无线磁弹性免疫传感法测定水中痕量镉

刘婧靖*　何　博
（南华大学化学化工学院　衡阳 421001）

摘　要　基于抗原抗体特异性结合使镉附着在免疫传感器表面导致磁弹片共振频率降低的原理，建立了应用磁弹性免疫传感法测定水中痕量镉的方法。其共振频率变化对应于磁弹性片表面附着物的质量变化。研究了聚乙烯亚胺用量、戊二醛用量、反应时间等因素对测定的影响。在最佳条件下，测定镉的线性范围为 0.90 ~ 10.0 μg/L，检出限为为 0.42 μg/L。应用本方法测定了水样中的镉，测定结果与双硫腙比色法一致，回收率为 96.5% ~ 103.6%。

关键词　镉，磁弹性传感器，免疫，无线检测
中图分类号：O657　　文献标识码：A　　文章编号：1000-0518(2013)07-0821-05
DOI：10.3724/SP.J.1095.2013.20407

磁弹性材料是一类含铁、镍、钼及硼等元素的非晶态合金材料。以磁弹性材料为基础的传感器是近年发展起来的一种新型无线传感器[1]。在外加交变磁场激发下，磁弹性传感器可发生磁致伸缩振动，其振动产生的磁通可通过检测线圈进行非接触式的检测，从而实现无线传感。磁弹性传感器的共振基频除了与其自身的物理结构有关外，还受到传感器上装载的物质及所处环境等因素的影响，从而可用来进行多方面的检测。近年来，已有将无线磁弹性传感器用于测定细菌、肿瘤细胞等生物物质[2-4]和压力、流速、粘弹性、二氧化碳及氨、痕量汞等物理量和化学物质[5-6]的研究报道。但是，将无线磁弹性传感器用于免疫测定水中镉的研究则尚未见报道。

镉是对环境和人类健康最具危害性的有毒物质之一，是环境、食品和药物等的重要检测对象。目前测定微量镉的方法主要有分光光度法[7]、石墨炉原子吸收光谱法[8]、原子荧光法[9]和电感耦合等离子体发射光谱法[10]等。各种方法在实际运用中各有优点，如灵敏度高、检出限低等。但大多数方法检测条件要求较高，需在相关实验室进行。因此，研究更简便易行的现场测定痕量镉的新方法具有一定意义。

本文采用聚乙烯亚胺-戊二醛交联法将 Cd^{2+} 单克隆抗体固定在磁弹性传感器表面上，根据通过抗原抗体特异性结合使 Cd^{2+} 黏附在传感器表面，再用 NaOH 和其反应生成 $Cd(OH)_2$ 沉淀，传感器负载质量增大可使传感器的共振频率发生变化的特点，建立了应用磁弹性传感器的无线磁弹性免疫传感法测定镉的新方法。本方法仪器设备和操作方法简便，造价相对低廉，仪器比较轻便（以笔记本电脑为计算机系统，整套设备重量在 2 kg 以内），可用于镉的现场快速定量检测，结果满意。

1　实验部分

1.1　材料和试剂

传感材料为组成为 $Fe_{40}Ni_{38}Mo_4B_{18}$ 的 2826MB 型非晶态磁弹性合金条（美国 Honeywell 公司）。将合金条切割为 18 mm × 6 mm × 28 μm 的矩形磁弹性片用于制备传感器。镉单克隆抗体（广州江森生物科技有限公司）；镉（Ⅱ）标准溶液（1.0 g/L）用 $CdCl_2$ 按常规方法配制，用时用水逐级稀释为所需浓度的标准工作液；聚乙烯亚胺（PEI ICN biomedicals inc）；戊二醛；牛血清白蛋白（BSA 北京博大泰克生物基因

2012-09-17 收稿，2012-12-13 修回
通讯联系人：刘婧靖，讲师；Tel：0734-8282073；E-mail：ljj52677@126.com；研究方向：分析化学

技术有限公司);磷酸盐缓冲溶液(PBS);NaOH 溶液(0.01 mol/L)。所用试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

1.2 实验方法及测试原理

1.2.1 *免疫传感器的制备方法* 将传感器磁振片分别用丙酮、双蒸水清洗,吹干。在预处理后的传感器表面滴加 5 μL 40 g/L 聚乙烯亚胺甲醇溶液,室温放置 1 ~ 2 min 后,吹干;滴加 10 μL 戊二醛溶液,于 37 ℃水浴放置 30 min,用双蒸水清洗;吹干后,滴加 10 μL 镉单克隆抗体溶液,37 ℃水浴 60 min。取出后分别用洗涤液、双蒸水清洗、吹干;最后用 0.1 mol/L BSA 溶液滴至包被过的传感器表面,37 ℃水浴 30 min,以封闭传感器表面尚未反应的活性基团。分别用洗涤液、双蒸水清洗,吹干。保存在 4 ℃冰箱里,备用。

1.2.2 *实验装置及原理* 无线磁弹性传感装置(湖南大学开发研制)由计算机控制系统、信号发生/接收装置、激发线圈、磁弹性传感片和感应线圈构成,该装置的激发线圈和感应线圈在实际设计中可组装在一起,如图 1 所示。

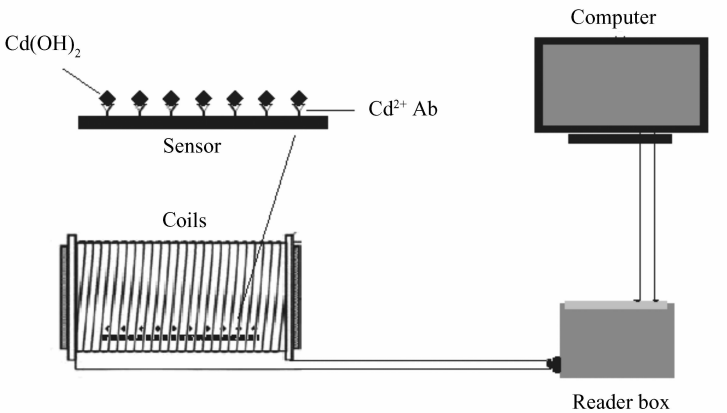

图 1 无线磁弹性传感系统示意图

Fig. 1 Schematic illustration of the experimental setup for wireless magnetoelastic sensing measurements

将免疫磁弹性传感器平放在具塞密闭的反应试管中,反应试管放入一个防水处理过的线圈(用防水漆包线制的线圈,此线圈是激发线圈和感应线圈的组合)内,反应管和线圈同时置于恒温水浴箱内,线圈与信号激发和检测器相连,整个系统由计算机控制。当传感器受到外加交变磁场信号激发时发生振动并发射出相应的感应磁场信号,检测系统则可检测出感应信号的频率和振幅。传感器与检测系统之间无任何物理连接。传感器自身的共振频率可由下式给出[11]:

$$f_0 = \frac{1}{2L}\sqrt{\frac{E}{\rho(1-\sigma^2)}} \tag{1}$$

式中,E 为杨氏模量,σ 为泊松比,ρ 为传感材料密度,L 为传感器长度。当有质量为 Δm 的沉淀沉积到质量为 m 的传感器的表面上时,传感器的共振频率将从 f_0 变化到 f,其变化值 Δf 可由下式给出[12]:

$$\Delta f = f - f_0 = -f_0\frac{\Delta m}{2m} \tag{2}$$

1.3 检测方法

将包被有 Cd^{2+} 单克隆抗体的磁弹性免疫传感器放入 10 mL 具塞小试管内,加入适量镉(Ⅱ)标准溶液,37 ℃水浴 60 min,取出后分别用洗涤液、双蒸水清洗后放入反应试管中,加适量双蒸水,再加入 1.5 mL NaOH 溶液,摇匀,密闭后置于线圈内,与线圈一起平放于 37 ℃恒温箱中进行反应。记录反应 10 min后传感器的频率信号。并做空白对照。

2　结果与讨论

2.1　频率响应曲线

传感器的频率响应曲线如图 2 所示。图 2 曲线 *a* 为传感器在空白溶液中的频率响应曲线,曲线 *b* 为传感器在 2.0 μg/L 镉溶液中的频率响应曲线。图 2 结果表明,传感器发射信号的振幅随频率变化,最大振幅对应的频率即为传感器的共振频率。从图 2可以看出,在镉溶液中传感器共振频率明显低于空白液中的共振频率,因此,在一定条件下,根据 Δf 可以对水中镉(Ⅱ)进行定量测定。

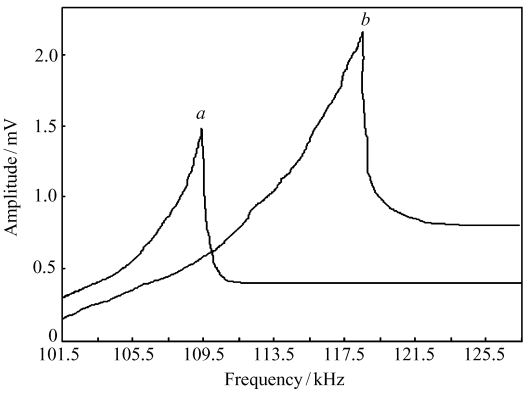

图 2　传感器频率响应曲线

Fig. 2　Measured resonant frequency for blank(*a*) and 2.0 μg/L Cd(*b*) solutions

2.2　PEI 用量的选择

传感器表面 PEI 涂的过多,则在膜的内部形成三维矩阵,容易脱落,不利于免疫传感器后续制备过程的进行。反之,如用量太少,则 PEI 能结合上的戊二醛太小,导致传感器上戊二醛的固定量减小,进而影响抗体的结合,降低了传感器的灵敏度。实验结果表明,在传感器表面涂上 5 μL 左右 40 g/L 的 PEI 甲醇溶液,效果明显好于其它 PEI 的用量。因此,本实验选择在传感器表面涂上 5 μL 40 g/L 的 PEI 甲醇溶液,可以有效保证传感器的质量。

2.3　戊二醛用量的选择

戊二醛是双功能试剂,可以与蛋白质分子中的游离氨基形成 Shiff 碱,通过聚乙烯亚胺将抗体与磁弹性传感器联结起来。因此戊二醛的用量决定着抗体的结合量。本文选择了体积分数 0.5%、1%、2.5%、5% 和 25% 共 5 个戊二醛浓度来考察抗体的结合量。结果表明,在同样条件下,随着戊二醛体积的增加,传感器频率的改变量也随之增大,表明抗体在传感器上的结合量增加。但是抗体的结合量并不与戊二醛的浓度成正比,因为戊二醛本身可以使蛋白质中毒,本试验选择浓度为 2.5%(体积分数)戊二醛进行抗体交联反应,此条件下制得的免疫传感器具有最佳响应灵敏度。

2.4　反应时间的选择

通过实验考察了免疫反应进行 30、60 和 90 min 后传感器共振频率的变化情况。结果表明,反应 60 min后传感器的共振频率基本保持不变,表明特异性结合反应基本达到饱和状态。因此实验选择的免疫反应时间为 60 min。

2.5　传感器检测的浓度线性范围与检出限

取不同量的已知浓度的镉(Ⅱ)标准液按实验方法操作,以含镉(Ⅱ)的共振频率与空白共振频率的差值 Δf 对镉(Ⅱ)浓度(μg/L)绘制校准曲线。结果表明,镉(Ⅱ)浓度在 0.90 ~ 10.0 μg/L 范围内与 Δf 呈良好的线性关系,线性回归方程为 $\Delta f(\mathrm{kHz}) = -0.0251\rho(\mu g/L) - 9.41$,相关系数 $r = 0.994$。取11 份空白溶液进行测定,将其标准偏差的 3 倍作为检出限,得到方法的检出限为 0.42 μg/L。对 5 μg/L 镉(Ⅱ)标准液进行 6 次平行测定,相对标准偏差为 3.2%。

2.6　共存离子的影响

用 0.04 μg 镉(Ⅱ)对一些共存离子进行干扰实验。结果表明,在相对误差不大于 5% 的情况下,以下倍量的离子允许存在:50 倍的 K^+、Na^+、NO_3^-、Cl^- 和 SO_4^{2-},5 倍的 Ca^{2+}、Mg^{2+}、Ba^{2+} 和 Mn^{2+},1 倍的 Zn^{2+}、Fe^{3+}、Cu^{2+}、Ag^+ 和 Pb^{2+}。

2.7　样品检测

应用本法对一些废水样品中的 Cd 含量进行了测定,同时还用双硫腙分光光度法进行了对照实验,结果见表 1,2 种方法的检测结果相符。

表 1 废水样品中镉含量分析结果

Table 1 Analysis results of cadmium in waste water samples

Sample	This method					Dithizone	
	Found/($\mu g \cdot L^{-1}$)($n=6$)	RSD/%	Standard added/($\mu g \cdot L^{-1}$)	Total found/($\mu g \cdot L^{-1}$)	Recovery/%	Found ($\mu g \cdot L^{-1}$)($n=6$)	RSD/%
a	1.26	4.1	2.00	3.31	101.53	1.32	0.8
b	1.79	3.8	2.00	3.92	103.43	1.87	1.1
c	2.65	3.2	2.00	4.49	96.56	2.72	1.2
d	4.78	2.4	2.00	6.68	98.53	4.84	2.4

* Samples a, b, c and d are factory waste water samples.

3 结 论

建立了一种应用无线磁弹性免疫传感法测定水中痕量镉的新方法,可用于镉的现场检测,克服了一般分析法需在相关实验室进行测定的缺点,操作简单且分析费用低廉。应用该方法测定了环境水样中的镉含量,测定结果与双流腙分光光度法一致,为痕量镉的检测提供了一种新途径。根据本分析方法,还可建立无线磁弹性免疫传感法测定其他金属离子的新方法。

参 考 文 献

[1] Zeng K, Grimes C A. Wireless Magnetoelastic Physical, Chemical, and Biological Sensors[J]. *IEEE Trans Magn*, 2007, **43**(6): 2358-2363.

[2] He B, Liao L F, Xiao X L, *et al*. Monitoring of Mycoplasma Genitalium Growth and Evaluation of Antibacterial Activity of Antibiotics Tetracycline and Levofloxacin Using a Wireless Magnetoelastic Sensor[J]. *Biosens Bioelectron*, 2009, **24**(7): 1990-1994.

[3] Xiao X, Guo M, Li Q, *et al*. *In-situ* Monitoring of Breast Cancer Cell(MCF-7) Growth and Quantification of the Cytotoxicity of Anticancer Drugs Fluorouracil and Cisplatin[J]. *Biosens Bioelectron*, 2008, **24**(2): 247-252.

[4] Ruan C M, Zeng K F, Varghese O K, *et al*. Magnetoelastic Immunosensors: Amplified Mass Immunosorbent Assay for Detection of *Escherichia Coli* O157:H7[J]. *Anal Chem*, 2003, **75**(23): 6494-6498.

[5] Grimes C A, Mungle C S, Zeng K, *et al*. Wireless Magnetoelastic Resonance Sensors: A Critical Review[J]. *Sensors*, 2002, **2**: 294-313.

[6] HE Bo, LIAO Lifu, HU Shijin, *et al*. Determination of Trace Mercury with Catalytic Precipitation Wireless Sensing Method [J]. *Chinese J Anal Chem*, 2009, **37**(1): 123-126(in Chinese).
何博,廖力夫,胡狮进,等. 催化沉淀无线传感法测定痕量汞[J]. 分析化学,2009,**37**(1):123-126.

[7] YUAN Xiao, CHEN Daiwei, XU Jinyong. Determination of Trace Cadmium in Zinc-Manganese Electrolyte Solution with Spectrophotometry[J]. *Electroplat Pollut Control*, 2012, (3): 52-53(in Chinese).
袁潇,陈代伟,徐进勇. 分光光度法测定锌-锰电镀液中微量镉[J]. 电镀与环保,2012,(3):52-53.

[8] LI Geng. Cadmium Determination by Graphite Furnace Atomic Absorption[J]. *Fujian Environ*, 2000, **4**: 11-12 (in Chinese).
李耕. 石墨炉原子吸收法测定镉[J]. 福建环境,2000,**4**:11-12.

[9] LAN Xiaoyu, FU Chuanwu, HUANG Ming. Determination of Cadmium in Edible Vegetable Oil with the Microwave Digestion and Atomic Fluorescence Spectrometry[J]. *Mod Food Sci Technol*, 2011, **9**: 1154-1156(in Chinese).
蓝晓玉,符传武,黄铭. 原子荧光法测定食用植物油中镉的含量[J]. 现代食品科技,2011,**9**:1154-1156.

[10] PANG Jinshan, DENG Aihua, CHEN Jin, *et al*. Determination of Migration Quantity of Cr, Ni, Cd, Pb and As in Food Containers by Magnetic Carbon-coated Iron Nanoparitcles Separation/Enrichment-Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry[J]. *Chinese J Anal Chem*, 2011, (9): 1363-1367(in Chinese).
庞晋山,邓爱华,陈进,等. 磁性纳米粒子富集-电感耦合等离子体发射光谱法测定食具中铬、镍、镉、铅、砷的迁移量[J]. 分析化学,2011,(9):1363-1367.

[11] Stoyanov P G, Grimes C A. A Remote Query Magnetostrictive Viscosity Sensor[J]. *Sens Actuators A*, 2000, **84**(1): 8-14.

[12] Cai Q Y, Cammers-Goodwin A, Grimes C A. A Wireless, Remote Query Magnetoelastic CO_2 Sensor[J]. *J Environ Monit*, 2000, (2): 556-560.

Determination of Trace Cadmium in Water by Wireless Magnetoelastic Immunosensor

LIU Jingjing*, HE Bo

(*School of Chemistry and Chemical Engineering*, *University of South China*, *Hengyang* 421001, *China*)

Abstract A new method for the determination of Cd in the water with a wireless magnetoelastic immunosensor was introduced. In the method, the specific binding of antigen with the antibody made precipitation adhere to the surface of the immunosensor and resulted in a decrease in the resonance frequency of the magnetoelastic foil. The shift of the resonance frequency was related to the concentration of Cd. The influence of some factors such as polyethylene imine dosage, glutaraldehyde dosage and reaction time on the determination was discussed. At the optimized conditions, the linear range for the determination of Cd was in the range of 0.90 ~ 10.0 μg/L, with the detection limit of 0.42 μg/L. The proposed method was applied successfully to the determination of Cd in water samples with the recoveries of 96.5% ~ 103.6%. The determination results are basically consistent with that of dithizone colorimetric method.

Keywords Cd, wireless magnetoelastic immunosensor, immunization, wireless detection

第十三届应用化学年会组委会第一轮通知

由中国化学会应用化学专业委员会主办,中国科学院长春应用化学研究所承办的"应用化学与社会和谐发展"第十三届全国应用化学年会将于 2013 年 8 月 23 ~ 26 日在长春召开,这是中国应用化学界学者的一次盛会。本届学术会议旨在促进应用化学的学术交流与发展。届时来自全国各地的著名科学家及青年学者将汇聚一堂,报道应用化学领域的最新研究成果,研讨应用化学领域的发展趋势、学科前沿与研究热点。热诚欢迎各高等院校、科研院(所)以及企事业单位的科研、工程技术人员和管理人员与研究生踊跃参加。

会议主题:(A)应用化学与环境友好材料;(B)应用化学与绿色储能及转换材料;(C)应用化学与社会安全;(D)应用化学与化工新材料;(E)应用化学与教育;(F)应用化学企业论谈。

征文要求:(1)符合会议主题、未公开发表的论文均可应征。(2)应征论文请提供 1 ~ 2 页中文摘要,同时接受英文撰写稿件。组委会聘请专家对论文进行审核,录用后,将发通知告知作者。优秀论文将推荐在《应用化学》发表。(3)应征论文请用 E-mail 投到《应用化学》编辑部邮箱 yyhxnh@ ciac. jl. cn,投稿时主题中请注明论文所属征文范围(征文领域编号)。征文请用 Word 文件保存以便编排收录在光盘中。版面 24 cm × 16 cm(A4 纸),作图尺寸 8 cm × 6 cm,论文标题用小二号黑体;作者用小四号仿宋体(报告人用下划线标明),工作单位、邮编及摘要均用小五号宋体,正文均用五号宋体,采用单倍行距。(4)摘要首页脚注注明通讯作者职称、电话、E-mail 和简介。

会议联系地址:长春市人民大街 5625 号 中国科学院长春应用化学研究所 2013 年全国应用化学年会秘书组

邮编:130022　E-mail:yyhxnh@ ciac. jl. cn　联系人:孙智权　电话:0431-85262016　传真:0431-85262881

详情请登录 http://www. ciac. jl. cn/yyhxnh

第十三届全国应用化学年会组委会