

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第5期

Vol.36 No.5

**2015**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

深圳大气颗粒物中卤代多环芳烃污染研究 ..... 孙建林,常文静,陈正侠,曾辉(1513)

北京市典型餐饮企业 VOCs 排放特征研究 ..... 崔彤,程婧晨,何万清,任培芳,聂磊,徐东耀,潘涛(1523)

2006~2010年珠三角地区 SO<sub>2</sub> 特征分析 ..... 李菲,谭浩波,邓雪娇,邓涛,徐婉筠,冉靓,赵春生(1530)

环境空气 PM<sub>2.5</sub> 连续监测系统手工采样比对测试 ..... 王强,钟琪,迟颖,张杨,杨凯(1538)

燃煤电厂可凝结颗粒物的测试与排放 ..... 裴冰(1544)

南海水域不同深度非光合微生物的固碳潜能及其对不同电子供体的响应 ..... 方峰,王磊,席雪飞,胡佳俊,付小花,陆兵,徐殿胜(1550)

基于 GOCI 影像和水体光学分类的内陆湖泊叶绿素 a 浓度遥感估算 ..... 冯驰,金琦,王艳楠,赵丽娜,吕恒,李云梅(1557)

贵州清水江流域丰水期水化学特征及离子来源分析 ..... 吕婕梅,安艳玲,吴起鑫,罗进,蒋浩(1565)

东莞石马河流域水化学特征时空差异及来源辨析 ..... 高磊,陈建耀,王江,柯志庭,朱爱萍,许凯(1573)

河南鸡冠洞洞穴水对极端气候的响应及其控制因素研究 ..... 刘肖,杨琰,彭涛,赵景耀,任小凤,张银环,聂旭东,李建仓,凌新有,张志钦(1582)

石漠化治理对岩溶地下水水化学和溶解无机碳稳定同位素的影响 ..... 肖时珍,熊康宁,蓝家程,张晖,杨龙(1590)

旱季不同土地利用类型下岩溶碳汇效应差异 ..... 赵瑞一,梁作兵,王尊波,于正良,江泽利(1598)

有机氯农药在岩溶区上覆土壤中的垂直迁移特征及对地下水的影响 ..... 孙玉川,王永启,梁作兵,袁道先(1605)

山东南四湖沉积物中汞的污染现状及迁移研究 ..... 曹霏霏,杨丽原,庞绪贵,王炳华,王云倩(1615)

摇蚊幼虫扰动下沉沉积物微环境和微界面对物理扰动强度的响应 ..... 史晓丹,李勇,李大鹏,王忍,邓猛,黄勇(1622)

南方红壤区氮湿沉降特征及其对流域氮输出的影响 ..... 郝卓,高扬,张进忠,徐亚娟,于贵瑞(1630)

不同紫色母岩对景观水体氮磷及有机物去除的影响 ..... 黄雪娇,刘晓晨,李振轮,石纹豪,杨珊(1639)

荔枝落叶对铜绿微囊藻生长和光合作用的影响 ..... 汪小雄,姜成春,李锦卫,汪晓军(1648)

黄连根茎浸提物对绿藻的毒理作用 ..... 陈亚楠,袁玲(1655)

饮用水中消毒副产物 1,1-二氯丙酮的形成机制 ..... 丁春生,孟壮,徐洋洋,缪佳(1662)

水中利谷隆氯化降解动力学和消毒副产物生成特性 ..... 凌晓,胡晨燕,程明,谷建(1668)

化学消毒的中和剂对水中内毒素活性检测的影响 ..... 张灿,刘文君,史文,安代志,白森,徐稳(1674)

牛粪生物炭对水中氨氮的吸附特性 ..... 马锋锋,赵保卫,刁静茹,钟金魁,李安邦(1678)

丁二酸改性茶油树木屑吸附附的研究 ..... 张晓峰,陈迪云,彭燕,刘永胜,熊雪莹(1686)

SPG 膜表面润湿性对膜污染和化学耐受性的影响 ..... 张静,肖太民,张晶,曹丽亚,杜亚威,刘春,张磊(1694)

TiO<sub>2</sub> 诱导下左旋氧氟沙星的可见光降解及其机制 ..... 郭宏生,刘亚楠,乔琪,魏红,董呈幸,薛洁,李克斌(1700)

新型高分子絮凝剂对废水中 Cr(VI) 的捕集性能 ..... 王刚,杜凤龄,常青,徐敏(1707)

基于 OUR-HPR 测量在线估计活性污泥合成 PHA 量 ..... 曾善文,王泽宇,高敬,刘东,张代钧,卢培利(1713)

分离高浓度污泥产酸发酵液的自生动态膜形成机制 ..... 黄帅,刘宏波,殷波,马惠君,符波,刘和,白洁(1720)

通风强度对市政污泥生物干化中试效果的影响 ..... 张喻,韩融,陆文静,王洪涛,明中远,王强,夏伟(1727)

生物可降解螯合剂谷氨酸 N,N-二乙酸四钠对污泥中重金属萃取效率的研究 ..... 吴青,崔延瑞,汤晓晓,杨慧娟,孙剑辉(1733)

百乐克(BIOLAK)活性污泥宏基因组的生物多样性及功能分析 ..... 田美,刘汉湖,申欣,赵方庆,陈帅,姚永佳(1739)

异养硝化-好氧反硝化菌 YL 的脱氮特性 ..... 梁贤,任勇翔,杨垒,赵思琪,夏志红(1749)

菌株 *Arthrobacter* sp. CN2 降解对硝基苯酚的特性与动力学 ..... 任磊,史延华,贾阳,姚雪松,Ruth Nahurira,弥春霞,闫艳春(1757)

短短芽胞杆菌及其芽胞对苜蓿的降解 ..... 刘芷辰,叶锦韶,彭辉,刘则华,邓庭进,尹华,廖丽萍(1763)

垃圾填埋场抗生素抗性基因初探 ..... 李蕾,徐晶,赵由才,宋立岩(1769)

不同构型人工湿地基质中土著菌的耐药性及整合子丰度调查 ..... 麦晓蓓,陶然,杨扬,张敏,林剑华,满滢(1776)

硝酸盐和甲烷对覆土中苯系物厌氧氧化的影响 ..... 柳蓉,龙焰,王立立,何婷,叶锦韶(1785)

山西高原落叶松人工林土壤呼吸的空间异质性 ..... 严俊霞,李洪建,李君剑,武江星(1793)

施氮对黄土旱塬区春玉米土壤呼吸和温度敏感性的影响 ..... 姜继韶,郭胜利,王蕊,刘庆芳,王志齐,张彦军,李娜娜,李如剑,吴得峰,孙棋棋(1802)

宣威街道尘中重金属的分布特征及其健康风险评估 ..... 张文超,吕森林,刘丁或,刘品威,米持真一,王效举,王青耀(1810)

宝鸡市街道尘埃磁学特征空间分布及环境意义 ..... 张俊辉,王瑾,张健,房妮,夏敦胜(1818)

长期施肥下浙江稻田不同颗粒组分有机碳的稳定特征 ..... 毛霞丽,陆扣萍,孙涛,张小凯,何丽芝,王海龙(1827)

矿区植被恢复方式对土壤微生物和酶活性的影响 ..... 李君剑,刘峰,周小梅(1836)

三江平原典型湿地类型土壤微生物特征与土壤养分的研究 ..... 肖焯,黄志刚,武海涛,吕宪国(1842)

钠盐类型对表面活性剂清洗煤油污染土壤的强化效应 ..... 黄昭露,陈泉源,周娟,谢墨函(1849)

石油污染土壤的生物修复技术及微生物生态效应 ..... 杨茜,吴蔓莉,聂麦茜,王婷婷,张明辉(1856)

可生物降解螯合剂 GLDA 诱导东南景天修复重金属污染土壤的研究 ..... 卫泽斌,陈晓红,吴启堂,谭蒙(1864)

绿洲土 Pb-Zn 复合胁迫下重金属形态特征和生物有效性 ..... 金诚,赵转军,南忠仁,王胜利,武文飞,王厚成(1870)

硫酸对水稻根系铁锰胶膜形成及吸收的影响 ..... 王丹,李鑫,王代长,饶伟,杜光辉,杨军,化党领(1877)

臭氧对几种楠木气体交换参数的影响 ..... 李苗苗(1888)

某货车侧翻水污染事件的环境损害评估方法探索 ..... 蔡锋,赵士波,陈刚才,鲜思淑,杨清玲,周贤杰,余海(1902)

《环境科学》征订启事(1543) 《环境科学》征稿简则(1756) 信息(1667,1726,1809,1848)

# 化学消毒的中和剂对水中内毒素活性检测的影响

张灿<sup>1,2</sup>, 刘文君<sup>2\*</sup>, 史云<sup>1</sup>, 安代志<sup>1</sup>, 白淼<sup>1</sup>, 徐稳<sup>1</sup>

(1. 军事医学科学院疾病预防控制中心, 北京 100071; 2. 清华大学环境学院, 北京 100084)

**摘要:** 本研究选取化学消毒的常用 6 种中和剂组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸、吐温 80、亚硫酸钠和硫代硫酸钠, 采用动态浊度法试验定量检测样品中内毒素活性, 研究中和剂在不同浓度范围内单独使用对内毒素活性检测的影响, 旨在优选出适于鲎法检测细菌内毒素的中和剂种类, 确定合适的浓度范围。结果表明在 0~1.0% 浓度范围内, 除了甘氨酸和硫代硫酸钠之外, 组氨酸、抗坏血酸、吐温 80、亚硫酸钠(碱性和中性)均对鲎试验结果有不同程度的干扰, 都不能在鲎试验之前作为化学消毒的中和剂。虽然 0~1.0% 浓度的甘氨酸对鲎试验结果基本无明显影响, 但是甘氨酸和戊二醛的中和产物显黄色, 所以不适用于在光度法鲎试验中用作戊二醛的中和剂。0~1.0% 浓度的硫代硫酸钠对鲎试验结果基本无明显干扰, 但是当浓度升高至 1.0%~5.0% 时会对鲎试验结果有一定的抑制作用。与组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸、吐温 80 和亚硫酸钠相比, 硫代硫酸钠更适于在内毒素活性检测之前用作消毒剂的中和剂, 但是浓度应控制在 0.5% 范围以内。

**关键词:** 中和剂; 细菌内毒素; 化学消毒; 鲎试验; 干扰

中图分类号: R123.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)05-1674-04 DOI: 10.13227/j.hjkk.2015.05.022

## Interference for Various Quench Agents of Chemical Disinfectants on Detection of Endotoxin Activities in Water

ZHANG Can<sup>1,2</sup>, LIU Wen-jun<sup>2\*</sup>, SHI Yun<sup>1</sup>, AN Dai-zhi<sup>1</sup>, BAI Miao<sup>1</sup>, XU Wen<sup>1</sup>

(1. Institute of Disease Control and Prevention, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

**Abstract:** The quenching agents such as histidine, glycine, ascorbic acid, Tween-80, sodium sulfite and sodium hyposulfite are commonly used for quenching the residual disinfectant in water. In this paper, in order to select the optimal type and concentration range of quenching agents prior to the *Limulus* assays, the interference effects of each quenching agent at different concentrations on endotoxin detection were investigated by the *Limulus* assays of kinetic-turbidity. Our results identified that, as for 0-1.0% concentration of histidine, ascorbic acid, Tween-80, sodium sulfite (pH unadjusted and pH neutral), interference on the *Limulus* assays was existed. Hence, these quenching agents could not be applied as neutralizers prior to *Limulus* assays. Although, there was no interference on endotoxin detection for the glycine, a yellow color, developed by the quenching products of glycine and glutaric dialdehyde, contributed to false positive results. Hence, glycine should not be used as quenching agents in *Limulus* assays for samples containing glutaric dialdehyde. Compared with other quenching agents as histidine, glycine, ascorbic acid, Tween-80, sodium sulfite, 0-1.0% concentration of sodium hyposulfite elicited no obvious interference, while 1.0%-5.0% concentration of sodium hyposulfite illustrated exhibition effect for endotoxin detection. All in all, compared with other quenching agents as histidine, glycine, ascorbic acid, Tween-80 and sodium sulfite, sodium hyposulfite is suitable for quenching chemicals prior to endotoxin detection and less than 0.5% of concentration is allowable.

**Key words:** quenching agent; bacterial endotoxin; disinfection; *Limulus* assay; interference

细菌内毒素又称脂多糖, 是革兰氏阴性细菌和某些蓝藻的细胞壁组分物质, 活菌释放较少, 主要由菌体解体后释放<sup>[1]</sup>。内毒素是常见的外源性致热原, 属于强免疫刺激因子, 具有广泛的生物活性, 与多种人类疾病密切相关。机体对内毒素反应极为敏感, Elin 等<sup>[2]</sup>报道使用 0.1~0.5 ng·kg<sup>-1</sup> 内毒素进行体内注射可以引起人体的发热反应。血液暴露是内毒素的主要暴露途径。为了保证与血液接触的药物、医疗器械及医疗用水的安全性, 内毒素检查一直被认为是医药行业的重要检验项目。目前内毒素的法定检测方法是鲎试验, 其机制是鲎血中阿米巴

细胞与内毒素发生一系列酶促反应导致凝集反应<sup>[3]</sup>。光度法鲎试验(浊度法和显色法)是内毒素的定量测试方法, 2005 年中国药典正式将光度法收录<sup>[4]</sup>。鲎试验属于生物毒性测试, 不是精确的分析方法, 干扰因素很多。药典规定鲎试验中常用的干扰去除方法是对样品多倍稀释, 并控制加标回收率在 50%~200% 之内<sup>[4]</sup>。但是, 对于严重干扰的样品

收稿日期: 2014-10-09; 修订日期: 2014-12-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(51378283, 50978142, 51008303); 北京市自然科学基金项目(8142033)

作者简介: 张灿(1975~), 女, 博士, 主要研究方向为饮用水和医疗用水水质安全, E-mail: zhangcancqu@163.com

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

经多倍稀释后内毒素活性降低,有时不能达到鲎试剂的最低检测限,难以保证合适的回收率。因此,在鲎试验前不仅需要确定样品含有的干扰因素,还需要避免添加严重干扰鲎试验的物质。另外,在采用光度法鲎试验时,还应避免添加影响光密度值的物质。

近年来细菌内毒素的研究领域从医药行业逐渐外展,水体环境中内毒素所致潜在的健康风险已经引起越来越多关注。当水中微生物增殖或者蓝藻暴发,菌体死亡或者经过消毒处理后释放的大量内毒素,可以通过呼吸和胃肠暴露等途径危害机体健康。在水消毒工艺方面,不同的消毒工艺、消毒剂量和反应时间都会对内毒素的释放和控制效果带来影响。在评价化学消毒措施对内毒素释放的控制效果时,必须先采用中和剂来去除样品中残留消毒剂,因此应该避免化学消毒的中和剂对鲎试验结果的干扰。目前环境领域和医疗领域常见化学消毒的中和剂有多种,如组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸、吐温 80、亚硫酸钠和硫代硫酸钠等。这些中和剂对所试微生物无抑制或杀灭作用,对培养基的营养成分无破坏作用,但是对鲎试验检测结果的干扰情况尚不清晰。本研究采用动态浊度法鲎试验,探讨常见的中和剂单独使用时对内毒素活性定量检测结果的干扰情况,旨在选择适用于内毒素检测的中和剂,并确定合适的使用浓度范围。

## 1 材料与方法

### 1.1 玻璃器皿

无热原稀释试管(15 mm × 100 mm)、无热原反应试管(8 mm × 75 mm)和无热原移液器吸头购买自湛江安度斯生物公司。其他玻璃器皿经铬酸浸泡 24 h,热自来水冲洗,超纯水冲洗,马弗炉烘干 350 ~ 400℃ 2 h 去除热原。

### 1.2 仪器与试剂

内毒素定量检测采用 ATI320-06 动态试管仪及配套软件(Lab Kinetic 公司,英国)。pH 值测定采用 Pb-21 酸度计(Sartorius 公司,德国)。Mill-Q 纯水机(Millipore 公司,美国)。另外,还需要涡旋混合器、马弗炉、移液器。动态浊度法鲎试剂(最低检测限 0.03 EU·mL<sup>-1</sup>)、无热原检查用水(< 0.003 EU·mL<sup>-1</sup>)和无热原 Tris-HCl(pH 7.4)缓冲溶液购买自湛江安度斯生物公司。内毒素工作标准品(control standard endotoxin, CSE, 批号 150601, 每支 90 EU)购买自中国药品生物制品检定所(北京)。

生物化学试剂如抗坏血酸、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 和 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 为分析纯,组氨酸、甘氨酸和吐温 80 购买自 Sigma 公司。

### 1.3 动态浊度法鲎试验检测内毒素活性

采用动态浊度法鲎试验定量检测内毒素活性,将 0.1 mL 鲎试剂加入反应管,加入 0.1 mL 样品混合均匀,立即放入 ATI320-06 动态试管仪进行检测。样品和鲎试剂在 37℃ 温育条件下发生凝集反应,ATI320-06 动态试管仪及软件生成每个样品的反应动态曲线,记录反应试管在波长 405 nm 处达到 95% 透光率的达限时间。样品的达限时间和所含内毒素活性负相关,根据标准曲线来确定样品内毒素活性。每个样品采用 2 个平行样,并以 0.1 EU·mL<sup>-1</sup> CSE 溶液作为阳性对照,记录回收率、稀释倍数、达限时间等其他参数。样品测试 3 次取均值。试验结果应满足以下条件:① 标准曲线中阴性对照的达限时间长于最低活性(0.031 25 EU·mL<sup>-1</sup>)的达限时间。② 标准曲线相关系数 *R* 大于 0.98。③ 平行样的变异系数不得大于 10%。④ 根据药典规定,加标回收率在 50% ~ 200% 之间认为稀释倍数合适,没有明显的干扰<sup>[4]</sup>。

### 1.4 内毒素检测的干扰试验

(1) CSE 溶液的配制 打开 CSE(每支 90EU),向安瓿瓶内加 1 mL 无热原检查用水配制成 90 EU·mL<sup>-1</sup> 的 CSE 溶液,密封后采用涡旋混合 15 min。将 CSE 溶液转移至无热原玻璃容器,加无热原检查用水稀释成 0 ~ 2 EU·mL<sup>-1</sup> 的 CSE 溶液。

(2) 0 ~ 1.0% 浓度的中和剂对鲎试验的影响 采用无热原检查用水,将组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸、吐温 80、亚硫酸钠(碱性)和硫代硫酸钠配制成浓度 0、0.5%、1.0%、2.0%、5.0% 和 10.0% 的中和剂溶液。此外,采用无热原 Tris-HCl(pH 7.4)缓冲溶液配制浓度分别为 0、0.5%、1.0%、2.0%、5.0% 和 10.0% 的亚硫酸钠(中性)溶液。将已配制的不同浓度中和剂溶液按 1:9 的比例添加至 0 ~ 2 EU·mL<sup>-1</sup> 的 CSE 溶液中,检测组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸、吐温 80、亚硫酸钠(碱性)、亚硫酸钠(中性)和硫代硫酸钠浓度分别在 0、0.05%、0.1%、0.2%、0.5% 和 1.0% 情况下内毒素活性的变化。

(3) 0 ~ 5.0% 浓度的硫代硫酸钠对鲎试验的影响 将硫代硫酸钠加无热原检查用水溶解,配制成 0、2.5%、5.0%、10.0%、15.0%、20.0% 和 25.0% 的硫代硫酸钠溶液。将已配制的硫代硫酸钠溶液按 1:4 的比例添加至 0 ~ 2 EU·mL<sup>-1</sup> 的 CSE 溶

液中,检测硫代硫酸钠浓度分别在 0、0.5%、1.0%、2.0%、3.0%、4.0%和 5.0% 情况下内毒素活性的变化。

## 2 结果与分析

### 2.1 常用的有机类中和剂对鲎试验结果的影响

组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸和吐温 80 是常用的有机类中和剂,在 0~1.0% 的浓度范围对动态浊度法鲎试验的干扰结果如图 1 所示。结果表明,甘氨酸对内毒素活性的检测未见明显干扰,组氨酸、抗坏血酸和吐温 80 对检测结果均有不同程度的影响,干扰程度详见表 1。其中,0~1.0% 浓度的组氨酸对内毒素活性的定量检测引起强烈的增强效果;抗坏血酸引起显著的抑制效果;吐温 80 引起明显的抑制作用。甘氨酸和组氨酸等氨基酸类用来中和醛类消毒剂。由于组氨酸是类内毒素物质,可以引起内毒素的聚集和吸附<sup>[5]</sup>,严重影响光度法鲎试验的光度值,导致检测结果的增强。当组氨酸浓度从 0 提高至 0.05% 时,检测结果从初始内毒素活性  $0.38 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  增高至  $0.95 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,增强率达到 150%;当组氨酸浓度从 0.05% 提高至 0.5% 时,内毒素活性提高至  $3.30 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,增强率达到 768%。0~1.0% 浓度的甘氨酸对鲎试验结果基本无明显干扰。检测结果表明当甘氨酸浓度从 0 提高至 1.0% 时,初始内毒素活性  $1.22 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  增高至  $1.39 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,增强率仅为 14%。但是,甘氨酸和戊二醛的中和产物显黄色,会对光度法鲎试验(浊度法和显色法)产生严重干扰,因此在光度法鲎试验中,甘氨酸不适于做戊二醛的中和剂使用。吐温 80 是常用的中和剂,可以和卵磷脂配伍用于清除吸附力较强的离子型消毒剂如季铵盐类和酚类<sup>[6]</sup>。0~1.0% 浓度的吐温 80 对内毒素检测引起明显的抑制效果。当吐温 80 浓度从 0 提高至 1.0% 时,检测结果从初始内毒素活性  $1.18 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  降低至  $0.69 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,抑制率为 41%。抗坏血酸是常用的抗氧化剂,可以用作卤素消毒的中和剂。0~1.0% 浓度的抗坏血酸对鲎试验结果引起显著的抑制效果。当抗坏血酸浓度从 0% 提高至 0.05%,检测结果从初始内毒素活性  $1.23 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  降低至  $0.70 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,抑制率达到 43%;当抗坏血酸浓度提高至 1.0% 时,内毒素活性降低至  $0.34 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,抑制率达到 72%。抗坏血酸的酸性强,向样品中添加会导致内毒素的酸解或者对鲎试剂酶活性造成破坏,抑制鲎试验的反应并影响检测结果。

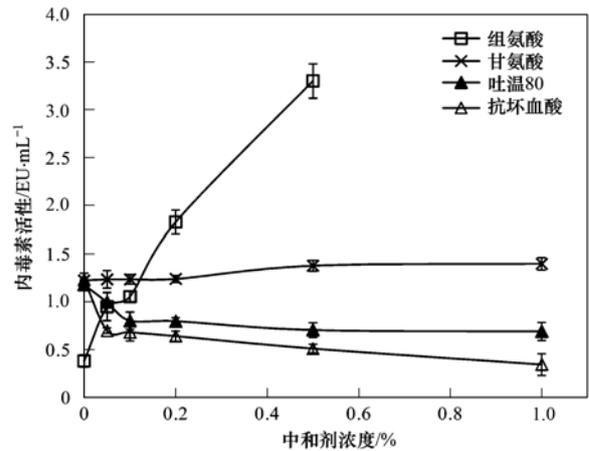


图 1 有机类中和剂(0~1.0% 浓度)对动态浊度法鲎试验的影响  
Fig. 1 Interference of organic quenchers(0-1.0%) on *Limulus* assay

### 2.2 常用无机类中和剂对鲎试验结果的影响

亚硫酸钠和硫代硫酸钠是常用的无机类中和剂,其在 0~1.0% 的浓度范围对动态浊度法鲎试验的干扰结果如图 2 所示,干扰程度见表 1。亚硫酸钠是卤素和醛类消毒剂的中和剂,由于亚硫酸钠的碱性强,使用时分为碱性和中性两种情况。0~1.0% 浓度的亚硫酸钠(碱性)对内毒素检测有明显的增强效果。当亚硫酸钠(碱性)浓度从 0 提高至 1.0% 时,检测结果从初始内毒素活性  $1.08 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$  增高至  $1.50 \text{ EU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,增强率为 39%。亚硫酸钠(碱性)对鲎试验有增强效果,这是因为鲎试剂中含有一定数量的  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  用来保持试剂的分散性, $\text{OH}^-$  的增多会影响  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  的状态,导致鲎试剂分散性差,引起反应产物聚集导致增强结果<sup>[7]</sup>。0~1.0% 浓度的亚硫酸钠(中性)对内毒素检测引起显著的抑制作用。亚硫酸钠(中性)浓度从 0 提高至 1.0% 时,检测

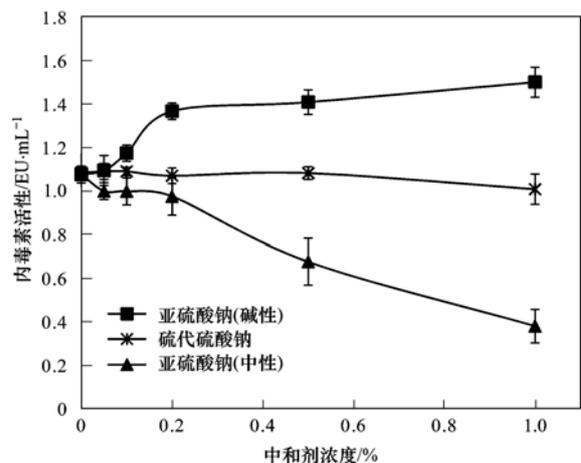


图 2 无机类中和剂(0~1.0% 浓度)对动态浊度法鲎试验的影响  
Fig. 2 Interference of inorganic quenchers (0-1.0%) on *Limulus* assay

结果从初始内毒素活性  $1.08 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$  降低至  $0.38 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 抑制率为 65%。虽然亚硫酸钠在调节 pH 值至中性后, 可以消除水样的碱度带来的干扰, 但是添加的  $\text{H}^+$  和  $\text{SO}_3^{2-}$  生成的  $\text{HSO}_3^-$  破坏鲎试剂中酶的活性, 对鲎试验有抑制效果。硫代硫酸钠是卤素类消毒剂、汞制剂及过氧乙酸等的中和剂<sup>[6]</sup>。0~1.0% 浓度的硫代硫酸钠对鲎试验结果基本无明显干扰, 当硫

代硫酸钠浓度从 0 提高至 1.0% 时, 内毒素活性从初始值  $1.08 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$  降低为  $1.01 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 抑制率仅为 6.5%。但是当硫代硫酸钠浓度提高至 1.0% ~ 5.0% 时, 对内毒素检测结果有明显的抑制效果(图 3)。因此, 低浓度的硫代硫酸钠溶液适于在鲎试验之前作为消毒剂的中和剂, 但是浓度应该控制在 0.5% 以内。

表 1 中和剂对鲎试验的影响结果分析<sup>1)</sup>

Table 1 Analysis of quenchers interference on *Limulus* assay

中和剂	干扰效果	干扰程度	浓度 0.5% 的增强/ 抑制率/%	浓度 1.0% 的增强/ 抑制率/%
组氨酸	增强	++++	768	ND
亚硫酸钠(碱性)	增强	++	31	39
甘氨酸	增强	+	12	14
硫代硫酸钠	抑制	-	0.2	6.5
吐温 80	抑制	--	40	41
亚硫酸钠(中性)	抑制	---	37	65
抗坏血酸	抑制	---	58	72

1) ND: 未检测; +/ -: 略微的增强/抑制效果, 基本无明显干扰; + + / - -: 明显的增强/抑制效果; + + + / - - -: 显著的增强/抑制效果; + + + + / - - - -: 强烈的增强/抑制效果

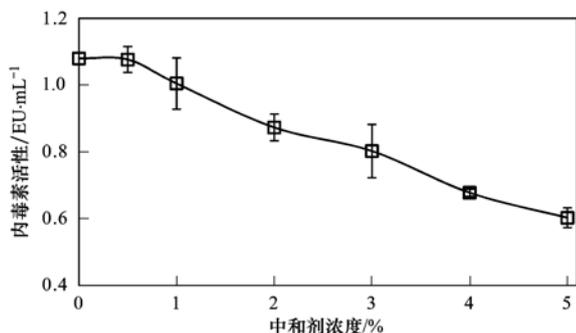


图 3 硫代硫酸钠(0~5.0% 浓度)对动态浊度法鲎试验的影响

Fig. 3 Interference of sodium hyposulfite (0-5.0%) on *Limulus* assay

### 3 结论

(1) 在 0~1.0% 浓度范围内, 除甘氨酸和硫代硫酸钠之外, 组氨酸、抗坏血酸、吐温 80 和亚硫酸钠(中性和碱性)对内毒素检测结果均有不同程度的干扰。

(2) 组氨酸对内毒素活性的定量检测有强烈的增强效果; 抗坏血酸引起显著的抑制效果; 吐温 80 引起明显的抑制效果; 亚硫酸钠(碱性)引起明显的增强效果; 亚硫酸钠(中性)有显著的抑制效果。

(3) 此外, 0~1.0% 浓度的甘氨酸对内毒素检测基本无明显干扰, 但是甘氨酸和戊二醛的中和产物呈黄色, 当作为戊二醛的中和剂使用时会对光度法鲎试验的结果产生干扰。0~1.0% 浓度的硫代硫酸钠对鲎试验结果基本无明显干扰, 但是高浓度的硫代硫酸钠(1.0%~5.0%)会对鲎试验引起明显

的抑制效果。

(4) 与组氨酸、甘氨酸、抗坏血酸、吐温 80 和亚硫酸钠相比, 硫代硫酸钠更适合在鲎试验之前用作中和剂, 但是浓度应控制在 0.5% 范围以内。此外, 有些消毒措施不适合选择硫代硫酸钠作为中和剂, 需进一步筛选出对鲎试验无明显干扰的其他中和剂, 避免使用组氨酸、抗坏血酸、吐温 80 和亚硫酸钠这类对鲎试验有干扰的中和剂。

### 参考文献:

- [1] Anderson W B, Slawson R M, Mayfield C I. A review of drinking-water-associated endotoxin, including potential routes of human exposure[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2002, 48(7): 567-587.
- [2] Elin R J, Wolff S M, McAdam K P W J, et al. Properties of reference *Escherichia coli* endotoxin and its phthalylated derivative in humans[J]. The Journal of Infectious Diseases, 1981, 144(4): 329-336.
- [3] Levin J, Bang F B. Clottable protein in *Limulus*; its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin[J]. Thrombosis et Diathesis Haemorrhagica, 1968, 19(1): 186-197.
- [4] ZBBZH/ZY/2, 中华人民共和国药典 二部(2005 年版)[S].
- [5] Matsumae H, Minobe S, Kindan K, et al. Specific removal of endotoxin from protein solutions by immobilized histidine[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 1990, 12(2): 129-140.
- [6] 高东旗. 合理使用中和剂评价化学消毒剂的杀菌作用[J]. 医学动物防制, 2002, 18(1): 31-33.
- [7] 张灿, 刘文君, 张明露, 等. 水体环境中内毒素活性的鲎法定量检测及影响因素研究[J]. 环境科学, 2013, 34(9): 3381-3385.

## CONTENTS

Pollution of Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Atmospheric Particulate Matters of Shenzhen .....	SUN Jian-lin, CHANG Wen-jing, CHEN Zheng-xia, <i>et al.</i> (1513)
Emission Characteristics of VOCs from Typical Restaurants in Beijing .....	CUI Tong, CHENG Jing-chen, HE Wan-qing, <i>et al.</i> (1523)
Characteristics Analysis of Sulfur Dioxide in Pearl River Delta from 2006 to 2010 .....	LI Fei, TAN Hao-bo, DENG Xue-jiao, <i>et al.</i> (1530)
Comparison Test Between PM <sub>2.5</sub> Continuous Monitoring System and Manual Sampling Analysis for PM <sub>2.5</sub> in Ambient Air .....	WANG Qiang, ZHONG Qi, CHI Ying, <i>et al.</i> (1538)
Determination and Emission of Condensable Particulate Matter from Coal-fired Power Plants .....	PEI Bing (1544)
Potential Carbon Fixation Capability of Non-photosynthetic Microbial Community at Different Depth of the South China Sea and Its Response to Different Electron Donors .....	FANG Feng, WANG Lei, XI Xue-fei, <i>et al.</i> (1550)
Remote Sensing Estimation of Chlorophyll-a Concentration in Inland Lakes Based on GOCI Image and Optical Classification of Water Body .....	FENG Chi, JIN Qi, WANG Yan-nan, <i>et al.</i> (1557)
Hydrochemical Characteristics and Sources of Qingshuijiang River Basin at Wet Season in Guizhou Province .....	LÜ Jie-mei, AN Yan-ling, WU Qi-xin, <i>et al.</i> (1565)
Temporal-spatial Variation and Source Identification of Hydro-chemical Characteristics in Shima River Catchment, Dongguan City .....	GAO Lei, CHEN Jian-yao, WANG Jiang, <i>et al.</i> (1573)
Response and Control Factors of Groundwater to Extreme Weather, Jiguan Cave, Henan Province, China .....	LIU Xiao, YANG Yan, PENG Tao, <i>et al.</i> (1582)
Impact of Rocky Desertification Treatment on Underground Water Chemistry and Dissolved Inorganic Carbon Isotope in Karst Areas .....	XIAO Shi-zhen, XIONG Kang-ning, LAN Jia-cheng, <i>et al.</i> (1590)
Difference of Karst Carbon Sink Under Different Land Use and Land Cover Areas in Dry Season .....	ZHAO Rui-yi, LIANG Zuo-bing, WANG Zun-bo, <i>et al.</i> (1598)
Vertical Migration Characteristics of Organochlorine Pesticides in Overlying Soil in Karst Terranes and Its Impact on Groundwater .....	SUN Yu-chuan, WANG Yong-qi, LIANG Zuo-bing, <i>et al.</i> (1605)
Pollution Status and Migration of Mercury in the Sediments of Nansi Lake in Shandong Province .....	CAO Fei-fei, YANG Li-yuan, PANG Xu-gui, <i>et al.</i> (1615)
Response of Sediment Micro Environment and Micro Interface to Physical Disturbance Intensity Under the Disturbance of <i>Chironomus plumosus</i> .....	SHI Xiao-dan, LI Yong, LI Da-peng, <i>et al.</i> (1622)
Characteristics of Atmospheric Nitrogen Wet Deposition and Associated Impact on N Transport in the Watershed of Red Soil Area in Southern China .....	HAO Zhuo, GAO Yang, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (1630)
Effect of Different Purple Parent Rock on Removal Rates of Nitrogen, Phosphorus and Organics in Landscape Water .....	HUANG Xue-jiao, LIU Xiao-chen, LI Zhen-lun, <i>et al.</i> (1639)
Effects of <i>Litchi chinensis</i> Defoliation on Growth and Photosynthesis of <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	WANG Xiao-xiong, JIANG Chen-chun, LI Jin-wei, <i>et al.</i> (1648)
Toxicity of <i>Coptis chinensis</i> Rhizome Extracts to Green Algae .....	CHEN Ya-nan, YUAN Ling (1655)
Formation Mechanism of the Disinfection By-product 1,1-Dichloroacetone in Drinking Water .....	DING Chun-sheng, MENG Zhuang, XU Yang-yang, <i>et al.</i> (1662)
Degradation Kinetics and Formation of Disinfection By-products During Linuron Chlorination in Drinking Water .....	LING Xiao, HU Chen-yan, CHENG Ming, <i>et al.</i> (1668)
Interference for Various Quench Agents of Chemical Disinfectants on Detection of Endotoxin Activities in Water .....	ZHANG Can, LIU Wen-jun, SHI Yun, <i>et al.</i> (1674)
Ammonium Adsorption Characteristics in Aqueous Solution by Dairy Manure Biochar .....	MA Feng-feng, ZHAO Bao-wei, DIAO Jing-ru, <i>et al.</i> (1678)
Absorption of Uranium with Tea Oil Tree Sawdust Modified by Succinic Acid .....	ZHANG Xiao-feng, CHEN Di-yun, PENG Yan, <i>et al.</i> (1686)
Effect of Membrane Wettability on Membrane Fouling and Chemical Durability of SPG Membranes .....	ZHANG Jing, XIAO Tai-min, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (1694)
TiO <sub>2</sub> -Induced Photodegradation of Levofloxacin by Visible Light and Its Mechanism .....	GUO Hong-sheng, LIU Ya-nan, QIAO Qi, <i>et al.</i> (1700)
Performance of Novel Macromolecule Flocculant in the Treatment of Wastewater Containing Cr(VI) Ions .....	WANG Gang, DU Feng-ling, CHANG Qing, <i>et al.</i> (1707)
On-line Estimation for the Amount of Stored PHA in Activated Sludge Based on OUR-HPR Measurements .....	ZENG Shan-wen, WANG Ze-yu, GAO Jing, <i>et al.</i> (1713)
Formation Mechanism of Self-forming Dynamic Membrane During Separation of High-concentration Sewage Sludge Fermented for Acid Production .....	HUANG Shuai, LIU Hong-bo, YIN Bo, <i>et al.</i> (1720)
Influence of Air Flux on Municipal Sludge Biodrying in a Pilot Scale Test .....	ZHANG Yu, HAN Rong, LU Wen-jing, <i>et al.</i> (1727)
Extraction of Heavy Metals from Sludge Using Biodegradable Chelating Agent <i>N,N</i> -bis(carboxymethyl) Glutamic Acid Tetrasodium .....	WU Qing, CUI Yan-rui, TANG Xiao-xiao, <i>et al.</i> (1733)
Biodiversity and Function Analyses of BIOLAK Activated Sludge Metagenome .....	TIAN Mei, LIU Han-lu, SHEN Xin, <i>et al.</i> (1739)
Characteristics of Nitrogen Removal by a Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification Bacterium YL .....	LIANG Xian, REN Yong-xiang, YANG Lei, <i>et al.</i> (1749)
Biodegradation Characteristics and Kinetics of <i>p</i> -nitrophenol by Strain <i>Arthrobacter</i> sp. CN2 .....	REN Lei, SHI Yan-hua, JIA Yang, <i>et al.</i> (1757)
Biodegradation of Pyrene by Intact Cells and Spores of <i>Brevibacillus brevis</i> .....	LIU Zhi-chen, YE Jin-shao, PENG Hui, <i>et al.</i> (1763)
Investigation of Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in Landfill .....	LI Lei, XU Jing, ZHAO You-cai, <i>et al.</i> (1769)
Investigation of Antibiotic Resistance of Indigenous Bacteria and Abundance of Class I Integron in Matrix of Constructed Wetlands of Different Configurations .....	MAI Xiao-bei, TAO Ran, YANG Yang, <i>et al.</i> (1776)
Effects of Nitrate and CH <sub>4</sub> on Anaerobic Oxidation of BETX in Landfill Cover Soils .....	LIU Rong, LONG Yan, WANG Li-li, <i>et al.</i> (1785)
Spatial Heterogeneity of Soil Respiration in a Planted Larch Forest in Shanxi Plateau .....	YAN Jun-xia, LI Hong-jian, LI Jun-jian, <i>et al.</i> (1793)
Effects of Nitrogen Fertilization on Soil Respiration and Temperature Sensitivity in Spring Maize Field in Semi-Arid Regions on Loess Plateau .....	JIANG Ji-shao, GUO Sheng-li, WANG Rui, <i>et al.</i> (1802)
Distribution Characteristics of Heavy Metals in the Street Dusts in Xuanwei and Their Health Risk Assessment .....	ZHANG Wen-chao, LÜ Sen-lin, LIU Ding-yu, <i>et al.</i> (1810)
Spatial Distribution of Magnetic Properties of Street Dust in Baoji City and Its Implications of Environment .....	ZHANG Jun-hui, WANG Jin, ZHANG Jian, <i>et al.</i> (1818)
Effect of Long-term Fertilizer Application on the Stability of Organic Carbon in Particle Size Fractions of a Paddy Soil in Zhejiang Province, China .....	MAO Xia-li, LU Kou-ping, SUN Tao, <i>et al.</i> (1827)
Effects of Different Reclaimed Scenarios on Soil Microbe and Enzyme Activities in Mining Areas .....	LI Jun-jian, LIU Feng, ZHOU Xiao-mei (1836)
Soil Microorganism Characteristics and Soil Nutrients of Different Wetlands in Sanjinag Plain, Northeast China .....	XIAO Ye, HUANG Zhi-gang, WU Hai-tao, <i>et al.</i> (1842)
Strengthening Effects of Sodium Salts on Washing Kerosene Contaminated Soil with Surfactants .....	HUANG Zhao-lu, CHEN Quan-yuan, ZHOU Juan, <i>et al.</i> (1849)
Effects and Biological Response on Bioremediation of Petroleum Contaminated Soil .....	YANG Qian, WU Man-li, NIE Mai-qian, <i>et al.</i> (1856)
Enhanced Phytoextraction of Heavy Metals from Contaminated Soils Using <i>Sedum alfredii</i> Hance with Biodegradable Chelate GLDA .....	WEI Ze-bin, CHEN Xiao-hong, WU Qi-tang, <i>et al.</i> (1864)
Speciation Characteristics and Bioavailability of Heavy Metals in Oasis Soil Under Pb, Zn Combined Stress .....	JIN Cheng, ZHAO Zhuan-jun, NAN Zhong-ren, <i>et al.</i> (1870)
Influence of Sulfur on the Formation of Fe-Mn Plaque on Root and Uptake of Cd by Rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) .....	WANG Dan, LI Xin, WANG Dai-chang, <i>et al.</i> (1877)
Effects of Ozone on Photosynthesis of Several Plants .....	LI Miao-miao (1888)
A Method Research on Environmental Damage Assessment of a Truck Rollover Pollution Incident .....	CAI Feng, ZHAO Shi-bo, CHEN Gang-cai, <i>et al.</i> (1902)

# 《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)

2015年5月15日 第36卷 第5期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 5 May 15, 2015

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