

厌氧折流板反应器酸化及其对微生物种群分布的影响

刘然^{1,2}, 彭剑峰^{1*}, 宋永会¹, 王毅力², 于雷¹, 袁鹏¹, 解明曙²

(1. 中国环境科学研究院城市水环境研究室, 北京 100012; 2. 北京林业大学环境科学与工程学院, 北京 100083)

摘要:研究了厌氧折流板反应器(ABR)酸化过程中 pH、COD、挥发性脂肪酸(VFA)和微生物表观形态的变化,并基于荧光原位杂交(FISH)定量解析了酸化中厌氧微生物的种群演替过程。结果表明,酸化过程由 ABR 反应器前端向后端逐渐推进;完全酸化后,各隔室运行效率明显降低,COD 去除率仅为 30.9%,pH 值下降 1.0~2.2,出水 VFA 增长 5.1 倍。酸化显著影响微生物形态,导致颗粒污泥表层和内部微生物出现畸变甚至死亡,造成颗粒内外传质困难。基于 FISH 技术的定量研究表明,酸化促进了真细菌的繁殖,抑制了古细菌的生长,导致厌氧消化过程中 3 个关键菌群的大量减少,其中食丁酸盐产氢产乙酸菌 *Syntrophomonas* spp. 减少了 30.9%,食丙酸盐产氢产乙酸菌 *Syntrophobacter wolinii* 减少了 85.5%,耗氢产乙酸菌 *E. limosum* 减少了 60.0%,产甲烷菌 *Methanomicrobiales* 减少了 54.3%,微生物种群间物质供需平衡被破坏。

关键词:厌氧折流板反应器;酸化;种群演替;荧光原位杂交

中图分类号:X172; X703.1 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)07-1554-07

Acidification and Its Effect on the Population Distributions of Microorganisms in an Anaerobic Baffled Reactor

LIU Ran^{1,2}, PENG Jian-feng¹, SONG Yong-hui¹, WANG Yi-li², YU Lei¹, YUAN Peng¹, XIE Ming-shu²

(1. Section of Urban Water Environmental Research, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The changes of pH, COD, volatile fatty acids (VFA) and microbial morphology of the acidification process in an anaerobic baffled reactor (ABR) were investigated. And the population succession process of the anaerobic microorganisms was quantitatively analyzed by using the Fluorescent In situ hybridization technology (FISH). The results show that the ABR reactor is acidified gradually from the front to the back. After the reactor is entirely acidified, the COD removal efficiency is only 30.9%, and the pH values are lowered by 1.0-2.2, while the VFA in effluent increases by 5.1 times. Additionally, the microbial morphology is significantly affected by the acidification process, in which not only the bacteria are deformed or died, but also the internal and external mass transfer of granular sludge becomes difficult. The quantitative analyses with FISH shows that in the acidification process the Archaea growth is inhibited but the Eubacteria growth is promoted, thus resulting in the sharp decrease of the three crucial microorganisms of the anaerobic digestion. The abundance of the butyrate-oxidizing acetogenic bacteria *Syntrophomonas* spp. reduces by 30.9%, the propionate-oxidizing acetogenic bacteria *Syntrophobacter wolinii* reduces by 85.5%, the homoacetogenic bacteria *Acetobacterium* species *E. limosum* reduces by 60.0%, and methanomicrobium *Methanomicrobiales* reduces by 54.3%. All these result in the upsetting of the mass transfer balances of different anaerobic microorganism populations.

Key words: anaerobic baffled reactor; acidification; population succession; fluorescence *in situ* hybridization

酸化问题已经成为制约厌氧反应器发展和推广的重要因素,尤其对于高效的厌氧折流板反应器(ABR)^[1,2]。一般认为,酸化的根源在于厌氧消化过程中产甲烷菌对 pH 值变化的高度敏感。当厌氧反应器受到高负荷冲击或环境条件恶化时,世代期短、适应性强的发酵产酸菌会快速生长,其代谢产物丙酸、丁酸等挥发性脂肪酸大量积累,导致水体 pH 值下降,进而抑制了产甲烷菌的活性^[3~5]。而近年来的研究表明,复杂有机物的厌氧消化是由多种微生物共同作用完成的,其中产氢产乙酸菌能够降解发酵产酸菌的代谢产物,避免 VFA 对产甲烷菌的影响,保证 VFA 保持较快的降解速率;而耗氢产乙酸菌可减小 H₂ 对产氢产乙酸菌的抑制^[6,7]。在整个厌氧消

化过程中,这 2 种微生物均对环境变化敏感,且在微生物种群间的物质供需平衡中起着至关重要的作用。

目前,常用的酸化反应器恢复技术是以快速恢复产甲烷菌的活性为基础的,未考虑产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌与其他菌群之间的物质传递关系;采用的方式主要有降低进水有机负荷或提升碱度;恢复过程主要依赖经验判断,具有较大盲目性,且耗时

收稿日期:2009-09-16;修订日期:2010-02-09

基金项目:国家自然科学基金项目(50708101);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07208-003)

作者简介:刘然(1984~),女,硕士研究生,主要研究方向为污水的高效厌氧生物处理技术,E-mail:liuran_work@gmail.com

* 通讯联系人,E-mail: pjf1995@163.com

较长,而相关研究仍侧重于探讨酸化过程中产甲烷菌活性及数量的变化,对厌氧消化过程中担负重要作用的产氢产乙酸菌和耗氢产乙酸菌的研究较少,因而难以为酸化反应器的快速恢复提供有效支撑^[8,9]。

本研究分析了厌氧酸化过程中关键控制因子及微生物形态的变化,着重考察了酸化前后微生物种群的演替过程,旨在阐明酸化过程对厌氧微生物种群的影响,为采用微生物手段解决酸化问题提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验装置

采用6隔室的ABR反应器(图1)。反应器总体积为16.5 L,设计水力停留时间20 h。进水由计量泵连续泵入第1隔室,并从前到后依次流经6个隔室。每个隔室大小一致,隔室内分为下向流区与上向流区。ABR反应器正常运行时内部悬浮生长着大量的颗粒污泥,整个装置保持恒温($35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)。ABR反应器采用人工配制的葡萄糖水作为营养底物,正常运行时配水COD为2 000 mg/L,同时添加 KH_2PO_3 、 NH_4Cl 、 NH_4HCO_3 调节COD:N:P=350:5:1,并适量补充Mg、Fe、Co、Ni等微量元素。反应器进水以 NaHCO_3 调节碱度,保证进水pH值在6.8~7.5之间。

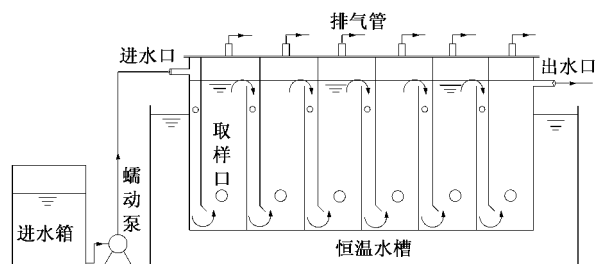


图1 ABR工艺流程示意

Fig.1 Schematic diagram of the anaerobic baffled reactor

1.2 试验方法

1.2.1 反应器酸化过程

为研究ABR反应器的酸化进程,采取保持水力停留时间恒定,提高进水负荷的方式,将进水COD由2 000mg/L直接提升到4 000 mg/L,其他水质指标保持稳定。在较高的负荷下,反应器逐渐由正常运行状态,转变为轻度酸化和完全酸化,整个酸化过程历时2个月^[8]。

1.2.2 常规分析方法

pH监测采用pHS-25型数显pH计(上海金鹏分析仪器公司);COD采用CM-02型COD测定仪(北京双晖京承电子产品有限公司);VFA测定采用滴定法^[10];微生物形态表征采用Quanta 200环境电子扫描显微镜(荷兰FEI公司)。

1.3 微生物种群变化的FISH检测

1.3.1 探针的 $\bar{i}$ 和制备

研究中着重分析厌氧酸化过程中具有重要作用的产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌和产甲烷菌。这3种功能菌群均分支众多,很难用1 $\bar{i}$ 一探针来检测所有的目标微生物。因此对每一种功能菌群选用1~2种常见的探针来表征。采用Synm700、Wol223这2种探针的组合来表征产氢产乙酸菌,其中Synm700针对*Syntrophomonas* spp.,用于检测食丁酸盐产氢产乙酸细菌,而Wol223针对*Syntrophobacter wolinii*,用于检测食丙酸盐产氢产乙酸细菌^[11,12]。AW针对耗氢产乙酸菌群中的*Acetobacterium* sp. *E. limosum*^[13]。MG1200针对产甲烷菌群中的*Methanomicrobiales*^[14,15]。此外,采用EUB338检测真细菌,采用ARCH915检测古细菌^[16,17]。厌氧污泥中的发酵产酸菌、产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌属于真细菌,而产甲烷菌属于古细菌。探针的详细情况见表1。探针用荧光染料TAMRA或FITC在5'端标记,3种荧光染料的检测条件如表2所示。其合成和标记均由大连宝生物公司完成。

表1 试验所选用的探针类型

Table 1 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes used in this study

探针名称	序列(5'-3')	目标微生物	荧光染色剂	文献
EUB338	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	Bacteria	TAMRA	[15]
ARCH915	GTGCTCCCCGCGCAATTCCT	Archaea	FITC	[16]
Synm700	ACTGGTRTCTCCTGATTCTA	<i>Syntrophomonas</i> spp.	TAMRA	[11]
Wol223	ACGCAGACTCATCCCCGTG	<i>Syntrophobacter wolinii</i>	FITC	[12]
AW	GGCTATTCCTTTCCATAGGG	<i>Acetobacterium</i> sp. <i>E. limosum</i>	FITC	[13]
MG1200	CGGATAATTCGGGGCATGCTG	<i>Methanomicrobiales</i>	TAMRA	[14]

表 2 FISH 采用的荧光染料

Table 2	Fluorescent dyes used for fluorescence in situ hybridization		
荧光染料	吸收波长/nm	发射波长/nm	荧光颜色
FITC	495	520	绿色
TAMRA	547	575	红色
DAPI	360	460	蓝色

1.3.2 FISH 试验方法

新鲜的厌氧颗粒污泥样品用 4% 多聚甲醛于 4℃ 恒温下固定过夜后, 保存备用^[18]. 杂交试验前, 样品需超声打散并涂于专门定制的载玻片的凹槽中. 将探针储备液溶于杂交缓冲液 (0.9 mol/L NaCl, 20 mmol/L Tris-HCl, 0.01% SDS, 一定浓度

的甲酰胺, 每种探针的最适甲酰胺浓度通过试验优化确定) 后滴在样品槽中, 于 46℃ 下避光杂交 2 h. 杂交后, 迅速用杂交缓冲液洗去未杂交上的探针. 最后用 DAPI 避光染色 5 min, 抗淬灭封片剂封片. 在 Olympus BX51 荧光显微镜下观察、拍照, 用 Image-Pro Plus 软件分析结果^[19~22].

1.3.3 FISH 试验条件优化

杂交缓冲液中加入甲酰胺有助于促使 DNA 变性. 研究中为了探索甲酰胺的最适用量, 设计了体积浓度分别为 10%、20%、30%、40%、50%、60% 的梯度试验^[14~17], 优化试验结果如表 3.

1.3.4 微生物种群数量表征

表 3 甲酰胺最佳浓度优选试验结果

Table 3 Optimization concentration of formamide

探针类型	EUB338	ARCH915	MG	Synn700	Wol223	AW
最佳体积分数/%	20	35	10	30	50	10

采用相对丰度法表征各类微生物的数量变化. 即通过杂交试验, 将杂交呈阳性的细胞与同视野下细菌总数 (DAPI 染色) 的比值定为该类微生物的相对丰度, 来间接反映某类微生物在生物群落中的数量变化.

2 结果与讨论

2.1 酸化对反应器环境及效能的影响

ABR 反应器酸化过程中 pH 值的变化如图 2 所示. 正常运行时, 各隔室的 pH 值保持在 6.0~7.2 之间, 且从第 1 隔室到第 6 隔室 pH 值逐渐升高; 轻度酸化时, 反应器前端隔室的 pH 值受到的影响较大, 而后端的 pH 值仅降低 0.2 个单位, 保持相对稳定; 当轻度酸化积累到第 32 d 时, 产氢产乙酸菌及产甲烷菌的活性受到较大破坏, 难以有效降解水体中的 VFA, 反应器 pH 值迅速下降到 4.7 以下, 反应器完全酸化.

厌氧酸化对 COD 的影响如图 3 所示. 正常运行时反应器对 COD 的去除率可达 95.5%, 其中仅前 2 个隔室去除率就达到 79.8%, 后 4 个隔室基本处于闲置状态; 当反应器出现轻度酸化时, 前 2 个隔室 COD 的去除率下降到 67.2%, 但第 3、4 隔室对 COD 的去除效率明显升高, 反应器整体去除率保持 92.1% 左右; 而随着酸化的加剧, 前端隔室对 COD 的去除率依次降低; 至完全酸化时, 整个反应器的 COD 去除率仅为 30.9%, 且各个隔室对 COD 的去除贡献都不大.

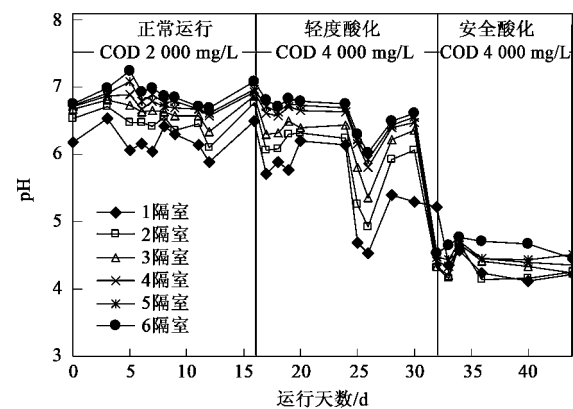


图 2 酸化过程中 pH 的变化特征

Fig. 2 Changes of pH in acidification process

厌氧反应器内, VFA 的变化主要来源于 VFA 生成和消耗之间的平衡, 因而 VFA 是表征反应器运行

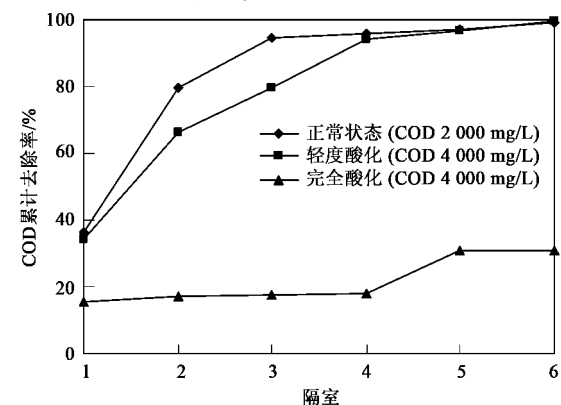


图 3 酸化过程的 COD 去除率变化特征

Fig. 3 Characteristics of COD changes in acidification process

状况的关键指标,ABR 酸化过程对 VFA 的影响如图 4 所示.可以看出,随着酸化的加剧,各隔室对 VFA 的消耗量明显降低,VFA 在反应器内快速增长.正常运行时,VFA 仅在第 1 隔室有明显积累,而在其他隔室逐渐被降解,出水 VFA 仅有 2.3 mmol/L.轻度酸化时,VFA 在各个隔室的去除率均略有降低,出水 VFA 达到 5.8 mmol/L.而严重酸化时,前端隔室 VFA 快速积累,出水达到 14.1 mmol/L.

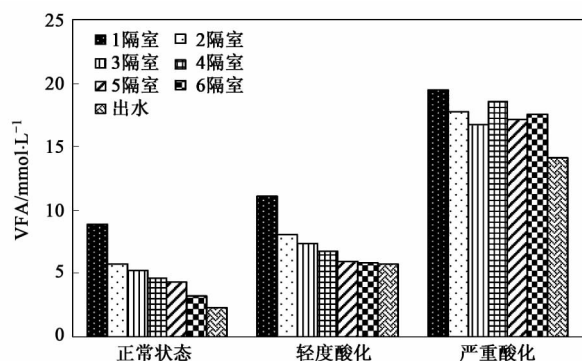


图 4 酸化过程的 VFA 变化特征

Fig. 4 Characteristics of VFA changes in acidification process

综合考虑酸化过程中 pH、COD 和 VFA 的变化可知,ABR 反应器前端隔室以发酵产酸对 VFA 的积

累为主;而后端隔室以产氢产乙酸菌和产甲烷菌等微生物对 VFA 的消耗为主.当进水负荷加大时,反应器前端隔室首先受到冲击,发酵产酸菌大量繁殖,VFA 的生成量明显升高;当 VFA 积累量在 10 mmol/L 左右,产氢产乙酸菌和产甲烷菌活性降低,但仍能够有效去除前端产生的 VFA,COD 仍保持较高去除率,反应器表现为轻度酸化;而当 VFA 积累量达到接近 19 mmol/L 时,产甲烷菌的活性受到抑制,导致乙酸和 H_2 的积累,进而抑制了产氢产乙酸菌的活性,导致丙酸和丁酸降解受阻,VFA 浓度进一步升高,由此产生连锁性的抑制,造成系统运行失败^[23].可见酸化现象最先表现为前端隔室发酵产酸菌代谢失衡,再通过种间作用逐渐影响到后面产氢产乙酸菌、产甲烷菌群的生长,最终导致厌氧系统整体酸化.

2.2 酸化前后微生物种群变化

2.2.1 微生物形态变化

厌氧酸化显著影响了 ABR 反应器的 pH、VFA 等环境因子,进而影响到厌氧颗粒污泥中微生物的表观形态.由图 5 可知,正常运行时颗粒污泥表层的杆状菌形状均匀、整齐;内部球菌细胞表面光滑、形态较为单一,种群生长状况良好.酸化后,大部分表

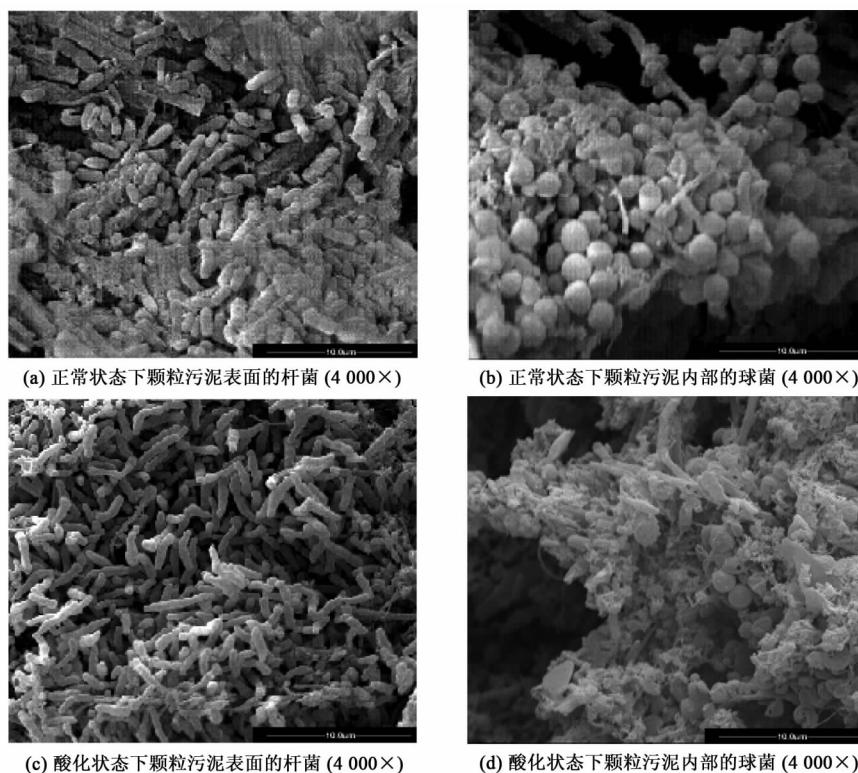


图 5 酸化过程的微生物形态变化

Fig. 5 Changes of microorganisms morphologies in acidification process

层杆状菌细胞形态畸变,出现局部突起;内部细胞残骸显著增多,杆菌、梭菌等其他形态杂菌大量生长。

厌氧颗粒污泥具有与其功能和环境相适应的形态结构,颗粒通常为层状结构,其表面以发酵产酸菌为主,向内逐渐转化为以产氢产乙酸菌、产甲烷菌为优势^[24]。正常状态时,颗粒污泥整体形成一个高效的厌氧消化体系,表层发酵产酸菌将 COD 降解为 VFA,VFA 经颗粒污泥微生物间的孔隙进入颗粒污泥内部,经产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌和产甲烷菌的协同作用,最终以 CH_4 、 CO_2 等气体形式排出体系外,而外界环境改变会显著影响微生物形态^[25]。酸化后颗粒污泥形态变化显示,酸化致使表层发酵产酸菌形态出现异常,但未影响到其生长繁殖,水解酸化过程仍可进行;而颗粒污泥内部的产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌、产甲烷菌等大量死亡,活性明显降低。

可以看出,厌氧酸化后颗粒污泥内部出现大量的微生物残骸,这些物质会堵塞颗粒污泥内部,造成颗粒内外之间传质困难,导致微生物的代谢产物无法及时排出,这进一步加速了颗粒污泥内部微生物群落结构破坏。

2.2.2 真细菌和古细菌变化

真细菌和古细菌常用来表征厌氧微生物中发酵产酸菌和产甲烷菌群的整体变化。研究中基于 FISH 技术对真细菌和古细菌的改变进行了表征,结果如图 6 所示。可以看出,酸化前厌氧污泥中古细菌与真细菌的相对丰度比值为 34.1% : 65.9%,而酸化后该比值变化为 22.5% : 77.5%。可见酸化现象抑制了古细菌的生长,使其相对丰度减少了 11.6%,但

促进了以发酵产酸菌为主的真细菌增长。

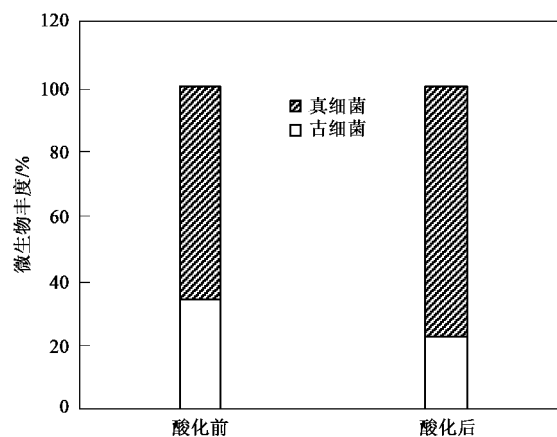


图 6 酸化前后样品中真细菌、古细菌相对丰度变化

Fig.6 Relative abundance of bacteria and archaea in acidification process

2.2.3 典型微生物种群变化

厌氧酸化过程中产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌及产甲烷菌的 FISH 结果如图 7 所示。

由图 8 可以看出,酸化显著抑制了被检测的产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌和产甲烷菌群的生长活性。酸化后,食丁酸盐产氢产乙酸菌 *Syntrophomonas* spp. 的相对丰度由 $7.0\% \pm 1.7\%$ 减小到 $4.9\% \pm 0.7\%$,下降了 30.9%;食丙酸盐产氢产乙酸菌 *Syntrophobacter wolinii* 的相对丰度由 $2.2\% \pm 0.4\%$ 减小到 $0.3\% \pm 0.1\%$,下降了 85.5%;耗氢产乙酸菌 *E. limosum* 酸化前后相对丰度下降了 60.0%;产甲烷菌 *Methanomicrobiales* 的相对丰度下降了 54.3%。

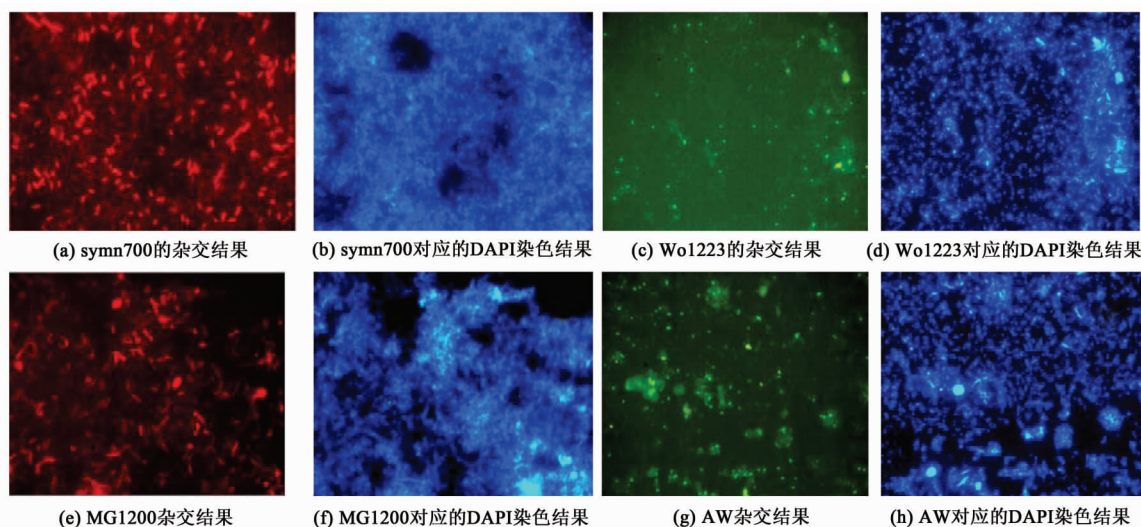


图 7 FISH 杂交结果的荧光显微图像

Fig.7 Fluorescence images of ABR sludge samples

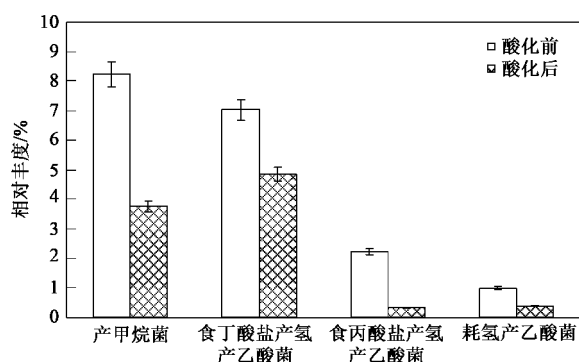


图 8 酸化前后样品中各菌群的相对丰度变化

Fig. 8 Relative abundance of different bacteria groups in acidification process

厌氧反应器酸化后,发酵产酸菌所占比率显著增长,而产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌、产甲烷菌的生长受到明显抑制,这就导致原有的微生物种群间的物质代谢平衡会受到进一步严重破坏,VFA 的积累加剧,酸化程度恶性增长.由于产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌、产甲烷菌的世代期长,且 pH 值适应范围窄,在酸化条件下难以自然生长,最终导致酸化后反应器难以自然恢复.

3 结论

(1)在 ABR 厌氧反应器中,酸化现象由前向后逐渐传递.轻度酸化时仅前端隔室受到冲击,后端隔室仍具有较高 COD 和 VFA 去除能力.完全酸化时,各隔室 pH 值下降 1.0 ~ 2.2,出水 VFA 增长 5.1 倍,COD 去除率仅为 30.9%.

(2)酸化致使颗粒污泥表层发酵产酸菌形态出现异常,而导致内部的产氢产乙酸菌、耗氢产乙酸菌、产甲烷菌等菌群大量死亡.酸化还会导致颗粒内外传质困难,微生物代谢产物无法及时排出,进一步加速颗粒污泥内部微生物群落结构破坏.

(3)酸化提升了以发酵产酸菌为主的真细菌 11.6% 的丰度,而导致 2 种产氢产乙酸菌分别下降 30.9% 和 85.5%,耗氢产乙酸菌下降 60.0%,产甲烷菌下降 54.3%,这进一步破坏了微生物种群间的物质代谢平衡,导致酸化程度恶性增长.

参考文献:

[1] Su Y N, David C S. The effect of shock loads on the performance of an anaerobic baffled reactor (ABR) [J]. *Water Res*, 1997, **11**: 2737-2754.

[2] Su Y N, David C S. Microbial response to environmental changes in an anaerobic baffled reactor (ABR) [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1995, **67**:111-123.

[3] Zhang B, Cai W M, He P J. Influence of lactic acid on the two-phase anaerobic digestion of kitchen wastes [J]. *J Environ Sci*, 2007, **19**(2):244-249.

[4] Hernández T, Masciandaro G, Moreno J I, *et al.* Changes in organic matter composition during composting of two digested sewage sludges [J]. *Waste Manage*, 2006, **26**(12):1370-1376.

[5] Ahing B E. Thermophilic anaerobic degradation of butyrate utilizing bacterium in coculture and triculture with methanogenic bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1987, **53**(2):429-433.

[6] Pratap C P, David P C, Gerasimos L, *et al.* Stable performance of anaerobic digestion in the presence of a high concentration of propionic acid [J]. *Bioresource Technol*, 2001, **78**(2):165-169.

[7] 郭晓宇. 多级厌氧反应器的启动运行与产乙酸菌的分离鉴定 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2005.

[8] 徐金兰, 王志盈. 关于 ABR 系统中酸解过程的特征及其恢复调控问题[J]. *环境科学学报*, 2004, **24**(1):20-26.

[9] 刘敏, 任南琪, 王爱杰, 等. UASB 反应器酸化后的状态及恢复研究[J]. *中国沼气*, 2003, **21**(2):7-10.

[10] 贺延龄. 废水的厌氧生物处理[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 509-511.

[11] Herto D A, Tsukasa I, Kazumi Y, *et al.* Phylogenetic and functional diversity of propionate-oxidizing bacteria in an anaerobic digester sludge [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, **75**:673-683.

[12] Hermie J M, Harmsen H, Kengen M P, *et al.* Detection and localization of syntrophic propionate-oxidizing bacteria in granular sludge by in situ hybridization using 16S rRNA-based oligonucleotide probes [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**: 1656-1663.

[13] Küsel K, Pinkart H C, Drake H L, *et al.* Acetogenic and sulfate-reducing-bacteria inhabiting the rhizoplane and deep cortex cells of the sea grass *Halodule wrightii* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**:5117-5123.

[14] Raskin L, Strimley J, Rittmann B E, *et al.* Group specific 16S RNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, **60**:1232-1240.

[15] Rudolf I A, Brian J B, Robert J O, *et al.* Group-specific 16SrRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, **56**:1919-1925.

[16] Amann R I, Binder B J, Olson B J, *et al.* Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, **56**:1919-1925.

[17] Shabir A D, Robbert K. Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2008, **78**:1045-1055.

[18] Nuria F, Emiliano E D, Ricardo A, *et al.* Analysis of microbial

- community during biofilm development in an anaerobic wastewater treatment reactor[J]. Microbiol Ecol, 2008, **56**(1):121-132.
- [19] 邢薇,左剑恶,林甲,等. 20℃ EGSB 反应器中颗粒污泥的微生物种群结构分析[J]. 环境科学, 2008, **29**(9): 2558-2563.
- [20] 邢薇,左剑恶,孙寓姣,等. 利用 FISH 和 DGGE 对产甲烷颗粒污泥中微生物种群的研究[J]. 环境科学, 2006, **27**(11): 2268-2272.
- [21] 孙寓姣,左剑恶,邢薇,等. 高效厌氧产甲烷颗粒污泥微生物多样性及定量化研究[J]. 环境科学, 2006, **27**(11):2354-2357.
- [22] 李艳娜,许科伟,堵国成,等. 厌氧生境体系中产氢产乙酸细菌的 FISH 定量解析[J]. 微生物学报, 2007, **47**(6):1038-1043.
- [23] 左剑恶,杨洋,沈平,等. 荧光原位杂交(FISH)技术在厌氧颗粒污泥研究中的应用[J]. 中国沼气, 2004, **22**(1):3-6.
- [24] 孙寓姣,左剑恶,李建平,等. 厌氧颗粒污泥中微生物种群变化的分子生物学解析[J]. 中国环境科学, 2006, **26**(2):183-187.
- [25] 沈萍. 微生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 2002. 28-29.

欢迎订阅 2010 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》2010 年为大 16 开本,70 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:hjlx@rcees.ac.cn;网址:www.hjlx.ac.cn