

磷脂脂肪酸谱图分析方法及其在环境微生物学领域的应用

李冬梅,施雪华,孙丽欣,赵贞,余敏,欧阳红

哈尔滨工业大学市政环境工程学院城市水资源和水环境国家重点实验室,哈尔滨 150090

摘要 传统的微生物鉴定和群落分析方法建立在微生物纯种培养分离的基础之上。但是在自然环境中,99%以上的微生物未能通过人工培养,在微生物的分析和研究中存在很大的局限性。与传统的基于培养基的微生物分离技术以及生理学方法和分子生物学方法相比,基于现代生物化学技术——脂肪酸可作为生物标记物而发展起来的磷脂脂肪酸谱图分析方法(PLFA)具有不依赖于培养体系影响,能够直接有效地提供微生物群落中的信息;脂肪酸成分不受质粒数量的影响,试验结果客观、可靠;试验条件要求低、操作难度小、测试功能多;由脂肪酸谱图可以对整个微生物群落进行定量描述等诸多优点,在环境微生物学领域的应用日趋广泛。本文综述了 PLFA 谱图分析方法及其在环境微生物学领域的应用,包括在微生物检测、鉴定和微生物多样性研究中的应用。

关键词 PLFA 谱图分析;气相色谱/气相色谱-质谱联用;微生物鉴定;微生物多样性

中图分类号 X172

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.02.009

Applications of Phospholipid Fatty Acid (PLFA) Analysis in Environmental Microbial Study

LI Dongmei, SHI Xuehua, SUN Lixin, ZHAO Zhen, YU Min, OUYANG Hong

State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin 150090, China

Abstract Traditional microbial identification and cluster analysis method is founded on the basis of the separation of microbial pure culture. Because more than 99% of micro-organisms can not be cultured in the natural environment, microbial analysis and research have many limitations. Compared with the traditional medium-based microbial separation technology as well as physiological methods and molecular biological methods, the Phospholipid Fatty Acid analysis which based on fatty acids as a biomarker is widely used in the research of environmental microbiology nowadays. This paper discusses the PLFA fingerprint analysis and its applications for environmental microbial studies, including identification of unknown microbes and assessment of microbial diversity.

Keywords Phospholipid fatty acid analysis; GC/GC MS; microbial identification; microbial diversity

0 引言

环境中微生物的种类和数量是及其丰富的^[1],微生物能把有机质作为营养源转化为组成物质和能量,它们在环境治理过程中扮演着极其重要的作用。分离和鉴定处理系统中的优势菌,了解特定环境下微生物群落的种群分布、遗传多样性及其动态变化规律和认识微生物群落的稳定性及功能菌的作用,是环境微生物学研究的重要内容。传统的微生物鉴

定和群落分析方法建立在微生物纯种培养分离基础上,但自然环境中 99% 以上的微生物还不能通过人工培养,在微生物的分析和研究工作中具有很大的局限性。

White 等^[2]于 20 世纪 70 年代末发展了磷脂脂肪酸(Phospholipid Fatty Acid, PLFA)谱图分析方法,该方法是基于脂肪酸可作为生物标记物而发展起来的分析技术。通过分析微生物细胞膜上磷脂脂肪酸的组分来鉴定微生物的种属,分析微

收稿日期:2011-08-31;修回日期:2011-12-25

基金项目:哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(2007RFXG041);城市水资源与水环境国家重点实验室自主课题(2010QN03)

作者简介:李冬梅,工程师,研究方向为生物技术和生物质能,电子信箱:ldm177110@yahoo.com.cn

生物多样性,是一种简便、快捷和可靠的分析方法。本文对 PLFA 谱图分析方法在环境微生物学研究中的应用进行了综述。

1 PLFA 谱图分析方法简介

1.1 PLFA 概念、分类和命名

磷脂是含有磷酸基团的脂质,目前已发现了 1000 多种磷脂类物质。磷脂作为微生物细胞膜主要成分,是甘油分子的第 3 位羟基被磷酸或其他羟基所酯化形成的。其结构特点是:具有由磷酸相连的取代基团(含氨碱或醇类)构成的亲水头(hydrophilic head)和由脂肪酸链构成的疏水尾(hydrophobic tail)。

脂肪酸通常被分成 6 类^[9]:直链、直链顺单烯(cis⁻)、直链反单烯(tran⁻)、支链饱和、环状及多烯脂肪酸(这些脂肪酸优先与磷脂甘油骨架中间 C 原子键合)。脂肪酸经甲酯化后形成脂肪酸甲酯(Fatty acid methyl esters, FAMEs),它们又可分为:羟基取代的 FAMEs (OH FAMEs)、酯连接羟基取代的 FAMEs (EL-OH FAMEs)、非酯连接羟基取代 FAMEs (NEL-NYFAMEs)、饱和 FAMEs (SA FAMEs)、单不饱和 FAMEs (MU FAMEs)、酯连接多聚不饱和 FAMEs (PU FAMEs) 和非酯连接不饱和 FAMEs (UNS FAMEs)。

不同种类的磷脂脂肪酸常以一系列 C 原子数目与希腊字母表示。例如:16:1 ω 7c 表示含有 16 个 C 原子/一个双键/双键距甲基(ω)端 7 个 C 原子/顺式构型脂肪酸;也可将不饱和程度置于 Δ x 之后,x 代表距羧基端(Δ)最近的双键位置。脂肪酸构型可用简单符号表示,如顺式 cis(双键两侧-H 在同侧)与反式 trans(双键两侧-H 键在异侧),分别用 c-与 t-表示,因此 16:1 ω 7c 也可以表示为 16:1 cis 9;a-与 i-代表异型 Anteiso(甲基在 C 末端第 3 位 C 原子上)和同型 Iso(甲基在 C 末端第二位碳原子上);br-表示未知甲基支链的位置;ME-前的数字代表甲基取代基团距分子羧基端 C 原子数;cy-代表了环丙烷脂肪酸;2-与 3-代表羟基脂肪酸的-OH 分别第 2、3 位 C 原子上;16:0 FAME 表示 16 个 C 原子的脂肪酸甲酯。

1.2 PLFA 谱图分析原理

PLFA 谱图分析方法的原理是基于磷脂作为几乎所有生物细胞膜的重要组成部分,细胞中磷脂的含量在自然生理条件下恒定,约占细胞干重的 5%。不同微生物具有不同的磷脂脂肪酸种类和含量水平,其含量和结构具有种属特征或与其分类位置密切相关,能够标志某一类或某种特定微生物的存在,是一类最常见的生物标记物^[9]。古细菌(Archaea)的极性脂质是以醚而不是酯键的形式出现,不能使用 PLFA 谱图进行分析。由于磷脂不能作为细胞的贮存物质,一旦生物细胞死亡,其中的磷脂化合物就会迅速分解,因而磷脂脂肪酸可以代表微生物群落中“存活”的那部分群体。

由于各种菌群的微生物生物量和群落组成不同,不同菌群具有独特的 PLFA 特征谱图(包括 PLFA 总量、组成),为此磷脂脂肪酸构成的变化能够说明环境样品中微生物群落结

构的变化,可以对微生物群落进行识别和定量描述。细菌的生物量(bact PLFAs)可以通过 i15:0,a15:0,15:0,i16:0,16:1 ω 9,16:1 ω 7t,i17:0,a17:0,17:0,18:1 ω 7, 和 cy19:0 的 PLFA 的总含量进行估算;真菌的生物量通过 18:2 ω 6 的含量估算;可用 16:0(10Me),17:0(10Me),18:0(10Me),i15:0,a15:0,i16:0,i17:0 和 a17:0 的总含量来估算革兰氏阳性菌的含量,可用 16:1 ω 5,16:1 ω 7 t,16:1 ω 9,cy17:0,18:1 ω 5,18:1 ω 7 和 cy19:0 的总含量来估算革兰氏阴性菌的含量^[9]。

1.3 PLFA 的提取与鉴定

1.3.1 PLFA 的提取

1.3.1.1 纯培养微生物的提取

通过碱甲醇分解法提取纯培养微生物的 FAMEs (Total Soil Fatty Acid Methyl Esters, TS FAMEs)^[6]。其步骤为:(1)取 40mg 菌体细胞,加 1mL 3.75mol/L NaOH 甲醇-水(体积比为 1:1),涡旋振荡后于 100℃水浴保温 30min(此过程中细胞溶解,脂肪酸从细胞磷脂上水解下来并转移到钠盐上);(2)加入 2mL 的 6mol/L 盐酸-甲醇(体积比为 1:0.85),80℃水浴保温 10min(甲酯化);(3)加 1.25mL 正己烷-叔甲基丁基醇(体积比为 1:1),将 FAMEs 由酸液中提取至有机相;(4)加 3mL 0.36mol/L NaOH 溶液进行减洗涤,收集有机相进行 GC 测定, MIDI 系统分析。

1.3.1.2 混合菌群的提取

用于分析混合菌群的环境样品 PLFAs 的提取一般采用氯仿-甲醇液体有机溶剂萃取法,即先通过氯仿-甲醇单相萃取浸提环境样品微生物脂肪酸,再经硅胶柱纯化以及酯化作用得到活体细胞膜结合态 FAMEs。该方法由 Bligh 和 Dyer^[7]首次使用。具体步骤为:(1)将一定重量环境样品(土壤、活性污泥或生物膜等)于 50mL 氯仿-甲醇-磷酸盐缓冲液(体积比为 1:2:0.8)浸提;(2)上清液中加入氯仿-甲醇-磷酸盐缓冲液(体积比为 1:1:0.9)25mL 振荡过夜分层,所得有机相用旋转真空干燥器干燥;(3)过活性硅胶柱,收集甲醇相,高纯 N₂ 吹干;(4)加 2mL 的 6mol/L 盐酸-甲醇(体积比为 1:0.85),80℃水浴保温 2h,加入 2mL 正己烷,涡旋混匀 30s 后提取上层的 FAMEs。

甲醇与环境样品比例、缓冲液及相应 pH 值等多种因素影响 PLFAs 的提取效率,此外提取磷脂的玻璃器皿应使用 10% HCl 浸泡后在 450℃烘 4h 以上或过夜去除磷脂污染;硅胶应避免与水等强极性介质接触,使用前应在 120℃活化 2h。整个提取过程应在避光、低温(<35℃)条件下完成。作为环境样品混合菌群脂肪酸提取的标准方法,该方法存在危险溶剂使用量多和时间消耗多的缺点。

为了避免有机溶剂萃取法的缺点,美国 MIDI 公司^[8]开发了微生物 FAME 快速提取法,该方法采用甲醇/KOH 溶解细胞,将微生物细胞中的脂肪酸释放出来,使用正己烷萃取脂肪酸,盐酸-甲醇溶液进行甲酯化。MIDI 公司的 FAME 快速提取法具有快速且溶剂使用少的优点,但用该方法提取的 FAME 可能包含环境样品中的脂肪酸,得到的结果含有背景值。

1.3.2 PLFA 的鉴定

目前一般采用微生物鉴定系统 (Microbial Identification System, MIDI)、气质联机 (Gas Chromatography–Mass Spectrometry, GC–MS) 和液质联机 (High Performance Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Mass Spectrometry, HPLC–ESI–MS) 等方法鉴定 PLFAs。

MIDI 系统是采用火焰离子检测器反复测定的标准脂肪酸保留时间为基础, 用介于 9—20 之间标准碳原子数的混合脂肪酸保留时间对气相色谱系统进一步校准, 整个过程通过 Automated Sherlock MIDI 软件实现。该系统能非常精确地对二甲基乙缩醛以及典型甲酯等碳氢化合物进行识别与定量。GC–MS 以质谱作为检测器, 该方法获得的检测下限比较低。可对碳原子数介于 9—20 以外的混合脂肪酸进行识别, 同时可排除被 MIDI 系统错误识别为 FAMEs 的非酯成分。HPLC–ESI–MS 可对完整磷脂种类 (极性头部) 与脂肪酸侧链 (非极性尾部) 进行分析, 对最初活体细胞膜磷脂分子所承载的全部信息进行表征。

PLFA 谱图分析主要采用主成分分析 (Principal Component Analyses, PCA)^[4]、部分最小二乘法识别 (D–PLS) 和标准判别式分析 (RDA)^[8] 等多元统计方法, 其中主成分分析方法最为常用。

2 PLFA 谱图分析方法在环境微生物学领域的应用

2.1 PLFA 谱图分析方法在环境微生物鉴定中的应用

目前已知的微生物已经超过了 10 万种, 快速、准确鉴定微生物日益成为环境科学领域的迫切需要。鉴定微生物的技术通常分成 4 个不同的水平: 菌落、细胞形态和生理生化水平; 细胞组分水平; 蛋白质水平; 基因水平。传统的微生物鉴定根据细胞的形态及表型进行分类, 一旦所分析的特性发生变化, 其命名就容易出现错误; 采用分子生物学技术, 可以通过 DNA 或 RNA 对微生物进行分类和鉴定, 但这种方法操作

比较复杂, 技术要求高。微生物细胞结构中普遍含有脂肪酸成分, 因而各种微生物具有其特征性的细胞脂肪酸指纹图谱, 早在 20 世纪 60 年代就开始了把脂类作为标志物用于细菌鉴定的研究^[2]。利用 GC 或 GC–MS 分析微生物细胞的磷脂脂肪酸分布, 是从细胞组分水平上鉴定微生物的重要内容, 开辟了一个微生物检测 and 鉴定的新途径。

目前已有一种商业化的由美国 MIDI 公司开发的微生物 PLFA 气相色谱分析系统, 即 Sherlock MIS 微生物自动鉴定系统, 该系统从微生物的培养、菌落的收集、微生物细胞皂化释放脂肪酸、脂肪酸甲基化、脂肪酸甲酯的萃取和洗涤, 到最后的鉴定、结果的判断都有一套完整的标准化程序。Sherlock MIS 微生物自动鉴定系统分析的脂肪酸的碳原子数介于 9—20 之间, 碳原子数小于 9 或者大于 20 的脂肪酸不被该系统分析。系统根据各脂肪酸组分保留时间计算等效链长值 (ECL), 确定目标组分的存在, 采用峰面积归一化法计算各组分的相对含量, 再将二者与系统谱库中的标准菌株数值匹配, 计算相似度 (Similarity Index, SI), 从而给出一种或几种可能的菌种鉴定结果。一般以最高 SI 的菌种名称作为鉴定结果, 但当其报告的几个菌种的 SI 比较接近时, 则根据色谱图特征及菌落生长特性进行综合判断。

目前国内外已有将 Sherlock MIS 应用于微生物鉴定的文献报道。周晓见等^[9]用 MIDI 脂肪酸细菌鉴定系统, 对从烟田健康土壤中分离得到的 1 株真菌进行了脂肪酸组成分析鉴定为浅黄新萨托菌 (*Neosartorya aureola*)。李旭春等^[10]应用该技术分析了从给水处理系统长期运行的颗粒活性炭中的分离的可以以壬基酚 (NP) 为唯一碳源生长的好氧细菌, 其 $SI > 0.800$ ($SI > 0.500$ 则认为鉴定成功)。Mosca 等^[11]应用传统鉴定方法和 Sherlock MIS 微生物自动鉴定系统对 68 株分枝杆菌菌株进行鉴定, 与传统方法鉴定结果一致。

表 1 和图 1 给出的是本实验室用 Sherlock MIS 微生物自动鉴定系统测定某一未知细菌脂肪酸的试验结果和脂肪酸

表 1 纯培养细菌脂肪酸试验结果

Table 1 Fatty acid test results

保留时间	响应值	面积峰高比	RFact	等效链长	脂肪酸命名	百分含量/%	注释 1	注释 2
0.027	992	0.033	—	3.794		—	< min rt	
1.758	3.213E+8	0.029	—	7.009	SOLVENT PEAK	—	< min rt	
5.815	574	0.037	1.044	12.614	13:0 iso	0.53	ECL deviates 0.000	Reference -0.004
7.161	1435	0.033	0.978	13.619	14:0 iso	1.24	ECL deviates 0.000	Reference -0.003
7.701	1691	0.038	0.959	13.999	14:0	1.44	ECL deviates -0.001	Reference -0.004
8.693	37744	0.041	0.934	14.624	15:0 iso	31.27	ECL deviates 0.001	Reference -0.003
8.835	45571	0.041	0.931	14.714	15:0 anteiso	37.62	ECL deviates 0.001	Reference -0.003
10.360	3154	0.042	0.906	15.627	16:0 iso	2.54	ECL deviates 0.000	Reference -0.004
10.995	11034	0.042	0.899	15.999	16:0	8.80	ECL deviates -0.001	Reference -0.005
11.300	126	0.017	—	16.172		—	< min ar/ht	
12.106	11640	0.044	0.889	16.630	17:0 iso	9.18	ECL deviates 0.000	Reference -0.004
12.271	9369	0.046	0.888	16.724	17:0 anteiso	7.38	ECL deviates 0.001	Reference -0.004

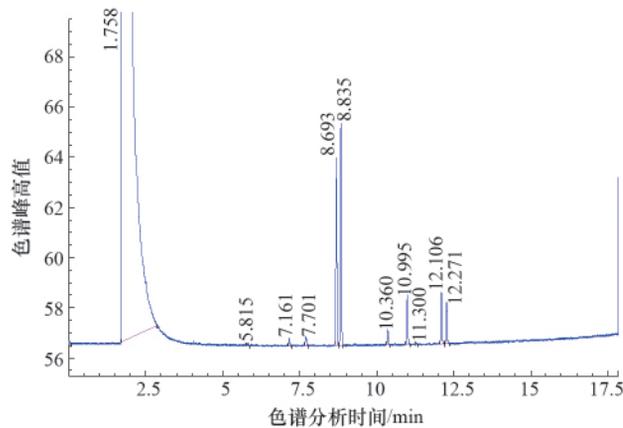


图1 Sherlock MIS 气相色谱模式图

Fig. 1 Fatty acid chromatogram by using Sherlock Microbial Identification System

色谱图。试验结果给出了每种脂肪酸的保留时间、面积峰高比、等效链长、脂肪酸命名、百分含量等信息。除第1个溶剂波峰外,其余每一个波峰代表一种脂肪酸,系统给出的菌种鉴定结果为 *Bacillus-pumilus*, 即短小芽孢杆菌, $SI=0.514$ 。从图1可以看出,短小芽孢杆菌脂肪酸含量较高的2种脂肪酸及其RT分别为:15:0iso, 8.693min; 15:0anteiso, 8.835min。通过 Sherlock MIS 微生物自动鉴定系统,不但能确定某一未知微生物的种属,而且可测定出微生物具体的脂肪酸组成及其百分含量,具有广阔的应用前景。

2.2 PLFA 谱图分析方法在环境微生物生态学中的应用

2.2.1 估算生物量

由于磷脂存在于所有活体细胞的细胞膜中且随菌体死亡而迅速降解,在一定的条件下,自然界微生物群落中微生物的细胞磷脂含量和微生物量有相对稳定的比例关系^[4],因而磷脂含量可用于标识生物量。牛佳等^[2]基于标志性脂肪酸的定量统计对若尔盖高寒湿地干湿土壤微生物总生物量和各菌群生物量进行分析,全部测得的 PLFA 含量之和用来表示微生物总生物量。指示细菌生物量的脂肪酸有: i15:0, a15:0, 15:0, i16:0, 16:1 ω 9, 16:1 ω 7t, i17:0, a17:0, 17:0, 18:1 ω 7, 和 cy19:0。其中指示革兰氏阳性菌的主要为支链饱和脂肪酸,有 16:0 (10Me), 17:0 (10Me), 18:0 (10Me), i15:0, a15:0, i16:0, i17:0 和 a17:0。指示革兰氏阴性菌的主要为单烯和环丙烷脂肪酸,有 16:1 ω 5, 16:1 ω 7t, 16:1 ω 9, cy17:0, 18:1 ω 5, 18:1 ω 7 和 cy19:0, 18:2 ω 6。实验结果表明,土壤微生物总生物量、细菌生物量、革兰氏阳性细菌及革兰氏阴性细菌生物量均为常年淹水土壤高于无淹水土壤。朱亮等^[3]采用 PLFA 法比较了共培养生物膜与常规生物膜在生物量方面的差异,结果表明:共培养系统微生物生物量及生物活性较大。Rousk 等^[14]利用磷脂的总含量得到了不同 pH 对耕种土壤中微生物生物量的影响。

2.2.2 确定微生物群落的结构

生物群落可以定义为在特定空间或特定环境下,具有一定外观和结构(包括形态结构和营养结构),具有特定功能的

生物集合体。PLFA 分析法被广泛应用于土壤、水体沉积物、地下水,以及与水处理相关的生物膜和菌胶团等微生物群落结构和功能的研究中。该方法非常适合作为总微生物群落分析,而不是专一的微生物种类的研究。但有时也根据具有种属特异性的 PLFA,来指示特定的微生物。例如,环丙基脂肪酸是硫酸盐还原细菌所特有的^[15]; c19:1 ω 8, 16:1 ω 6c, 15:0 ω 2, 14 特异性用来指示诺卡氏菌(*Nocardia*)^[16]。牛佳等^[12]采用磷脂脂肪酸的主成分分析研究若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征,表明水分条件不同的两种土壤中微生物群落结构显著不同,季节变化并未引起土壤微生物群落结构的改变。朱亮等^[3]采用磷脂脂肪酸分析方法研究了共培养和常规生物膜系统中微生物的多样性。研究表明,共培养系统微生物群落结构与组成和常规系统有一定的差异。Kristina 等^[17]对微生物燃料电池系统中生物膜的细菌菌群结构进行研究,表明最大相似度(SI)高的菌群结构接近。Peacock 等^[18]应用 PLFA 谱图分析指示地下水微生物菌群结构在各种环境压力下的变化,以指示地下水系统生物修复的阈值。

3 结论

基于现代生物化学技术发展起来的 PLFA 谱图分析方法和传统的基于培养基的微生物分离技术以及生理学方法、分子生物学方法相比,具有以下优点:(1)不依赖于培养体系的影响,能直接有效地提供微生物群落中的信息,比较适合研究微生物群落的动态变化;(2)脂肪酸成分不受质粒数量的影响,试验结果客观、可靠;(3)试验条件要求低、操作难度小、价格相对较低,且测试功能多;(4)依靠脂肪酸谱图可以对整个微生物群落进行定量描述。因此该方法在微生物多样性的研究中得到了越来越多的应用。但由于该技术的一些内在不确定性,通常需要其他技术配合,如凝胶梯度电泳技术(DGGE)等,来达到相对较好的使用效果。

参考文献 (References)

- [1] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of a cultural soils [J]. *Plant and Soil*, 1995, 170(1): 75-86.
- [2] White D C, Davis W M, Nickels J S, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate [J]. *Oecologia*, 1979, 40 (1): 51-62.
- [3] Gómez-Brandón M, Lores M, Domínguez J. A new combination of extraction and derivatization methods that reduces the complexity and preparation time in determining phospholipid fatty acids in solid environmental samples[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(4): 1348-1354.
- [4] Foster A L, Munk b L, Koski R A. Relationships between microbial communities and environmental parameters at sites impacted by mining of volcanogenic massive sulfide deposits, Prince William Sound, Alaska [J]. *Applied Geochemistry*, 2008, 23(2): 279-307.
- [5] Joergensen R G., Wichern F. Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(12): 2977-2991.
- [6] Ozbek A, Aktas O. Identification of three strains of *mycobacterium* species isolated from clinical samples using fatty acid methyl ester

- profiling [J]. *The Journal of International Medical Research*, 2003, 31(2): 133-140.
- [7] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [8] Acosta-Martinez V, Zobeck T M, Allen V. Soil microbial, chemical and physical properties in continuous cotton and integrated crop-livestock systems [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2004, 68(6): 1875-1884.
- [9] 周晓见, 靳翠丽, 董夏伟, 等. 一株烟草青枯病生防真菌的筛选与鉴定. [J]. 中国植保导刊, 2011, 31(2): 11-14.
Zhou Xiaojian, Jin Cuili, Dong Xiawei, et al. *China Plant Protection*, 2011, 31(12): 11-14.
- [10] 李旭春, 刘桂芳, 马军等. 1 株壬基酚降解菌的分离鉴定及其降解特性研究 [J]. 环境科学, 2008, 29(1): 231-236.
Li Xuchun, Liu Guifang, Ma Jun, et al. *Environmental Science*, 2008, 29(1): 231-236.
- [11] Mosca A, Russo F, Miragliotta L. Utility of gas chromatography for rapid identification of mycobacterial species frequently encountered in clinical laboratory [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2007, 68(2): 392-395.
- [12] 牛佳, 周小奇, 蒋娜. 若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征. 生态学报, 2011, 31(2): 474-482.
- Niu Jia, Zhou Xiaoqi, Jiang Na. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(2): 474-482.
- [13] 朱亮, 陈静, 韩增民. 外源微生物对共培养生物膜微生态系统的影响研究. 中国给水排水 [J]. 2007, 23(19): 94-97.
Zhu Liang, Chen Jing, Han Zengmin. *China Water & Wastewater*, 2007, 23(19): 94-97.
- [14] Rousk J, Brookes P C, Baath E. The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(3): 516-520.
- [15] Ludvigsen L, Albrechtsen H J, Ringelberg D B, et al. Distribution and composition of microbial populations in a landfill leachate contaminated aquifer (Grindsted, Denmark) [J]. *Microbial Ecology*, 1999, 37(3): 197-207.
- [16] Cha D K. Fatty acid methyl ester (FAME) analysis for monitoring *Nocardia* levels in activated sludge [J]. *Water Research*, 1999, 38(8): 1964-1966.
- [17] Kristina Y N. A rapid methodology using fatty acid methyl esters to profile bacterial community structures in microbial fuel cells [J]. *Bioelectrochemistry*, 2010, 78(1): 80-86.
- [18] Peacock A D, Chang Y J, Istok J D, et al. Utilization of microbial biofilms as monitors of bioremediation [J]. *Microbial Ecology*, 2004, 47(3): 284-292.

(责任编辑 马骁骁, 张媛媛)

· 学术动态 ·



第十六届全国凝聚态光学性质学术会议

由中国物理学会主办, 郑州大学承办的第十六届全国凝聚态光学性质学术会议将于 2012 年 7 月 14—17 日在郑州市召开。

征稿范围: (1) 凝聚态光学与光子学理论; (2) 光与凝聚态物质的相互作用和超快动力学过程; (3) 凝聚态中非线性光学现象和应用; (4) 低维和微结构材料的光学和光子学性质; (5) 半导体材料与器件的光学和光子学性质; (6) 有机材料和生命物质的光学和光子学性质; (7) 薄膜、表面和界面的光学性质; (8) 金属和磁性材料的光学和磁光性质; (9) 稀土和过渡族材料的光学性质; (10) Metamaterial 及表面等离激元光子学; (11) 太阳能光伏材料及光伏技术; (12) 新型光电子器件的原理(包括光学相干控制光开关原理)、材料和应用; (13) 有关光学、光子学新材料、新方法、新器件及应用; (14) 新型光通讯器件的物理原理和应用; (15) 凝聚态光学其他方向及相关交叉领域; (16) 凝聚态光学性质研究的实验仪器、新方法和新技术。

论文截稿: 2012 年 4 月 30 日

通信地址: 郑州市大学北路 75 号郑州大学(南校区) 物理工程学院

邮政编码: 450052

联系电话: 0371-67767838, 0371-67766629

电子信箱: opcm2012@126.com, opcm2012@163.com

会议网站: <http://www.opcm2012.com/>