Section of Liaohe River	WANG Wei-jie, ZHOU Jun-li, PEI Shao-wei, <i>et al.</i> (156)
Distribution Characteristics and Pollution Status Evaluation of Sediments Nutrients in a Drinking Water Reservoir	HUANG Ting-lin, LIU Fei, SHI Jian-chao (166)
Effect of Low Molecular Weight Organic Acids on the Chemical Speciation and Activity of Mercury in the Soils of the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	 YOU Rui, LIANG Li, QIN Cai-qing, <i>et al.</i> (173)
Arsenic Content and Speciation in the Surficial Sediments of Liangshui River in Beijing	WANG Xin-hui, SHAN Bao-qing, TANG Wen-zhong, <i>et al.</i> (180)
Effect of UV Light Radiation on the Coagulation of Chlorella and Its Mechanism	WANG Wen-dong, ZHANG Ke, XU Hong-bin, <i>et al.</i> (187)
Photocatalytic Oxidation of <i>p</i> -arsanilic Acid by TiO ₂	XU Wen-ze, YANG Chun-feng, LI Jing, <i>et al.</i> (193)
Photodegradation of Ciprofloxacin Hydrochloride in the Aqueous Solution Under UV	DUAN Lun-chao, WANG Feng-he, ZHAO Bin, <i>et al.</i> (198)
Adsorption of Phosphate by Lanthanum Hydroxide/Natural Zeolite Composites from Low Concentration Phosphate Solution	LIN Jian-wei, WANG Hong, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (208)
Experimental Research of Hg(II) Removal from Aqueous Solutions of HgCl ₂ with Nano-TiO ₂	ZHOU Xiong, ZHANG Jin-yang, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (220)
Development of Chemical Exposure Prediction Model for Aerobic Sewage Treatment Plant for Biochemical Wastewaters	ZHOU Lin-jun, LIU Ji-ning, SHI Li-li, <i>et al.</i> (228)
Degradation Characteristics of Three Aniline Compounds in Simulated Aerobic Sewage Treat System	GU Wen, ZHOU Lin-jun, LIU Ji-ning, <i>et al.</i> (240)
Advanced Treatment of Effluent from Industrial Park Wastewater Treatment Plant by Ferrous Ion Activated Sodium Persulfate	ZHU Song-mei, ZHOU Zhen, GU Ling-yun, <i>et al.</i> (247)
Recent Distribution and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Soils from Yangtze River Delta	LI Jing-ya, WU Di, XU Yun-song, <i>et al.</i> (253)
Preliminary Study on Linear Alkylbenzenes as Indicator for Process of Urbanization	XU Te, ZENG Hui, NI Hong-gang (262)
Pollution Assessment and Spatial Distribution Characteristics of Heavy Metals in Soils of Coal Mining Area in Longkou City	LIU Shuo, WU Quan-yuan, CAO Xue-jiang, <i>et al.</i> (270)
Effects of Reduced Water and Diurnal Warming on Winter-Wheat Biomass and Soil Respiration	WU Yang-zhou, CHEN Jian, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (280)
Effect of Recycled Water Irrigation on Heavy Metal Pollution in Irrigation Soil	ZHOU Yi-qi, LIU Yun-xia, FU Hui-min (288)
Effect of Biochar Application on Soil Aggregates Distribution and Moisture Retention in Orchard Soil	AN Yan, JI Qiang, ZHAO Shi-xiang, <i>et al.</i> (293)
Effects of Three Industrial Organic Wastes as Amendments on Plant Growth and the Biochemical Properties of a Pb/Zn Mine Tailings	 PENG Xi-zhu, YANG Sheng-xiang, LI Feng-mei, <i>et al.</i> (301)
Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth and Ce Uptake of Maize Grown in Ce-contaminated Soils	WANG Fang, GUO Wei, MA Peng-kun, <i>et al.</i> (309)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Phthalic Acid Esters in Agricultural Products Around the Pearl River Delta, South China	 LI Bin, WU Shan, LIANG Jin-ming, <i>et al.</i> (317)
Bioaccumulation and Biomagnification of Heavy Metals in Three Gorges Reservoir and Effect of Biological Factors	WEI Li-li, ZHOU Qiong, XIE Cong-xin, <i>et al.</i> (325)
Comparisons of Microbial Numbers, Biomasses and Soil Enzyme Activities Between Paddy Field and Dryland Origins in Karst Cave Wetland	 JIN Zhen-jiang, ZENG Hong-hu, LI Qiang, <i>et al.</i> (335)
Analysis on Diversity of Denitrifying Microorganisms in Sequential Batch Bioreactor Landfill	LI Wei-hua, SUN Ying-jie, LIU Zi-liang, <i>et al.</i> (342)
Synthesis of Fe/nitrogen-doped Carbon Nanotube/Nanoparticle Composite and Its Catalytic Performance in Oxygen Reduction	YANG Ting-ting, ZHU Neng-wu, LU Yu, <i>et al.</i> (350)
Application of Microbial Fuel Cells in Reducing Methane Emission from Rice Paddy	DENG Huan, CAI Li-cheng, JIANG Yun-bin, <i>et al.</i> (359)
Effect of Aeration Strategies on Emissions of Nitrogenous Gases and Methane During Sludge Bio-Drying	QI Lu, WEI Yuan-song, ZHANG Jun-ya, <i>et al.</i> (366)
Treatment of Flue Gas from Sludge Drying Process by A Thermophilic Biofilter	CHEN Wen-he, DENG Ming-jia, LUO Hui, <i>et al.</i> (377)
Application of FCM-qPCR to Quantify the Common Water Pathogens	WANG Ming-xing, BAI Yao-hui, LIANG Jin-song, <i>et al.</i> (384)
Effect of Acetonitrile and <i>n</i> -hexane on the Immunoassay of Environmental Representative Pollutants	LOU Xue-ning, ZHOU Li-ping, SONG Dan, <i>et al.</i> (391)
Compositional Variation of Spent Mushroom Substrate During Cyclic Utilization and Its Environmental Impact	LOU Zi-mo, WANG Zhuo-xing, ZHOU Xiao-xin, <i>et al.</i> (397)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2016年1月15日 第37卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 1 Jan. 15, 2016

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行