

污水再生处理系统中隐孢子虫和贾第鞭毛虫检测方法的优化

张彤, 胡洪营*, 宗祖胜

(清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 隐孢子虫和贾第鞭毛虫是 2 种严重危害水质安全的病原性原生动物. 与 USEPA1623 方法相比, 以膜过滤-洗脱法作为浓缩方式的检测流程回收率较高且成本较低. 本研究通过对膜过滤-洗脱环节和免疫磁性分离 (IMS) 过程进行改进和参数优化, 建立了适用于污水再生处理系统的两虫检测方法. 研究发现, 对滤膜进行刮擦处理后隔夜浸泡, 以及洗脱前剧烈振荡等操作能够显著提高并稳定回收率. 投加高岭土浊液提高水样的浊度至 4 NTU 更加有效地提高了低浊水样的浓缩回收率. 离心浓缩后洗涤沉淀并进行 2 次酸解离是降低 IMS 过程水质干扰的有效措施. 采用该优化方法对不同来源水样进行检测, 隐孢子虫回收率超过 70%, 贾第鞭毛虫回收率超过 80%, 明显高于 1623 方法的接受标准 (> 24%).

关键词: 隐孢子虫; 贾第鞭毛虫; 污水再生利用; 检测方法; 回收率

中图分类号: X830.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)12-2547-06

Improvement of Method for Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Wastewater Reuse System

ZHANG Tong, HU Hong-ying, ZONG Zu-sheng

(Environmental Simulation and Pollution Control State Key Joint Laboratory, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: *Cryptosporidium* and *Giardia* are two common species of pathogenic protozoan, seriously endangering the water quality. Former work indicated that compared to the USEPA method 1623, the procedure using membrane filtration-elution as a concentration method for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* attained better recovery and lower cost. Several improvements of membrane filtration-elution step as well as immunomagnetic separation (IMS) step were investigated and an optimal method for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater reuse system was recommended in this study. The experimental results showed that overnight soak of membrane after scraping and vortex agitation before elution could enhance and stabilize the recovery. Increasing turbidity to 4 NTU by adding kaolin clay could effectively improve the recovery of low-turbidity water. Washing concentrate after centrifugation and twice acid dissociation both reduced the impact of water quality. Protozoan in different water samples were detected by this optimal method, and recovery of *Cryptosporidium* and *Giardia* are above 70% and 80% respectively, far beyond the acceptance of method 1623.

Key words: *Cryptosporidium*; *Giardia*; wastewater reuse; detection method; recovery

为有效解决我国淡水资源短缺的问题,近年来,污水再生利用的规模不断扩大.生活污水受到人畜粪便污染,由其中的病原体引起的微生物风险通常是再生水利用的主要问题.因此,有效检测和预防病原微生物污染,保障水质安全是城市污水再生利用的前提.

隐孢子虫 (*Cryptosporidium*) 和贾第鞭毛虫 (*Giardia*) (后简称“两虫”)是 2 种严重危害水质安全的病原性原生动物.由隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫孢囊引起的隐孢子虫病 (*Cryptosporidiosis*) 和贾第鞭毛虫病 (*Giardiasis*),目前国际上尚无有效的治疗方法^[1].美国国家环保总局 (USEPA) 制定并发布的 1623 方法是目前国际上最常用的两虫检测标准方

法,包括浓缩、分离和鉴定 3 个步骤^[2].但该方法存在成本高^[3]、回收率低且不稳定^[1,4]等缺陷.另外,该方法基于饮用水水质进行参数设定,将其应用于环境样品和污水再生处理系统时存在一定的不确定性.

根据文献报道,水源水^[5~7]、饮用水^[8]、污水和再生水^[9~13]中均有两虫检出.由于污染源、水质特征和检测手段不同,即使是同一类型水体的测定结

收稿日期:2005-12-27;修订日期:2006-02-28

基金项目:国家自然科学基金项目 (20477021); 国家自然科学基金-JST 重大国际合作项目 (20510076)

作者简介:张彤 (1981~),女,硕士研究生,主要研究方向为污水再生利用, E-mail: zt00@mails.tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

果也存在明显差异.其中,再生水中隐孢子虫检出率从 40%~70%不等^[11~13].本研究参考典型污水再生处理系统中两虫的存在水平,选择投加浓度为 20 个/L^[9,10].

本研究的前期工作发现,与其他浓缩方式相比,膜过滤-洗脱法的回收率较高,基于该方法设计的检测流程成本只有 1623 方法的 55%左右.但对于浊度较低的水样,浓缩仍然是整个试验回收率的限制步骤.而浊度较高时,原水杂质成分的增加会对免疫磁性分离(immunomagnetic separation, IMS)过程产生不良影响.本研究通过对膜过滤-洗脱环节和 IMS 过程进行改进和参数优化,使其对水质有较强的适应性,提高并稳定了各步骤的回收率,建立了适用于污水再生处理系统的两虫检测方法.

1 材料与方法

1.1 水样

试验用水先后采用北京市 A 污水处理厂二沉池出水(浊度约为 4 NTU),深度处理(混凝-沉淀-过滤)后出水和北京市 B 污水处理厂二沉池出水(浊度约为 1 NTU).水样采集后,于 24h 内运抵实验室,在 4℃ 下黑暗保存.采样后 72h 内完成过滤、洗脱和离心浓缩,浓缩后如不立刻进行分离和鉴定过程,样品置于 4℃ 下黑暗保存.

1.2 试剂和材料

洗脱剂:1g Laureth-12(美国 PALL 公司生产),10mL 1mol/L Tris(pH7.4,德国 Sigma 公司生产),2mL 0.5mol/L EDTA(pH8.0,德国 Sigma 公司生产),0.15mL Antifoam A(德国 Sigma 公司生产),加纯水至 1L,当天配制当天使用.

免疫磁珠分离试剂盒:Biotech ASA,挪威 DYNAL 公司生产.

免疫荧光染色试剂盒:EasyStain,澳大利亚 BTF 公司生产,内含两虫非定量阳性标样(positive control).

两虫定量标样:EasySeed,澳大利亚 BTF 公司生产,内含隐孢子虫(99 ± 1.4)个,贾第鞭毛虫(100 ± 1.4)个.

荧光微球:美国 Polysciences 公司生产, $\Phi 4.5\mu\text{m}$ (后称为“隐孢子虫微球”)和 $\Phi 20.0\mu\text{m}$ (后称为“贾第鞭毛虫微球”)2 种规格,激发波长 441nm,发射波长 486nm.

滤膜:美国 Minipore 公司生产, $\Phi 47\text{mm}$,孔径 1.2 μm .

1.3 试验方法

本研究在浓缩环节优化试验中分别采用北京市 A、B 污水处理厂的二沉池出水,定量投加与两虫形状相似的荧光微球作为替代物^[14~17],考察两虫的浓缩效果.在分离环节优化试验中采用 A 厂二沉池出水,进行两虫定量标样投加试验考察其回收率.最后,采用 A、B 厂二沉池出水、A 厂深度处理后出水及自配水,进行两虫定量标样投加试验考察该优化方法全过程的回收率.

1.3.1 浓缩环节方法优化

采用荧光微球作为两虫的替代物,通过微球加标试验考察膜过滤浓缩环节不同洗脱方法的回收率.

直接洗脱法:膜过滤→振荡洗脱(250 r/min, 15min)→离心浓缩.

改进工艺一:膜过滤→50mL 离心管中洗脱液浸泡滤膜 12h→漩涡混合器上剧烈振荡盛有滤膜的离心管 3~5min→振荡洗脱(250 r/min, 15min, 2 次相互垂直的方向)→离心浓缩.

改进工艺二:膜过滤→对滤膜进行刮擦处理→50mL 离心管中洗脱液浸泡滤膜 12h→漩涡混合器上剧烈振荡盛有滤膜的离心管 3~5min→振荡洗脱(250 r/min, 15min, 2 次相互垂直的方向)离心浓缩.

1.3.2 分离环节方法优化

1623 方法中的免疫磁性分离(IMS)过程为:向平边试管中加入抗隐孢子虫的磁珠抗体(Dynabeads Cryptos-combo)和抗贾第鞭毛虫的磁珠抗体(Dynabeads Giardia-combo),旋转混合,抗原抗体反应使卵囊和孢囊分别与其磁珠抗体结合,形成复合体.卵囊、孢囊由于其磁珠抗体偶联,被磁珠收集器(MCP-I)磁力吸附在样品管壁上,杂质则随上清液被去除.卵囊、孢囊被转移至微量离心管后在另一个磁珠收集器(MCP-M)上再次被分离纯化.加酸酸化,剧烈振荡使两虫-磁珠结合体解离,利用磁珠收集器(MCP-M)磁条吸引磁珠而达到将其从悬浮液中分离去除的目的.

为了降低因水质成分复杂对检测造成的干扰,本研究通过两虫定量标样投加试验,考察 IMS 环节 3 种改进措施对回收率的影响.其中,改进措施一为:离心浓缩后吸去上清,加入纯水剧烈振荡混匀,再次离心浓缩后收集沉淀进行 IMS 过程.改进措施二为:将磁珠与两虫的反应混合时间由 1h 延长到 1.5h.改进措施三为:增加酸解离次数,即第一次酸解离后将液体转移到并形玻片上干燥,进行第二次

酸解离,将液体转移到已烘干的玻璃片上,再次干燥.

1.3.3 鉴定

鉴定环节采用免疫荧光染色法 (immunofluorescent assay, IFA). 具体操作为:向每个井形玻片计数井中各加 50μL 甲醇 (分析纯),室温下干燥后,再加 50μL 染色液,37℃、暗处染色 60~90min. 用 Fixing Buffer 洗涤残留染色液,加入 1 滴包埋介质 (Mounting Media) 后盖片. 卵囊和孢囊在蓝光的激发下均呈现出绿色荧光,利用荧光显微镜进行扫描、记数.

2 结果与讨论

2.1 浓缩环节方法优化

2.1.1 洗脱操作的改进

试验发现,采用膜过滤后直接洗脱的方式浓缩两虫,存在回收率偏低且不稳定的问题. 根据 Pezzana 等人的结论^[18],适当延长滤膜与洗脱液的接触时间,并在漩涡混合器上剧烈振荡有利于隐孢子虫的回收. 因此本研究增加了过滤后滤膜浸泡过夜,洗脱前漩涡混合器剧烈振荡和垂直方向洗脱 2 次的操作. 如表 1 所示,改进前后共进行了 15 次荧光微球加标试验,前 3 次采用膜过滤后直接洗脱的方式,后 12 次采用膜过滤后浸泡振荡再洗脱的方式. 在膜过滤-浸泡振荡-洗脱试验中,多数结果都比较稳定,但样品 6 和样品 9 的回收率明显偏低. 这是由于颗粒物与膜结合的密实程度、洗脱时振荡角度等参数的随机性,导致有时会出现水流剪切力不能使膜截留物质脱落,造成洗脱效果不佳.

表 1 直接洗脱法与浸泡-振荡洗脱法的微球回收率/%

Table 1 Microsphere recovery of direct elution method and soak-agitation-elution method/%			
洗脱方式	样品编号	隐孢子虫微球	贾第鞭毛虫微球
直接洗脱法	1	18.2	34.1
	2	23.6	36.6
	3	21.8	34.1
	平均值	21.2	35.0
浸泡-振荡洗脱法	4	80.0	82.9
	5	81.8	92.7
	6	47.3	65.9
	7	78.2	82.9
	8	85.5	97.6
	9	40.0	49.1
	10	81.8	93.2
	11	85.5	90.9
	12	83.6	90.9
	13	78.2	88.6
	14	81.8	86.4
	15	85.5	95.5
	平均值	75.8	84.7

为了进一步稳定膜过滤-洗脱法的回收率,在滤膜浸泡过夜前增加了刮擦处理. 虽然单独将刮擦作为浓缩物转移手段难于把膜截留物完全转移,回收率很不稳定. 但是,根据表 2 所示的试验结果,刮擦作为洗脱操作的预处理,即在浸泡前先人为破坏截留物质与膜的结合作用,可以有效保障回收率的稳定性.

表 2 增加刮擦操作后的微球回收率/%

Table 2 Microsphere recovery of scraping-soak-agitation-elution method/%		
样品编号	隐孢子虫微球	贾第鞭毛虫微球
1	83.6	90.9
2	78.2	88.6
3	83.6	93.2
4	87.3	90.9
5	85.5	93.2
6	80.0	86.4
7	85.5	90.9
8	81.8	88.6
平均值	83.2	90.3

2.1.2 颗粒物对浓缩步骤回收率的影响

通过比较纯水、低浊度二沉池出水 (1NTU) 和高浊度二沉池出水 (4NTU) 在浓缩步骤的回收率 (如图 1),发现当水中的颗粒物含量较低时,回收率明显下降.

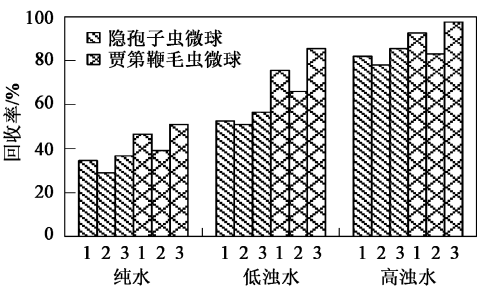


图 1 不同浊度水样浓缩步骤回收率的对比

Fig. 1 Comparison of recovery of concentrating step in water samples with different turbidity

为了提高低浊度水样浓缩的回收率,分别尝试了洗脱步骤的 2 种改进措施:延长洗脱时间和一次洗脱后更换新鲜洗脱液,回收率测定结果如表 3 所示. 可以看出,这 2 种措施都可以在一定程度上提高回收率,其中更换洗脱液的方法更加有效,但仍难以达到高浊水样较高且稳定的回收率. 因为延长洗脱时间和更换洗脱液只能使洗脱操作进行的更完全,

表 3 膜过滤-洗脱法及其 2 种改进措施的微球回收率/ %

Table 3 Microsphere recovery of membrane filtration-relution method and its two improvement measures/ %

水样	试验编号	膜过滤-洗脱法		延长洗脱时间		更换洗脱液	
		隐微球	贾微球	隐微球	贾微球	隐微球	贾微球
纯水	1	35.2	45.8	50.0	62.4	57.8	68.9
	2	33.6	46.2	46.1	60.9	59.1	68.0
	3	31.2	44.5	47.2	56.7	52.7	69.9
	平均值	33.3	45.5	47.8	60.0	56.5	68.9
低浊水(1NTU)	1	54.5	76.4	60.0	80.0	70.2	83.3
	2	53.4	76.4	56.5	81.1	70.2	81.9
	3	51.9	74.1	58.2	80.3	67.3	83.2
	平均值	53.3	75.6	58.2	80.5	69.2	82.8
高浊水(4NTU)	1	82.3	91.1				
	2	80.9	92.3				
	3	82.1	89.9				
	平均值	81.8	91.1				

而无法消除颗粒物对离心环节的影响。

为了进一步提高低浊度水样的回收率,研究中进行了高岭土添加试验,结果如图 2 所示.当水样浊度上升到 4NTU 左右时,回收率达到了比较理想的水平,并且浊度的进一步升高对回收率影响已不明显.曾有研究者发现,在纯水中添加颗粒物能够显著提高回收率,并较为详细地研究了不同粒径分布对浓缩回收率的影响^[19,20].但在实际水样的添加试验中,由于原颗粒物含量和粒径分布的多样性,即使定量投加一定尺寸的颗粒物也无法控制样品中的整体粒径分布.提高浊度的目的在于使颗粒物达到一定浓度,使两虫(或微球)有所附着,形成较大颗粒,洗脱时较易脱离滤膜,离心时更易被富集而成密实的沉积体,防止被吸除上清的操作所干扰.因此,在实际检测过程中,可不考虑粒径分布,用浊度作为颗粒物含量的评价指标,即可保证较高的回收率.

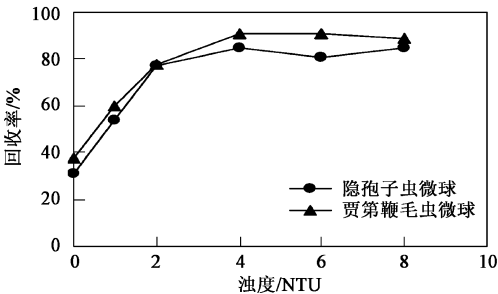


图 2 高岭土投加试验中微球回收率随水样浊度的变化

Fig. 2 Microsphere recovery under different water turbidity in kaolin clay adding test

2.2 分离环节方法优化

为了降低水质对 IMS 过程的影响,提高其回收

率,研究中采用两虫定量标样投加试验分别考察了浓缩后洗涤沉淀、延长磁珠与两虫的反应混合时间和进行 2 次酸解离等 IMS 优化方法对两虫回收率的影响,结果如表 4 所示.根据 Yakub 等人的结论^[21,22],洗脱剂残留物(EDTA 等)和水中溶解性成分(溶解性铁等)会降低 IMS 的回收率.本研究发现,浓缩后洗涤沉淀,可以在一定程度上降低这类物质的影响,提高回收效果.延长反应时间后,两虫的回收率反而降低.根据相关报道^[19],产生这一现象主要是因为混合时间过长使两虫-磁珠结合体再次发生了解离.特别是贾第鞭毛虫,由于其个体较大,与磁珠形成的复合体稳定性差,容易解离,当混合时间较长时,回收率低于隐孢子虫.2 次酸解离较大幅度地提高了 IMS 的回收率.可见,两虫与磁珠的解离效果是影响 IMS 回收率的主要因素.

表 4 IMS 优化方法的两虫回收率/ %

Table 4 *Cryptosporidium* and *Giardia* recovery of IMS improvement measures/ %

方法	隐孢子虫		贾第鞭毛虫	
	IMS 回收率	总回收率	IMS 回收率	总回收率
原方法	46.0	38.0	47.2	42.0
洗涤沉淀	65.4	54.0	69.7	62.0
延长反应混合时间	36.3	30.0	31.5	26.0
2 次酸解离	84.7	70.0	87.7	78.0

2.3 污水再生处理系统两虫检测的优化方案

综合上述试验结果,污水再生处理系统中两虫检测优化方案如图 3 所示.通过两虫定量标样投加试验考察该流程在不同水质条件下的回收率,以及

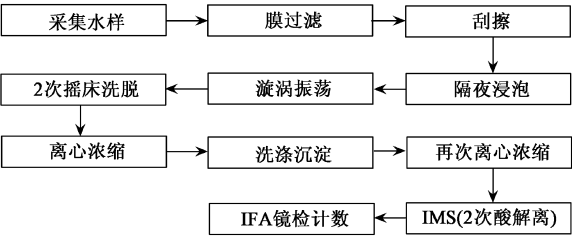


图3 污水再生处理系统两虫检测优化方案

Fig. 3 Improved procedure for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater reuse system

低浊水样投加高岭土对总回收率的影响. 该试验中, 除 A 厂二沉池出水, 其他水样均投加高岭土将浊度

提高至 4NTU. 由表 5 可以看出, 高岭土的投加不会对 IMS 过程产生不良影响, 各水样中两虫的总回收率明显高于 1623 法的接受标准 (> 24 %), 并且各步骤回收率基本稳定.

3 结论

- (1) 在直接洗脱的基础上, 增加滤膜刮擦后隔夜浸泡和洗脱前剧烈振荡的操作能够显著提高并稳定浓缩环节膜过滤-洗脱法的回收率.
- (2) 与延长洗脱时间和更换洗脱液相比, 投加高岭土浊液提高水样浊度至 4NTU 更加有效地提高

表 5 污水再生处理系统两虫检测优化方案的回收率/ %

Table 5 Recovery of the improved procedure for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wastewater reuse system/ %

水样	隐孢子虫			贾第鞭毛虫		
	浓缩	IMS + IFA	总回收率	浓缩	IMS + IFA	总回收率
纯水 + 高岭土	78.3	92.0	72.0	87.3	93.9	82.0
A 厂二沉池出水	82.6	92.0	76.0	91.1	92.2	84.0
B 厂二沉池出水 + 高岭土	82.3	91.1	75.0	91.3	92.0	84.0
A 厂深度处理出水 + 高岭土	80.6	91.8	74.0	88.6	92.6	82.0

了膜过滤-洗脱的回收率.

(3) 离心浓缩后洗涤沉淀并进行 2 次酸解离是提高 IMS 过程回收率的有效措施. 反应混合时间过长可能使两虫与磁珠的结合体发生解离.

(4) 本研究建立的污水再生处理系统两虫检测优化方案对水质有较强的适应性, 提高了检测方法的回收率和稳定性.

参考文献:

[1] Carey C M, Lee H, Trevors J T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst[J]. Water Research, 2004, 38: 818 ~ 862.

[2] USEPA. Method 1623: *Cryptosporidium* in Water by Filtration/ IMS/ FA[S]. EPA-821-r-99-006. 1999.

[3] Hsu B, Huang C, Hsu Y, et al. Evaluation of two concentration methods for detecting *Giardia* and *Cryptosporidium* in water[J]. Water Research, 2001, 35(2) : 419 ~ 424.

[4] 宗祖胜, 胡洪营, 张金松, 等. 用 PCR 技术检测水中隐孢子虫[J]. 中国给水排水, 2004, 20(8) : 91 ~ 93.

[5] Bastos R K X, Heller L, Vieira M B M. *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium* spp. oocysts dynamics in southeast Brazil: occurrence in surface water and removal in water treatment processes[J]. Water Supply, 2004, 4(2) : 15 ~ 22.

[6] Masago Y, Oguma K, Katayama H. *Cryptosporidium* monitoring system at a water treatment plant, based on waterborne risk assessment[J]. Water Science and Technology, 2004, 50(1) : 293 ~ 299.

[7] Hashimoto A, Kunikane S, Hirata T. Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in the drinking water supply in Japan[J]. Water Research, 2002, 36(3) : 519 ~ 526.

[8] Hsu B M, Huang C P, Hsu C L, et al. Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in the Kaur Ping River and its Watershed in Southern Taiwan[J]. Water Research, 1999, 33(11) : 2701 ~ 2707.

[9] Bukhari Z, Smith H V, Sykes N, et al. The Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* cysts in sewage influents and effluents from treatment plants in England[J]. Water Science & Technology, 1997, 35(11-12) : 385 ~ 390.

[10] Rose J B, Farrah S R, Harwood V J, et al. Reduction of pathogens, indicator bacteria, and alternative indicators by wastewater treatment and reclamation processes [R]. Water Environment Research Foundation Final Report, 2004.

[11] Gennaccaro A L, McLaughlin M R, Quintero-Betancourt W, et al. Infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in final reclaimed effluent [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(8) : 4983 ~ 4984.

[12] Scott T M, McLaughlin M R, Harwood V J, et al. Reduction of pathogens, indicator bacteria, and alternative indicators by wastewater treatment and reclamation processes [J]. Water Science and Technology: Water Supply, 2003, 3(4) : 247 ~ 252.

[13] Harwood V J, Levine A D, Scott T M, et al. Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection [J]. Applied and

- Environmental Microbiology, 2005, **71**(6): 3163 ~ 3170.
- [14] Emelko M B, Brown T. How conditions and coagulant type can affect *Crypto* removal [J]. Environmental Science & Engineering, 2003, **5**: 1 ~ 5.
- [15] Emelko M B, Huck P M, Douglas I P. *Cryptosporidium* and microsphere removal during late in-cycle filtration[J]. American Water Works Association. Journal, 2003, **95**(5): 173 ~ 182.
- [16] Kim H S, Shikiya J, Akiba M, et al. Examination of monodispersed artificial particles similar to *C. parvum* oocysts in size as the removal surrogate of *Cryptosporidium*[J]. Journal of water supply: Research and Technology, 2004, **53**(1): 51 ~ 59.
- [17] Emelko M B, Huck P M. Microspheres as Surrogates for *Cryptosporidium* Filtration [J]. American Water Works Association. Journal, 2004, **96**(3): 94 ~ 105.
- [18] Pezzana A, Vilagin ã P, Bordet F, et al. Optimization of the Envirochek capsule method and immunomagnetic separation procedure for the detection of low levels of *Cryptosporidium* in large drinking water samples [J]. Water Science and Technology, 2000, **41**(7): 111 ~ 117.
- [19] Hu J, Feng Y, Ong S L, et al. Improvement of recoveries for the determination of protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* in water using method 1623 [J]. Journal of Microbiological Methods, 2004, **58**: 321 ~ 325.
- [20] Feng Y, Ong S L, Hu J, et al. Effect of Particles on the Recovery of *Cryptosporidium* Oocysts from Source Water Samples of Various Turbidities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(4): 1898 ~ 1903.
- [21] Warren L A, Ferris F G. Continuum between sorption and precipitation of Fe() on microbial surfaces[J]. Environ. Sci. Technol., 1998, **32**: 2331 ~ 2337.
- [22] Yakub G P, Stadterman Knauer K L. Evaluation of Immunomagnetic Separation for Recovery of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* from High Iron Matrices[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66**(8): 3628 ~ 3631.

《环境科学》征稿简则

1. 来稿报道成果要有创新性,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).作者投稿时请先登陆我刊网站(www.hjxx.ac.cn)进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面给出的提示信息投稿即可.

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》中学术论文的规范撰写.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,以第三人称写.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. 文中图表应力求精简,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. 未公开发表资料不列入参考文献,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(外文也要姓列名前).论文名[J].期刊名,年,卷(期):起页~止页.

图书:作者.书名[M].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].保存地:保存单位,年份.

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 3 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. 投稿请附作者单位详细地址,邮编,电话号码,电子邮箱等.编辑部邮政地址:北京市 2871 信箱;邮编:100085;电话:010-62941102,010-62849343;传真:010-62849343;E-mail: hjxx@rcees.ac.cn;网址: www.hjxx.ac.cn