

柱层析法纯化藻胆蛋白的紫外-可见光谱特征研究与机理分析

武康¹, 汪家权¹, 赵冰冰², 方艳¹, 张发宇^{3*}

1. 合肥工业大学资源与环境工程学院, 安徽 合肥 230009
2. 合肥工业大学土木与水利工程学院, 安徽 合肥 230009
3. 合肥工业大学电子科学与应用物理学院, 安徽 合肥 230009

摘要 紫外-可见吸收光谱法不仅可以应用于分析藻胆蛋白种类以及纯度, 还可以用于分析并指导其提取纯化过程。以巢湖新鲜蓝藻为实验原料, 以 CellufineA-500 与羟基磷灰石为填料, 运用柱层析法精致纯化藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白; 根据两种填料对应的洗脱峰在洗脱曲线上的特点, 充分利用藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白与核酸、类胡萝卜素、一般蛋白质的紫外-可见光谱特性的差别, 研判洗脱峰组分与含量的动态变化。通过紫外-可见吸收光谱法分段研究两种填料柱层析法精致纯化藻胆蛋白洗脱峰的光谱学特征及其变化规律, 能够定性定量地判断出各洗脱峰的组分和含量变化; 结合两种填料的特性, 能够分析出藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白、藻红蛋白等的电荷特性与配位能力强弱, 从而揭示两种柱层析填料分段洗脱的内在机理和本质。在 CellufineA-500 纯化藻胆蛋白过程中, 随着洗脱液的更换, 洗脱曲线上会出现 4 个洗脱峰, 经扫描取样点的紫外-可见吸收光谱分析后发现: I 峰主要成分为带正电荷或电中性的杂蛋白与类胡萝卜素; II 峰主要成分为带少量负电荷的藻红蛋白、杂蛋白与核酸; III 峰主要成分为带有较多负电荷的高纯度藻蓝蛋白及少量别藻蓝蛋白, 且由于藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白未能完全分离, 制约了藻蓝蛋白纯度的进一步提高; IV 峰主要成分为带有大量负电荷的杂蛋白与低纯度藻蓝蛋白。在羟基磷灰石纯化藻胆蛋白过程中, 随着洗脱液的更换, 洗脱曲线上出现 3 个洗脱峰, 经扫描取样点的紫外-可见吸收光谱后发现: I 峰主要表征为阳离子或碱性蛋白质的杂蛋白、核酸与类胡萝卜素成分等; II 峰主要表征为与钙离子结合生成较弱配位键的高纯度藻蓝蛋白成分, 且由于藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白能完全分离, 有利于藻蓝蛋白纯度的进一步提升; III 峰主要表征为与钙离子结合生成较强配位键的高纯度别藻蓝蛋白成分。

关键词 光谱分析; 藻胆蛋白; 柱层析

中图分类号: X524

文献标识码: A

DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)04-1107-06

引言

近年来, 随着社会经济的快速发展, 河流湖泊的富营养化程度愈发严重, 主要表现为夏季蓝藻大规模爆发, 政府要花大量资金打捞蓝藻, 如何实现蓝藻减量化、资源化和无害化是亟待解决的重要问题之一。目前的解决方案是把蓝藻作为反应物消化掉, 如好氧堆肥、产沼气、制备蓝藻基活性炭、生产生物塑料制品等。这些方法虽在一定程度上缓解了蓝藻的处置难题, 但存在被动消化、附加值不高、经济效益低等问题。

巢湖蓝藻体内有丰富的藻胆蛋白, 高纯度的藻胆蛋白具

有良好的抗衰老性、抗癌性和荧光免疫性等^[1]。提取与纯化高纯度藻胆蛋白既能实现主动消化、高附加值资源化的目的, 又可以推动进一步对藻胆蛋白特性的研究^[2]。紫外-可见吸收光谱法已被证明可以在提取纯化藻胆蛋白过程中发挥重要作用。这是由于藻胆蛋白(藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白)在紫外-可见波段(200~700 nm)除了具有一般的蛋白吸收峰(280 nm)外, 还各自具有其相应的最大特征吸收峰^[3]。如藻红蛋白在 565 nm 有强吸收峰, 藻蓝蛋白在 620 nm 有强吸收峰, 别藻蓝蛋白在 650 nm 有强吸收峰。通过对比测试样品的吸收峰强度及位置变化, 即可定性定量比较测试样品的各组分浓度差异。紫外-可见吸收光谱法成为藻胆蛋白提取纯化过程中评价提取纯化效果强有力的表征手段。本研究

收稿日期: 2019-03-20, 修订日期: 2019-07-08

基金项目: 国家“十二五”科技重大专项(2012ZX07103-004), 博士专项科研基金项目(JZ2018HGBZ0145)资助

作者简介: 武康, 1992年生, 合肥工业大学硕士研究生 e-mail: 1090181266@qq.com

* 通讯联系人 e-mail: 124365911@qq.com

以巢湖新鲜蓝藻为实验原料,以 CellufineA-500 与羟基磷灰石为柱层析填料,结合两种填料对应的洗脱峰在洗脱曲线上的特点,在前人研究的基础上,充分利用藻红蛋白、藻蓝蛋白、别藻蓝蛋白与一般蛋白质的紫外-可见光谱特性的差别,研判洗脱峰组分的动态变化。通过研究进一步掌握收集高纯度藻胆蛋白的时机,深入揭示了两种柱层析填料纯化藻胆蛋白的机理,为蓝藻高附加值资源化提供一定的理论支撑。目前提取新鲜蓝藻的生物物质及相应理论的研究尚属稀缺,因此开展的对藻胆蛋白纯化实验的光谱学分析将会为今后多维度深层次综合利用蓝藻以及研究其他提取生物物质实验的理论提供一定的思路和参考。

1 实验部分

1.1 样品采集

巢湖新鲜藻泥,采自于合肥市巢湖西湖区水体距表层 15 cm 处。直接打捞,经四层纱布过滤除去部分水分后,带回实验室-18 °C 冷冻保存备用。

1.2 仪器与试剂

紫外-可见分光光度计(TU-1950),北京普析通用公司;高速冷冻离心机(KDC-160HR),安徽中科中佳科学仪器有限公司;电子天平(FA2004N),上海民桥精密科学仪器有限公司;恒温磁力搅拌器(85-2A),江苏金城国胜仪器厂。

常用试剂:磷酸盐缓冲试剂(PBS),NaCl,NaOH,盐酸,(NH₄)₂SO₄(以上试剂均为分析纯);CellufineA-500,GE公司;羟基磷灰石(HT-B),Biocanal公司。

1.3 工艺流程

蓝藻藻泥→反复冻融提取→过滤→离心分离制备粗提液→一步盐析→离心收集上清液→二步盐析→透析脱盐→柱层析(CellufineA-500,羟基磷灰石)分离纯化→收集洗脱组分→紫外-可见吸收光谱法分析。

1.4 表征方法

根据藻胆蛋白的紫外-可见吸收特性,使用紫外-可见吸收光谱法表征提取纯化藻胆蛋白过程中物质含量相应变化。藻胆蛋白在紫外-可见波段(200~700 nm)除了具有一般的蛋白吸收峰(280 nm)外,还各自具有相应的最大特征吸收峰。对洗脱曲线在不同洗脱峰下根据峰的强度、面积大小选择相应的取样点,对取样点对应的各溶液进行 200~700 nm 全波长扫描,得到各洗脱峰的光谱扫描变化图,以此表征分析各组分随着时间的动态变化。

2 结果与讨论

2.1 CellufineA-500 分离藻胆蛋白的紫外-可见光谱分析

图 1 为使用 CellufineA-500 作为柱层析填料,用以分离藻胆蛋白的典型洗脱峰的信号图。在加入缓冲液之后,会分别出现对应的洗脱峰。根据不同洗脱峰的强度、面积大小选择相应的取样点。将取样点相应的各溶液稀释后进行 200 nm~700 nm 全波长扫描。由于取样点按照时间节点有序排列,故得到各洗脱峰的光谱扫描变化图,以此分析各洗脱峰

的组分及其含量动态变化,如图 2 所示。

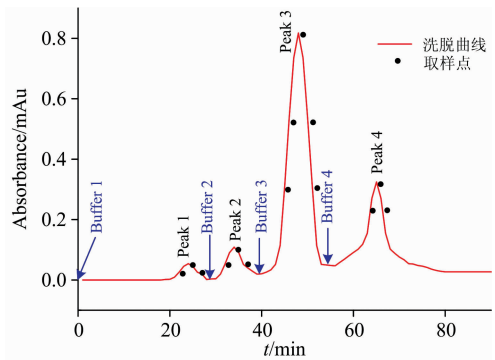


图 1 Cellufine A-500 分离藻胆蛋白的典型洗脱峰图

Fig. 1 Typical elution peak map of phycobiliprotein separated by Cellufine A-500

2.1.1 洗脱峰 I 的紫外-可见光谱图变化分析

图 2(a)为图 1 中 Peak 1 中所选取的取样点进行 200~700 nm 全波长扫描后所绘制的光谱图。如图中所示,取样点 A, B 和 C 在 280 及 414 nm 均有吸收峰,这表明 Peak 1 所对应的物质为杂蛋白及类胡萝卜素^[4],且杂蛋白的浓度较高。由于 CellufineA-500 是阴离子交换填料,Buffer 1 为平衡缓冲液,故洗脱下来的杂蛋白和类胡萝卜素与填料不发生吸附作用,应为阳离子或者电中性分子。类胡萝卜素的吸收峰为 414 nm,则表明类胡萝卜素的主要成分为链孢红素。类胡萝卜素积累的前提之一是高强度的光线,对应着夏季巢湖蓝藻的大量爆发。此外,图 2(a)中浓度关系为: B>A>C,对应着图 1 中 Peak 1 取样点 B 的峰值。

2.1.2 洗脱峰 II 的紫外-可见光谱图变化分析

图 2(b)为图 1 中 Peak 2 中所选取的取样点进行 200~700 nm 全波长扫描后所绘制的光谱图。如图中所示,取样点 A, B 和 C 除了在 268 nm 有最大吸收峰外,在 540 及 565 nm 均有强吸收峰,这表明 Peak 2 所对应的物质为藻红蛋白^[5]、杂蛋白及部分核酸;且由于核酸的存在,最大吸收峰波长由 280 nm 蓝移至 268 nm 处。藻红蛋白浓度不高且难以大量富集,提取纯化价值不大,应考虑作为杂蛋白去除。Buffer 2 为添加低浓度盐的缓冲液,这表明此时去除的物质与填料发生弱吸附作用,应为带少量负电荷的物质,如核酸、藻红蛋白等,这也表明藻红蛋白的等电点高于藻蓝蛋白。对比 A, B 和 C 三点变化趋势,可看出 268 nm 处的峰强度降低后,导致 565 nm 处的峰强度超过 268 nm 处,藻红蛋白的纯度略有上升,这表明核酸比藻红蛋白优先被去除。

2.1.3 洗脱峰 III 的紫外-可见光谱图变化分析

图 2(c)为图 1 中 Peak 3 中所选取的取样点进行 200~700 nm 全波长扫描后所绘制的光谱图。如图中所示,取样点 A, B, C, D 和 E 除了在 277 nm 有强吸收峰外,在 620 nm 有最大吸收峰以及 358 nm 有副吸收峰,与图 3 中藻蓝蛋白标准光谱图中典型的最大吸收峰(620 nm 处)和蛋白质吸收峰(277 nm 处)一致,表明 Peak 3 所对应的物质为高纯度藻蓝蛋白;对比 A, B, C, D 和 E 取样点的变化趋势,可看出 620 nm 处的峰强度先上升然后保持稳定最后下降,这表明藻蓝

蛋白的浓度先上升后下降，且在 C 点处达到最大。B、C 和 D 点藻蓝蛋白纯度均超过 4.0，这表明 B 点到 D 点为高纯度藻蓝蛋白的最佳收集段；但 B 点纯度最高，达到 4.26，与浓度

变化略有不同。为了探究其中缘由，在 Peak 3 出峰时间(43 ~ 53 min)间隔半分钟测藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白相对含量，如图 4 所示。

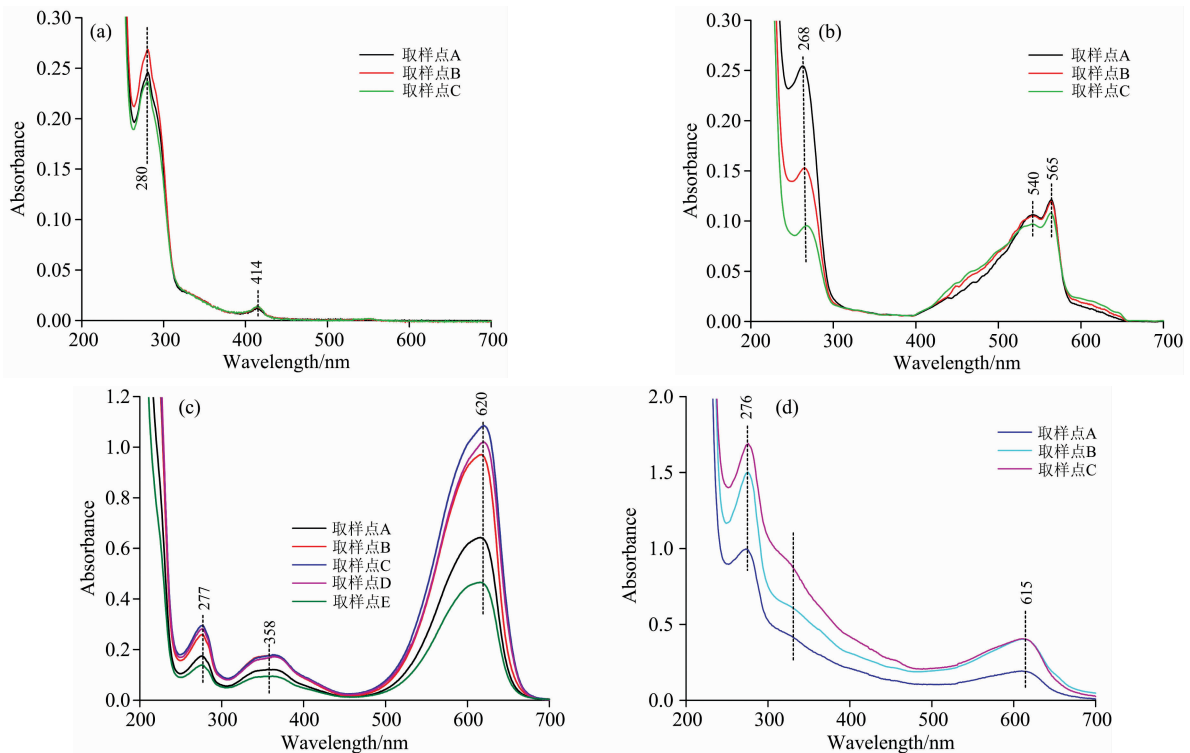


图 2 各洗脱峰取样点的紫外-可见吸收光谱变化图

(a): 峰(I); (b): 峰(II); (c): 峰(III); (d): 峰(IV)

Fig. 2 UV-Visible absorption spectrum change of sampling points of each eluting peak

(a): Peak (I); (b): Peak (II); (c): Peak (III); (d): Peak (IV)

图 4 中藻蓝蛋白的相对含量先上升后下降，最高达到 95.2%，且相对集中分布于前半段，这表明藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白未能完全分离，从而制约了藻蓝蛋白纯度的进一步提高。由于 Buffer 3 的离子强度进一步提升，非吸附作用特别强的组分均会被洗脱下来，故藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白应带有较多负电荷，且数量接近。由于藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白的浓度比约为 2 : 1，故藻蓝蛋白会相对集中的被分离出，但不能完全排除别藻蓝蛋白的干扰。

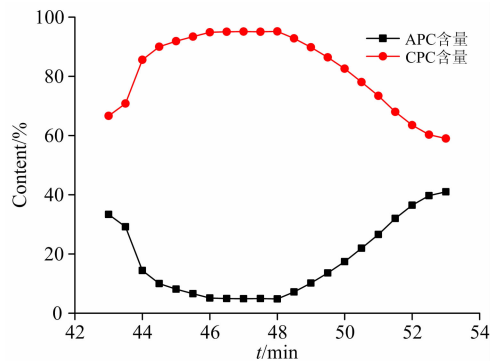


图 4 Ⅲ峰藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白相对含量变化图

Fig. 4 The change of relative content of phycocyanin and allophycocyanin in peak III

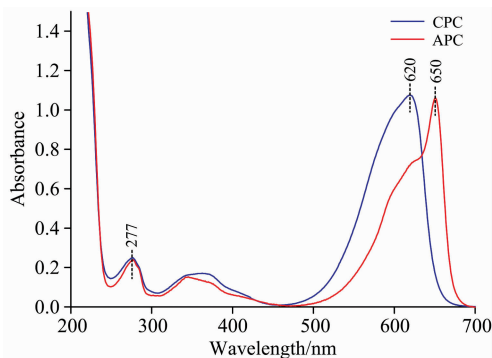


图 3 藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白的标准光谱图

Fig. 3 Standard spectrum of phycocyanin and allophycocyanin

2.1.4 洗脱峰IV的紫外-可见光谱图变化分析

图 2(d)为图 1 中 Peak 4 中所选取的取样点进行 200 ~ 700 nm 全波长扫描后所绘制的光谱扫描图。如图中所示，取样点 A、B 和 C 除了在 276 nm 有最大吸收峰外，还在 615 nm 有强吸收峰，这表明 Peak 4 所对应的物质为杂蛋白及低纯度藻蓝蛋白。由于 Buffer 4 的离子强度进一步升高，吸附作用强的组分一般也会被洗脱下来，此时洗脱的组分应带有

大量负电荷。对比 A, B 和 C 取样点的变化趋势, 可看出藻蓝蛋白吸收峰波长由 620 nm 蓝移至 615 nm 处, 而 276 nm 处吸收峰的强度增加。这表明低纯度藻蓝蛋白先于杂蛋白被洗脱, 这可能是由于这部分杂蛋白等电点更低、带有更多负电荷所导致。

2.2 羟基磷灰石分离藻胆蛋白的紫外-可见光谱分析

图 5 为使用羟基磷灰石作为柱层析填料, 用以分离藻胆蛋白的典型洗脱峰的信号图。如图 5 在加入缓冲液之后, 会分别出现对应的洗脱峰。根据不同洗脱峰的强度、面积大小选择相应的取样点。然后将取样点相应的各溶液稀释后进行 200~700 nm 全波长扫描。由于取样点按照时间节点有序排列, 故得到各洗脱峰的光谱扫描变化图, 以此分析各洗脱峰的组分及其含量动态变化, 如图 5 所示。

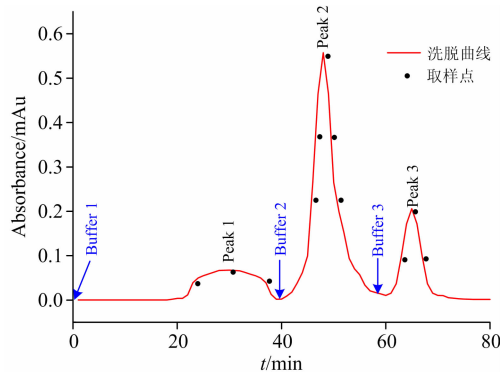


图 5 羟基磷灰石分离藻胆蛋白的典型洗脱峰图
Fig. 5 Typical elution peak map of phycobiliprotein separated by Hydroxyapatite

2.2.1 洗脱峰 I 的紫外-可见光谱图变化分析

图 6(a) 为图 5 中 Peak 1 中所选取的取样点进行 200~700 nm 全波长扫描光谱图。如图中所示, 取样点 A, B 和 C 在 260 nm (272 nm) 处均有最大吸收峰, 在 414, 540 及 565 nm 均有吸收峰, 表明 Peak 1 所对应的物质为杂蛋白、核酸、少量类胡萝卜素和藻红蛋白, 且杂蛋白与核酸的含量较高。由于羟基磷灰石是金属螯合亲和填料, Buffer 1 为平衡缓冲液, 故洗脱下来的杂蛋白、核酸、藻红蛋白和类胡萝卜素与填料不发生螯合反应, 应为碱性蛋白质或正离子。此外, 图 6(a) 中 B 点 260, 540 与 565 nm 峰强度均高于 A 与 C 点, 这表明在 B 点处藻红蛋白与核酸浓度高于两边, 对应着图 5 中 Peak 1 取样点 B 峰值。

2.2.2 洗脱峰 II 的紫外-可见光谱图变化分析

图 6(b) 为图 5 中 Peak 2 中所选取的取样点进行 200~700 nm 全波长扫描的光谱图。如图中所示, 取样点 A, B, C, D 和 E 在 620 nm (615 nm) 处均有最大吸收峰, 在 278 及 358 nm 均有吸收峰, 与图 3 中藻蓝蛋白标准谱图中典型的最大吸收峰和蛋白质吸收峰一致, 这表明 Peak 2 所对应的物质为高纯度藻蓝蛋白。由于 Buffer 2 增加了磷酸盐缓冲液浓度, 故会竞争性地置换结合蛋白质, 使与钙离子形成较弱配位键的组分发生解吸反应。因此, 藻蓝蛋白应为酸性蛋白质, 与钙离子可发生较弱的螯合反应。此外, 图 6(b) 中 A 和

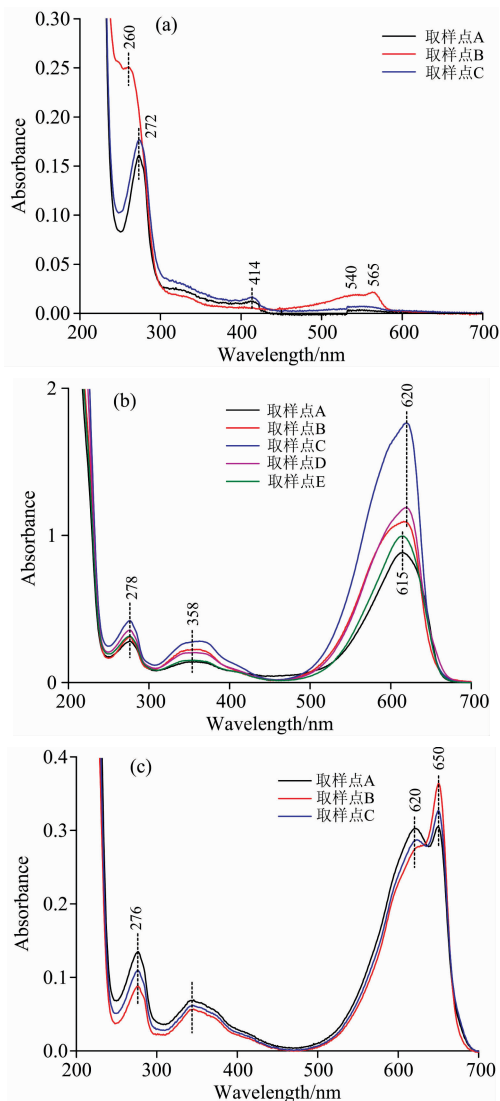


图 6 各洗脱峰取样点的紫外-可见吸收光谱变化图
(a): 峰 (I); (b): 峰 (II); (c): 峰 (III)

Fig. 6 UV-Visible absorption spectrum change of sampling points of each eluting peak

(a): Peak (I); (b): Peak (II); (c): Peak (III)

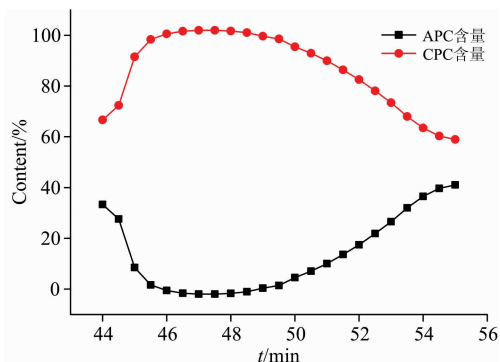


图 7 II 峰藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白相对含量变化图
Fig. 7 The change of relative content of phycocyanin and allophycocyanin in peak II

E 两点最大吸收峰为 615 nm 处,这可能是由于 A 和 E 两点尚存在少量杂蛋白;随着纯度的增加,最大吸收峰逐渐红移至 620 nm 处。到 C 点时纯度最高,可达 4.62,高于 CellufineA-500 柱纯化的藻蓝蛋白,为了探究其中缘由,在 Peak 2 出峰时间(44~55 min)间隔半分钟测藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白相对含量,如图 7 所示。

图 7 中藻蓝蛋白的相对含量先上升后下降,最高达到 100%,且于 46~50 min 内均可以保持,表明这段时间内藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白能够完全分离,从而较大程度上提高了藻蓝蛋白的纯度。分析认为由于配位键的存在,使得金属螯合亲和色谱的特异性高于阴阳离子交换色谱,因此羟基磷灰石的纯化分辨率大于 CellufineA-500,故能完全分离藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白。

2.2.3 洗脱峰Ⅲ的紫外-可见光谱图变化分析

图 6(c)为图 5 中 Peak 3 中所选取的取样点进行 200~700 nm 全波长扫描后所绘制的光谱图。如图中所示,取样点 A, B 和 C 在 650 与 620 nm 处有显著吸收峰,在 276 nm 处有相应蛋白吸收峰,与图 3 中别藻蓝蛋白标准谱图中典型的最大吸收峰(650 nm 处)和蛋白质吸收峰一致,这表明 Peak 3 所对应的物质为别藻蓝蛋白与少量藻蓝蛋白。由于 Buffer 3 进一步增加了磷酸盐缓冲液浓度,故会竞争性地置换结合蛋白质,显著降低柱容量,使与钙离子形成较强配位键的组分也发生解吸反应。因此,别藻蓝蛋白应为酸性蛋白质,与钙离子可发生较强的螯合反应,配位键强度大于藻蓝蛋白与钙离子生成的配位键。此外,图 6 中 A 和 C 两点在 620 nm

处均有强吸收峰,而非 B 点处的副吸收峰,这可能是由于藻蓝蛋白与别藻蓝蛋白的浓度比约为 2:1,故 A 和 C 处两点尚存在少量藻蓝蛋白,使得在 620 nm 处的吸收峰强度增加;随着纯度的增加,620 nm 处的吸收峰强度逐渐下降,而 650 nm 处的吸收峰强度逐渐上升。到 B 点时纯度最高,可达 4.33,而 CellufineA-500 却无法达到这种分离效果,这是由于二者纯化机理不同所导致的。

3 结 论

CellufineA-500 填料能够有效地将藻红蛋白、核酸、类胡萝卜素与杂蛋白从藻胆蛋白初步纯化液中去掉,最终获得纯度为 4.2 的试剂级藻蓝蛋白,但不能完全分离藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白;羟基磷灰石填料不仅能够有效地将藻红蛋白、核酸、类胡萝卜素与杂蛋白从藻胆蛋白初步纯化液中去掉,还能够有效分离藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白,同时获得试剂级藻蓝蛋白和试剂级别藻蓝蛋白。

运用紫外-可见吸收光谱变化图逐一分析各洗脱峰,能够有效鉴别各洗脱峰的组分和分离变化过程,动态演绎了两种柱层析填料分离杂质、纯化藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白的过程,阐明了两种柱层析填料的作用机理。本工作对藻胆蛋白纯化实验的光谱学分析将会为今后多维度深层次综合利用蓝藻以及研究其他提取生物物质实验的理论提供一定的思路和参考。

References

- [1] Stadnichuk I N, Tropin I V. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2017, 53(1): 1.
- [2] Solymosi K, Mysliwakurdziel B. *Mini-reviews in Medicinal Chemistry*, 2017, 17(13): 1173.
- [3] Li Wenjun, Su Hainan, Pu Yang, et al. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(2): 340.
- [4] Mariana M M, Eduardo J L, Leila Q Z, et al. *Food Chemistry*, 2019, 287: 295.
- [5] Ghosh T, Vyas A, Bhayani K, et al. *Journal of Fluorescence*, 2018, 28(2): 671.

Ultraviolet-Visible Spectral Characteristics and Mechanism Analysis of Purification of Phycobiliprotein by Column Chromatography

WU Kang¹, WANG Jia-quan¹, ZHAO Bing-bing², FANG Yan¹, ZHANG Fa-yu^{3*}

1. School of Resources and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

2. College of Civil Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

3. School of Electronic Science and Applied Physics, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

Abstract UV-Vis absorption spectroscopy can be applied not only to the analysis of phycobiliprotein species and purity, but also to the analysis and guidance of its extraction and purification processes. In this paper, the fresh cyanobacteria of Chaohu Lake were used as experimental material, and the phycocyanin and allophycocyanin were refined by column chromatography using Cellufine A-500 and hydroxyapatite as fillers. According to the characteristics of the elution peaks corresponding to the two kinds of fillers on the elution curve, making full use of the difference in the UV-visible spectral characteristics of phycoerythrin, phycocyanin, allophycocyanin and nucleic acid, carotenoids, general proteins, so the dynamic change of the elution peak composition and content can be judged. UV-Visible absorption spectroscopy was used to study the spectral characteristics and variation of

phycobiliprotein elution peaks by two kinds of packed column chromatography, the change of composition and content of each elution peak can be qualitatively and quantitatively determined; combining the characteristics of the two kinds of fillers, the charge characteristics and coordination ability of phycocyanin, allophycocyanin, phycoerythrin, etc. can be analyzed, revealing the intrinsic mechanism and essence of the fractional elution of the two column chromatography materials. During the purification of phycobiliprotein by Cellufine A-500, four elution peaks appeared on the elution curve with the replacement of the eluate. After scanning the ultraviolet-visible absorption spectrum of the sampling point, it was found that: The main component of peak I is positively charged or electrically neutral hetero protein and carotenoid; the main component of peak II is phycoerythrin, hetero-protein and nucleic acid with a small amount of negative charge; the main component of the peak III is high-purity phycocyanin with a large negative charge and a small amount of allophycocyanin, and the further improvement of the purity of phycocyanin is restricted due to the incomplete separation of phycocyanin and allophycocyanin; The main component of the peak IV is a hetero protein and a low-purity phycocyanin with a large amount of negative charge. In the process of purifying phycobiliprotein by hydroxyapatite, three elution peaks appeared on the elution curve with the replacement of the eluate. After scanning the ultraviolet-visible absorption spectrum of the sampling point, it was found that: The main component of the peak I is ionic or basic protein, such as hetero protein, nucleic acid, carotenoid, or the like; The main component of the peak II is high-purity phycocyanin which combines with calcium ions to form a weak coordination bond, and the phycocyanin and the allophycocyanin can be completely separated, which is beneficial to further improvement of the purity of the phycocyanin; The main component of the peak III is a high-purity allophycocyanin which combines with calcium ions to form a strong coordinate bond.

Keywords Spectral analysis; Phycobiliprotein; Column chromatography

(Received Mar. 20, 2019; accepted Jul. 8, 2019)

* Corresponding author

《光谱学与光谱分析》对来稿英文摘要的要求

来稿英文摘要不符合下列要求者, 本刊要求作者重写, 这可能要推迟论文发表的时间。

1. 请用符合语法的英文, 要求言简意明、确切地论述文章的主要内容, **突出创新之处**。
2. 应拥有与论文同等量的主要信息, 包括四个要素, 即研究目的、方法、结果、结论。其中后两个要素最重要。有时一个句子即可包含前两个要素, 例如“用某种改进的 ICP-AES 测量了鱼池水样的痕量铅”。但有些情况下, 英文摘要可包括研究工作的主要对象和范围, 以及具有情报价值的其他重要信息。在结果部分最好有定量数据, 如检测限、相对标准偏差等; 结论部分最好指出方法或结果的优点和意义。
3. 句型力求简单, 尽量采用被动式, 建议经专业英语翻译机构润色, 与中文摘要相对应。用 A4 复印纸单面打印。
4. 摘要不应有引言中出现的内容, 换言之, 摘要中必须写进的内容应尽量避免在引言中出现。摘要也不要对论文内容作解释和评论, 不得简单重复题名中已有的信息; 不用非公知公用的符号和术语; 不用引文, 除非该论文证实或否定了他人已发表的论文。缩略语、略称、代号, 除相邻专业的读者也能清楚地理解外, 在首次出现时必须加以说明, 例如用括号写出全称。