



同济大学 1907-2017
Tongji University



同济博士论丛
TONGJI Dissertation Series

总主编 伍江 副总主编 雷星晖

陈家斌 张亚雷 著

几种PPCPs的毒性作用 及降解反应研究

Toxic Effect and Degradation Mechanism
of Several PPCPs



同济大学出版社
TONGJI UNIVERSITY PRESS



总主编 伍江 副总主编 雷星晖

陈家斌 张亚雷 著

几种PPCPs的毒性作用 及降解反应研究

Toxic Effect and Degradation Mechanism
of Several PPCPs

 同济大学出版社
TONGJI UNIVERSITY PRESS

内 容 提 要

本书从污染物跨膜运输途径、与大分子相互作用、个体毒性表现 3 个方面综合阐述了 PPCPs 污染物的致毒作用;从反应机制角度出发,为从分众、细胞和个体水平上解释污染物的致毒机理奠定理论基础;且通过 PPCPs 降解反应的机理研究对 PPCPs 的污染控制提供理论基础和技术保障。

本书可为从事同类污染物研究的研究人员、高校科研人员提供强有力的实验依据、机理分析,可作为理论基础用于实验教学。

图书在版编目(CIP)数据

几种 PPCPs 的毒性作用及降解反应研究 / 陈家斌,张亚雷著.
—上海:同济大学出版社,2017.5
(同济博士论丛 / 伍江总主编)
ISBN 978-7-5608-6936-0

I. ①几… II. ①陈… ②张… III. ①污染物—毒性—研究
②污染物—降解反应—研究 IV. ①X5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 090264 号

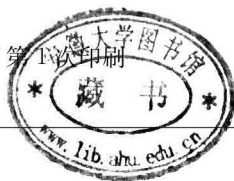
几种 PPCPs 的毒性作用及降解反应研究

陈家斌 张亚雷 著

出 品 人 华春荣 责任编辑 葛永霞 胡晗欣
责任校对 徐春莲 封面设计 陈益平

出版发行 同济大学出版社 www.tongjipress.com.cn
(地址:上海市四平路 1239 号 邮编:200092 电话:021-65985622)
经 销 全国各地新华书店
排版制作 南京展望文化发展有限公司
印 刷 浙江广育爱多印务有限公司
开 本 787 mm×1092 mm 1/16
印 张 14
字 数 280 000
版 次 2017 年 5 月第 1 版 2017 年 5 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5608-6936-0

定 价 66.00 元



本书若有印装质量问题,请向本社发行部调换 版权所有 侵权必究

“同济博士论丛”编写领导小组

组 长：杨贤金 钟志华

副 组 长：伍 江 江 波

成 员：方守恩 蔡达峰 马锦明 姜富明 吴志强
徐建平 吕培明 顾祥林 雷星晖

办公室成员：李 兰 华春荣 段存广 姚建中

“同济博士论丛”编辑委员会

总 主 编：伍 江

副 总 主 编：雷星晖

编委会委员：（按姓氏笔画顺序排列）

丁晓强	万 钢	马卫民	马在田	马秋武	马建新
王 磊	王占山	王华忠	王国建	王洪伟	王雪峰
尤建新	甘礼华	左曙光	石来德	卢永毅	田 阡
白云霞	冯 俊	吕西林	朱合华	朱经浩	任 杰
任 浩	刘 春	刘玉擎	刘滨谊	闫 冰	关侗红
江景波	孙立军	孙继涛	严国泰	严海东	苏 强
李 杰	李 斌	李风亭	李光耀	李宏强	李国正
李国强	李前裕	李振宇	李爱平	李理光	李新贵
李德华	杨 敏	杨东援	杨守业	杨晓光	肖汝诚
吴广明	吴长福	吴庆生	吴志强	吴承照	何品晶
何敏娟	何清华	汪世龙	汪光焘	沈明荣	宋小冬
张 旭	张亚雷	张庆贺	陈 鸿	陈小鸿	陈义汉
陈飞翔	陈以一	陈世鸣	陈艾荣	陈伟忠	陈志华
邵嘉裕	苗夺谦	林建平	周 苏	周 琪	郑军华
郑时龄	赵 民	赵由才	荆志成	钟再敏	施 骞
施卫星	施建刚	施惠生	祝 建	姚 熹	姚连璧

袁万城	莫天伟	夏四清	顾 明	顾祥林	钱梦麟
徐 政	徐 鉴	徐立鸿	徐亚伟	凌建明	高乃云
郭忠印	唐子来	閻耀保	黄一如	黄宏伟	黄茂松
戚正武	彭正龙	葛耀君	董德存	蒋昌俊	韩传峰
童小华	曾国荪	楼梦麟	路秉杰	蔡永洁	蔡克峰
薛 雷	霍佳震				

秘书组成员: 谢永生 赵泽毓 熊磊丽 胡晗欣 卢元姗 蒋卓文

总序

在同济大学 110 周年华诞之际，喜闻“同济博士论丛”将正式出版发行，倍感欣慰。记得在 100 周年校庆时，我曾以《百年同济，大学对社会的承诺》为题作了演讲，如今看到付梓的“同济博士论丛”，我想这就是大学对社会承诺的一种体现。这 110 部学术著作不仅包含了同济大学近 10 年 100 多位优秀博士研究生的学术科研成果，也展现了同济大学围绕国家战略开展学科建设、发展自我特色，向建设世界一流大学的目标迈出的坚实步伐。

坐落于东海之滨的同济大学，历经 110 年历史风云，承古续今、汇聚东西，秉持“与祖国同行、以科教济世”的理念，发扬自强不息、追求卓越的精神，在复兴中华的征程中同舟共济、砥砺前行，谱写了一幅幅辉煌壮美的篇章。创校至今，同济大学培养了数十万工作在祖国各条战线上的人才，包括人们常提到的贝时璋、李国豪、裘法祖、吴孟超等一批著名教授。正是这些专家学者培养了一代又一代的博士研究生，薪火相传，将同济大学的科学研究和学科建设一步步推向高峰。

大学有其社会责任，她的社会责任就是融入国家的创新体系之中，成为国家创新战略的实践者。党的十八大以来，以习近平同志为核心的党中央高度重视科技创新，对实施创新驱动发展战略作出系列重大决策部署。党的十八届五中全会把创新发展作为五大发展理念之首，强调创新是引领发展的第一动力，要求充分发挥科技创新在全面创新中的引领作用。要把创新驱动发展作为国家的优先战略，以科技创新为核心带动全面创新，以体制机制改

革激发创新活力,以高效率的创新体系支撑高水平的创新型国家建设。作为人才培养和科技创新的重要平台,大学是国家创新体系的重要组成部分。同济大学理当围绕国家战略目标的实现,作出更大的贡献。

大学的根本任务是培养人才,同济大学走出了一条特色鲜明的道路。无论是本科教育、研究生教育,还是这些年摸索总结出的导师制、人才培养特区,“卓越人才培养”的做法取得了很好的成绩。聚焦创新驱动转型发展战略,同济大学推进科研管理体系改革和重大科研基地平台建设。以贯穿人才培养全过程的一流创新创业教育助力创新驱动发展战略,实现创新创业教育的全覆盖,培养具有一流创新力、组织力和行动力的卓越人才。“同济博士论丛”的出版不仅是对同济大学人才培养成果的集中展示,更将进一步推动同济大学围绕国家战略开展学科建设、发展自我特色、明确大学定位、培养创新人才。

面对新形势、新任务、新挑战,我们必须增强忧患意识,扎根中国大地,朝着建设世界一流大学的目标,深化改革,勠力前行!

万 钢

2017年5月

论丛前言

承古续今,汇聚东西,百年同济秉持“与祖国同行、以科教济世”的理念,注重人才培养、科学研究、社会服务、文化传承创新和国际合作交流,自强不息,追求卓越。特别是近20年来,同济大学坚持把论文写在祖国的大地上,各学科都培养了一大批博士优秀人才,发表了数以千计的学术研究论文。这些论文不但反映了同济大学培养人才能力和学术研究的水平,而且也促进了学科的发展和国家的建设。多年来,我一直希望能有机会将我们同济大学的优秀博士论文集中整理,分类出版,让更多的读者获得分享。值此同济大学110周年校庆之际,在学校的支持下,“同济博士论丛”得以顺利出版。

“同济博士论丛”的出版组织工作启动于2016年9月,计划在同济大学110周年校庆之际出版110部同济大学的优秀博士论文。我们在数千篇博士论文中,聚焦于2005—2016年十多年间的优秀博士学位论文430余篇,经各院系征询,导师和博士积极响应并同意,遴选出近170篇,涵盖了同济的大部分学科:土木工程、城乡规划学(含建筑、风景园林)、海洋科学、交通运输工程、车辆工程、环境科学与工程、数学、材料工程、测绘科学与工程、机械工程、计算机科学与技术、医学、工程管理、哲学等。作为“同济博士论丛”出版工程的开端,在校庆之际首批集中出版110余部,其余也将陆续出版。

博士学位论文是反映博士研究生培养质量的重要方面。同济大学一直将立德树人作为根本任务,把培养高素质人才摆在首位,认真探索全面提高博士研究生质量的有效途径和机制。因此,“同济博士论丛”的出版集中展示同济大

学博士研究生培养与科研成果,体现对同济大学学术文化的传承。

“同济博士论丛”作为重要的科研文献资源,系统、全面、具体地反映了同济大学各学科专业前沿领域的科研成果和发展状况。它的出版是扩大传播同济科研成果和学术影响力的重要途径。博士论文的研究对象中不少是“国家自然科学基金”等科研基金资助的项目,具有明确的创新性和学术性,具有极高的学术价值,对我国的经济、文化、社会发展具有一定的理论和实践指导意义。

“同济博士论丛”的出版,将会调动同济广大科研人员的积极性,促进多学科学术交流、加速人才的发掘和人才的成长,有助于提高同济在国内外的竞争力,为实现同济大学扎根中国大地,建设世界一流大学的目标愿景做好基础性工作。

虽然同济已经发展成为一所特色鲜明、具有国际影响力的综合性、研究型大学,但与世界一流大学之间仍然存在着一定差距。“同济博士论丛”所反映的学术水平需要不断提高,同时在很短的时间内编辑出版 110 余部著作,必然存在一些不足之处,恳请广大学者,特别是有关专家提出批评,为提高同济人才培养质量和同济的学科建设提供宝贵意见。

最后感谢研究生院、出版社以及各院系的协作与支持。希望“同济博士论丛”能持续出版,并借助新媒体以电子书、知识库等多种方式呈现,以期成为展现同济学术成果、服务社会的一个可持续的出版品牌。为继续扎根中国大地,培育卓越英才,建设世界一流大学服务。

伍 江

2017 年 5 月

前言

近年来,新兴污染物对全球环境和人类健康的潜在危害越来越引起各国政府、学术界和公众的重视,现已成为一个倍受关注的全球性环境问题。本文选择几种被广泛关注的药品和个人护理品(PPCPs),如三氯生(TCS)、双氯芬酸(DCF)、 β -内酰胺抗生素为研究对象,首先研究了污染物对斑马鱼胚胎的毒性作用,重点从污染物的跨膜输运过程、胚胎发育内在分子机制和外观毒性表现3方面综合分析污染物的毒性作用;随后采用荧光光谱、毛细管电泳、圆二色谱、平衡透析等方法研究了污染物与人血清白蛋白(HSA)的结合反应,以及该结合反应对HSA的结构和功能的影响;然后就常见过渡金属离子对 β -内酰胺抗生素的降解反应机理进行了深入的研究,重新审视了金属铜离子在 β -内酰胺抗生素降解中所起的作用,探讨了目标污染物分子结构和降解反应的内在关联性;最后采用基于硫酸根自由基的新型氧化技术氧化降解 β -内酰胺抗生素,重点研究了污染物和金属铜离子络合物的电子转移在降解反应中的作用,评估了合成方法对纳米磁铁矿颗粒表观特性和活化过硫酸盐($S_2O_8^{2-}$)性能的影响,探讨了金属铜离子在磁铁矿表面的界面化学反应特性以及协同活化 $S_2O_8^{2-}$ 性能。对PPCPs的毒性作用和降解反应的研究,将对保护人类健康及生态系统安全具有重要理论价值,同时也为

PPCPs 的污染控制提供理论基础和技术保障。本文研究内容主要包括以下 4 个方面:

(1) 以斑马鱼胚胎为研究对象,从污染物的跨膜输运过程,胚胎发育内在分子机制和外观毒性表现 3 方面综合分析污染物的毒性作用,具体结果如下:

① 跨膜输运。DCF 在低浓度时通过分配作用进入膜上和膜内;高浓度时通过非共价键综合作用吸附于胚胎表面,符合 Freundlich 模型。大部分 DCF 都停留在胚胎膜外,而只有少于 5% 的 DCF 与胚胎膜发生相互作用。TCS 主要通过疏水性作用分配进入膜上和膜内。膜外、膜上、膜内 TCS 分布的比例约为 2:1:2。

② 毒性表现。斑马鱼胚胎暴露 DCF 后主要为心血管毒性和神经毒性,毒性表型包括诱导斑马鱼心包水肿、循环系统异常及身体水肿、肝脏缺失、躯干/尾变短、下颌畸形、眼变小、肠道缺失、肌肉变性、体节异常、着色异常。而暴露于 TCS 后有肝脏毒性,心血管毒性以及肠道毒性,毒性表型包括肝脏缺失、变小和变性,卵黄囊吸收延迟,心包水肿、血流变慢,肠道褶皱缺失或者变少。

③ 内在分子毒性机制。DCF 会抑制 Wnt3a 和 Gata4 基因的表达,但是上调 Wnt8a 基因的表达,但对 Nkx2.5 表达的影响与浓度有关,低浓度时为抑制,高浓度时增加。这些基因表达的异常会导致心血管系统和神经系统发育异常。

(2) 采用荧光光谱、毛细管电泳、圆二色谱、平衡透析等方法,研究了 TCS、DCF 和 HSA 的相互作用,具体结果如下:

① DCF 与 HSA 的结合常数为 3.36×10^4 ,结合位点数为 8.1,两者相互作用力以疏水性作用占主导,同时也存在静电引力作用。而 TCS 主要以氢键和疏水性作用结合在 HSA 上,结合距离为 1.81 nm,发生非辐射能量转移形成复合物。

② DCF 或 TCS 与 HSA 结合后,导致 HSA 中色氨酸和酪氨酸残基微环境极性改变,蛋白质多肽链骨架展开,二级结构发生改变,从而影响 HSA 对维生素 B₂ 的载运功能。

(3) 从氧化还原和水解催化角度研究了 Cu^{II} 对 β -内酰胺抗生素的降解反应,探讨了目标污染物分子结构和降解途径的内在关联性,具体结果如下:

① 青霉素 G(PG)被 Cu^{II} 催化降解速度快于阿莫西林(AMX)和氨苄西林(AMP);苯基甘氨酸类头孢降解速度慢于青霉素,快于非苯基甘氨酸类头孢;无氧条件下,青霉素和苯基甘氨酸类头孢降解最终趋于停滞,而氧气可以迅速提高它们的降解效率。

② PG 在 pH 7.0 和 9.0 时先被 Cu^{II} 催化水解成青霉素 G 噻唑酸(BPC),BPC 随后被 Cu^{II} 直接氧化,最终转化为苯基乙酰胺;与此同时,Cu^{II} 被还原为 Cu^I,Cu^I 在有氧条件下能够重新氧化为 Cu^{II},Cu^I / Cu^{II} 的循环维持着 PG 的快速降解;无氧时 Cu^I 会在反应过程中积累。pH 5.0 时,PG 降解速度相对较慢,Cu^{II} 所起的作用主要是水解催化,水解产物 BPC 在反应过程中积累。

③ 苯基甘氨酸类头孢,如头孢氨苄(CFX)被 Cu^{II} 直接氧化降解而不是催化水解,并且氧化作用跟溶液 pH 有关。pH 5.0 时,Cu^{II} 不易与 CFX 络合,从而不能氧化降解 CFX;pH 7.0 和 9.0 时,Cu^{II} 络合于 CFX 侧链苯基甘氨酸上的伯胺,直接作用于该络合位点产生氧化产物。

④ AMP 与 CFX 和 PG 结构上的相似性导致其与 Cu^{II} 降解反应既有 PG 的特征,也有 CFX 的特征。AMP 既可以通过侧链伯胺和 Cu^{II} 络合直接被氧化,也可以和 β -内酰胺环络合催化水解,水解产物能够被 Cu^{II} 进一步氧化降解。

(4) 采用基于硫酸根自由基的新型氧化技术氧化降解 β -内酰胺抗生素,重点关注了络合状态 Cu^{II} 对 S₂O₈²⁻ 活化机制以及 S₂O₈²⁻ 的协同

活化机制,具体结果如下:

① 游离态 Cu^{II} 不能有效活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$;与 β -内酰胺抗生素络合后, Cu^{II} 能高效活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 产生活性自由基 $\text{HO}^\cdot$ 和 $\text{SO}_4^{\cdot-}$,并快速降解 β -内酰胺抗生素;在络合态 Cu^{II} 活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的反应体系中,CFX 的降解速度先快后慢,并且随着 Cu^{II} 浓度或 pH 的升高而加快。

② 络合状态 Cu^{II} 活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的能力和有机配体种类和络合方式有关,含氮原子基团络合的 Cu^{II} 有利于活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$; Cu^{II} 和供电基团络合后, Cu^{II} 周围的电子密度加大,和 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 进一步络合后电子转移, Cu^{II} 失去电子被氧化为 Cu^{III} , Cu^{III} 很不稳定,重新转化为 Cu^{II} ; $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 得电子被活化产生活性自由基,降解有机配体。

③ 磁铁矿本身对 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的活化在酸性条件随着 pH 的降低而升高;而在中性和碱性条件活化能力很弱。与磁力搅拌法合成相比,超声混合法合成的磁铁矿有更小的粒径和更大的比表面积,从而能更好地活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 产生活性自由基,但是其化学稳定性和重复利用性相对较低。

④ 磁铁矿/ Cu^{II} 能协同活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 。 Cu^{II} 首先吸附到磁铁矿表面,被表面的 Fe^{II} 还原成 Cu^{I} ,而 Cu^{I} 和 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 发生氧化还原反应被重新氧化为 Cu^{II} ,同时产生活性自由基。 $\text{Cu}^{\text{I}}/\text{Cu}^{\text{II}}$ 在磁铁矿表面的循环维持着 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的活化产生自由基。

⑤ 磁铁矿/EDTA 也能协同活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 。 EDTA 降解的中间产物参与 $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ 的氧化还原循环,而 $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ 的循环维持活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 产生活性自由基。而当磁铁矿、 Cu^{II} 和 EDTA 三者共同存在时,通过拮抗作用反而会降低 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的活化效率。

目 录

总序

论丛前言

前言

第 1 章 绪论	1
1.1 药品和个人护理品 (PPCPs) 的环境污染问题	1
1.2 污染物的致毒机理研究	4
1.2.1 污染物的动物模型暴露	5
1.2.2 污染物与生物大分子相互作用	9
1.2.3 污染物与细胞膜作用和跨膜输运	12
1.3 水体 β -内酰胺抗生素处理方法	14
1.3.1 β -内酰胺抗生素降解反应	16
1.3.2 硫酸根自由基对 β -内酰胺抗生素氧化降解反应	18
1.4 研究意义和内容	23
1.4.1 研究目的和意义	23
1.4.2 研究内容	24
1.4.3 研究方案和路线	26

第 2 章 PPCPs 对斑马鱼胚胎毒性作用研究	28
2.1 实验部分	29
2.1.1 仪器和试剂	29
2.1.2 污染物的跨膜运输	31
2.1.3 污染物对斑马鱼胚胎的毒性暴露	32
2.1.4 污染物对斑马鱼胚胎基因表达影响	33
2.2 结果和讨论	36
2.2.1 污染物的跨膜运输	36
2.2.2 污染物对斑马鱼的毒性表型	42
2.2.3 污染物对斑马鱼基因表达影响	55
2.3 本章小结	58
第 3 章 PPCPs 与人血清白蛋白结合反应研究	60
3.1 实验部分	61
3.1.1 仪器和试剂	61
3.1.2 毛细管电泳分析	61
3.1.3 荧光光谱分析	62
3.1.4 圆二色谱(CD)分析	62
3.1.5 平衡透析分析	62
3.2 结果与讨论	63
3.2.1 污染物与 HSA 的结合常数	63
3.2.2 污染物对 HSA 结构的影响	74
3.2.3 污染物对 HSA 载运性能的影响	78
3.3 本章小结	79
第 4 章 Cu ^{II} 催化降解 β -内酰胺抗生素	81
4.1 实验部分	82

4.1.1	仪器和试剂	82
4.1.2	β -内酰胺抗生素与 Cu^{II} 的降解反应	83
4.1.3	β -内酰胺抗生素与 Cu^{II} 络合反应	85
4.2	结果和讨论	85
4.2.1	β -内酰胺抗生素的水解	85
4.2.2	Cu^{II} 催化降解 β -内酰胺抗生素	88
4.2.3	水解和氧化反应	95
4.2.4	降解产物分析	101
4.2.5	络合分析	116
4.2.6	机理探讨	119
4.3	本章小结	124
第 5 章	基于硫酸根自由基新型氧化技术对 β -内酰胺抗生素的 降解	126
5.1	实验部分	128
5.1.1	仪器和试剂	128
5.1.2	纳米磁铁矿的合成和表征	128
5.1.3	Cu^{II} 活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 降解 β -内酰胺抗生素	129
5.1.4	磁铁矿活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 降解 β -内酰胺抗生素	130
5.2	结果和讨论	130
5.2.1	络合态 Cu^{II} 活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$	130
5.2.2	磁铁矿活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$	144
5.2.3	磁铁矿/ Cu^{II} 协同活化 $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$	154
5.2.4	$\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ 的新型活化机制	160
5.3	本章小结	165