

β -*Proteobacteria* 菌降解甲基叔丁基醚的条件及中间代谢产物研究

钟卫鸿, 路争, 陈建孟*, 陈效, 孙柯丹

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310032)

摘要: 采用可利用甲基叔丁基醚 (methyl *tert*-butyl ether, MTBE) 为唯一碳源和能源生长的 1 株 β -*Proteobacteria* 菌进行 MTBE 在密闭系统中的降解试验, 确定了该菌降解 MTBE 的最适条件为: 培养液初始 pH 值 7.2, 初始细胞浓度 10^7 cells/mL, 初始 MTBE 浓度为 25 mg/L. 考察了密封培养系统内培养液溶解氧对降解效果的影响, 结果表明, 在培养系统密闭前充入氧气可提高菌体对 MTBE 的降解速率. 以气相色谱-质谱联用法检测到 MTBE 降解主要中间代谢产物是叔丁基醇、异丙醇、丙酮. 在选择离子扫描模式下定量分析, 得到降解过程中主要中间代谢产物的浓度变化曲线, 据此推断 MTBE 的降解途径属于“丙酮途径”.

关键词: 甲基叔丁基醚; 降解; 溶解氧; 中间代谢物; β 变形菌

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)12-2536-06

Conditions and Intermediate Metabolites of MTBE Degradation by β -*Proteobacteria*

ZHONG Wei-hong, LU Zheng, CHEN Jian-meng, CHEN Xiao, SUN Ke-dan

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract: One strain of β -*Proteobacteria* that could utilize Methyl *tert*-Butyl Ether (MTBE) as sole carbon and energy resource was used for MTBE degradation in closed system. The culture conditions showed significant effect on the MTBE degradation and the optimum conditions were as following: original pH 7.2, initial cell concentration 10^7 cells/mL and initial MTBE concentration 25 mg/L. The effect of dissolved oxygen (DO) in medium of closed culture system on MTBE degradation was evaluated. It was found that suppletion of oxygen into the closed system could significantly promote MTBE degradation. The analysis of intermediate metabolites of MTBE degradation by GC-MS showed that *tert*-butyl alcohol, isopropanol and acetone were the main intermediate metabolites. The concentration change of metabolites during the whole period of MTBE degradation suggested that the metabolic pathway of MTBE degradation was similar to the “acetone pathway”.

Key words: methyl *tert*-butyl ether (MTBE); biodegradation; dissolved oxygen; intermediate metabolite; β -*Proteobacteria*

甲基叔丁基醚 (methyl *tert*-butyl ether, MTBE) 在国外已被广泛用作汽油添加剂, 国内于 2000 年停止销售含铅汽油而改为使用含 MTBE 的清洁汽油以来, MTBE 的使用量也在不断增加^[1,2]. 文献[3]认为 MTBE 已成为美国地下水中广泛分布的、较持久的污染物, 而且有研究表明 MTBE 有潜在致癌可能性^[4~6]. 因此, 美国的加州和纽约州先后禁止在汽油中添加 MTBE^[7]. 但国内由于目前可替代的氧化物添加剂技术还不成熟, 禁用 MTBE 是不现实的^[8], 因此我国面临 MTBE 污染加剧及其对人类的潜在危害. 笔者对杭州周边地区进行了 MTBE 检测, 在加油站周边水体中检测到了 MTBE 的存在, 含量在 18 μ g/L 左右, 随着我国汽车产业和汽油使用量的不断增加, MTBE 在环境中的累积会对我国人民的生活造成影响, 进行我国环境条件下 MTBE 各种降解和修复技术研究十分必要. 近年来

随着多种 MTBE 降解菌株的发现, MTBE 的微生物降解技术倍受关注. 但在微生物降解过程中普遍存在降解速率低、微生物生长缓慢等问题^[9,10], β -*Proteobacteria* 菌 (代号 PM1) 是迄今报道的 MTBE 降解速度较快的菌株, 但该菌株的 MTBE 降解机理和代谢途径并未完全清楚. 本实验通过对其降解条件和规律及降解途径的研究, 期望进一步了解影响微生物降解 MTBE 的因素, 发现影响降解速率的关键步骤和关键酶, 为进一步实现 MTBE 微生物降解技术的实际应用打下基础.

收稿日期: 2005-12-08; 修订日期: 2006-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20476099); 浙江省自然科学基金项目 (Y202111)

作者简介: 钟卫鸿 (1966~), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为应用微生物与基因工程.

* 通讯联系人, E-mail: jchen@zjut.edu.cn

1 材料与方法

1.1 菌种

PM1 由美国加州大学 Davis 分校的研究者从洛杉矶污水处理厂的堆肥床上筛选而来。

1.2 培养基

TSA 菌种活化培养基^[11] (g/L): 胰胨 17.0, 多价胨 3.0, 酵母膏 6.0, 氯化钠 5.0, 磷酸氢二钾 2.5, 葡萄糖 2.5, 琼脂 20.0, pH7.0~7.2; 基本培养基 (BSM)^[12] (g/L): Na_2HPO_4 5.57, KH_2PO_4 2.44, NH_4Cl 2.0, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0004, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.001, CaCl_2 0.001, pH7.0, 另外依据实验需要添加 MTBE。

1.3 PM1 降解 MTBE 实验

依照 PM1 菌生长曲线, 将培养液中指数生长期的 PM1 菌离心得菌体沉淀, 无菌水洗涤 2 次后再加少量无菌水制成菌悬液, 接种入含 MTBE 的 BSM 培养液内, 可见光 600nm 测光密度值, 根据菌细胞浓度与 D_{600} 的关系曲线得培养液初始细胞浓度。为防止 MTBE 挥发, 实验采用 500mL 医用输液瓶装该 BSM 培养液, 瓶口以橡皮塞密封, 置恒温振荡培养箱于 25℃、150 r/min 条件下培养, 每隔一定时间以气相色谱进样器直接穿过瓶口橡皮塞取样, 气相色谱法测定结果。

1.4 分析方法

实验采用吹扫捕集-气质联用法 (P&T-GC/MS) 对培养液内 MTBE 浓度及 MTBE 的降解产物进行测定。

色谱条件: HP GC6890 / MS 5973 气相色谱-质谱联用仪, HP-INNOWax 色谱柱, 进样口温度为 200℃, 无分流方式进样, 高纯氦气作载气, 流速 1.0 mL/min, 升温速率 5℃/min, 柱温从 45℃升至 90℃后保持 3min; 质谱采用 EI 离子源 (电子能量 70eV), 电子倍增器电压 1926 V, 传输线温度为 230℃。

1.5 溶解氧(DO)对降解的影响实验

考虑 PM1 为好氧菌, 而培养系统是密封的, 实验采用试管套管法研究培养液内 DO 对降解的影响。套管法具体做法为: 大试管 (200mm × 18mm) 内装小试管 (150mm × 13mm), 小试管内加 5mL 含 MTBE 的 BSM 培养液, 接种 PM1 菌悬液 1mL; 大试管内加 30% (体积分数) H_2O_2 5mL, 利用常温下向 H_2O_2 内加少许 MnO_2 作催化剂, H_2O_2 不稳定, 可分解释放氧气的原理来持续补充氧气^[13], 大试管以实

塞封口。实验仪器图如图 1。每样 3 个平行, 每隔一段时间以气相色谱取样器直接穿过塞子取样, GC/MS 检测培养液中残留 MTBE 的浓度。此法目的是保持降解系统为密闭, 以防止 MTBE 挥发, 同时为 PM1 的代谢持续供氧。

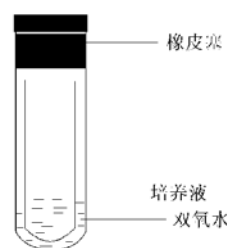


图 1 “套管法”示意

Fig. 1 Diagram of “cannula” method

2 结果与讨论

2.1 降解条件对 PM1 降解 MTBE 的影响

2.1.1 培养液初始 pH 值的影响

选定 MTBE 初始浓度为 20 mg/L, 培养温度为 25℃, 摇床转速 150 r/min, 在密封输液瓶中分别考察 BSM 培养液的初始 pH 为 4.5、5.5、6.5、7.2、8.5 时 MTBE 降解效果, 实验中发现, 各样品均经历了明显的生长延滞期 (7d 左右), 之后才开始 MTBE 的降解。第 20d 时取样测的各样品 MTBE 降解率 (图 2) 差异显著, 其中初始 pH 为 7.2 时 MTBE 的降解率最大, 过酸或过碱均不易于 MTBE 的降解, 故在以下实验中均选择初始 pH 值为 7.2。

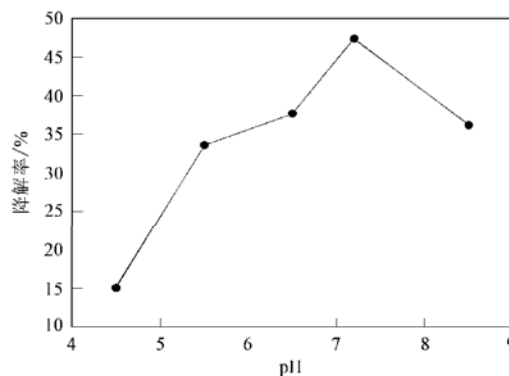


图 2 pH 值对 PM1 降解 MTBE 的影响

Fig. 2 Effect of pH on MTBE degradation by PM1

2.1.2 初始细胞浓度对降解的影响

选择培养液初始细胞浓度分别为 4.6×10^5 、

3.2×10^6 、 1.5×10^7 、 1.0×10^8 cells/mL, MTBE 20 mg/L, pH 值 7.2, 恒温 25℃ 转速 150 r/min 摇床培养, 降解过程中取样测定 MTBE 残留浓度, 结果如图 3 所示. 图 3 表明初始菌细胞浓度为 4.6×10^5 、 3.2×10^6 cells/mL 的样品与初始菌浓度为 1.5×10^7 cells/mL 比较, 降解同一浓度的 MTBE 需要更长的降解时间; 初始菌浓度为 10^8 cells/mL 时降解初期比 1.5×10^7 cells/mL 要快, 但在 15d 后降解速率开始减慢, 其原因可能是菌体量太大, 细胞代谢引起培养液环境恶化或产生了底物营养竞争. 本实验选择培养液初始细胞浓度为 1.5×10^7 cells/mL.

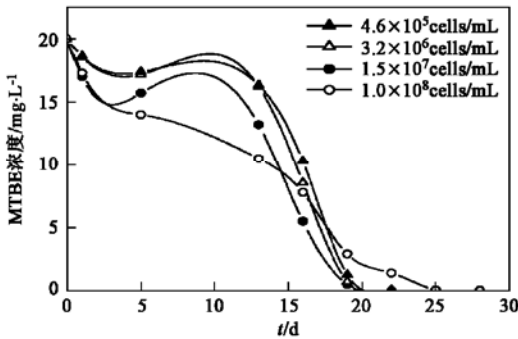


图 3 培养液初始细胞浓度对 MTBE 降解的影响
Fig. 3 Effect of initial cell concentration of culture on MTBE degradation

2.1.3 初始 MTBE 浓度对降解的影响

密封输液瓶内 BSM 培养液 pH 值为 7.2, 培养液初始菌浓度 2.3×10^7 cells/mL, 添加不同初始浓度的 MTBE 进行降解实验. 结果显示 MTBE 初始浓度对 PM1 的降解速率有明显影响(图 4). MTBE 起始浓度为 55.4 mg/L、33.0 mg/L、25.5 mg/L 及 16.0 mg/L 时 PM1 的 MTBE 降解速率分别为 0.99 mg/(L·d)、1.09 mg/(L·d)、1.05 mg/(L·d) 和 0.42 mg/(L·d). 从降解速率来看, MTBE 初始浓度为 25~33 mg/L 时降解效果较好, 但是从整个降解过程来看, PM1 对较高初始浓度的 MTBE (55.4 mg/L) 降解趋势和速度与中间初始浓度 1.09 mg/(L·d)、1.05 mg/(L·d) 基本一致, 而且其降解速率也差异不显著. 但是 PM1 对低初始浓度 MTBE (16.0 mg/L) 的降解则较差, 降解速率与中间初始浓度的降解速率相差 2 倍以上, 这可能是由于培养液中 MTBE 是唯一碳源, 菌体细胞对 MTBE 降解反应同时为细胞自身生长代谢提供物质和能量基础, 过低浓度 MTBE 使得细胞营养不足, 从而影响降解速

度. 因而合适初始 MTBE 浓度有利于菌体降解效果, 据此以下实验中均选择 MTBE 初始浓度为 25mg/L.

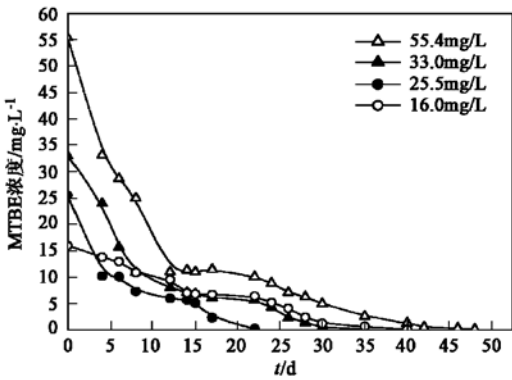


图 4 初始 MTBE 浓度对降解的影响
Fig. 4 Effect of initial MTBE concentration on the degradation by PM1

2.1.4 培养液中的溶解氧(DO)对降解的影响

(1) 密闭输液瓶中 DO 对降解影响 降解实验按照 1.3 所述方法进行, 设置密闭前充氧和不充氧 2 组试验, 每组 3 个平行样, 4d 后取样用 P&T-GC/MS 测定瓶中 MTBE 浓度, 考察密闭输液瓶中 DO 对 PM1 降解 MTBE 的效果影响. 结果显示充氧组的 MTBE 的降解效果比不充氧组的好(表 1), 4d 的 MTBE 降解率提高了 6.5 倍, 由此可见培养系统中的氧气对 PM1 降解 MTBE 有较大影响, 这一点同时说明 PM1 对 MTBE 的降解代谢主要是有氧代谢, 可能其降解代谢的关键酶之一是一种加氧酶.

表 1 密闭输液瓶中供氧对降解的影响(4d)
Table 1 Effect of oxygen supply on the degradation rate in closed bottle (4d)

供氧情况	培养液初始菌浓度/cells·mL ⁻¹	初始 MTBE 浓度/mg·L ⁻¹	降解率/%
供氧	10 ⁷	20	14.3
不供氧	10 ⁷	20	2.2

(2) 套管法培养系统中 DO 对降解的影响 为了考察在密闭系统中持续供氧对降解的影响, 设计了套管法(做法如 1.5 所述), 以进一步考察密闭系统中 DO 对降解的影响程度. 结果显示, 在有双氧水持续供氧的情况下(图 5), MTBE 的降解速率有所加快, 6~7d 降解率就达到 100%; 无供氧情况下, PM1 菌对 MTBE 降解有明显滞后期, 7d 降解率仅为 36.6%.

为进一步分析套管中双氧水是否对培养液的

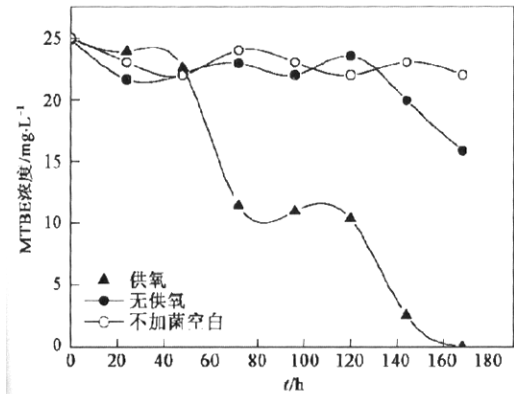


图 5 套管法研究供氧对降解影响
Fig. 5 Effect of supplying oxygen on MTBE degradation
in "cannula"

DO 有影响, 以 JPB-607 型 DO 测定仪测定套管法 BSM 培养液的 DO 是否得到有效提高. 分别取降解

时间为 0、48、120、168h 的培养液, 待气相测定取样完毕将试管口打开, 迅速将 DO 仪插入培养液读数, 每样品的 3 个平行样取平均值即为该时间点培养液内 DO, 结果显示, 套管法中有双氧水供氧的培养液 DO 要比无供氧的培养液 DO 高(表 2), 但二者低于同温度下纯水饱和溶氧; 而不加菌空白样品的 DO 变化不大, 符合理论推测, 说明以该法测定的数据较准确. 可见, 以套管法持续供氧可以提高培养液中 DO 并保持在较高 DO 水平, 从而提高系统中 PM1 对 MTBE 的降解效果.

2.2 PM1 降解 MTBE 中间代谢产物及代谢途径

2.2.1 MTBE 降解中间产物的检测分析

取降解过程中的样品进行 P&T-GC/MS 检测, 对降解产物质谱图(图 6)进行分析可知, 检测到的降解产物主要为叔丁醇(TBA)、异丙醇(IP)和丙酮(AT). 采用选择离子扫描模式(SIM 模式)可以定量

表 2 有供氧和无供氧条件下培养液 DO 比较/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 2 Comparison of DO change in medium with or without PM1 and oxygen supply / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

条件	密封时间/h			
	0	48	120	168
有供氧情况下培养液	7.8(28℃)	4.9(28℃)	5.9(27.7℃)	5.4(27.7℃)
无供氧情况下培养液	7.8(28℃)	4.2(28℃)	3.8(27.7℃)	3.7(27.7℃)
供氧下不加菌空白培养液	7.8(28℃)	7.6(28℃)	7.9(27.7℃)	7.8(27.7℃)
同温度下纯水饱和	7.85(28℃)	7.85(28℃)	7.9(27.7℃)	7.9(27.7℃)

分析各物质的特征离子吸收峰(图 7), 然后按照特征离子吸收峰的峰面积可以计算获得该代谢产物的实际浓度, 据此可以进行降解过程中主要降解产物的浓度变化规律研究.

2.2.2 MTBE 降解过程中间代谢产物的浓度变化及代谢途径推断

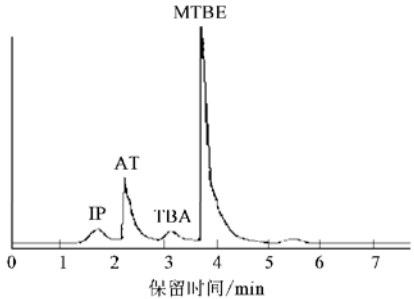


图 6 PM1 菌降解 MTBE 的产物的 GC-MS 谱图
Fig. 6 GC-MS analysis of intermediate metabolites
of MTBE degradation by PM1

如上所述, 采用 P&T-GC/MS 法检测降解中间产物, 选择离子扫描模式(SIM 模式)下物质的特征离子吸收峰, 可以对降解过程中 MTBE 及主要降解产

物的浓度进行定量分析. 得到的 MTBE 降解过程中间代谢产物的浓度变化结果显示(图 8), PM1 菌降解 MTBE 的过程中, 随着 MTBE 浓度的降低, 在满足菌体自身生长和正常代谢的基础上, 一些中间代谢物开始积累. 在降解开始阶段(5d), 首先开始积累的中间代谢物为丙酮(AT), 并不断增加; 随后开始叔丁醇(TBA)和异丙醇(IP)的累积, 其中 TBA 的累积不断增加直至 MTBE 降解完全, 才开始 TBA 自身的分解; IP 的变化趋势与 TBA 基本一致; AT 的后期累积与分解交替进行, 但在 MTBE 降解完成和 TBA 开始持续分解时, AT 呈现累积趋势.

从上述各物质的变化可以看出: ①MTBE 的存在对 PM1 菌对 TBA 分解有一定的抑制作用, 只有在 MTBE 被降解完全后才开始其分解; ②IP 的积累相比 TBA 和 AT 的累积要少, 可能是前两者之间的中间代谢物质; ③降解代谢过程中先出现 AT 的积累, 可能是菌体自身代谢需求已足够所致; ④AT 积累后才出现 TBA 的累积, 意味着 AT 反馈抑制了 TBA 的分解, 但对 MTBE 的降解无显著影响, 这同时也说明 MTBE 分解到 TBA 的代谢途径比较容易

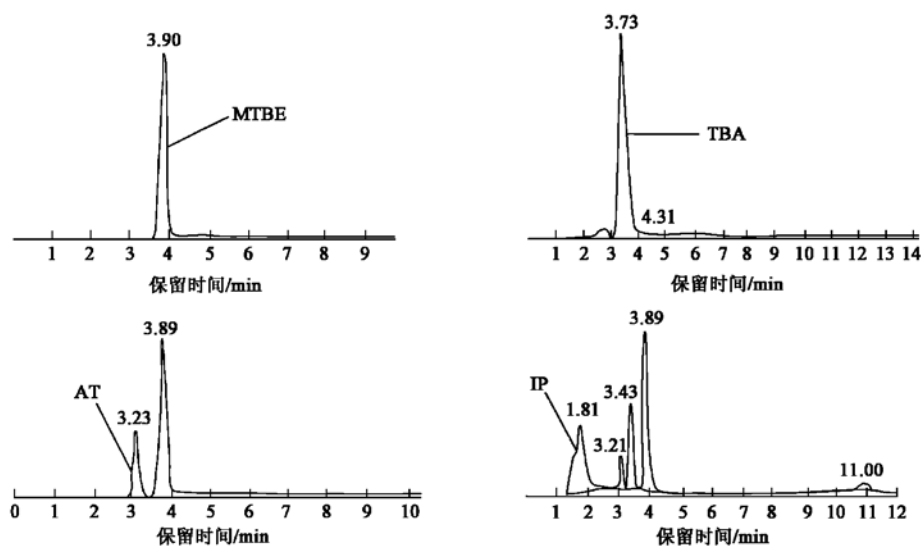


图 7 SIM 模式下 MTBE 及其主要降解产物的特征离子吸收

Fig. 7 Analysis of characteristic ions of MTBE and its metabolites by SIM mode

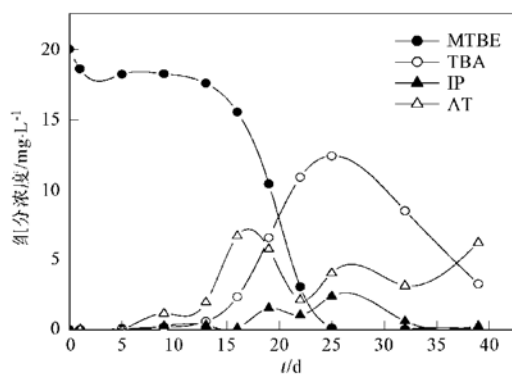
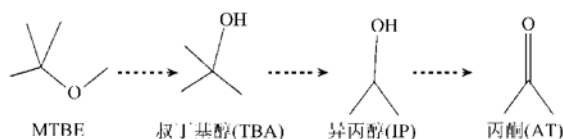


图 8 降解过程中 MTBE 及主要降解产物的浓度变化

Fig. 8 Concentration change of MTBE and main intermediate metabolites of MTBE degradation by PM1

实现, 而 TBA 的进一步分解受到上游底物(MTBE)和下游产物(TA)的双重控制。

根据上述分析, 结合各物质的分子结构, MTBE 与本研究检测到的 3 种中间代谢物的关系, 也即可能代谢途径(图 9)应该为 MTBE 直接分解(或经未检测到的其他代谢物)为 TBA, TBA 进一步直接分解(或经未检测到的其他代谢物)为 IP, IP 则直接



虚线箭头表示可能有其它中间产物但在本实验中未检测到

图 9 PM1 降解 MTBE 的可能途径

Fig. 9 Possible metabolic pathway of MTBE degradation by PM1

分解(或经未检测到的其他代谢物)为 AT, AT 则可转化为丙酮酸进入细胞基本代谢途径, 如 TCA 循环^[14], 以满足生长和基本代谢的物质和能量需求。该可能代谢途径符合 Steffan 和 Meclay 预测的“丙酮途径”^[15]。

3 结论

(1) PM1 菌降解 MTBE 的最适降解条件: 培养液初始 pH 值 7.2, 培养液初始细胞浓度 1.5×10^7 cells/mL, 初始 MTBE 浓度 25 mg/L, 在此条件下 PM1 降解 MTBE 的速率达到了 1.09 mg/(L·d)。

(2) 培养液 DO 对 MTBE 降解有较大影响, 通过向培养液中充入氧气, 可以使 MTBE 的降解速率显著提高, MTBE 初始浓度为 20 mg/L 时, 降解速率提高达 6.5 倍。

(3) MTBE 降解过程中, 可检测到中间代谢叔丁基醇、异丙醇和丙酮, 根据这些中间代谢物与 MTBE 浓度变化规律及其各自分子结构, 推断 MTBE 降解途径符合“丙酮途径”。

参考文献:

- [1] 钱伯章. 汽油禁用 MTBE 的预测分析[J]. 石油化工技术经济, 2001, 3: 33~35.
- [2] 张维昊, 徐小清, 方涛, 等. 甲基叔丁基醚对生态与环境的影响[J]. 环境科学研究, 2002, 15(6): 56~58.
- [3] Gablle P A, Pyle S M. Emissions from two outboard engines operation on reformulated gasoline containing MTBE [J]. Environ. Sci. Technol., 2000, 34(2): 368~372.
- [4] 徐向荣, 顾继东. 石油添加剂甲基叔丁基醚的污染治理技术研究进展[J]. 生态科学, 2003, 5(22): 177~182.

- [5] Martin K, Dirk B, Norbert L, *et al.* Use of proteomics and physiological characteristics to elucidate ecotoxic effects of methyl *tert*-butyl ether in *Pseudomonas putida* KT2440[J]. *Proteomics*, 2003, **3**(8): 1544~ 1552.
- [6] Schmidt T C, Schirmer M, Wei H, *et al.* Microbial degradation of methyl *tert*-butyl ether and *tert*-butyl alcohol in the subsurface[J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2004, **70**(34): 173~ 203.
- [7] Bradley P M, Landmeyer J E, Chapelle F H. Widespread potential for microbial MTBE degradation in surface water sediments[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**: 658~ 662.
- [8] 刘爱芬, 庄德辉, 吴振斌. 甲基叔丁基醚 (MTBE) 的环境毒理学研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2005, **28**(5): 108~ 109.
- [9] Deeb R A, Scow K M, Alvarez-Cohen L. Aerobic MTBE biodegradation: an examination of past studies, current challenges and future research directions[J]. *Biodegradation*, 2000, **11**: 171~ 186.
- [10] Schirmer M, Butler B J, Church C D. Laboratory evidence of MTBE biodegradation in Borden aquifer material[J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2003, **60**: 229~ 231.
- [11] Fortin N Y, Morales M, Nakagaw Y, *et al.* Methyl *tert*-butyl ether (MTBE) degradation by a microbial consortium[J]. *Environmental Microbiology*, 2001, **3**(6): 407~ 416.
- [12] Mo K, Lora C O, Wanken A E, *et al.* Biodegradation of methyl *t*-butyl ether by pure bacterial cultures[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1997, **47**: 69~ 72.
- [13] 武汉大学, 吉林大学编著. 无机化学[M]. (第三版). 北京: 高等教育出版社, 1994. 594~ 595.
- [14] 路争, 钟卫鸿, 陈建孟, 等. 甲基叔丁基醚微生物降解研究进展[J]. *微生物学通报*, 2006, **33**(1): 124~ 125.
- [15] Steffan R J, McClay K. Biodegradation of gasoline oxygenates methyl *t*-butyl ether, ethyl *t*-butyl ether, and *t*-amyl methyl ether by propane-oxidizing bacteria[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, **63**: 4216~ 4222.

欢迎订阅 2007 年《环境科学》

《环境科学》创刊于 1976 年,由中国科学院主管,中国科学院生态环境研究中心主办,是我国环境科学学科中最早创刊的学术性期刊。

《环境科学》自创刊以来,始终坚持“防治污染,改善生态,促进发展,造福人民”的宗旨,报道我国环境科学领域内具有创新性高水平,有重要意义的基础研究和应用研究成果,以及反映控制污染,清洁生产和生态环境建设等可持续发展的战略思想,理论和实用技术等。

《环境科学》在国内外公开发行,并在国内外科技界有较大影响,被国内外一些重要检索系统收录,如美国医学索引 MEDLINE;美国工程索引 EI;美国化学文摘 CA;俄罗斯文摘杂志 AJ;美国生物学文摘预评 BP;美国医学索引 IM;日本科学技术情报中心数据库 JICST;英国动物学记录 ZR;剑桥科学文摘(CSA): Environmental Sciences;剑桥科学文摘(CSA): Pollution Abstracts;剑桥科学文摘(CAS): Life Sciences Abstracts 等;国内的检索系统有中国科技论文统计与引文数据库(CSTPCD);中文科技期刊数据库(维普);中国期刊全文数据库(CNKI);数字化期刊全文数据库(万方);中国科学引文数据库(CSCD);中国生物学文摘等。

全国各地邮局均可订阅,如有漏订的读者可直接与编辑部联系,办理补订手续。

《环境科学》2007 年为 16 开本,40 元/册,全年 12 期。

国内统一刊号: CN11-1895/X 国际标准刊号: ISSN 0250-3301

国外发行代号: M 0205 国内邮发代号: 2-821

编辑部地址: 北京市海淀区双清路 18 号(2871 信箱) 邮编: 100085

电话: 010-62941102; 传真: 010-62849343; E-mail: hjkx@rcees.ac.cn; 网址: www.hjkx.ac.cn