

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第6期

Vol.33 No.6

**2012**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

我国湖泊富营养化效应区域差异性分析 ..... 曹金玲,许其功,席北斗,李小平,杨柳燕,江立文,魏自民,吴献花(1777)

基于“源”“汇”景观格局指数的海河流域总氮流失评价 ..... 孙然好,陈利顶,王伟,王赵明(1784)

云蒙湖流域土地利用变化对非点源氮污染负荷的影响 ..... 孟晓云,于兴修,泮雪芹(1789)

深圳市沿岸表层海水中全氟化合物的残留特征及其分布规律 ..... 陈清武,张鸿,柴之芳,沈金灿,杨波(1795)

典型电器工业区河涌沉积物中多环芳烃的分布、来源和潜在生态风险 ..... 邓代永,邱孟德,孙国萍,郭俊,张宏涛,张琴,许玫英(1801)

珠江下游河段沉积物中重金属含量及污染评价 ..... 谢文平,王少冰,朱新平,陈昆慈,潘德博,洪孝友,尹怡(1808)

扎龙湿地南山湖沉积岩芯重金属污染特征及来源判别 ..... 苏丹,臧淑英,叶华香,孙丽,贾晓丹,李苗(1816)

汕头湾沉积物磷的形态分布与季节变化特征研究 ..... 赵建刚,乔永民(1823)

氮磷比对东海浮游植物群落生长影响的微宇宙实验 ..... 黄伟,朱旭宇,曾江宁,寿鹿,陈全震,江志兵(1832)

春季福建北部海域浙闽沿岸流消亡期浮游桡足类种类组成及其分布 ..... 王彦国,林景宏,王春光,林茂(1839)

滩涂红树林种植-养殖耦合系统中多环芳烃含量水平分析 ..... 陈冠秋,李耀初,黄晋沐,南燕,林茂宏(1846)

四溴双酚 A 在 5 种巢湖鱼类体内的组织分布与生物浓缩因子研究 ..... 杨苏文,王圣瑞,闫振广,张普青(1852)

五氯酚对稀有鮑肌卵黄蛋白原及 p53 的诱导效应 ..... 熊力,马永鹏,张晓峥,金帮明,李伟,苏永良,毛思予,刘堰(1858)

全氟辛烷磺酸 (PFOS) 对斑马鱼卵黄蛋白原 mRNA 水平的影响 ..... 程艳,崔媛,党志超,谢文平,李海山,殷缓缓,陈会明(1865)

水溶性有机物电子转移能力与荧光峰强度的关系研究 ..... 陶亚,袁田,周顺桂,袁勇,庄莉,王辉亮(1871)

MIEX 中试实验对二级出水中有机物去除的 3DEEM 解析 ..... 杨建,高金华,常江(1878)

XDLVO 理论解析钙离子对腐殖酸反渗透膜污染的影响机制 ..... 姚淑娣,高欣玉,郭本华,包南,谢慧君,梁爽(1884)

栅藻 LX1 在水产养殖废水中的生长、脱氮除磷和油脂积累特性 ..... 马红芳,李鑫,胡洪管,于茵,巫寅虎(1891)

氯化铁用于反硝化同步化学生物絮凝工艺研究 ..... 王宏杰,董文艺,刘莉莎,韩贵超(1897)

合成氨废水短程反硝化特性研究 ..... 李妍,李泽兵,马家轩,王晓毅,赵白航,李军(1902)

基于新型反应器的好氧颗粒污泥的稳定性控制 ..... 李志华,杨帆,李胜,谢磊,王晓昌(1907)

采用非生长能量代谢参数表征颗粒污泥稳定性 ..... 李志华,吴军,李胜,谢磊,王晓昌(1913)

酸-碱预处理促进剩余污泥厌氧消化的研究 ..... 袁光环,周兴求,伍健东(1918)

小回流比条件下污泥浓度分区试验研究 ..... 史思,王素兰,李瑞,邢传宏(1923)

非离子表面活性剂对污泥调理脱水效果的影响 ..... 侯海攀,濮文虹,时亚飞,于文华,樊明明,刘欢,杨昌柱,李野,杨家宽(1930)

中国空气污染指数变化特征及影响因素分析 ..... 李小飞,张明军,王圣杰,赵爱芳,马潜(1936)

南京 3 类不同大气污染过程下气溶胶水溶性无机离子的特征研究 ..... 张秋晨,朱彬,苏继峰,王红磊(1944)

深圳市郊区大气中 PM<sub>2.5</sub> 的特征分析 ..... 戴伟,高佳琪,曹罡,欧阳峰(1952)

餐饮业油烟的颗粒物分析 ..... 谭德生,邝元成,刘欣,戴飞鸿(1958)

Fe-MnO<sub>x</sub>-CeO<sub>2</sub>/ZrO<sub>2</sub> 低温催化还原 NO 性能研究 ..... 刘荣,杨志琴(1964)

自然型氨基酸及其钾盐的 CO<sub>2</sub> 吸收和再生特性 ..... 晏水平,陈竞翔,徐明亮,艾平,张衍林(1971)

耕作方式对紫色水稻土农田生态系统 CH<sub>4</sub> 和 N<sub>2</sub>O 排放的影响 ..... 张军科,江长胜,郝庆菊,唐其文,程炳红,李辉,陈璐豪(1979)

垄作覆膜条件下田间氨挥发及影响因素 ..... 上官宇先,师日鹏,李娜,韩坤,李会科,王林权(1987)

添加不同 N 源条件下典型除草剂对土壤呼吸和 N<sub>2</sub>O 排放的影响 ..... 孙青,史淳星,石坤,言儒斌,蒋静艳,吴以中(1994)

某石墨阳极法氯碱生产场地二噁英污染特征分析 ..... 余立凤,魏文侠,田亚静,吴广龙,李培中,赵丹(2000)

脱硫石膏对酸化森林土壤短期修复效果的研究 ..... 罗遥,康荣华,余德祥,谭炳全,段雷(2006)

岩溶山地土壤氧化铁形态及其与成土环境的关系 ..... 张治伟,朱章雄,傅瓦利,文志林(2013)

废弃尾矿库 15 种植物对重金属 Pb、Zn 的积累和养分吸收 ..... 施翔,陈益泰,王树凤,李江川(2021)

铬胁迫对 3 种草本植物生长及铬积累的影响 ..... 王爱云,黄姗姗,钟国锋,徐刚标,刘志祥,申响保(2028)

湘西花垣矿区主要植物种类及优势植物重金属蓄积特征 ..... 杨胜香,田启建,梁士楚,周耀渝,邹慧成(2038)

增施 CO<sub>2</sub> 对 C3 和 C4 植物根际氯氰菊酯残留浓度的影响 ..... 慕楠,刁晓君,王曙光,王鹏腾,李攀峰(2046)

生物强化去除吡啶的特性及微生物种群动态变化分析 ..... 乔琳,赵宏,王建龙(2052)

A/O MBR 处理生活污水效率与菌群多样性的关系 ..... 邝斌宇,史青, Montcho Leon Monthero,丁嫄,温东辉(2061)

石油污染土壤生物修复过程中氮循环功能基因的动态检测 ..... 吴彬彬,卢滇楠,刘铮(2068)

武汉市儿童多途径铅暴露风险评估 ..... 郝汉舟,陈同斌,吴基良,雷梅,田辉,祖文普,钟学斌(2075)

电子鼻预处理装置的开发及适用性研究 ..... 卜凡阳,文晓刚,万梅,刘锐,陈吕军,张永明(2083)

ToxTell 生物传感器在 Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup> 冲击活性污泥系统分析中的应用 ..... 王学江,王鑫,刘免,吴真,杨连珍,夏四清(2090)

环境样品免疫检测基质效应分析与控制 ..... 盛建武,何苗,施汉昌(2095)

热等离子体熔融固化模拟医疗废物的研究 ..... 张璐,严建华,杜长明,陆胜勇,李晓东(2104)

城市生活垃圾组分低温干燥特性及模型研究 ..... 吴亚娟,刘红梅,陆胜勇,严建华,李晓东(2110)

厌氧-准好氧联合型生物反应器填埋场产气规律的研究 ..... 韩智勇,刘丹,李启彬(2118)

处理垃圾渗滤液的 Fe/C 空气阴极 MFC 性能研究 ..... 唐玉兰,彭漫,于燕,何亚婷,傅金祥,赵玉华(2125)

基于冗余分析的典型喀斯特山区土壤-石漠化关系研究 ..... 龙健,廖洪凯,李娟,陈彩云(2131)

北京市能源消费与经济增长关系的协整检验分析 ..... 陈操操,张妍,刘春兰,王海华,李铮(2139)

《环境科学》征稿简则(1877) 《环境科学》征订启事(1890) 信息(1822,1857,1896,2138)

# 环境样品免疫检测基质效应分析与控制

盛建武<sup>1,2</sup>, 何苗<sup>1\*</sup>, 施汉昌<sup>1,2</sup>

(1. 清华大学环境学院, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084; 2. 浙江清华长三角研究院生态环境研究所, 嘉兴 314006)

**摘要:** 免疫检测技术以其特异性强、灵敏度高、分析容量大、反应速度快、检测费用低廉等优点, 逐渐成为环境样品大规模快速筛查和预警监测的首选技术。由于免疫检测无需样品预处理、能实现对样品的在线检测, 因此环境样品中复杂的基质可能对免疫检测产生非常大的干扰和影响。以水环境中微囊藻毒素-LR 的酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测为基础, 系统地考察了环境样品中各种背景基质对 ELISA 检测的影响, 评价了各个基质的影响规律和程度, 并研究提出了相应的控制和消除各不利影响的方法, 最后统一提出水环境样品免疫检测抗基质效应干扰的控制方案, 即采用 10 × PBS + 1% BSA + 0.5% EDTA 作为免疫检测反应的缓冲体系, 能有效消除各基质效应对免疫检测的干扰。该方案同样适用于其它不需要对环境样品进行预处理的免疫检测技术。

**关键词:** 环境样品; 免疫检测; 基质效应; 微囊藻毒素-LR; 控制方案

中图分类号: X830 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)06-2095-09

## Matrix Effect and Control of Immunoassay for Environmental Samples

SHENG Jian-wu<sup>1,2</sup>, HE Miao<sup>1</sup>, SHI Han-chang<sup>1,2</sup>

(1. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control (ESPC), School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. Department of Environmental Technology and Ecology, Yangtze Delta Region Institute of Tsinghua University, Jiading 314006, China)

**Abstract:** Immunoassay provides very specific, highly sensitive, rapid, and cost-effective analyses for a variety of environmental contaminants. Since the immunoassay detects the environmental samples without pre-treatment, the interferences caused by various matrixes of environmental samples are a major problem, which can greatly affect the detection results. In this paper, based on the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of Microcystin-LR (MC-LR), the effect of many kinds of matrixes on ELISA was systematically analyzed, and the corresponding method to control or eliminate the matrix effect was proposed. Finally, an integrated and packaged strategy-using the following buffer system as a diluent, i. e. 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH 7.4 PBS (10 × PBS) containing 1% BSA, 0.5% EDTA and 40 g·L<sup>-1</sup> sodium chloride-was given to control the overall matrix effects of environmental samples on ELISA detection. This strategy is also applicable to other kinds of immunoassays for environmental samples.

**Key words:** environmental sample; immunoassay; matrix effect; microcystin-LR; control strategy

免疫检测是基于抗原-抗体特异性反应的分析方法, 具有检测灵敏度高、特异性强、分析容量大、检测时间短、检测费用低廉等优点, 正逐渐成为环境检测中大量样品快速筛查和预警监测的优选技术<sup>[1-6]</sup>。免疫检测技术具有自身独特的技术优势, 能与常规的理化分析方法互补, 组成完整的环境样品检测和监测体系。并且, 随着计算机技术和传感器技术的发展, 运用免疫检测技术结合计算机和传感器技术, 开发和应用环境污染物的在线检测技术, 能为实现环境污染物的现场快速监测提供有效的技术手段。

采用免疫检测技术进行环境中污染物的分析时, 由于不需要对样品进行提取、浓缩等预处理手段, 而直接对水样进行测定, 所以, 环境污染物免疫检测技术应用所面临的关键问题是环境介质的复杂

性和由此引发的对检测结果的干扰。而目前, 针对环境样品免疫检测的研究中, 如何分析和评价环境样品中各基质效应对免疫检测的干扰, 并提出相应的控制或消除基质干扰的方法的报道很少。

1974 年 Allain 等<sup>[7]</sup>首次提出了基质效应, 基质 (matrix) 是指一种分析物 (analyte) 的环境 (milieu), 即指样品中除了目标分析物以外的一切成分及其物理、化学性质 (例如黏度、pH、温度等)。基质效应 (matrix effect) 在医学上按临床及实验室标准化组织 (The Clinical and Laboratory Standards Institute,

收稿日期: 2011-09-19; 修订日期: 2012-01-10

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2009AA06A417); 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2008ZX07313); 嘉兴市科技计划项目 (2009AZ1029)

作者简介: 盛建武 (1978 ~), 男, 博士, 主要研究方向为现代环境生物检测技术。

\* 通讯联系人, E-mail: hemiao@tsinghua.edu.cn

CLSI)的定义是指:①样品中除分析物以外的其他成份对分析物测定值的影响;②基质对分析方法准确测定分析物的能力的干扰<sup>[8]</sup>.对不同于标准品的实际样本进行测定时,由于其具有不同的物理、化学特性,就会使测定结果产生偏差<sup>[9]</sup>;另外,标准品试剂成分、分析仪的性能等也直接关系到基质效应的大小<sup>[10]</sup>.

在免疫检测中,基质效应主要是评价抗体以及酶标记物(包括酶标抗原和酶标抗体)在检测操作过程中受到来自样品和环境基质的影响和干扰情况分析.本研究结合不同类型实际水样的水质特点,将水样中有代表性的基质进行分类,以水中微囊藻毒素-LR的酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测为基础<sup>[11-14]</sup>,综合分析各类基质对ELISA检测的影响规律及机制,并相应提出了控制或消除基质干扰的方法.

为了实现对水样进行直接的免疫检测,减少或省略预处理步骤,有必要考察水中的各种基质对免疫检测的影响并提出减小或消除不利影响的方法,以保证检测的准确性和科学性.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

氯化钠、盐酸、氢氧化钠、腐殖酸、氯化钙、氯化镁、硫酸铜、Tween-20、甲醇、甲苯、氯苯及叶枯唑均为分析纯,购自北京化学试剂公司;叶绿素a(Fluka 44014,分离自*Cyanobacteria* sp.,纯度 $\geq 96.0\%$ ).微囊藻毒素-LR(Microcystin-LR, MC-LR)1mg标准品购自Alexis公司(Lausen, Switzerland),产品编号ALX-350-012;包被抗原由本小组采用卵清蛋白(Oval albumin)与MC-LR偶联而成的MC-LR-OVA;抗体采用本课题组获得的抗MC-LR单克隆抗体MC8C10.

竞争ELISA所用到的试剂为:①包被液:0.05 mol·L<sup>-1</sup> pH = 9.6 碳酸盐缓冲液(carbonate buffer saline, CBS),4℃保存;②稀释液:0.01 mol·L<sup>-1</sup> pH = 7.4 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS),4℃保存;③洗涤液:1 000 mL 稀释液加0.5 mL Tween-20(phosphate buffer saline tween-20, PBST);④封闭液:0.2% 鸡卵清蛋白(2 mg·mL<sup>-1</sup>),溶剂0.01 mol·L<sup>-1</sup> pH = 7.4 PBS;⑤酶标二抗溶液:辣根过氧化物酶羊抗鼠IgG,工作稀释度1:10 000,稀释溶剂为0.01 mol·L<sup>-1</sup> pH = 7.4 PBS;⑥底物缓冲液:pH 5.0 柠檬酸-磷酸盐缓冲液(citrate-phosphate

buffer saline, CPBS);⑦底物溶液:3',3',5',5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TMB);用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)或二甲基甲酰胺(dimethyl formamide, DMF)配成1%浓度,4℃保存.使用时9.8 mL pH = 5.0 柠檬酸-磷酸盐缓冲液中加入0.2 mL TMB溶液(2 mg),再加入20 μL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,摇匀;⑧终止液:2 mol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 1.2 环境样品代表性基质的选取

本研究选取的可能影响抗体性质或影响抗原抗体反应的代表性基质包括以下5类:①水中的环境条件干扰因素:pH值、硬度、无机盐浓度等;②水体综合污染指标:这里选取生活污水作为干扰基质;③富营养化水体中普遍存在的物质:腐殖酸、叶绿素a;④水中可能存在的有毒污染物:选取甲苯和氯苯作为有机干扰基质、选取2,4-D和叶枯唑作为农药类干扰基质、选取铜离子作为重金属干扰基质;⑤样品提取或浓缩过程、以及ELISA检测过程可能引入的有机溶剂:如甲醇、乙酸、表面活性剂等.

### 1.3 微囊藻毒素-LR ELISA 检测基本程序

具体步骤如下.

包被:以一定浓度的包被抗原(用包被液稀释)包被酶标板,每孔100 μL,4℃过夜.

洗涤:取出酶标板,弃去包被液,甩干后置于洗板中进行洗涤.程序设置为加洗涤液后静置1 min,重复洗涤3次.洗后拍干.

封闭:用0.1% BSA(用包被液进行稀释)的封闭液进行封闭,每孔120 μL,37℃作用1 h后从培养箱湿盒中取出,洗涤3次,拍干.

竞争:将MC-LR标准品用高纯水配制成包换一定范围并具有浓度梯度的标准溶液,本文采用0.3倍梯度稀释(单位:μg·L<sup>-1</sup>):1 000、300、90、27、8.1、2.43、0.729、0.219、0.065 6、0.020、0.006、0共12个点,依次加入酶标板上的1号至12号孔中,每孔50 μL;同时加入用PBS配制好的MC8C10单抗溶液,每孔50 μL,放入37℃培养箱中温育1 h后洗涤3次,拍干.

加二抗:酶标二抗采用HRP标记的羊抗鼠IgG,采用PBS稀释,每孔加入100 μL,37℃温育1 h,洗涤4次,拍干.

显色:加入新配制的底物液(TMB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),每孔100 μL,室温下反应10~15 min.

终止:向每孔中加入50 μL 2 mol·L<sup>-1</sup>的硫酸溶液.

测定:用酶标仪测定其在450 nm的吸光度A.

#### 1.4 ELISA 标准曲线的分析和评价

采用五参数 Logistic 模型来对竞争 ELISA 标准曲线进行拟合和分析, 方程如下:

$$A = A_2 + \frac{A_1 - A_2}{\left(1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^p\right)^m}$$

式中,  $x$ : 未标记抗原浓度(质量浓度或物质的量浓度), 自变量;  $A$ :  $x$  对应的吸光值, 因变量;  $A_1$ : 上端渐近线( $x=0$ ), 常数;  $A_2$ : 下端渐近线( $x \rightarrow \infty$ ), 常数;  $p$ : 与曲线的斜率有关, 常数;  $x_0$ : 曲线的中点, 或称拐点, 常数;  $m$ : 非对称性参数, 常数。

对参数的进一步阐述如下: 以直接竞争 ELISA 为例,  $A$  与固定抗体结合的酶标抗原的量直接相关, 结合物的量也可以用  $B$  (bound) 表示; 当竞争抗原(未标记抗原)浓度为 0 时, 抗体与酶标抗原有最大的结合量, 可用  $B_0$  表示, 此时溶液的吸光值最大( $A_1$ ); 当竞争抗原(未标记抗原)浓度趋向于无穷大时, 理论上固定的抗体结合不到酶标抗原, 因而吸光值  $A_2$  的理论值应该为 0, 但由于非特异性吸附的存在, 使得  $A_2 > 0$ ,  $A_2$  也可用非特异性吸附 NSB (nonspecific binding) 表示。

半抑制浓度  $IC_{50}$  (50% Inhibition concentration) 是竞争 ELISA 一个很重要的评价指标, 在直接竞争 ELISA 中, 其定义为未标记抗原竞争性地抑制 50% 酶标抗原时的浓度, 本研究的 Logistic 模型中, 参数  $x_0$  即为竞争 ELISA 的半抑制浓度  $IC_{50}$ 。

#### 1.5 各种基质对 ELISA 的影响规律研究

本研究各基质在不同浓度条件下对 MC-LR 间接竞争 ELISA 检测的影响规律。即比较干扰基质不同浓度条件下 ELISA 标准曲线的变化, 观察标准曲线受不同浓度基质影响变化的趋势和程度, 通过对比, 定性描述各包括标准曲线的高低、旋转及偏移等在内的影响规律。

基于修正的 Logistic 模型, 对标准曲线进行拟合和分析, 定量分析在各类基质干扰条件下的 ELISA 的最大吸光度  $A_1$ 、半抑制浓度  $IC_{50}$  值及非特异性吸附 NSB 等变化规律, 并进行机制探讨。

例如, pH 值可能影响抗原和抗体的分子结构, 同时抗原抗体之间的氢键结合力以及离子化抗体配位受体受 pH 值影响较大, 因此研究 pH 对免疫检测的影响很有必要, 试验步骤为: ①配制浓度为  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  并具有不同 pH 值的缓冲溶液: 3、4、5、6、7、8、9、10 共 8 个梯度, 利用 pH 计校正; ②MC-LR 的贮备液浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 分别配制不同 pH 值

条件下的 MC-LR 标准溶液梯度如下 ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ): 0、0.006、0.02、0.065 6、0.22、0.729、2.43、8.1、27、90、300、1 000; ③单克隆抗体 MC8C10 的稀释采用  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaCl 溶液, 稀释度 1:6 000。这里只考虑 pH 值的影响, 所以未选用缓冲液稀释抗体; ④每个 pH 采用 2 个平行, 测定不同 pH 条件下 MC-LR 间接竞争 ELISA 标准曲线。

#### 1.6 各种基质对 ELISA 干扰的控制和消除研究

研究通过配制相应的缓冲溶液用作抗体稀释液, 并在抗体稀释液中添加不同的抗干扰物质来减小或消除这些不利的干扰因素。并重新进行标准曲线的测定, 同时评价对不利干扰因素的抑制效果。本研究还对额外添加的抗干扰物质进行了系统地分析, 评价这些抗干扰物质本身对 ELISA 的影响。在系统考虑各基质的影响规律及消除方法的基础上, 提出各类水样抗基质干扰综合解决方案。

例如, 上述不同 pH 值对 ELISA 的影响规律研究中, 当 pH 值过高或过低时, 会对 ELISA 产生较大影响, 此时拟采用  $10 \times \text{PBS}$  缓冲液(其中含有 NaCl 浓度为  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对抗体进行稀释, 稀释度为 1:6 000, 重复上述试验, 重新分析和评价再次获得各标准曲线, 以确定优化的缓冲溶液对酸碱度干扰的消除方法。

#### 1.7 实际水样的检测

采用经过优化的 ELISA 反应条件, 检测了不同类型的实际水样, 通过评价 ELISA 的变异系数和回收率来确认 ELISA 的可行性, 同时评价 ELISA 对样品中综合基质效应的抗干扰程度。

样品 1~样品 5 来自北京市某些富营养化水体, 采集后立即进行营养类型和水质类型分析。其中富营养化状况评价方法采用综合营养状态指数法<sup>[15]</sup>, 评价指标包括叶绿素 a (Chl-a)、总磷(TP)、总氮(TN)、透明度(SD)、高锰酸盐指数。地表水水质分类评价采用《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002) 进行评价, 评价方法采用单项指数超标法, 即在所有参加评价的项目中, 只要有一项(或数项)不符合某类水质标准, 则以该水质不符合该类标准为结论的方法。

同时测定原水以及添加了 MC-LR 标准品梯度的水样, 采用梯度添加 MC-LR 标准品, 控制添加 MC-LR 的最终浓度分别为 0.5、1.0、2.0 及  $5.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  共 4 个梯度, 每个水样平行测定 5 次, 采用间接竞争 ELISA 测定, 并计算回收率。为了减少样品的基质效应, 抗体稀释液采用  $10 \times \text{PBS} + 1\% \text{ BSA} + 0.5\% \text{ EDTA}$ 。

回收率的计算方法如下:每个样品平行测定 5 次,计算吸光度的平均值,样品添加浓度(最终浓度)用  $X$  表示,未添加标准品的样品测定平均值为  $x_1$ ,添加了标准品的样品测定平均值为  $x_2$ ,则回收率计算如下式.当原水样 ELISA 测定浓度超出本方法的检测限,即  $< 0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,视为未检出,此时均按照  $x_1 = 0$  计算回收率.

$$\text{回收率}(\%) = \frac{x_2 - x_1}{X} \times 100\%$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 值对 ELISA 的影响和控制

不同 pH 值条件下 ELISA 检测 MC-LR 的标准曲线如图 1 所示,进一步计算各标准曲线的最大吸光度  $A_0$  和  $IC_{50}$  的结果对比如图 2 所示.由图可以看出,pH 值对  $IC_{50}$  的值影响比较大,只有当 pH 值在 7~8 之间时, $IC_{50}$  值最小,随着酸度或碱度的增加, $IC_{50}$  都会增加,直接导致免疫检测的灵敏度下降.而 pH 值对吸光度的影响并不明显.分析表明,pH 值接近中性或动物体液环境时(pH 7.3~7.4),最利于抗原抗体的结合反应,因而是免疫检测最佳的反应条件.

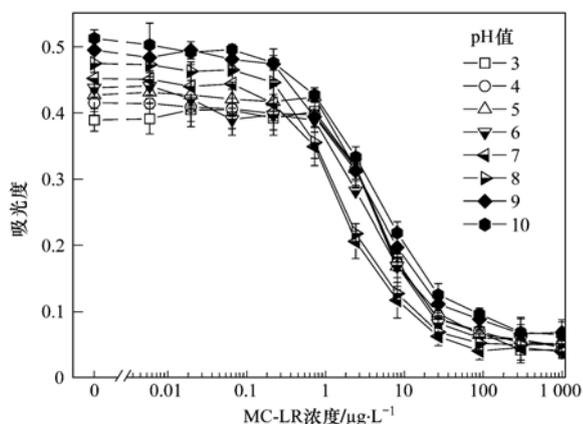


图 1 不同 pH 值下 ELISA 标准曲线(反应体系不含缓冲液)  
Fig. 1 ELISA standard curves at different pH (buffer-free system)

为了消除 pH 值对抗原抗体反应的影响,本研究采用  $10 \times \text{PBS}$  缓冲液,加大对酸碱度的缓冲能力.添加  $10 \times \text{PBS}$  缓冲液的各标准曲线如图 3 所示,结果表明,各标准曲线一致性良好,最大吸光度  $A_0$  和  $IC_{50}$  值都没有明显变化(图略),说明样品溶液 pH 值为 3~10 时,其对 ELISA 的影响可以很好地消除.

### 2.2 离子强度对 ELISA 的影响

本研究中的离子强度采用样品或缓冲液中的无机盐离子浓度进行描述,主要考察不同浓度的 NaCl

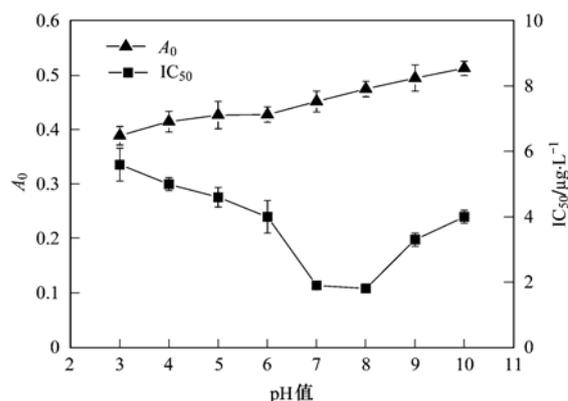


图 2 不同 pH 值下  $A_0$  和  $IC_{50}$  值的变化(反应体系不含缓冲液)  
Fig. 2 Variations in the  $A_0$  and  $IC_{50}$  values at different pH (buffer-free system)

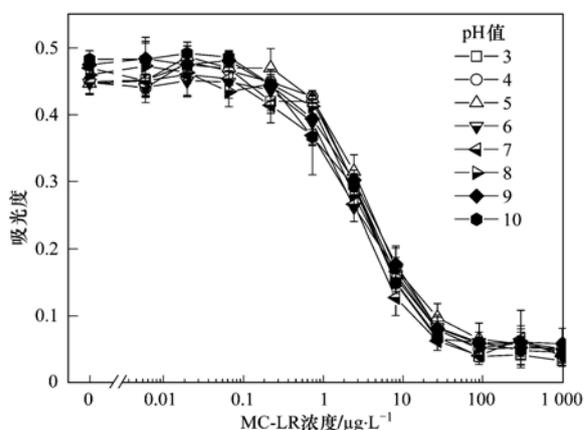


图 3 不同 pH 值下的 ELISA 标准曲线(抗体稀释液用  $10 \times \text{PBS}$ )  
Fig. 3 ELISA standard curves at different pH ( $10 \times \text{PBS}$  buffer as diluent for antibody)

溶液对 ELISA 检测的影响. NaCl 溶液的配制梯度如下( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ):0、5、10、20、40、80、160、320 共 8 个梯度,不同 NaCl 浓度下的标准曲线如图 4 所示,各标准曲线的  $A_0$  值和  $IC_{50}$  值的比较如图 5 所示.

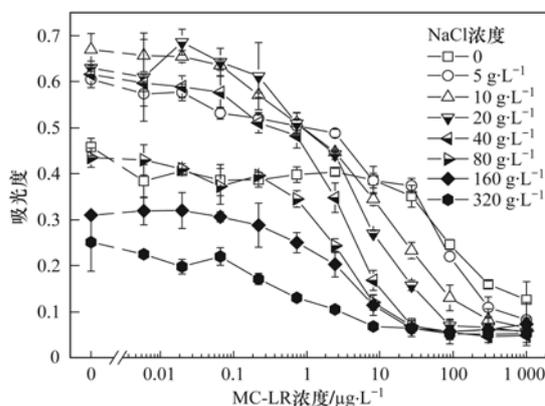


图 4 不同 NaCl 浓度下 ELISA 标准曲线  
Fig. 4 ELISA standard curves under different NaCl concentrations

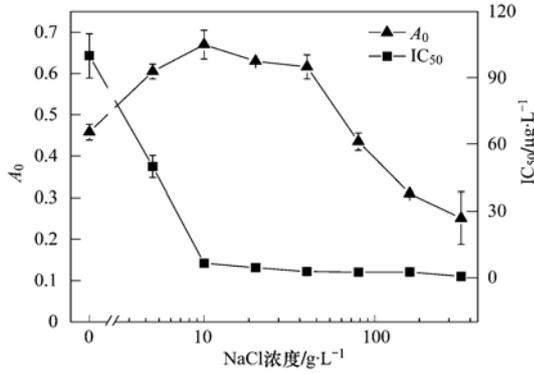


图5 不同 NaCl 浓度下  $A_0$  和  $IC_{50}$  值的变化  
 Fig. 5 Variations in  $A_0$  and  $IC_{50}$  values under different NaCl concentrations

可以看出,不同 NaCl 浓度对标准曲线的影响较大. 进一步分析各标准曲线的  $A_0$  值和  $IC_{50}$  值可以看出,当 NaCl 浓度低于  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,曲线的吸光度偏低,并且  $IC_{50}$  值非常高,严重影响 ELISA 检测的灵敏度. 当 NaCl 浓度高于  $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时, $IC_{50}$  值明显地稳定在一个较低的水平; 但当 NaCl 浓度高于  $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,吸光度下降的趋势明显.

分析表明,适当增加离子强度,可以降低抗体的非特异性吸附,因而可以提高检测的灵敏度; 但是如果离子强度过高,抗原抗体的结合反应可能也受到影响,检测的吸光度会急剧下降,吸光度从 0.65 下降到 0.3.

实际水样中离子浓度不高的情况下(一般海水的盐度约为 3.5%), 因此,建议在测定实际水样时,抗体的缓冲溶液中增加一定的离子强度,本研究以 NaCl 为对象,添加 NaCl 最终浓度在  $10 \sim 40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  范围内,ELISA 都能取得很好的效果.

**2.3 重金属离子和硬度对 ELISA 的影响和控制**

不同浓度的硫酸铜溶液条件下 ELISA 标准曲线如图 6 所示,进一步对各标准曲线的空白样品吸光度(最大吸光度,  $A_0$ ) 及半抑制浓度  $IC_{50}$  进行分析和比较(图略), 结果表明,随着铜离子浓度的升高,非特异性吸附增加,尤其当  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  浓度为  $5000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,标准曲线的各点吸光度显著的增加,且梯度不明显,不能进行拟合和分析. 而试验观察表明,对于高浓度的硫酸铜溶液,加入单克隆抗体 MC8C10 后,反应体系立即变蓝,并出现混浊,伴有蓝色沉淀产生. 分析原因表明,重金属离子例如铜离子在水环境中的环境行为表现出价态变化多、配位能力强、生物毒性效应明显等特点,其生物毒性效应可能抑制抗体的活性,而其配位能力强说明可以与

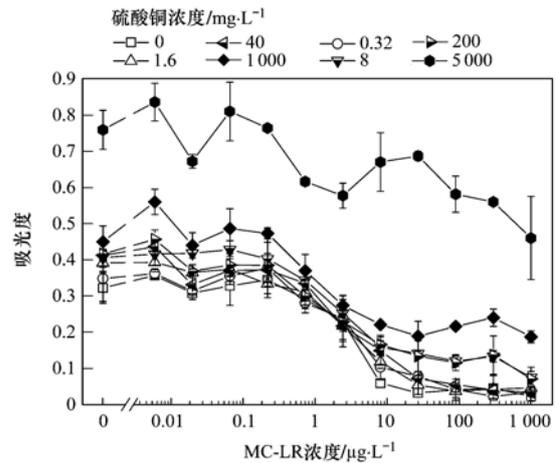


图6 不同  $\text{CuSO}_4$  浓度下 ELISA 标准曲线(反应体系不含 EDTA)  
 Fig. 6 ELISA standard curves under different  $\text{CuSO}_4$  concentrations (EDTA-free system)

抗体等溶解性的蛋白质发生配位结合,当铜离子浓度过大时,甚至可以与抗体发生共沉淀,这样不但影响抗体的活性,还会使酶标板上非特异性吸附的抗体增多(沉淀),因此会严重影响免疫检测的效果.

为了降低样品中铜离子带来的影响,本文在抗体的稀释液中添加了 0.5% 的螯合剂 EDTA,再重复上述试验,获得的标准曲线如图 7 所示. 结果表明,当硫酸铜浓度  $\leq 1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,其对免疫检测的影响明显地受到抑制,各标准曲线的一致性良好; 进一步对各标准曲线的空白样品吸光度(最大吸光度,  $A_0$ ) 及半抑制浓度  $IC_{50}$  进行分析和比较(图略), 表明二者都没有明显的变化. 但是,当样品中的硫酸铜浓度为  $5000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,由于其浓度过高,上述措施不能充分抑制其对免疫反应的影响. 所以在本研究条件下,硫酸铜适用的边界条件为  $0 \sim 1000$

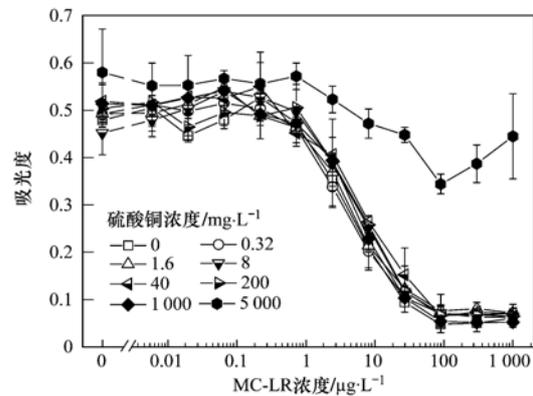


图7 不同  $\text{CuSO}_4$  浓度下 ELISA 标准曲线  
 (抗体稀释液含 0.5% EDTA)

Fig. 7 ELISA standard curves under different  $\text{CuSO}_4$  concentrations (0.5% EDTA in antibody diluent)

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 除藻剂中硫酸铜的使用浓度一般为  $0.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 试验结果表明, 该浓度不会对 ELISA 检测构成明显的影响.

EDTA 是螯合剂的代表性物质, 具有广泛的配位性能, 几乎能与所有的金属离子形成稳定的螯合物, 因而能够抑制重金属离子和钙镁离子对免疫检测的影响.

#### 2.4 腐殖酸对 ELISA 的影响和消除

腐殖酸是环境中分布最为广泛的天然有机物质, 不同浓度的腐殖酸溶液条件下 ELISA 标准曲线如图 8 所示, 各标准曲线的空白样品吸光度(最大吸光度,  $A_0$ )及半抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  的比较如图 9 所示. 试验结果表明, HA 浓度  $>1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 便明显地影响间接竞争 ELISA 反应, 致使反应没有梯度产生. 腐殖酸的溶解度随着 pH 升高而增加, 试验观察发现, 腐殖酸溶解度在纯水中较难溶解, 当配制浓度为  $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 仍然可见沉淀. 当有沉淀存在时, 可能因为没有溶解的腐殖酸能吸附微囊藻毒素或者抗体, 并一起吸附到酶标板上, 导致免疫反应失败. 当腐殖酸浓度  $\geq 27\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 会较大程度上影响间接竞争 ELISA 的抗原抗体结合反应, 标准曲线部分变形, 重复性降低, 标准偏差增大, 曲线变得不可预测, 也无法拟合, 因而无法进行定量计算. 另外, 随着腐殖酸浓度的升高, 空白样品的吸光度( $A_0$ )下降, 而非特异性吸附并没有明显的提高;  $\text{IC}_{50}$  值也不断增加.

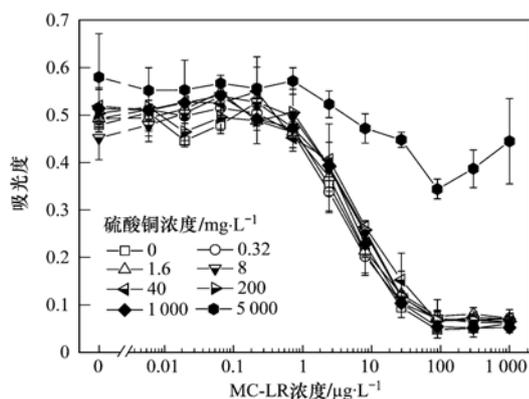


图 8 不同腐殖酸浓度下 ELISA 标准曲线(反应体系不含 BSA)

Fig. 8 ELISA standard curves under different humic acid concentrations (BSA-free system)

腐殖酸的影响不仅是其酸性带来的影响, 结果表明, 即使采用  $10\times\text{PBS}$  也未能彻底消除其酸度的影响, 可见腐殖酸还有其它的影响途径. 进一步分析得出, 腐殖酸分子量由数千到数万, 分子结构非常复杂, 属于大分子聚合物. 其分子上存在很多不同直径的空间或洞穴, 这些空隙中可以容纳吸收有机污染

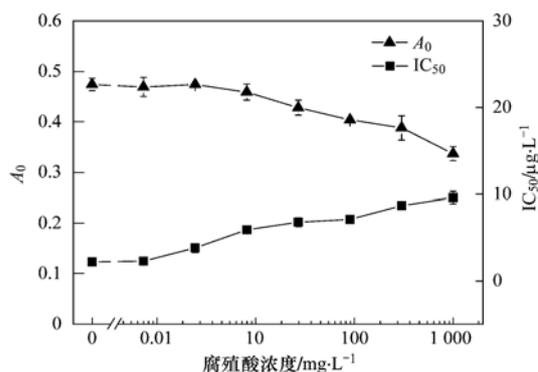


图 9 不同腐殖酸浓度下  $A_0$  和  $\text{IC}_{50}$  值的变化

(反应体系不含 BSA)

Fig. 9 Variations in  $A_0$  and  $\text{IC}_{50}$  values under different humic acid concentrations (BSA-free system)

物和重金属离子等. 有可能 MC-LR 分子被其吸附, 而无法与抗体结合, 即竞争性的有利半抗原浓度降低, 会导致 ELISA 吸光度下降和半抑制浓度的升高.

为了消除腐殖酸带来的影响, 本研究采用 1% BSA (用  $10\times\text{PBS}$  稀释) 来稀释抗体, 并进行间接竞争 ELISA 试验, 结果如图 10 及图 11 所示. 结果表明, BSA 能有效地抑制腐殖酸带来的影响. 但当腐殖酸浓度为  $1000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $\text{IC}_{50}$  略有上升, 达到了  $6.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . 研究得出, 对于腐殖质适用的边界条件为  $0\sim 300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

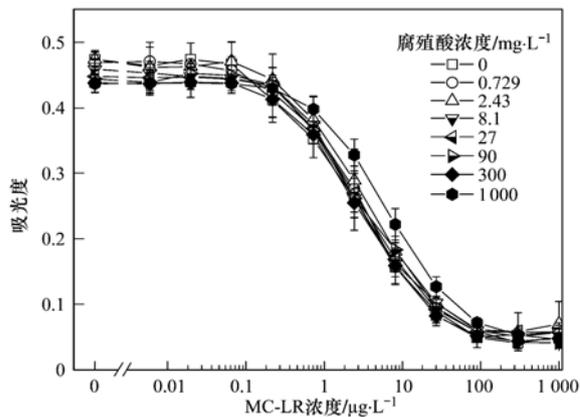


图 10 不同腐殖酸浓度下 ELISA 标准曲线

(抗体稀释液含 1% BSA)

Fig. 10 ELISA standard curves under different humic acid concentrations (1% BSA in antibody diluent)

#### 2.5 有机溶剂对 ELISA 的影响和控制

甲醇(体积比)对 ELISA 的影响如图 12 所示, 各标准曲线的空白样品吸光度(最大吸光度,  $A_0$ )及半抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  的比较如图 13 所示.

由图可以看出, 甲醇对于免疫反应的影响是明

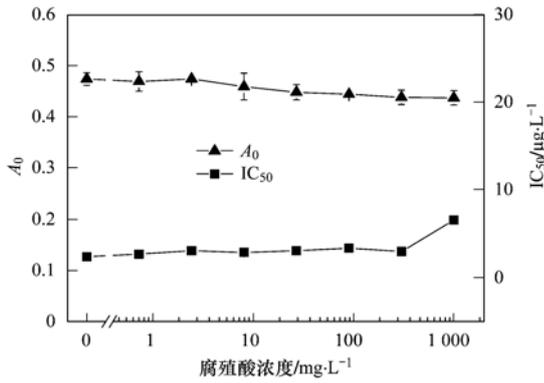


图 11 不同腐殖酸浓度下  $A_0$  和  $IC_{50}$  值的变化 (抗体稀释液含 1% BSA)

Fig. 11 Variations in  $A_0$  and  $IC_{50}$  values under different humic acid concentrations (1% BSA in antibody diluent)

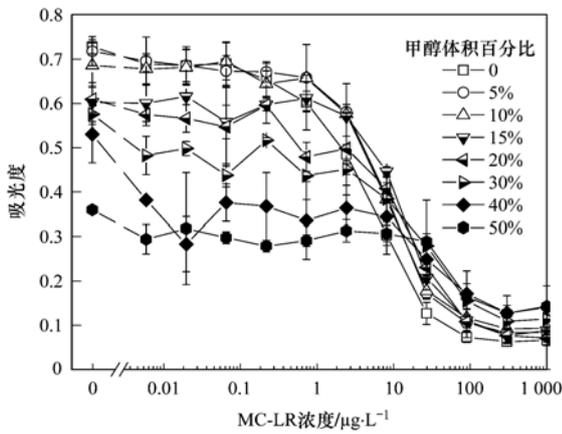


图 12 不同甲醇浓度下的 ELISA 标准曲线 (反应体系不含 BSA)

Fig. 12 ELISA standard curves under different methanol concentrations (BSA-free system)

显的. 随着甲醇浓度的提高, 最大吸光度下降,  $IC_{50}$  值降低, ELISA 的灵敏度降低. 当样品中甲醇的浓度超过 40% (体积比) 时, 曲线发生明显地变形,

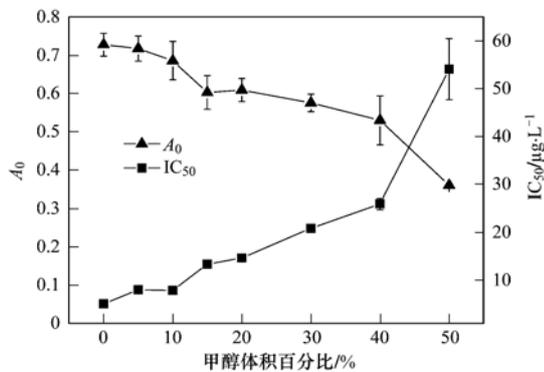


图 13 不同甲醇浓度下  $A_0$  和  $IC_{50}$  值的变化 (反应体系不含 BSA)

Fig. 13 Variations in  $A_0$  and  $IC_{50}$  values under different methanol concentrations (BSA-free system)

ELISA 被明显地干扰. 研究表明, 若不采取其它措施, 样品中甲醇的允许浓度最高为 15%.

有机溶剂主要来自于固体样品的提取过程, 有机溶剂可能破坏抗原-抗体之间的范德华键和疏水作用力, 使抗原-抗体复合物解离, 可大大降低检测的灵敏度.

为了降低样品中甲醇带来的影响, 本研究在抗体的稀释液中添加了 1% 的 BSA, 试验结果如图 14 及 15 所示. 结果表明, 此时甲醇对免疫检测的影响明显地受到抑制. 即使样品中的甲醇浓度为 50% 时, 尽管最大吸光度略有上升, 但  $IC_{50}$  值没有明显变化, 方法的灵敏度因而也没有很大变化. 综合分析, 甲醇的边界条件为体积百分比 0 ~ 20%.

BSA 等白蛋白常用作惰性稳定剂, 由于它们能降低溶液的极性, 造成疏水环境, 有利于抗体的稳

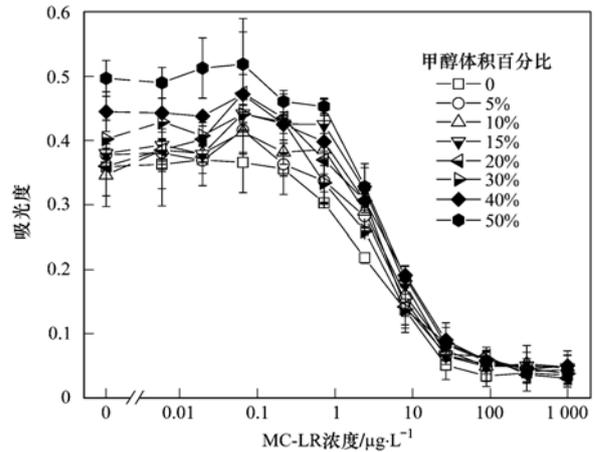


图 14 不同甲醇浓度下的 ELISA 标准曲线 (抗体稀释液含 1% BSA)

Fig. 14 ELISA standard curves under different methanol concentrations (1% BSA in antibody diluent)

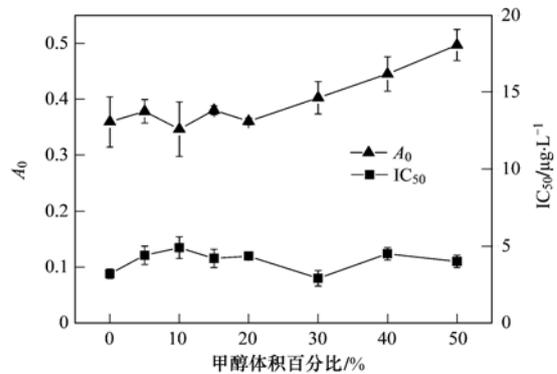


图 15 不同甲醇浓度下  $A_0$  和  $IC_{50}$  值的变化 (抗体稀释液含 1% BSA)

Fig. 15 Variations in  $A_0$  and  $IC_{50}$  values under different methanol concentrations (1% BSA in antibody diluent)

定,能明显提高 ELISA 的稳定性;另外,从另一个角度分析,由于有较高浓度的 BSA 存在,使得类似于有机溶剂等基质对溶液中抗体的干扰和破坏作用,大部分转移到对 BSA 的干扰和破坏上,因而大大减小了抗体所受到的干扰,所以也利于 ELISA 的稳定性.

## 2.6 其它基质对 ELISA 的影响和控制

本研究还考察不同浓度钙镁离子(硬度)对免疫检测的影响,结果表明,当钙镁离子浓度  $\geq 8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,会较大程度上影响间接竞争 ELISA 的抗原抗体结合反应,标准曲线部分变形,本底值升高,重复性降低,标准偏差增大,无法进行定量计算.采用上述含 0.5% EDTA 的缓冲液作为反应体系,来控制样品中硬度带来的影响,结果表明,当钙镁离子浓度  $\leq 20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,各标准曲线的一致性良好,最大吸光度和半抑制浓度都没有明显的变化.

表面活性剂采用 Tween-20 作为代表性物质,当样品中 Tween-20 的浓度超过 1% (体积比)时,吸光度有明显的下降,抗原抗体反应受到明显的影响.

综合污染指标(以生活污水作为原水,按不同稀释倍数配置水样,当水样中的 COD 浓度高于 200

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $A_0$  值有明显的下降,标准曲线的上平台也随之有大幅度下降,影响测定的准确度.

叶绿素 a 对免疫检测的影响不大,即使叶绿素 a 浓度达到了  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,标准曲线的形状仍然符合标准的反 S 型,并且各条标准曲线一致性良好,各标准曲线的最大吸光度和半抑制浓度都没有明显的变化.

甲苯和氯苯的浓度分别超过  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,免疫反应会受到明显的影响,即最大吸光度随着甲苯浓度的升高而降低,  $IC_{50}$  值随着甲苯浓度的升高而升高,最高可使  $IC_{50}$  值增加 1 倍.

当 2,4-D 浓度超过  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,或者叶枯唑浓度高于  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,  $IC_{50}$  值有缓慢增加的趋势,最大吸光度有降低的趋势,因而会影响检测结果的准确度.

## 2.7 实际水样检测结果

对于水样 1~5 采用间接竞争 ELISA 测定原水及添加 MC-LR 后的浓度,检测结果列于表 1. 结果表明,水样 1~5 检测结果的变异系数均小于 15%,精密度良好;平均回收率为  $(93.7 \pm 7.8)\%$ ,准确度良好.

表 1 水样 1~5 ELISA 测定结果

Table 1 Results of MC-LR detection in water sample No. 1-5

样品编号	添加浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	平均吸光度	标准偏差	变异系数 /%	结合率 /%	计算浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率 /%
1	0	0.445	0.016	3.6	98.0	0.01	—
	0.5	0.331	0.025	7.6	71.1	0.58	116
	1	0.294	0.012	4.1	62.4	0.95	95
	2	0.235	0.010	4.3	48.5	1.95	98
	5	0.156	0.014	9.0	29.9	5.33	107
2	0	0.453	0.009	2.0	99.9	0.00	—
	0.5	0.349	0.020	5.7	75.3	0.44	89
	1	0.297	0.015	5.1	63.0	0.92	92
	2	0.231	0.007	3.0	47.5	2.06	103
	5	0.166	0.012	7.2	32.3	4.63	93
3	0	0.449	0.015	3.3	98.9	0.01	—
	0.5	0.352	0.007	2.0	76.1	0.42	84
	1	0.298	0.017	5.7	63.3	0.91	91
	2	0.242	0.022	9.1	50.1	1.81	90
	5	0.174	0.035	14.4	34.2	4.16	83
4	0	0.444	0.023	5.2	97.8	0.02	—
	0.5	0.350	0.027	7.7	75.6	0.43	86
	1	0.294	0.026	8.8	62.3	0.96	96
	2	0.238	0.038	13.0	49.2	1.88	94
	5	0.167	0.066	9.6	32.4	4.60	92
5	0	0.439	0.023	5.2	96.6	0.03	—
	0.5	0.348	0.027	7.8	75.1	0.45	89
	1	0.294	0.026	8.8	62.3	0.96	96
	2	0.241	0.038	11.6	49.9	1.82	91
	5	0.169	0.066	11.8	33.0	4.45	89

### 3 结论

(1) 本研究系统分析了 pH 值、硬度、重金属离子、腐殖质、综合污染性质、有毒有机污染物、表面活性剂、有机溶剂等对建立的 ELISA 方法的影响规律, 并确定了建立的间接竞争 ELISA 检测水中 MC-LR 所适合的边界条件如下: pH 3 ~ 10; 硬度 0 ~ 20 mmol·L<sup>-1</sup>; 离子强度必须保持一定量的无机盐浓度, 如 NaCl 为 40 g·L<sup>-1</sup> 左右; 重金属离子以 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 作为研究对象, 浓度范围 0 ~ 1 000 mg·L<sup>-1</sup>; 腐殖酸 0 ~ 300 mg·L<sup>-1</sup>; 综合污染以 COD 为指标, 浓度范围 0 ~ 200 mg·L<sup>-1</sup>; 叶绿素 a 0 ~ 1 000 mg·L<sup>-1</sup>; 有毒有机污染物以甲苯和氯苯为例, 边界均为 0 ~ 1 mg·L<sup>-1</sup>; 农药 2,4-D 浓度范围 0 ~ 100 mg·L<sup>-1</sup>, 叶枯唑浓度范围 0 ~ 30 mg·L<sup>-1</sup>; 有机溶剂以甲醇为例, 体积百分比范围 0 ~ 20%; 表面活性剂以 Tween-20 作为研究对象, 体积百分比范围 0 ~ 0.54%。

(2) 本研究提出了采用 10 × PBS + 1% BSA + 0.5% EDTA 作为免疫检测反应的缓冲体系, 该解决方案能明显地消除上述基质在各自的边界范围内给 ELISA 带来的干扰, 使 ELISA 检测环境样品的稳定性增强; 进一步的实际水样检测结果表明, 变异系数均小于 15%, 平均回收率为 (93.7 ± 7.8)%, 精密度和准确度良好。

(3) 本研究提出的解决方案, 可以有效地减小或消除环境样品免疫检测样品基质的干扰, 使免疫检测技术能适应环境样品的特点, 并具有良好的稳定性和准确性, 从而应用到未经复杂预处理的实际环境样品的检测中, 体现免疫检测技术在环境快速检测上的优势。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Anderson G P, Lamar J D, Charles P T. Development of a luminex based competitive immunoassay for 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, **41** (8): 2888-2893.
- [ 2 ] Lima D L D, Silva C P, Schneider R J, *et al.* Development of an ELISA procedure to study sorption of atrazine onto a sewage sludge-amended luvisol soil [J]. *Talanta*, 2011, **85** (3): 1494-1499.
- [ 3 ] Wang J P, Yu G C, Sheng W, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay based a monoclonal antibody for the detection of pyrethroids with phenoxybenzene multiresidue in river water [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, **59** (7): 2997-3003.
- [ 4 ] Ahn K C, Kim H J, McCoy M R, *et al.* Immunoassays and biosensors for monitoring environmental and human exposure to pyrethroid insecticides [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, **59** (7): 2792-2802.
- [ 5 ] Castro-Jiménez J, Gonzalez C. Immunoassay-based screening of polychlorinated biphenyls (PCB) in sediments: requirements for a new generation of test kits [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, **13** (4): 894-900.
- [ 6 ] Xu Z L, Deng H, Deng X F, *et al.* Monitoring of organophosphorus pesticides in vegetables using monoclonal antibody-based direct competitive ELISA followed by HPLC-MS/MS [J]. *Food Chemistry*, 2012, **131** (4): 1569-1576.
- [ 7 ] Allain C C, Poon L S, Chan C S G, *et al.* Enzymatic determination of total serum cholesterol [J]. *Clinical Chemistry*, 1974, **20** (4): 470-475.
- [ 8 ] CLSI. Evaluation of matrix effects [M]; Approved guideline-Second Edition, CLSI document EP14-A2. CLSI, Wayne, PA, USA, 2005.
- [ 9 ] Long T. Statistical power in the detection of matrix effects [J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 1993, **117** (4): 387-392.
- [ 10 ] Eckfeldt J H, Copeland K R. Accuracy verification and identification of matrix effects [J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 1993, **117** (4): 381-386.
- [ 11 ] 盛建武, 何苗, 宋保栋, 等. 微囊藻毒素-LR 完全抗原的设计及制备 [J]. *环境科学*, 2005, **26** (3): 33-37.
- [ 12 ] 盛建武, 何苗, 施汉昌, 等. 微囊藻毒素-LR 多克隆抗体的制备 [J]. *环境科学*, 2006, **27** (4): 188-191.
- [ 13 ] 盛建武, 何苗, 余少青, 等. 水体中微囊藻毒素-LR 的间接竞争 ELISA 检测 [J]. *环境科学*, 2006, **27** (6): 1166-1170.
- [ 14 ] Sheng J W, He M, Shi H C, *et al.* A comprehensive immunoassay for the detection of microcystins in waters based on polyclonal antibodies [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, **572** (2): 309-315.
- [ 15 ] 中国环境监测总站. 湖泊(水库)富营养化评价方法及分级技术规定[S]. (总站生字(2001)090号), 2001.

## CONTENTS

Regional Heterogeneity of Lake Eutrophication Effects in China .....	CAO Jin-ling, XU Qi-gong, XI Bei-dou, <i>et al.</i> (1777)
Correlating Landscape Pattern with Total Nitrogen Concentration Using a Location-weighted Sink-source Landscape Index in the Haihe River Basin, China .....	SUN Ran-hao, CHEN Li-ding, WANG Wei, <i>et al.</i> (1784)
Impact of the Land-use Change on the Non-point Source Nitrogen Load in Yunneng Lake Watershed .....	MENG Xiao-yun, YU Xing-xiu, PAN Xue-qin (1789)
Residue Characteristics and Distributions of Perfluorinated Compounds in Surface Seawater Along Shenzhen Coastline .....	CHEN Qing-wu, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, <i>et al.</i> (1795)
Distribution and Potential Ecological Risk of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediments from Typical Electronics Industrial Zone .....	DENG Dai-yong, QIU Meng-de, SUN Guo-ping, <i>et al.</i> (1801)
Residues and Potential Ecological Risk Assessment of Metal in Sediments from Lower Reaches and Estuary of Pearl River .....	XIE Wen-ping, WANG Shao-bing, ZHU Xin-ping, <i>et al.</i> (1808)
Character and Sources Identification of Heavy Metals Contamination in Sediment from the Core Sediment in Nanshan Lake, the Zhalong Wetland .....	SU Dan, ZANG Shu-ying, YE Hua-xiang, <i>et al.</i> (1816)
Distribution Characteristics of Phosphorus Forms in Surface Sediments of the Shantou Bay in China .....	ZHAO Jian-gang, QIAO Yong-min (1823)
Microcosm Experiments on the Influence of Different N/P Ratios on Phytoplankton Community Growth in the East China Sea .....	HUANG Wei, ZHU Xu-yu, ZENG Jiang-ning, <i>et al.</i> (1832)
Species Composition and Distribution Characteristics of Pelagic Copepods in the Northern Sea of Fujian During Withdraw of Zhe-Min Coastal Current .....	WANG Yan-guo, LIN Jing-hong, WANG Chun-guang, <i>et al.</i> (1839)
PAHs Concentrations in Aquatic Products and Food Safety Evaluation in the Coupled Mangrove Planting-Aquaculture Ecological System .....	CHEN Guan-qiu, LI Yao-chu, HUANG Jin-mu, <i>et al.</i> (1846)
Tissue Distribution and Bioconcentration Factors of Tetrabromobisphenol A in Five Fishes in Lake Chaohu .....	YANG Su-wen, WANG Sheng-rui, YAN Zhen-guang, <i>et al.</i> (1852)
Induction Effects of Pentachlorophenol on Vitellogenin and p53 in Chinese Rare Minnow ( <i>Gobiocypris rarus</i> ) .....	XIONG Li, MA Yong-peng, ZHANG Xiao-zheng, <i>et al.</i> (1858)
Effects of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) Exposure on Vitellogenin mRNA Level in Zebrafish ( <i>Brachydanio rerio</i> ) .....	CHENG Yan, CUI Yuan, DANG Zhi-chao, <i>et al.</i> (1865)
Relationship Between Electron Transfer Capacity and Fluorescence Characteristics of Dissolved Organic Matter .....	TAO Ya, YUAN Tian, ZHOU Shun-gui, <i>et al.</i> (1871)
Characterization of the Change in DOM During Municipal Secondary Effluent Treatment with Magnetic Ion Exchange Resin by 3DEEM .....	YANG Jian, GAO Jin-hua, CHANG Jiang (1878)
Reverse Osmosis Membrane Fouling by Humic Acid Using XDLVO Approach; Effect of Calcium Ions .....	YAO Shu-di, GAO Xin-yu, GUO Ben-hua, <i>et al.</i> (1884)
Growth, Removal of Nitrogen and Phosphorus, and Lipid Accumulation Property of <i>Scenedesmus</i> sp. LX1 in Aquaculture Wastewater .....	MA Hong-fang, LI Xin, HU Hong-ying, <i>et al.</i> (1891)
Iron Chloride for Simultaneous Denitrification and Chemical-Biological Flocculation Process .....	WANG Hong-jie, DONG Wen-yi, LIU Li-sha, <i>et al.</i> (1897)
Characteristic Research of Shortcut Denitrification in Synthetic Ammonia Industrial Wastewater Treatment Process .....	LI Yan, LI Ze-bing, MA Jia-xuan, <i>et al.</i> (1902)
Stability Control of Aerobic Granules Using an Innovative Reactor .....	LI Zhi-hua, YANG Fan, LI Sheng, <i>et al.</i> (1907)
Description of the Stability of Granules Using Nongrowth-related Parameters .....	LI Zhi-hua, WU Jun, LI Sheng, <i>et al.</i> (1913)
Enhancement of Anaerobic Digestion of Excess Sludge by Acid-Alkali Pretreatment .....	YUAN Guang-huan, ZHOU Xing-qiu, WU Jian-dong (1918)
Pilot Validation of Sludge Concentration Partition at Small Reflux Ratio Condition .....	SHI Si, WANG Su-lan, LI Rui, <i>et al.</i> (1923)
Influence of Non-ionic Surfactants on Sludge Dewaterability .....	HOU Hai-pan, PU Wen-hong, SHI Ya-fei, <i>et al.</i> (1930)
Variation Characteristics and Influencing Factors of Air Pollution Index in China .....	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, WANG Sheng-jie, <i>et al.</i> (1936)
Characteristics of Aerosol Water-Soluble Inorganic Ions in Three Types Air-Pollution Incidents of Nanjing City .....	ZHANG Qiu-chen, ZHU Bin, SU Ji-feng, <i>et al.</i> (1944)
Characterization of Atmospheric PM <sub>2.5</sub> in the Suburb of Shenzhen .....	DAI Wei, GAO Jia-qi, CAO Gang, <i>et al.</i> (1952)
Analysis on Oil Fume Particles in Catering Industry Cooking Emission .....	TAN De-sheng, KUANG Yuan-cheng, LIU Xin, <i>et al.</i> (1958)
Low-Temperature Catalytic Reduction of NO over Fe-MnO <sub>x</sub> -CeO <sub>2</sub> /ZrO <sub>2</sub> Catalyst .....	LIU Rong, YANG Zhi-qin (1964)
CO <sub>2</sub> Absorption and Regeneration Performance of a Natural Amino Acid and Its Potassium Salt .....	YAN Shui-ping, CHEN Jing-ao, XU Ming-liang, <i>et al.</i> (1971)
Effects of Tillage-Cropping Systems on Methane and Nitrous Oxide Emissions from Agro-Ecosystems in a Purple Paddy Soil .....	ZHANG Jun-ke, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (1979)
Factors Influencing Ammonia Volatilization in a Winter Wheat Field with Plastic Film Mulched Ridges and Unmulched Furrows .....	SHANGGUAN Yu-xian, SHI Ri-peng, LI Na, <i>et al.</i> (1987)
Effects of Typical Herbicides on Soil Respiration and N <sub>2</sub> O Emissions from Soil Added with Different Nitrogen Fertilizers .....	SUN Qing, SHI Chun-xing, SHI Kun, <i>et al.</i> (1994)
Analysis of Characteristics of Dioxin Contamination in the Chlor-alkali Site that Uses Graphite Anode for Production .....	YU Li-feng, WEI Wen-xia, TIAN Ya-jing, <i>et al.</i> (2000)
Effect of Flue Gas Desulfurization Gypsum Application on Remediation of Acidified Forest Soil .....	LUO Yao, KANG Rong-hua, YU De-xiang, <i>et al.</i> (2006)
Morphology of Soil Iron Oxides and Its Correlation with Soil-Forming Process and Forming Conditions in a Karst Mountain .....	ZHANG Zhi-wei, ZHU Zhang-xiong, FU Wa-li, <i>et al.</i> (2013)
Pb, Zn Accumulation and Nutrient Uptake of 15 Plant Species Grown in Abandoned Mine Tailings .....	SHI Xiang, CHEN Yi-tai, WANG Shu-feng, <i>et al.</i> (2021)
Effect of Cr(VI) Stress on Growth of Three Herbaceous Plants and Their Cr Uptake .....	WANG Ai-yun, HUANG Shan-shan, ZHONG Guo-feng, <i>et al.</i> (2028)
Bioaccumulation of Heavy Metals by the Dominant Plants Growing in Huayuan Manganese and Lead/Zinc Mineland, Xiangxi .....	YANG Sheng-xiang, TIAN Qi-jian, LIANG Shi-chu, <i>et al.</i> (2038)
Effect of CO <sub>2</sub> Fertilization on Residual Concentration of Cypermethrin in Rhizosphere of C3 and C4 Plant .....	MU Nan, DIAO Xiao-jun, WANG Shu-guang, <i>et al.</i> (2046)
Bioaugmented Removal of Pyridine and the Microbial Community Dynamic Analysis .....	QIAO Lin, ZHAO Hong, WANG Jian-long (2052)
Relationship Between Sewage Treatment Efficiency and Bacterial Community Diversity in an A/O MBR .....	KUANG Bin-yu, SHI Qing, Montcho Leon Monthero, <i>et al.</i> (2061)
Dynamic Changes in Functional Genes for Nitrogen Cycle During Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil .....	WU Bin-bin, LU Dian-nan, LIU Zheng (2068)
Risk Assessment of Lead Exposure from Different Intake Pathways for Children in Wuhan City .....	HAO Han-zhou, CHEN Tong-bin, WU Ji-liang, <i>et al.</i> (2075)
Implementation of a Pretreatment Device for an Electronic Nose .....	BU Fan-yang, WEN Xiao-gang, WAN Mei, <i>et al.</i> (2083)
Copper and Cadmium Toxicities to Activated Sludge Investigated with ToxTell Biosensor .....	WANG Xue-jiang, WANG Xin, LIU Mian, <i>et al.</i> (2090)
Matrix Effect and Control of Immunoassay for Environmental Samples .....	SHENG Jian-wu, HE Miao, SHI Han-chang (2095)
Study on Vitrification of Simulated Medical Wastes by Thermal Plasma .....	ZHANG Lu, YAN Jian-hua, DU Chang-ming, <i>et al.</i> (2104)
Study on the Low Temperature Drying of Components of Municipal Solid Waste and Its Model Analysis .....	WU Ya-juan, LIU Hong-mei, LU Sheng-yong, <i>et al.</i> (2110)
Aerogenesis Evolution of the Anaerobic-semiaerobic Bioreactor Landfill .....	HAN Zhi-yong, LIU Dan, LI Qi-bin (2118)
Performance of Microbial Fuel Cells with Fe/C Catalyst Carbon Felt Air-Cathode for Treating Landfill Leachate .....	TANG Yu-lan, PENG Man, YU Yan, <i>et al.</i> (2125)
Relationships Between Soil and Rocky Desertification in Typical Karst Mountain Area Based on Redundancy Analysis .....	LONG Jian, LIAO Hong-kai, LI Juan, <i>et al.</i> (2131)
Energy Consumption and GDP Growth in Beijing: Cointegration and Causality Analysis .....	CHEN Cao-cao, ZHANG Yan, LIU Chun-lan, <i>et al.</i> (2139)

# 《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 汤鸿霄 陈吉宁 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)

2012年6月15日 33卷 第6期

## ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 6 Jun. 15, 2012

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: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行