

碳源及氮源对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响

吴光学, 管运涛*, 王剑秋, 蒋展鹏

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要:研究了碳源及氮源对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响. 结果表明, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 及有机氮利于菌体积累 PHB. 一定碳氮比条件下, 低碳源浓度下菌体积累 PHB 较多, 但结合菌体生长则高浓度碳源较好. 对于不同基质而言, 菌体利用丁酸盐利于积累 PHB, 乙酸盐次之, 丙酸盐不利. 混合基质以丁酸盐为主时比单一基质利于积累 PHB. CO_2 浓度(以 NaHCO_3 代替)对菌体利用乙酸盐或丁酸盐积累 PHB 有所影响, 相比较而言一定浓度的 CO_2 有利于促进 PHB 的积累量.

关键词:紫色非硫光合细菌; 聚- β -羟基丁酸酯; 资源化

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)06-0102-06

Effect of Carbon and Nitrogen Sources on the Accumulation of Poly- β Hydroxybutyrate by Purple Non Sulfur Photosynthetic Bacteria

WU Guang-xue, GUAN Yun-tao, WANG Jian-qiu, JIANG Zhan-peng

(Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The effect of carbon and nitrogen sources on the accumulation of Poly- β Hydroxybutyrate (PHB) by purple non-sulfur photosynthetic bacteria (PNSB) was investigated. The results showed that ammonia nitrogen and organic nitrogen could benefit the PNSB accumulating PHB; under certain ratio of carbon and nitrogen low carbon concentration can accumulate more PHB, but high carbon concentration is better for PNSB accumulating PHB with the growth of PNSB. As to different substrates, butyrate is the best for accumulating of PHB, but acetate is better and propionate is the poorest. Mixed substrate with butyrate as the main content are better than single substrate; carbon dioxide have certain effect on the PNSB accumulating PHB, and high carbon dioxide concentration can improve PHB content when using acetate or butyrate as substrate.

Key words: purple non-sulfur photosynthetic bacteria; poly- β hydroxybutyrate; reclamation

污染治理的目的是实现各种物质的良性循环, 以维持自然界固有生态系统的稳定和谐与发展. 污水生物处理的同时会产生较多的剩余污泥, 而污泥的治理费用占整个污水处理工艺投资和运行的较大部分, 所以应寻求一种有效利用剩余污泥的途径, 以减少相应的处理成本以及实现可持续发展. 现在的研究热点之一便是从活性污泥中回收聚- β -羟基丁酸酯^[1~3] (简称 PHA, 一种可生物降解塑料的成份), 以实现资源化利用剩余污泥的目的, 此途径不但解决了常规发酵等方法生产 PHA 成本太高的不足, 同时也降低了污水处理后污泥处理的费用.

紫色非硫光合细菌是一类能够处理高浓度有机废水的菌群, 在营养不平衡条件下(如碳源过剩而其它如氮、磷、硫等营养限制)能在其体内积累聚- β -羟基丁酸酯^[4] (poly- β -hydroxybutyrate 简称 PHB, 是 PHA 的主要组成种类), 所以研究其生长过程中积累 PHB 的主要影响因素, 对于进一步研究其用于污水处理同时实现资源化利用的目的是很有价值的. 以前研究^[5, 6]多采用容积很小的光合反应器研究紫色非硫光合细菌(单菌株)分批培养并积累 PHB 的

情况, 而本研究主要以序批式反应器运行方式考察了动态条件(定时排出培养液与补料)下氮作为营养限制元素, 碳源及氮源对紫色非硫光合细菌(混合菌株)积累 PHB 的影响, 以期能为进一步扩大培养的研究提供有益的参考.

1 实验部分

1.1 实验材料

根据伯杰氏细菌分类手册^[7], 紫色非硫光合细菌初步鉴定为胶质红假单胞菌(*Rhodopseudomonas gelatinosa*)、荚膜红假单胞菌(*Rhodopseudomonas capsulata*)以及绿色红假单胞菌(*Rhodopseudomonas viridis*), 菌种由本实验组厌氧-好氧一体化反应器厌氧区活性污泥中分离得到.

1.2 测定方法

菌体干重及 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 测定采用标准方法^[8];

收稿日期: 2003-12-08; 修订日期: 2004-03-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50108007)

作者简介: 吴光学(1979-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水污染的控制技术与理论.

* 联系人

PHB 采用 Law 等^[9]所述的紫外分光光度计法测定.

1.3 实验装置与方法

采用有效容积为 1 L 的白色广口瓶(直径为 10cm)作为光合反应器,接种 20 %紫色非硫光合细菌(浓度在 2g/L 左右)培养 4d 作为反应器运行的初始阶段;初步研究表明,该混合菌体生长以及在氮源限制条件下积累 PHB 都在 3 ~ 4d 以后速率基本达到稳定,所以此实验采用每天在同一时间取出 1/4 的培养液并加入相同数量的营养液进行培养的方式,以保证紫色非硫光合细菌的生长量及积累 PHB 的量;实验采用静止培养方式;光照为 2 盏 60 W 的白炽灯;温度控制在 28 ~ 32 ℃;实验过程中,pH 不 进行控制,一般维持在 7.0 ~ 9.0 之间,除了硝酸盐做氮源系统以及混合基质加入葡萄糖的系统 pH 逐渐变为酸性以外,同一批实验其值相差不大且变化趋势基本一致.

根据初步实验所得的紫色非硫光合细菌积累 PHB 的条件,选择进水中碳源与氮源的比例 TOC/TN 为 12.3.研究氮源影响时,氮源分别为 NH₄Cl (0.4g/L)、NaNO₃ 及蛋白胨(后两者所含氮量和氯化铵氮量相同),碳源 TOC(乙酸钠:葡萄糖为 3:1)浓度为 1.28 g/L;研究碳源浓度影响时,基质采用 TOC(乙酸钠:葡萄糖为 3:1)浓度分别为 0.42g/L(简写为 C1)、0.84g/L(简写为 C2)和 1.28g/L(简写为 C3);研究不同基质的影响时,基质溶液采用 TOC 为 1.28g/L,各种混合基质中碳源 TOC 比例分别为丁酸:葡萄糖为 2:1(简写为 H1)、丁酸盐:乙酸盐为 2:1(简写为 H2)、丁酸盐:乙酸盐:丙酸盐为 4:2:1(简写为 H3),氮源为 NH₄Cl(0.4g/L);研究 CO₂ 影响时,以 NaHCO₃ 替代,当以乙酸钠作为基质时 NaHCO₃ 浓度分别采用 0g/L(简写为 C20)、0.2g/L(简写为 C21)和 0.4g/L(简写为 C22),当以丁酸作为基质时 NaHCO₃ 浓度分别为 0g/L(简写为 C40)、0.4g/L(简写为 C41)和 0.7g/L(简写为 C42),这 2 种情况下碳源浓度采用 TOC 为 1.28 g/L,氮源为 NH₄Cl(0.4g/L);除以上所提及的成分,其它不同成分见表 1.

表 1 各种药品成分及含量/ mg·L⁻¹

Table 1 Content of the medium/ mg·L⁻¹

药品	含量	药品	含量
NaCl	500	MgSO ₄ ·7H ₂ O	200
K ₂ HPO ₄	300	KH ₂ PO ₄	500
FeCl ₃ ·7H ₂ O	5	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.05
H ₃ BO ₄	1	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.05
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.5

2 结果与讨论

2.1 不同氮源对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响

在本实验中因为原菌液中存在较高的 NH₄⁺-N 浓度,实验开始时尽管进水维持氮元素为限制因素,但实际上菌体仍然处于营养相对平衡状态(NH₄⁺-N 变化如图 1 所示),所以其积累 PHB 的能力较低(图 2);而后,随着 NH₄⁺-N 浓度的降低,系统逐渐向营养不平衡状态发展,开始出现一比较有利于菌体积累 PHB 的条件,积累 PHB 出现最大值;继而因为系统碳氮比基本维持在恒定的水平上,所以其积累 PHB 的能力由于菌体受到一定程度的驯化,积累 PHB 的量开始降低,最后便维持在一定的水平上.

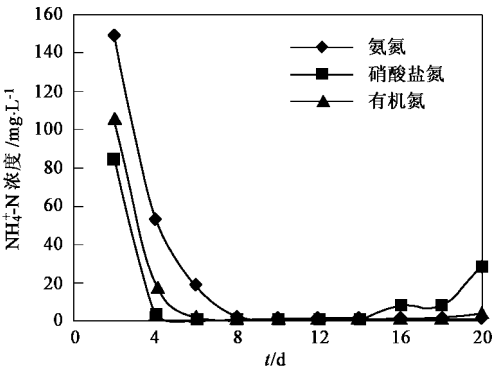


图 1 不同氮源下培养液中 NH₄⁺-N 变化

Fig. 1 NH₄⁺-N concentration under various nitrogen conditions

从不同氮源情况下菌泥中 PHB 的变化和菌体浓度变化图(图 2,图 3)可以看出,运行开始时原菌液中存在较高的 NH₄⁺-N,所以不同氮源系统积累

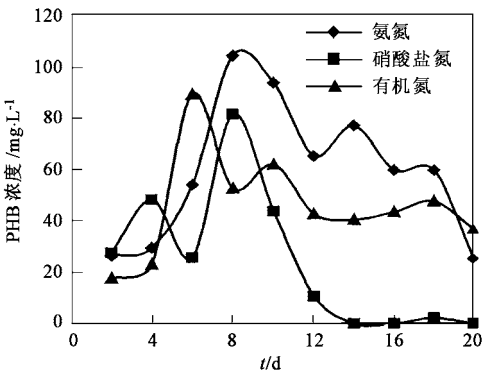


图 2 不同氮源下菌泥中 PHB 变化

Fig. 2 PHB concentration under various nitrogen conditions

PHB 和菌体生长状况相似;在 8 d 以后的运行中,硝酸盐系统中因为没有足够的可利用的 NH₄⁺-N,系统

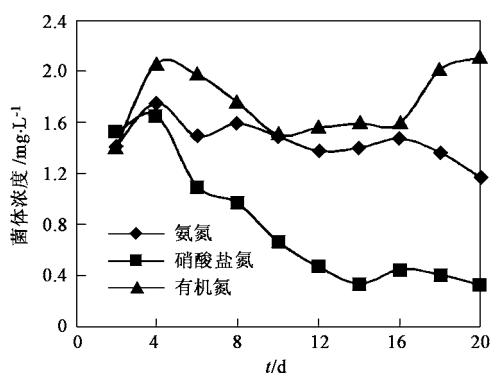


图3 不同氮源下菌体浓度变化

Fig.3 Cell concentration under various nitrogen conditions

运行开始逐渐失效;而 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 以及有机氮系统所提供的营养状态下,菌体仍能维持一定的生长状态,并能积累一定量的 PHB;对于积累 PHB 来说,主要受到 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 形态的氮营养元素的影响,适量的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对于积累 PHB 有利,而对于菌体生长来说,以有机氮系统有利,其菌体浓度一直维持在较高的范围内,这是因为蛋白胨本身就具有促进细菌生长的作用.从上述实验现象可以看出,对于 PHB 积累量来说 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 形式和有机氮(蛋白胨)是有利的,这主要是因为实验所用菌株趋向于利用 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 作为其代谢的氮源,或者利用有机氮直接合成有机体,而不能直接利用硝酸盐氮进行生命代谢活动,这与光合细菌利用氮源情况相符合,即一般的光合细菌通过固氮、氮氧化或者直接利用有机氮进行生命代谢活动^[10].

2.2 碳源对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响

2.2.1 不同碳源浓度对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响

如上所述,本实验通过控制进水中碳氮比,由于接种的原菌液中存在较高的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$,所以开始时菌体是处于营养平衡状态的,而后由于 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 逐渐降低而处于营养不平衡状态,故而各不同碳源浓度系统积累 PHB 的趋势和上述不同氮源情况相似,图 4 所描述的趋势正好说明菌体积累 PHB 的能力是和菌体所处的营养状态相对应.总体来看,不同碳源浓度对于菌体积累 PHB 能力影响的趋势相似,这主要是因为菌体处在相同的进水碳氮比情况下,即处在相似的营养不平衡状态下造成的.对于积累 PHB 的能力,可见低浓度积累量较多,但从碳源浓度对菌体生长的影响来看(图 5),低浓度碳源不利于菌体生长而可能会使系统运行失效.结合此两者来考虑,

实际应用时,处理较高浓度的污水对于紫色非硫光合细菌的生长以及积累 PHB 比较有利.

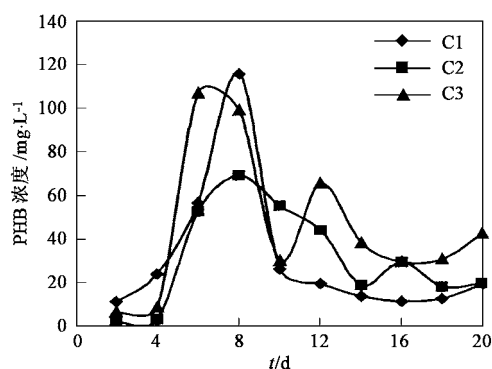


图4 不同碳源浓度下菌泥中 PHB 变化

Fig.4 PHB concentration under various carbon concentration conditions

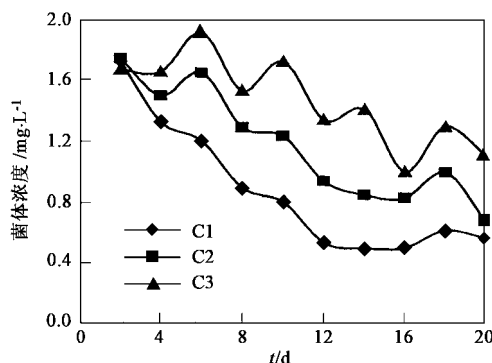


图5 不同碳源浓度下菌体浓度变化

Fig.5 Cell concentration under various carbon concentration conditions

2.2.2 不同基质类型对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响

对于不同基质影响紫色非硫光合细菌积累 PHB 来说,丁酸盐作为唯一基质情况除外,混合基质比单一基质对于积累 PHB 有利(图 6);从所研究的不同碳源种类角度看,丙酸盐最不利于积累内存物质 PHB,乙酸盐次之,而以丁酸盐最利于积累 PHB.丁酸盐无论是作为唯一基质,还是作为混合基质的一部分,都最利于 PHB 积累.乙酸盐与丁酸盐混合对于 PHB 的积累更有利,可能是基质种类的增加促进菌体的生长造成的;但是乙酸盐、丙酸盐以及丁酸盐的混合基质对于积累 PHB 相对于丁酸盐基质没有促进作用,这主要是因为部分微生物能利用丙酸盐,而积累较少的 PHB,所以使整体积累能力相对有所下降.菌体生长从不同基质的运行情况看(图 7),也是以含有丁酸盐的系统生长较好.

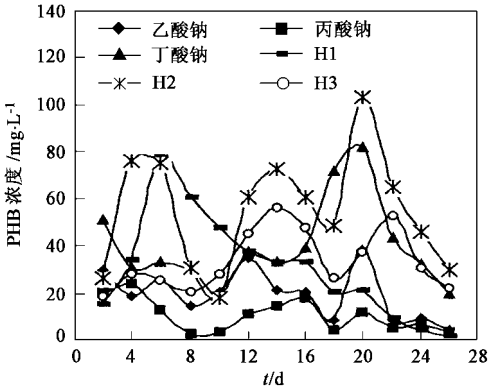


图 6 不同基质下菌泥中 PHB 变化

Fig. 6 PHB concentration under various carbon conditions

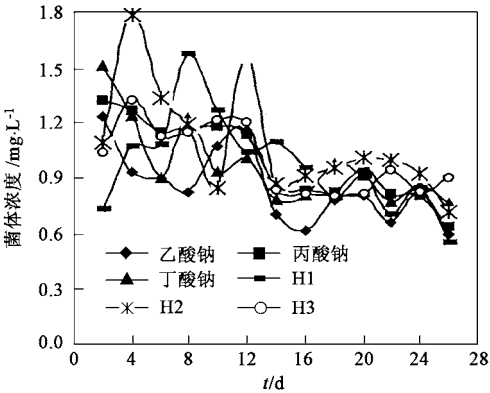


图 7 不同基质下菌体浓度变化

Fig. 7 Cell concentration under various carbon conditions

因此实验所用菌种是 3 种紫色非硫光合细菌的混合液,所以基质的种类对菌种的优势度是有影响的.培养液颜色开始时主要是以紫红色为主;对乙酸盐作为底物的系统,随着时间的增加,最后主要以棕绿色为主,说明优势菌种有所变化,此时铜绿红假单胞菌属的紫色非硫光合细菌占优势;而以丁酸盐为唯一底物时,占优势的菌种为紫红色,同时对于生长较好的其他系统,占优势的也是紫红色的,说明其主要是胶质红假单胞菌属;而对于棕色荚膜红假单胞菌属菌株的生长则处于中等优势程度.又因为本实验所用菌株是从同一系统得到,所以可以认为这几种菌之间可能存在某种共生关系,尤其是在混合基质情况下,不同种类的菌株趋向于利用不同种类的底物,而使整个系统处于相对较稳定的状态.

在实际处理高浓度有机废水时,预设一定的厌氧水解池以降解高分子物质为挥发性短链脂肪酸,有利于紫色非硫光合细菌积累内存物质 PHB.如采用合适的控制系统,使厌氧水解酸化以丁酸盐型^[11]

为主,生成以丁酸盐及乙酸盐为主的碳源物质,有利于此后利用紫色非硫光合细菌处理污水并积累 PHB.

2.3 CO₂ 对于紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响

2.3.1 以乙酸盐为唯一基质时的影响

从不同 CO₂ 浓度下菌体利用乙酸盐时菌泥中 PHB 变化可以看出(图 8),当以乙酸盐作为唯一碳源物质时,CO₂ 对于菌体积累 PHB 有一定影响,整体来看,一定浓度碳酸盐的存在有利于菌体积累内存物质 PHB;实际应用时,为保证菌体积累较多内存物质,提供一定量的碳酸盐还是必要的.图 8 中在高碳酸盐存在时,其最高积累量占到菌体干重的 15.9%,对于其积累能力的研究还需要进一步进行探索.CO₂ 的存在对于菌体利用乙酸盐时的影响没有规律性(图 9).

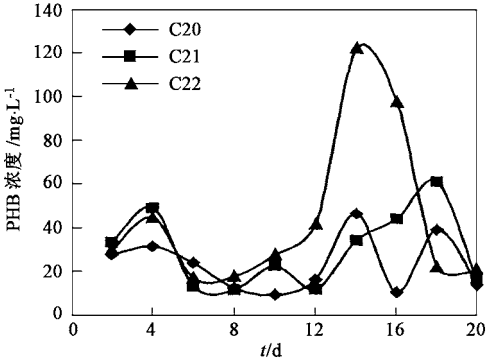


图 8 不同碳酸盐浓度下菌体利用乙酸盐时菌泥中 PHB 变化

Fig. 8 PHB concentration under various carbon dioxide concentration when acetate as the only substrate

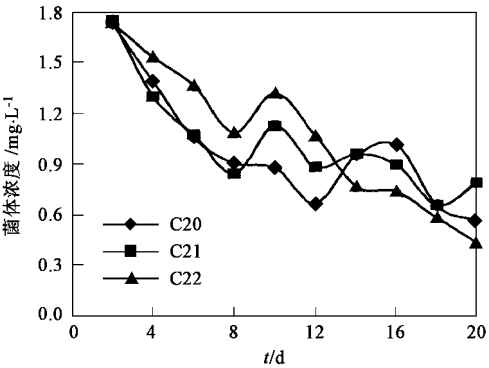


图 9 不同碳酸盐浓度下菌体利用乙酸盐时菌体浓度变化

Fig. 9 Cell concentration under various carbon dioxide concentration when acetate as the only substrate

2.3.2 以丁酸盐为唯一基质时的影响

当以丁酸盐为唯一底物时,在实验初期,CO₂ 浓度对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响,虽然各系

统波动较大,但可以看出一定浓度的 CO_2 较有利于菌体积累 PHB(图 10);14 d 以后,此实验最高浓度 CO_2 系统比无 CO_2 系统有利于积累较多的 PHB,而中等浓度 CO_2 系统无明显优势;推测主要是在混合体系下,菌种优势度及代谢模式不同而影响菌体所处环境造成的,因此有必要进一步研究此种情况混合体系中菌种变化及相应的代谢模式.对于菌体生长来说(图 11), CO_2 的存在有利于菌体利用丁酸盐时的生长,在一定范围内, CO_2 浓度越高,菌体生长越好.

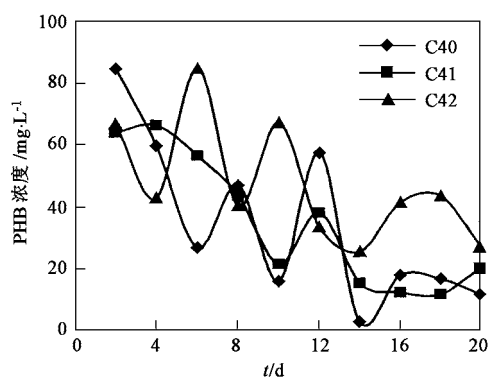


图 10 不同碳酸盐浓度下菌体利用丁酸盐时菌泥中 PHB 变化

Fig.10 PHB concentration under various carbon dioxide concentration when butyrate as the only substrate

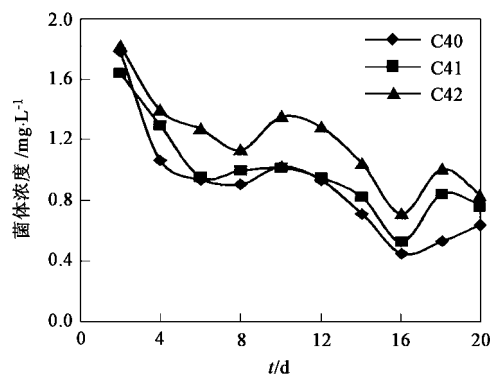


图 11 不同碳酸盐浓度下菌体利用丁酸盐时菌体浓度变化

Fig.11 Cell concentration under various carbon dioxide concentration when butyrate as the only substrate

2.3.3 讨论

随着地球气候逐渐变暖,对于温室气体 CO_2 的减排技术研究日益增加,也正基于此,本文主要研究了 CO_2 对紫色非硫光合细菌积累 PHB 的影响。 CO_2 对于紫色非硫光合细菌生长的影响已有研究,但是对于积累 PHB 的影响研究较少.对于前者主要存在以下 2 种观点,一种是用还原度的概念进行讨论,一种是从生化代谢角度进行讨论.从还原度的角度进

行分析,首先假设菌体组成为 $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$,并对于组成为 $\text{C}_a\text{H}_b\text{N}_c\text{O}_d$ 的有机物,定义还原度^[12]为: $R = (4a + b - 3c - 2d) / a$,则得到乙酸盐的还原度等于菌体的还原度,由此得出利用乙酸盐时释放或者吸收 CO_2 的可能性相同,这可作为 CO_2 浓度对于紫色非硫光合细菌利用乙酸盐生长影响没有规律性的原因;而对于丁酸盐,其还原度大于菌体的还原度,说明利用丁酸盐时会吸收 CO_2 ,即 CO_2 的存在能促进菌体生长;对于乙酸盐的影响还可能存在另外的原因,如 CO_2 在某些光合细菌生命代谢过程中会参与某些代谢反应,但是在此过程中没有净消耗发生,而只是起到维持细菌代谢乙酸盐和菌体生长的作用^[13].此实验可以看出, CO_2 对于紫色非硫光合细菌积累 PHB 也是有影响的,一定浓度的 CO_2 较有利于菌体积累 PHB,可能的原因可以从以上 2 个角度进行论证.但对于混合菌群利用丁酸盐的机理需要深入研究.

Nakajima^[14]等的研究结果显示 NaHCO_3 的浓度对菌体产率的影响,在丙酸盐、丁酸盐和己酸盐作为底物的情况下加入 NaHCO_3 会提高菌体产率,本文图 11 结果也验证了这一结论.他们给出的一种可能的解释是微生物在 NaHCO_3 不足的情况下会在菌体内积累一些贮存物质,在获得 CO_2 的情况下则将这些物质合成为细胞物质;另外一种可能的解释是随着 NaHCO_3 供应量的不同将生成不同的内存物质.本实验结论说明不同浓度 CO_2 的存在对于紫色非硫光合细菌积累内存物质有所影响,一定浓度的 CO_2 能促进菌体积累内存物质的量.

3 结论

(1) $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 以及有机氮有利于紫色非硫光合细菌生长及积累 PHB,而硝酸盐氮不利于菌体生长以及积累 PHB.

(2) 维持一定碳氮比,低碳源(乙酸钠)浓度下菌体能积累较多的 PHB,但结合菌体生长,则高碳源浓度有利;对于不同的基质,丁酸盐利于菌体积累 PHB,乙酸盐次之,丙酸盐不利于积累 PHB;以丁酸盐为主的混合基质比单一基质利于菌体积累 PHB.

(3) 在一定浓度 CO_2 存在的条件下,菌体以乙酸盐或者丁酸盐为唯一基质时利于积累 PHB.当利用高还原度有机碳源时伴随着 CO_2 的吸收,而对于低还原度有机碳源利用 CO_2 的考虑则可能还存在其他原因,如利用乙酸盐时可能需要 CO_2 参与其代谢活动;这一领域还需要更深入地研究.

参考文献:

- [1] Satoh H, Mino T, Matsuo T. PHA production by activated sludge[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1999, **25**: 105 ~ 109.
- [2] Satoh H, Iwamoto Y, Mino T, *et al.* Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic[J]. Wat.Sci.Tech., 1998, **38**(2): 103 ~ 109.
- [3] Chua H, Yu P H F. Production of biodegradable plastics from chemical wastewater—a novel method to reduce excess activated sludge generated from industrial wastewater treatment[J]. Wat.Sci.Tech., 1999, **39**(10-11): 273 ~ 280.
- [4] Carlozzi P, Sacchi A. Biomass production and studies on *Rhodospseudomonas palustris* grown in an outdoor, temperature controlled underwater tubular photobioreactor[J]. Journal of Biotechnology, 2001, **88**: 239 ~ 249.
- [5] Khatipov E, Miyake M, Miyake J, *et al.* Accumulation of poly- β -hydroxybutyrate by *Rhodobacter sphaeroides* on various carbon and nitrogen substrates[J]. FEMS Microbiology Letters, 1998, **162**: 39 ~ 45.
- [6] Yi ğit D Ö, Gündüz U, Türker L, *et al.* Identification of by-products in hydrogen producing bacteria; *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 grown in the waste water of a sugar refinery[J]. Journal of Biotechnology, 1999, **70**: 125 ~ 131.
- [7] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册(第八版)[M]. 北京:科学出版社,1984.
- [8] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法(第三版)[M].北京:中国环境科学出版社,1989.
- [9] Law J H, Slepecky R A. Assay of poly- β -hydroxybutyric acid[J]. J.Bacteriol, 1961, **82**: 33 ~ 36.
- [10] Ormerod J G. The Phototrophic bacteria: anaerobic life in the light[M]. Berkeley University of California Press, 1983.
- [11] Cohen A, Van Gemert J M, Zoetmeyer R J, *et al.* Main characteristics and stoichiometric aspects of acidogenesis of soluble carbohydrate containing wastewaters [J]. Process Biochemistry, 1984, **19**: 228 ~ 232.
- [12] Minkevich I G, Eroshin V K. Productivity and heat generation of fermentation under oxygen limitation[J]. Folia Microbiol., 1973, **18**: 376 ~ 385.
- [13] Ivanovskii R N, Krasilnikova E N, Berg I A. A proposed citramalate cycle for acetate assimilation in the purple non-sulfur bacteria *Rhodospirillum rubrum*[J]. FEMS Microbiology Letters, 1997, **153**: 399 ~ 404.
- [14] Nakajima F, Kamiko N, Yamamoto K. Organic wastewater treatment without greenhouse gas emission by photosynthetic bacteria[J]. Wat.Sci.Tech., 1997, **35**(8): 285 ~ 291.

《环境科学》征稿简则

1. 来稿报道的研究成果要有创新性,论点明确,文字精炼,数据可靠.全文不超过 8000 字(含图、表、中英文摘要及参考文献).国家自然科学基金项目、国家科技攻关项目、国际合作项目或其它项目请在来稿中注明(在首页以脚注表示).来稿请用 A4 纸激光打印(一式 3 份),寄至本刊编辑部.稿件往来一般通过本刊编辑部,请不要寄给个人,以免耽搁或丢失.

2. 稿件请按 GB 7713-87《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》的规定撰写.论文各部分的排列顺序为:题目;作者姓名;作者工作单位、地址、邮政编码;中文摘要;关键词;中图分类号;英文题目;作者姓名及单位的英译名;英文摘要;关键词;正文;致谢;参考文献.

3. 论文题目应简练并准确反映论文内容,一般不超过 20 字,少用副标题.

4. 中文摘要不少于 300 字,以第 3 人称写.摘要内容包括研究工作的目的、方法、结果(包括主要数据)和结论,重点是结果和结论.英文摘要与中文对应,注意人称、时态和语言习惯,以便准确表达内容.

5. 前言包括国内外前人相关工作(引文即可)和本工作的目的、特点和意义等.科普知识不必赘述.

6. 文中图表应力求简明,同一内容不得用图表重复表达,要有中英文对照题目.图应大小一致,曲线粗于图框,图中所有字母、文字字号大小要统一.表用三线表.图表中术语、符号、单位等应与正文一致.

7. 计量单位使用《中华人民共和国法定计量单位》(SI).论文中物理计量单位用字母符号表示,如 mg(毫克),m(米),h(小时)等.科技名词术语用国内通用写法,作者译的新名词术语,文中第一次出现时需注明原文.

8. 文中各级标题采用 1, 1.1, 1.1.1 的形式,左起顶格书写,3 级以下标题可用(1), (2) ……表示,后缩 2 格书写.

9. 文中外文字母、符号应标明其大小写,正斜体.生物的拉丁学名为斜体.缩略语首次出现时应给出中文全称,括号内给出英文全称和缩略语.

10. 未公开发表的资料不列入参考文献,但可在出现页以脚注表示.文献按文中出现的先后次序编排.常见文献书写格式为:

期刊:作者(外国人也姓列名前).论文名[J].期刊名,年,卷(期):起页~止页.

图书:作者.书名[M].版次(第一版不标注).出版地:出版社,年.起页~止页.

会议文集:作者.论文名[A].见(In):编者.文集名[C].出版地:出版社(单位),年.起页~止页.

学位论文:作者.论文名[D].出版地:出版单位,出版年.

报告:作者.论文名[R].出版地.出版单位,出版年.

专利:专利所有者.专利题名[P].专利国别:专利号,出版日期.

11. 来稿文责自负,切勿一稿多投.编辑对来稿可作文字上和编辑技术上的修改和删节.在三个月内未收到本刊选用通知,可来电询问.对未刊稿件一般不退,请作者自留底稿.

12. 来稿请附作者单位详细地址、邮编、电话号码、电子邮箱,挂号寄至北京市 2871 信箱《环境科学》编辑部.邮编:100085; 电话:010-62941102;传真:010-62849343;E-mail: hjkx@mail.rcees.ac.cn