

pH 对 UASB 运行效能及产甲烷互营菌群的影响

张立国, 李建政, 班巧英, 许一平

(哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨)

摘要: 研究产甲烷互营菌群对 pH 变化的响应, 对于寻求提高有机废水厌氧生物处理效能的策略具有重要意义. 以处理制糖废水的升流式厌氧污泥床 (UASB) 反应器的运行为基础, 考察不同 pH 对反应器运行效能及产甲烷互营菌群的影响. 结果表明, 在进水 COD 20 000 mg · L⁻¹、HRT 8 h 的条件下, 当进水 pH 分阶段由 6.9 降至 5.4 时, UASB 系统的 pH 随之从 6.8 ~ 7.4 下降至 5.7 ~ 6.7, 导致 COD 去除率降低了 23.3%, 出水中残留丙酸提高了 3.9 倍. 聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 分析结果表明, 产氢产乙酸菌群在 UASB 中的多样性显著低于产甲烷菌群, 其分布和优势度受 pH 降低的影响显著. 以 Eub 19 (*Pelotomaculum*) 为代表的食丙酸产氢产乙酸菌在偏酸环境中的优势度明显减弱, 而食乙酸产甲烷菌及部分食氢产甲烷菌对 pH 下降响应并不显著, 且随着 pH 下降, 耐酸的食氢产甲烷菌 *Methanobacterium ferruginis* 和 Uncultured *Methanobrevibacter* 的优势度逐渐增强. 由此可见, 与产甲烷菌群相比, UASB 系统中的产氢产乙酸菌群对 pH 的变化更加敏感.

关键词: 升流式厌氧污泥床 (UASB); pH; 运行效能; 产氢产乙酸菌; 产甲烷菌

中图分类号: X703 文献标志码: A 文章编号: 0367-6234(2013)08-0044-06

Impact of pH on performance and syntrophic community of hydrogen-producing acetogens and methanogens in an UASB

ZHANG Ligu, LI Jianzheng, BAN Qiaoying, XU Yiping

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: An mesophilic upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactor treating sugar refinery wastewater with an influent COD 20 000 mg · L⁻¹ and HRT 8 h was introduced, and the impact of pH on its performance and hydrogen-producing acetogens and methanogens were investigated. The results showed that the pH in the UASB dropped from 6.8 - 7.4 to 5.7 - 6.7 when the influent pH decreased from 6.9 to 5.4, resulting in a reduction in COD removal by 23.3% and a propionate increase in effluent by 3.9 times. Polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) of sampled sludge indicated that the diversity of hydrogen-producing acetogens in the UASB was remarkably lower than that of the methanogens. The distribution and dominance of hydrogen-producing acetogens had been observably influenced by the dropped pH. The dominance of propionate-oxidizing bacteria (*Pelotomaculum*), represented by band Eub 19, were significantly reduced in approach acid condition, while acetotrophic methanogens and the dominant hydrogenotrophic methanogens stood steadily. Furthermore, the dominance of some acid-tolerant hydrogenotrophic methanogens such as *Methanobacterium ferruginis* and uncultured *Methanobrevibacter* were enhanced observably following the drop in pH. These results suggested that hydrogen-producing acetogens seemed to be more susceptible to pH than methanogens.

Key words: upflow anaerobic sludge bed (UASB); pH; performance; hydrogen-producing acetogens; methanogens

收稿日期: 2012-07-19.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51178136); 城市水资源与水环境国家重点实验室自主课题(2010DX06).

作者简介: 张立国(1980—), 男, 博士研究生;

李建政(1965—), 男, 教授, 博士生导师.

通信作者: 李建政, ljz6677@163.com.

废水厌氧生物处理技术因其负荷高、产泥少、能耗低且可回收沼气等优点受到广泛关注^[1-2]. 厌氧消化过程需要至少 3 类微生物的参与, 即水

解发酵菌群、产氢产乙酸菌群和产甲烷菌群^[3]。其中,产甲烷菌群对环境因子的变化高度敏感,其代谢作用通常被认为是厌氧消化过程的限速步骤^[4]。近年的研究表明,与产甲烷菌群互营共生的产氢产乙酸菌具有更长的世代时间和更窄的生态位^[5-6],对甲烷发酵过程有显著的限制作用^[7-8],其富集程度及活性对于厌氧消化系统的高效稳定运行具有重要意义^[9-10]。

作为重要的工程控制参数之一,pH对微生物群落结构与代谢活性影响显著,通过pH的合理调控,可提高目标微生物在厌氧消化系统中的数量和活性。目前,关于pH对厌氧消化系统中微生物影响的研究主要集中在水解发酵菌群和产甲烷菌群上,对产氢产乙酸菌群影响的研究少见报道^[11-13]。揭示pH对产氢产乙酸菌群影响的规律,对于分析厌氧消化系统中挥发酸的积累机制、阐明厌氧消化系统的限速步骤均有重要意义。本文以运行稳定的升流式厌氧污泥床(UASB)反应器为研究对象,探讨了pH变化对系统运行特征的影响,并利用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)指纹分析技术,分析了pH变化对系统中产甲烷互营菌群的影响,为寻求进一步提高厌氧生物处理效能及运行稳定性的方法提供参考。

1 实验

1.1 实验装置

如图1所示,UASB反应器由有机玻璃制成,总高1 350 mm,容积为11 L(反应区和三相分离区的容积比为3:1)。其中反应区高1 000 mm(高径比为10:1),三相分离器高350 mm。在反应区壁上等间距(200 mm)设5个取样孔(从下而上分别标记为1~5号)。反应器外壁缠绕电热丝,通过温控仪将内部混合液的温度控制在(35±1)℃。沼气由三相分离器的气室导出,经水封后由湿式气体流量计计量。

1.2 实验废水及前期运行基础

试验废水以甜菜制糖厂的废糖蜜稀释而成,投配适量尿素和KH₂PO₄使废水中的ρ(COD):ρ(N):ρ(P)为200:5:1,进水pH用小苏打进行调节。

前期,UASB已在进水COD 20 000 mg·L⁻¹、碱度(ALK)4 500 mg·L⁻¹、pH 6.9和水力停留时间(HRT)8 h的条件下达到稳定运行状态,其COD去除率维持在90%以上,生物量(MLVSS)为37.54 g·L⁻¹。

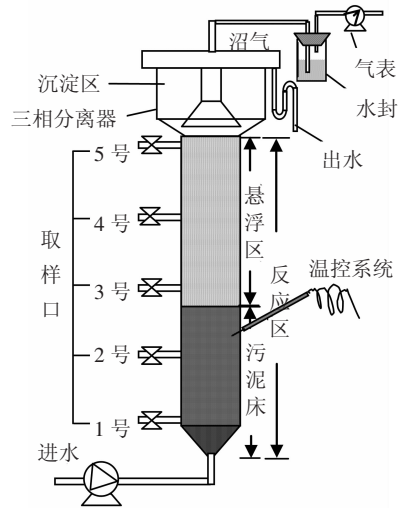


图1 UASB反应器构型

1.3 pH的调控

UASB在HRT 8 h、进水COD 20 000 mg·L⁻¹和pH 6.9条件下继续运行10 d,作为反应器调控运行的第I阶段,以作参照。保持进水COD和HRT不变,通过减少小苏打投加量的方式,分阶段将进水pH调节并保持在6.2(第II阶段,11~44 d)和5.4(第III阶段,45~71 d),每次pH的改变均在前一阶段运行达到稳定后进行。

1.4 分析项目及方法

COD、pH、MLVSS和ALK(以CaCO₃计)采用标准方法测定^[14],产气量通过湿式气体流量计(LML-1,长春汽车滤清器有限责任公司)计量,沼气组成和挥发性有机酸(VFAs)采用气相色谱仪(SP-6800A和SP6890,山东鲁南瑞虹化工仪器有限公司)测定^[15]。

1.5 DNA提取及PCR-DGGE分析

采用DNA提取试剂盒提取厌氧活性污泥总DNA(MO Bio Laboratories, Inc., Carlsbad, CA, USA),PCR及DGGE分析参照Wan等提供的方法进行^[16]。真细菌通用引物序列为341F, 5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3',带GC夹;907R, 5'-CCGTCAATTCMTTGTGATTT-3'。古细菌通用引物序列为344F, 5'-ACGGGGYGCAGCAGCGCGCA-3',带GC夹;915R, 5'-GTGCTCCCCCGCCAAT TCCT-3'。测序结果与NCBI的BlastX进行序列比对,并挑选目标序列用MEGA 3.1软件构建系统发育树。

2 结果与讨论

2.1 出水及系统内pH变化

如图2所示,UASB系统内的pH随进水pH的降低而降低。在进水pH分别为6.9(第I阶

段)、6.2(第Ⅱ阶段)和5.4(第Ⅲ阶段)条件下达到稳定运行后,UASB出水pH分别为7.7、7.4和7.0.在不同进水pH条件下,UASB系统的pH均呈现从下至上逐渐升高的态势.在第Ⅰ阶段,UASB达到运行稳定状态时,其底层(1号取样口)、中层(3号取样口)和上层(5号取样口)的pH分别保持在6.8、7.1和7.4;在进水pH为6.2左右的第Ⅱ阶段稳定期,系统底层、中层和上层的pH分别下降并稳定在6.3、6.8和7.1左右;在第Ⅲ阶段,当进水pH调至5.4左右后,系统底层、中层和上层的pH随之进一步降低,最终分别稳定在5.7、6.5和6.7左右.可见,进水pH的降低改变了UASB系统的内环境,这有可能导致系统内微生物群落的空间分布、菌群结构和代谢特征发生改变,进而影响系统的处理效能^[17-18].

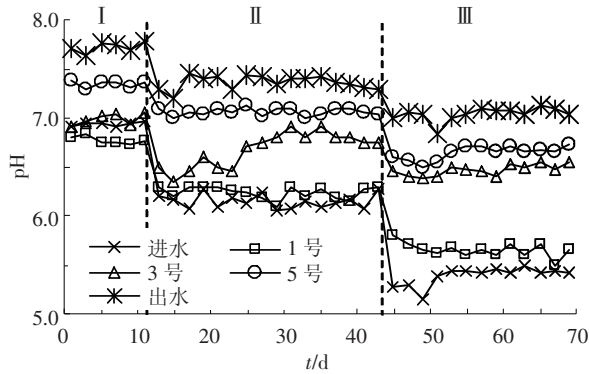


图2 UASB系统中pH随运行时间的变化

2.2 出水VFAs变化

UASB出水VFAs的变化是厌氧消化过程各类微生物菌群代谢平衡的反映,也是表征反应器运行状况的重要指标^[8].在第Ⅰ阶段,UASB系统内部的pH维持在6.8~7.4(图2),大多数厌氧微生物类群处于较适宜的酸碱环境中,表现出良好的代谢活性,虽然进水COD质量浓度高达20 000 mg·L⁻¹,HRT仅为8 h,但出水中残留的VFAs只有500 mg·L⁻¹左右(图3).

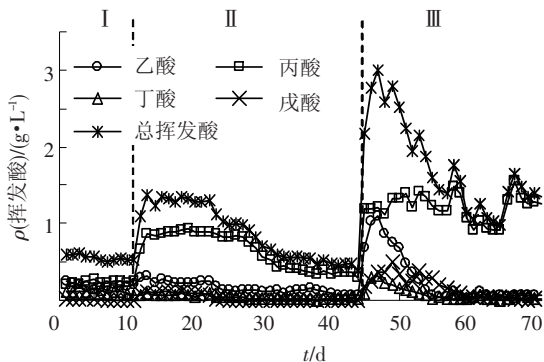


图3 不同pH条件下出水挥发酸组成

当进水pH下调到6.2(第Ⅱ阶段)时,UASB出水VFAs迅速增加到1 368 mg·L⁻¹,其中丙酸和乙酸分别占63.1%和22.8%(图3).分析认为,进水pH的下降导致UASB反应区的pH随之下降(pH 6.3~7.1,图2),对环境变化敏感的产甲烷互营菌群的活性受到了一定程度的抑制,导致水解发酵菌群和产甲烷互营菌群之间的代谢平衡被打破^[19],VFAs的产生大于消耗,出水VFAs质量分数增加.随着反应器的持续运行(图3),乙酸和丙酸质量浓度逐步下降,在运行第32天时各类微生物菌群的代谢平衡重新建立,UASB达到一个新的稳定状态.尽管在稳定期出水VFAs中乙酸的平均质量分数与第Ⅰ阶段稳定期的水平相当,但丙酸含量比第Ⅰ阶段稳定期高出21.9%,说明食丙酸产氢产乙酸菌的活性因环境pH的下降而有所下降.

在进水pH 5.4的第Ⅲ运行阶段,反应区pH降至5.7~6.7,UASB出水VFAs表现出与第Ⅱ阶段相似的变化规律.在偏酸性的环境中,水解发酵菌群与产甲烷互营菌群的代谢平衡再一次被打破,系统中VFAs的积累更加明显,主要中间产物乙酸和丙酸的质量浓度分别达1 124和1 407 mg·L⁻¹.随着反应器运行的继续,乙酸质量浓度迅速下降并最终稳定在100 mg·L⁻¹以下,而丙酸质量浓度则维持在1 200~1 300 mg·L⁻¹这一较高水平.由图3还可以看出,UASB在第Ⅲ阶段运行10 d(总第55天)之后,丙酸的波动仍然较大,表明系统运行出现了不稳定态势^[8].

2.3 沼气产量及甲烷体积分数

沼气产量及甲烷体积分数是厌氧消化系统运行效能的重要指标^[17].在第Ⅰ阶段,UASB平均沼气产量为440 L·d⁻¹,其甲烷体积分数为47%(图4).当进水pH在第Ⅱ运行阶段降为6.2(图2)并经18 d的运行重新达到稳定状态后,UASB的沼气产量平均为413 L·d⁻¹,较第Ⅰ阶段减少了7%,但沼气中甲烷体积分数变化不大(图4).pH在第Ⅲ运行阶段进一步降为5.4后(图2),系统的沼气发酵能力受到显著影响(图4),在该阶段运行结束时,其沼气产量及其甲烷体积分数较第Ⅰ阶段分别降低了24%和6%.分析认为,产氢产乙酸菌群和产甲烷菌群对环境酸碱度的变化非常敏感^[4-5],逐渐偏酸的环境势必会对其代谢活性产生一定的抑制效应,导致UASB系统的沼气产量及甲烷体积分数在偏酸性的条件下出现下降的趋势.在第Ⅲ阶段运行结束时,乙酸质量浓度维持在100 mg·L⁻¹以下,而丙酸质量浓度却保持

在 $1\ 200 \sim 1\ 300\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 3). 与食乙酸产甲烷菌群相比, 食丙酸产氢产乙酸菌群的代谢活性受到的抑制作用更加显著, 造成了丙酸在系统中的不断积累.

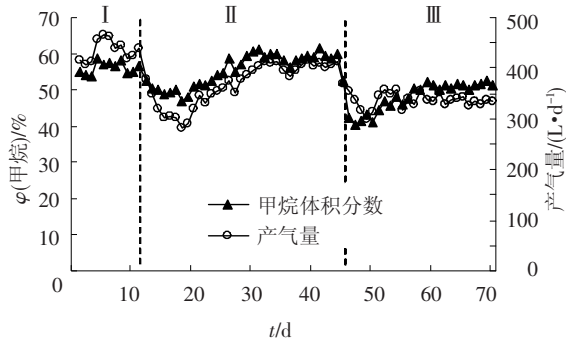


图 4 不同 pH 条件下产气量及 CH₄ 体积分数

2.4 COD 去除率

有机废水厌氧生物处理中 COD 的去除主要是通过甲烷和二氧化碳的产生和释放实现的^[12]. 在 UASB 运行的第 I 阶段, COD 去除率高达 91.3% 以上(图 5). 当进水 pH 由 6.9 降到 6.2 和 5.4 时, UASB 系统 COD 去除率均表现出类似的变化规律, 即 pH 改变初期急剧下降, 随后逐步回升并最终趋于稳定. 从图 3 可以看出, 在第 II 和第 III 运行阶段的初期, 系统内丙酸和乙酸发生积累(图 3), 说明 pH 的变化影响了产甲烷互营菌群的代谢活性, 造成系统 COD 去除率的下降. 随着运行的继续, COD 去除率也随之增加, 并最终趋于稳定(图 5), 说明系统中的产甲烷互营菌群逐渐适应了环境的改变. UASB 在进水 pH 6.2 (第 II 阶段) 条件下达到运行稳定时, 其平均 COD 去除率降至 89.2%. 当进水 pH 进一步降低为 5.4 (第 III 阶段) 并再次达到稳定运行时, 其 COD 去除率大幅降至 68% 左右, 这可能与偏酸环境对厌氧微生物, 尤其是食丙酸产氢产乙酸菌群活性的显著抑制作用有关^[8].

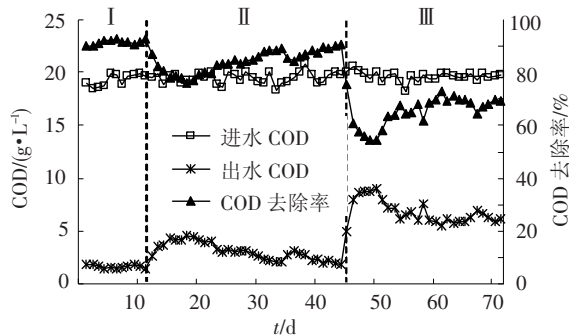
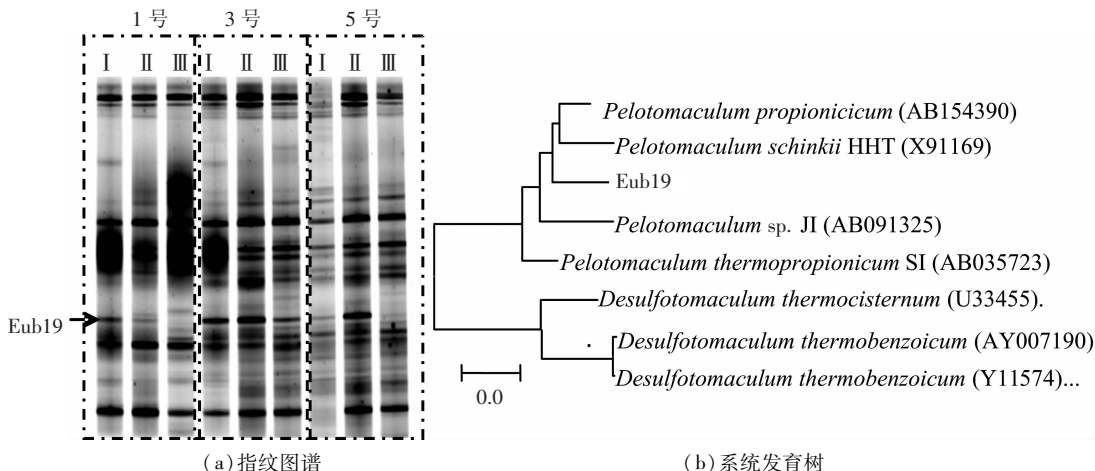


图 5 不同 pH 条件下进出水 COD 与 COD 去除率

2.5 产甲烷互营菌群的变化

为了探究 pH 变化对 UASB 系统中产甲烷互营菌群的影响, 在 UASB 3 个运行阶段末期, 分别从 UASB 的底层(1 号取样口)、中层(3 号取样口)和上层(5 号取样口)采集污泥样品, 并对这 9 个样品进行了 16S rDNA 的 PCR-DGGE 指纹分析.

图 6(a) 为真细菌的 DGGE 图谱, 对其条带回收、测序并与 NCBI 的 BlastX 进行序列比对后发现, UASB 系统中的产氢产乙酸菌群缺乏多样性, 只有 1 个条带(Eub 19)的 16S rDNA 序列与已鉴定的产氢产乙酸菌 *Pelotomaculum schinkii* strain HHT 的相似性为 96% (图 6(b)), 该菌是 1 株中温专性互营、食丙酸产氢产乙酸菌^[20]. 结合条带 19 在 DGGE 图谱中的位置可以看出, 随着 UASB 反应区 pH 降低, Eub 19 的空间分布及优势度发生了显著变化. 在第 I 阶段, Eub 19 主要分布在系统底层(pH 6.8)至中层(pH 7.1)区域中; 而在第 II 阶段, 该菌主要分布在中层(pH 6.8)和上层(pH 7.1)区域中; 在第 III 阶段, 该菌主要分布于中层(pH 6.5)附近, 但相对于第 II 阶段的优势度有显著减弱. 由此可见, 以 Eub 19 为代表的食丙酸产氢产乙酸菌在偏酸环境中的整体活性降低, 这可能是导致 UASB 系统发生丙酸积累、COD 去除率下降的直接原因.



(a) 指纹图谱

(b) 系统发育树

I、II、III: 3 个不同的运行阶段, 进水 pH 分别为 7.0、6.3、5.5; 1 号、3 号、5 号: 自下而上 3 个不同的取样口.

图 6 真细菌指纹图谱及产氢产乙酸菌的系统发育树

由于产氢产乙酸菌的代谢需要依赖产甲烷菌的耗氢作用才能完成,产甲烷菌群多样性和优势度的改变将反作用于产氢产乙酸菌群,并进一步影响到厌氧消化系统已建立的微生物生态关系,进而改变UASB的运行效能和稳定性.因此,对上述9个污泥样品进行了古细菌的16S rDNA PCR-DGGE 指纹分析并构建了系统发育树(图7).如图7(b)所示,4个条带(Arc3、4、7、8)与 *Methanosaeta concilii* 相似性为99%以上,该菌只能利用乙酸生长^[4];条带 Arc 1、2、5、6、9 分别与 *Methanolinea tarda*、*Methanobacterium beijingense*、*Methanobacterium ferruginis*、Uncultured *Methanobrevibacter* 和 *Methanospirillum hungatei* 高度相似(>98%),这5种菌均属于利用H₂或甲酸的产甲烷菌^[4].

从图7(a)可以看出,4个食乙酸产甲烷菌(Arc 3、4、7、8)和2个食氢产甲烷菌(Arc 1和Arc 2)在整个运行过程中没有发生明显变化,说明它们对pH有较宽的适应范围,成为UASB系统中的优势产甲烷菌.而其他食氢产甲烷菌的分布和优势度随pH降低发生了显著变化.其中,在第I

和第II运行阶段,Arc 9在系统底层、中层和上层具有分布且优势度相当;到第III运行阶段,其在反应系统底层的优势度明显减弱,而另外两类食氢产甲烷菌(Arc 5、6)的优势度显著加强,表现出一定的耐酸性.已有研究证实, *M. ferruginis* (Arc 5)可在pH 5.5~8.0生长良好^[21].

在厌氧生物处理系统中,作为中间代谢产物的VFAs需要在产甲烷互营菌群的作用下转化为甲烷^[4].在进水COD 20 000 mg·L⁻¹、HRT 8 h、生物量(MLVSS) 37.54 g·L⁻¹条件下,随着进水pH由6.9经由6.2降至5.4,UASB出水中的总VFAs增加了1.6倍,其中的丙酸质量浓度增加了3.9倍(图3).在第III阶段稳定运行期,活性污泥中的食丙酸产氢产乙酸菌的优势度显著减弱,而产甲烷菌仍然保持较高的多样性和优势度(图7).可见,与产甲烷菌群相比,产氢产乙酸菌群的pH适应范围更窄,换言之,当pH为限制性生态因子时,产氢产乙酸作用对厌氧消化过程的限制作用要大于产甲烷作用.

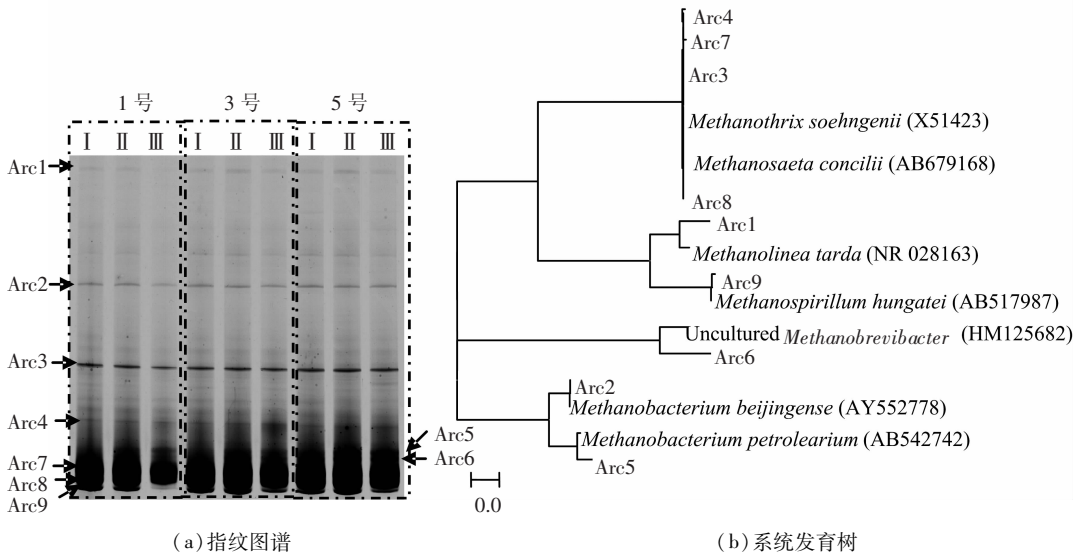


图7 古细菌指纹图谱及系统发育树

3 结论

1)在进水COD 20 000 mg·L⁻¹、HRT 8 h、生物量 37.54 g·L⁻¹条件下,当进水pH分阶段由6.9降至5.4时,UASB系统内pH由6.8~7.4降至5.7~6.7,COD去除率下降了23.3%,出水中残留丙酸提高了3.9倍.

2)pH的降低对产甲烷互营菌群在UASB中的分布和优势度产生了显著影响,其中食丙酸产氢产乙酸菌在系统中的优势度显著降低,随着pH的下降,耐酸的食氢产甲烷菌的优势度得到了

加强.

3)与产甲烷菌群相比,产氢产乙酸菌群在UASB系统中的系统发育多样性更低,对pH变化更加敏感,其产氢产乙酸作用对厌氧消化过程的限制作用显著大于产甲烷菌群.

参考文献

- [1] LETTINGA G, FIELD J, LIER J V, et al. Advanced anaerobic waste-water treatment in the near future [J]. Water Science and Technology, 1997, 35(10): 5-12.
- [2] ANGENENT L T, KARIM K, AL-DAHMAN M H, et al. Production of bioenergy and biochemicals from

- industrial and agricultural wastewater [J]. *TRENDS in Biotechnology*, 2004, 22(9): 477–485.
- [3] BRIONES A, RASKIN L. Diversity and dynamics of microbial communities in engineered environments and their implications for process stability [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2003, 14(3): 270–276.
- [4] LIU Y, WHITMAN W B. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea [J]. *Annual New York Academy of Science*, 2008, 1125: 171–189.
- [5] MCINERNEY M J, STRUCHTEMEYER C G, SIEBER J. Physiology, ecology, phylogeny, and genomics of microorganisms capable of syntrophic metabolism [J]. *Annual New York Academy of Science*, 2008, 1125: 58–72.
- [6] 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 定量分析 [J]. *微生物学报*, 2007, 47(6): 1038–1043.
- [7] SHIGEMATSU T, ERA S, MIZUNO Y, *et al.* Microbial community of a mesophilic propionate-degrading methanogenic consortium in chemostat cultivation analyzed based on 16S rRNA and acetate kinase genes [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72: 401–415.
- [8] ARIESYADY H D, ITO T, OKABE S. Functional bacterial and archaeal community structures of major trophic groups in a full-scale anaerobic sludge digester [J]. *Water Research*, 2007, 41: 1554–1568.
- [9] STAMS A J M, PLUGGE C M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7: 568–577.
- [10] MCINERNEY M J, SIEBER J R, GUNSALUS R P. Syntrophy in anaerobic global carbon cycles [J]. *Current Opinion Biotechnology*, 2009, 20(6): 623–632.
- [11] REN Nanqi, CHEN Xiaolei, ZHAO Dan. Control of fermentation types in continuous-flow acidogenic reactors: effects of pH and redox potential [J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2001, 8(2): 116–119.
- [12] SAVANT D V, RANDE D R. Application of *Methanobrevibacter acididurans* in anaerobic digestion [J]. *Water Science and Technology*, 2004, 50: 109–114.
- [13] JHA A K, LI J, LORING N, *et al.* Research advances in dry anaerobic digestion process of solid organic wastes [J]. *Africa Journal of Biotechnology*, 2011, 10(65): 14242–14253.
- [14] GREENBERG A E. Standard methods for the examination of water and wastewater [M]. Washington: American Public Health Association, 1995.
- [15] LI J, ZHENG G, HE J, *et al.* Hydrogen-producing capability of anaerobic activated sludge in three types of fermentations in a continuous stirred-tank reactor [J]. *Biotechnology Advance*, 2009, 27: 573–577.
- [16] WAN C, DU M, LEE D, *et al.* Electrokinetic remediation and microbial community shift of β -cyclodextrin-dissolved petroleum hydrocarbon-contaminated soil [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(6): 2019–2025.
- [17] SPEECE R E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters [J]. *Environmental Science and Technology*, 1983, 17(9): 416–427.
- [18] SEGHEZZO L, ZEEMAN G, LIER van J B, *et al.* A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors [J]. *Bioresource Technology*, 1998, 65(3): 175–190.
- [19] PAVLOSTATHIS S G, GIRALDO-GOMEZ E. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review [J]. *Critical Reviews in Environmental Control*, 1991, 21(5): 411–490.
- [20] BOK de F A M, HARMSSEN H J M, PLUGGE C M, *et al.* The first true obligately syntrophic propionate-oxidizing bacterium, *Pelotomaculum schinkii* sp. nov., co-cultured with *Methanospirillum hungatei*, and emended description of the genus *Pelotomaculum* [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55: 1697–1703.
- [21] MORI K, HARAYAMA S. *Methanobacterium petrolearium* sp. nov. and *Methanobacterium ferruginis* sp. nov., mesophilic methanogens isolated from salty environments [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61(1): 138–143.

(编辑 刘 彤)