



发光细菌法在煤化工废污水急性毒性评价中的应用

宋张杨, 韦 昊, 魏 玥, 孙晓懿, 孙照东, 焦瑞峰

(黄河水资源保护科学研究院, 河南郑州 450004)

[摘要] 采用发光细菌法对某煤化工企业污水处理厂的进出水进行急性毒性测定。研究表明, 该化工企业污水处理厂进水 15 min 和 30 min 的急性毒性测试结果趋于一致, 进水毒性较高, 高毒性污水经污水处理厂的 A/O+BAF 工艺处理后, 出水的细菌急性毒性有较大程度降低。分析结果表明, 发光细菌抑制率与 COD_{nb}/COD 存在一定关系: 即废污水中不可降解化合物需氧量(COD_{nb})所占废污水总化学需氧量(COD)的比例高时, 细菌毒性实验的发光抑制率也高, 即毒性越强。

[关键词] 急性毒性; 发光细菌法; 毒性评价

[中图分类号] X832 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2022)01-0158-05

Application of bioluminescent bacteria test on evaluating toxicity of coal chemical enterprise wastewater

SONG Zhangyang, WEI Hao, WEI Yue, SUN Xiaoyi, SUN Zhaodong, JIAO Ruifeng

(Yellow River Water Resources Protection Institution, Zhengzhou 450004, China)

Abstract: The bioluminescent bacteria test was used to evaluate the toxicity of the incoming and the treated wastewater of chemical enterprise. The results showed that the influent wastewater had high toxicity, and the 15 minutes acute toxicity test were consistent with 30 minutes. High toxicity wastewater was largely reduced by A/O (pre-denitrification) biochemical treatment+BAF process of wastewater treatment plant. The results showed that there was a certain relationship between luminescent bacteria inhibition rate and COD_{nb}/COD . It was indicated that the proportion of non-biodegradable chemical oxygen demand (COD_{nb}) of the total chemical oxygen demand (COD) was higher, when the luminescent inhibition rate was higher, and the water was more toxic.

Key words: acute toxicity; bioluminescent bacteria test; toxicity evaluation

工业废水污染物种类繁多且成分复杂, 不可避免存在无法处理或未降解完全的有毒成分, 威胁环境和公共健康以及对污水处理厂的活性污泥体系造成致命冲击^[1-2]。常规监测指标测定污水中的无机污染物和有机污染物指标, 不能反映污水排入水体后的综合毒性效应, 而生物毒性测试可以更直接表征污水的安全性^[3]。2015 年 11 月环境保护部办公厅修订的《城镇污水处理厂污染物排放标准》(征求意见稿) 中也将综合毒性(稀释倍数)列入城镇污水处理厂污染物排放标准的选择控制项目。

发光细菌法是基于一种海洋发光细菌费氏弧菌 *Vibrio fischeri* 的发光活性, 利用灵敏的光电检测系统测定废污水中的毒性物质对发光细菌发光强度的影

响, 判断毒性物质的毒性大小。因其监测步骤简单, 获得结果快速而在污水、土壤、污泥、垃圾渗滤液、海洋水产品等综合毒性评价中广泛应用^[4-8]。

本试验以某煤化工企业污水处理厂进出水为研究对象, 采用发光细菌法对其进水和出水进行毒性测定, 为化工企业污水处理厂污水达标排放提供合理的评价和预警依据。

1 材料与方法

1.1 试验样品和试验条件

试验样品取自某煤化工企业污水处理厂的进水口和出水口。测试细菌: 海洋发光细菌费氏弧菌 (*Vibrio fischeri*)。所有试验操作按照 ISO 11348—

32007年第二版《水质—水样对费式弧菌发光抑制影响的测定 第3部分:使用冻干细菌法》所规定的试验条件和试验方法进行^[9]。

1.2 样品采集

用棕色样品收集瓶采集样品。采集水样后瓶内应充满水样,不留空气,并用封口膜密封好,瓶外用铝箔纸包好,避光保存。毒性测定应在采样后6 h内进行,否则需要2~5℃下避光保存待测样品,不超过48 h。

1.3 样品预处理

对于有固体悬浮物的样品,须静置0.5~1 h或离心或过滤去除,以免干扰测定。

调节pH(手持pH计测定),所有的样品需要测量pH,样品pH需要处于6.0~8.5之间。如需调节pH,使用盐酸或氢氧化钠溶液进行调节。盐酸或氢氧化钠溶液的加入量不能超过总体积的5%(必要时可使用高浓度的溶液来减少加入体积)。

调节盐分(电导率仪测定),根据所测盐分值添加NaCl到样品中,使样品的含盐质量浓度达到20 g/L NaCl等值渗透性。对于含盐量低的样品,直接添加NaCl将其渗透性达到20 g/L NaCl。如样品中含有20~50 g/L NaCl等值物,则不需要加入盐,但最终含盐量不能超过20 g/L NaCl的渗透性。

1.4 试剂和仪器设备

费式弧菌(*Vibrio fischeri*)菌种冻干粉:购自中宜仪器水质毒性筛查试剂盒(发光细菌)ZYI TOX-kit IV。储存于-20℃。

样品稀释液:质量浓度为20 g/L的NaCl溶液,4℃保存。亦可作阴性质控液。

阳性参照液:试剂盒配备的ZnSO₄溶液质量浓度为1 000 mg/L,Zn²⁺质量浓度相当于227.36 mg/L,细菌50%发光抑制的Zn²⁺质量浓度为2.0 mg/L。测试中阳性质控液的配制为4.4 μL ZnSO₄母液加入495.6 μL样品稀释液混匀。

其他设备:冰箱,用于储藏菌种和试剂;金属浴温度调节模块(M500),维持测试样品在(15±1)℃;Microtox Model 500 毒性测定仪;试管(圆形比色皿),生物发光检测仪配套的试管,与金属浴温度调节模块相适合;pH计;计时器;移液器,10 μL、100 μL、1 000 μL、5 mL;移液器配套的枪头;试管架;容量瓶;棕色样品收集瓶。

1.5 发光细菌急性毒性测定实验

费式弧菌(*Vibrio fischeri*)急性毒性测定实验按照以下步骤进行。

储备菌体悬浮液的制备:提前在4℃冷却1 mL菌体复活液(来自试剂盒附带)。从-20℃取出细菌冻干粉,将提前预冷的1 mL菌体复活液迅速倒入冻干细菌,轻轻晃动细菌冻干粉使其快速溶解。复苏的发光细菌悬浮液作为储备悬浮液用于检测,储存在4℃。

测试悬浮液的制备(参照Deltatox® user's manual^[10]中45% B-TOX毒性测试方法):待储备菌体悬浮液混合均匀(10 min以上),吸取10 μL储备悬浮液,500 μL的细菌复苏液和渗透压调节液中,然后放入15℃的金属浴温度调节模块中,平衡5 min以上,用于后续测定。大批次连续试验时,可将储备菌体悬浮液按照相同菌体浓度于100 mL三角瓶中稀释定容,4℃储存备用。

测试温度:测定温度需要保持在(15±0.3)℃。所有的器皿和溶液测定前1 h都需要保持在控温测试室内。

测试样品稀释系列:样品的稀释系列见表1,每个测试组别设2个平行样。

表1 样品稀释系列

Table 1 Sample dilution series

序号	测试组别	稀释水平 <i>D</i>	样品稀释系列构成 (1 000 μL)		测试 悬浮液/ μL
			样品/μL	稀释液/μL	
1	阴性质控组 ^a	2	0	1 000	1 000
2	阳性质控组 ^b	2	0	1 000	1 000
3	测试样组	2	1 000	0	1 000
4	测试样组	4	500	500	1 000
5	测试样组	8	250	750	1 000
6	测试样组	16	125	875	1 000
7	测试样组	32	62.5	937.5	1 000

注:a—阴性质控液为样品稀释液(20 g/L的NaCl溶液);b—阳性质控液为ZnSO₄·7H₂O(10 mg/L),相当于2.275 mg/L Zn²⁺。

检测步骤:Microtox Model 500毒性测定仪预热15 min,开始测定经过平衡的测试悬浮液的初始发光强度(*I*₀),迅速加入1 000 μL处理好的样品和质控液,摇匀测定完的试管继续放回15℃的加热模块中保温。分别测定反应时间为15 min(*I*₁₅)和30 min(*I*₃₀)的样品发光强度,记录所有数据。

1.6 数据处理和分析

以15 min测试结果为例,30 min的测试结果以

相同方式表示。

阴性质控组: I_0 为细菌的初始发光值, I_{k15} 为细菌与稀释液反应 15 min 后发光值, I_{k15}/I_0 为校正系数, $\bar{f}_{k15}$ 为校正系数的平均值, 有效性检验为均值 $\bar{f}_{k15}$ 与 I_{k15}/I_0 的算术差除以均值 $\bar{f}_{k15}$ 来计算, 平均偏差不超过 3%, 检测有效。

阳性质控组和样品测试组: I_0 为细菌的初始发光值, I_{15} 为细菌与稀释液反应 15 min 后发光值, $I_{c15}=I_0 \times \bar{f}_{k15}$, $H_{15}=(I_{c15}-I_{15})/I_{c15}$, $\Gamma_{15}=\bar{H}_{15}/(100-\bar{H}_{15})$, $\bar{H}_{15}$ 为 H_{15} 的均值。

EC_{20} 和 EC_{50} 的计算: 由已测定的样品污水所占比例 c_i 和 Γ_i 值, 根据公式 $\lg c_i = b \cdot \lg \Gamma_i + \lg a^{[9]}$, 可得出

EC_{20} 和 EC_{50} , 当 $\Gamma_i=0.25$ 时对应 EC_{20} 时样品污水所占比例, 当 $\Gamma_i=1.00$ 时对应 EC_{50} 时样品污水所占比例。

2 结果与讨论

阴性质控组的测试结果见表 2 中 1~4 号, $\bar{f}_{k15}$ 值在 0.729~0.940 之间, $\bar{f}_{k30}$ 值在 0.638~0.904 之间, $\bar{f}_{k15}$ 和 $\bar{f}_{k30}$ 值均处于 0.6~1.8 之间, 数据为有效值, 且均值与平行测定值之间偏差在 $\pm 0.820\%$ 与 $\pm 2.430\%$ 之间, 均不超过 3%, 检测有效。阳性质控组的测试结果见表 2 中 5 号, 阳性质控液为 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 质量浓度为 10 mg/L, 相当于 2.275 mg/L 锌离子, 阳性质控液接触 15 min 或 30 min 后引起的抑制作用为 20%~80%, 检测有效。

表 2 阴性质控实验(1~4号)和阳性质控实验(5号)结果

Table 2 The results of negative control batch (No. 1 to No. 4) and positive control batch (No. 5)

批号	稀释水平 D	测试值			校正系数		均值		有效性检验	
		I_0	I_{k15}	I_{k30}	I_{k15}/I_0	I_{k30}/I_0	$\bar{f}_{k15}$	$\bar{f}_{k30}$	与均值 $\bar{f}_{k15}$ 的偏差/ $\%$	与均值 $\bar{f}_{k30}$ 的偏差/ $\%$
1	2	101	94	93	0.931	0.921	0.940	0.904	± 0.945	± 1.892
		97	92	86	0.948	0.887				
2	2	101	73	66	0.723	0.653	0.729	0.638	± 0.820	± 2.430
		98	72	61	0.735	0.622				
3	2	90	78	71	0.867	0.789	0.859	0.780	± 0.937	± 1.204
		87	74	67	0.851	0.770				
4	2	95	73	66	0.768	0.695	0.752	0.684	± 2.24	± 1.55
		98	72	66	0.735	0.673				
校正值										
		I_0	I_{15}	I_{30}	I_{c15}	I_{c30}	$H_{15}/\%$	$H_{30}/\%$	$\bar{H}_{15}/\%$	$\bar{H}_{30}/\%$
5	2	100	37	20	93.96	90.37	60.62	77.87	61.9	78.0
		101	35	20	94.90	91.27	63.12	78.09		

某煤化工企业污水处理厂进水和出水的检测结果见表 3。

由表 3 可知, 1 号和 2 号样品在 15 min 和 30 min 的测试结果趋于一致, 菌群发光率损失较为稳定, 进水毒性都较强, EC_{20-15} 分别为 9.83% 和 10.86%, EC_{50-15} 分别为 19.20% 和 16.03%, EC_{20-30} 分别为 7.76% 和 10.86%, EC_{50-30} 分别为 15.05% 和 14.20%。1 号和 2 号进水样品在经过 16 倍以上的稀释后基本达到无毒。3 号和 4 号出水样品在 4 倍稀释后抑制率 H_{15} 和 H_{30} 均呈负值, 即细菌发光量出现增长现象。

R. GUERRA^[11] 在研究工业废水中发现 COD 和 Microtox[®] 细菌毒性之间存在显著的负相关。而 C. V. ARAÚJO 等^[1] 研究发现, 工业污水进水 COD 和细菌毒性的实验结果之间没有明显的相关性, 而出水 COD 和细菌毒性实验结果有着很好的相关性。R.

BOLUDA 等^[2] 在研究中发现, 即样品的成分越复杂, COD 与高毒性之间相关性越差。杨尚源等^[12] 在对市政污水处理厂废水的生物抑制毒性测试中发现, 废水中含有较高浓度难降解的挥发性有机物 (VOC) 类物质生物抑制毒性明显。黄满红等^[13] 在对城市污水处理厂的毒性检测中也发现, 发光细菌的发光抑制率与 $\ln COD_{nb}$ 之间存在正相关, 水样中的难降解化学需氧量 (COD_{nb}) 的比例可能是导致细菌毒性的原因之一。本研究中, 该化工企业污水处理厂同批次样品进水 COD 和 BOD_5 的浓度值见表 3。

根据 COD_{nb} 的计算公式^[13], $COD_{nb}=COD-BOD_5/0.58$, 计算得出 1 号进水样品的 COD_{nb} 为 101.28 mg/L, 进水 COD_{nb}/COD 为 58.54%; 2 号进水样品的 COD_{nb} 为 135.31 mg/L, 进水 COD_{nb}/COD 为 65.68%。3 号出水样品的 COD_{nb} 为 12.59 mg/L, 出水 COD_{nb}/COD

表3 某煤化工企业污水处理厂进水、出水毒性检测和COD、BOD₅检测

Table 3 The luminescent bacteria toxicity, COD, BOD₅ test results of the inlet and outlet water of wastewater treatment plant of coal chemical enterprise

批号	稀释 水平 D	测试值			I_{c15}	I_{c30}	$\overline{H}_{15}/\%$	$\overline{H}_{30}/\%$	Γ_{15}	Γ_{30}	15 min结果		30 min结果		COD/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	BOD ₅ / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
		I_0	I_{15}	I_{30}							$EC_{20-15}/\%$	$EC_{50-15}/\%$	$EC_{20-30}/\%$	$EC_{50-30}/\%$		
1	2	96	7	4	90.20	86.75	88.8	93.0	7.90	13.26	9.83	19.20	7.76	15.05	173.0	41.60
		94	13	8	88.32	84.95										
	4	94	26	18	88.32	84.95	62.9	73.7	1.694	2.799						
		95	40	27	89.26	85.85										
	8	95	70	61	89.26	85.85	21.7	28.0	0.278	0.389						
		94	69	62	88.32	84.95										
	16	92	77	64	86.44	83.14	12.0	21.1	0.136	0.267						
		93	76	68	87.38	84.04										
2	2	92	1	0	67.04	58.69	98.5	100	66.04	—	10.86	16.03	10.21	14.20	206.0	41.0
		92	1	0	67.04	58.69										
	4	94	16	7	68.50	59.97	76.1	88.1	3.188	7.380						
		90	16	7	65.59	57.42										
	8	95	42	26	69.23	60.61	36.1	51.0	0.565	1.042						
		94	46	33	68.50	59.97										
	16	100	70	62	72.87	63.80	3.3	2.5	0.033	0.025						
		93	66	58	67.77	59.33										
3	2	95	98	96	81.57	74.05	-16.5	-25.7	0.142	0.205					80.0	39.10
		99	96	94	85.00	77.17										
	4	89	101	97	76.42	69.38	-32.9	-41.3	0.248	0.292						
		88	101	98	75.56	68.60										
	8	94	100	94	80.71	73.27	-25.3	-26.9	0.202	0.212						
		91	99	89	78.13	70.93										
	16	85	98	93	72.98	66.26	-23.5	-27.4	0.190	0.215						
		92	89	82	78.99	71.71										
4	2	94	66	53	70.65	64.31	3.8	14.9	0.0390	0.176					83.0	40.8
		90	67	54	67.64	61.57										
	4	90	76	69	67.64	61.57	-13.9	-13.1	0.122	0.116						
		91	79	71	68.39	62.25										
	8	89	77	70	66.89	60.89	-11.2	-9.8	0.101	0.089						
		88	71	63	66.14	60.20										
	16	94	78	74	70.65	64.31	-11.1	-11.2	0.100	0.101						
		94	79	69	70.65	64.31										

注:批号1号、2号为污水处理厂进水样品,批号3号、4号为污水处理厂处理达标后的出水样品。

为15.73%;4号出水样品的COD_{nb}为12.66 mg/L,出水COD_{nb}/COD为15.25%。对比该批样品的细菌毒性结果可以发现,废污水的发光细菌抑制率与COD_{nb}/COD存在一定关系:1号和2号进水样品中COD_{nb}所占进水总的COD的比例高时,细菌毒性实验的发光抑制率也高,即毒性越强;废污水的COD_{nb}值低时,细菌毒性实验的发光抑制率相应低,甚至出现细菌发光量增长的现象。

废污水中的污染物经污水处理厂处理后达到排放标准后,生物毒性有较大幅度的消减,毒性检测结果细菌发光的衰减量非常小,经过校正系数计算后抑制率H₁₅和H₃₀均呈负值,即细菌发光量出现增长现象(见表3中3、4号批次样品)。处理后的出水引

起发光细菌发光量增加的现象,可能是出水中绝大部分污染物被降解,还存在某些营养物质适合发光细菌生长。R. BOLUDA等^[2]曾报道,发光细菌法检测农田收集的灌溉排水的富营养化的水时并不敏感。细菌发光量增长也有可能是出水中的某种物质引起的毒物兴奋效应(Hormesis)^[14-15]。Kaili SHEN等^[15]在研究中发现低浓度的Cu²⁺和Zn²⁺(低于1 mg/L)会明显增加细菌的发光量,本研究认为Cu²⁺和Zn²⁺本身就是细胞中一些酶活性的必须金属离子,低浓度的Cu²⁺和Zn²⁺可能会刺激细胞的酶学反应系统。对比某煤化工企业同批次样品检测数据,进出水的Cu²⁺质量浓度差异不大,为0.009 mg/L左右,而进出水的Zn²⁺质量浓度均为<0.05 mg/L,该煤化工企

业废污水样品的 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 质量浓度不是造成出水发光量增加的原因, 影响细菌发光量增加的因素较为复杂, 需进一步深入研究。

3 结论

(1) 某煤化工企业污水处理厂收集的进水具有高毒性, 但经过目前运行 A/O(前置反硝化)生化处理+曝气生物滤池(BAF)工艺处理后, 毒性有较大幅度的消减, 出水无明显的综合毒性。

(2) 废污水的 COD_{mb} 值高时, 细菌毒性实验的发光抑制率也高, 废污水的 COD_{mb} 值低时, 细菌毒性实验的发光抑制率相应低, 甚至出现细菌发光量增长的现象。

(3) 煤化工企业废污水成分复杂, 不同工艺路线产生的废污水特征污染物也各不相同, 除急性毒性外, 还存在慢性毒性和基因性毒性等, 不同生物对毒性的耐受能力和毒素在体内的积累程度也不同。发光细菌法属于急性毒性测试, 虽存在一定的局限性, 但其快速、简便、高敏感性的优势可在企业污水处理厂的日常排水急性毒性的检测和污染物超标预警中发挥重要作用。

参考文献

- [1] ARAÚJO C V, NASCIMENTO R B, OLIVEIRA C A, et al. The use of microtox to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil) [J]. Chemosphere, 2005, 58(9): 1277-1281.
- [2] BOLUDA R, QUINTANILLA J F, BONILLA J A, et al. Application of the microtox test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain) [J]. Chemosphere, 2002, 46(2): 355-369.
- [3] WELTENS R, DEPREZ K, MICHIELS L. Validation of microtox as a first screening tool for waste classification [J]. Waste Management, 2014, 34(12): 2427-2433.
- [4] PARVEZ S, VENKATARAMAN C, MUKHERJI S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals [J]. Environment International, 2006, 32(2): 265-268.
- [5] 余晓燕, 余佳龙, 冯立峰, 等. 农药生产企业浅层地下水污染物的生物毒性诊断 [J]. 环境污染与防治, 2020, 42(12): 25-29.
- YU Xiaoyan, YU Jialong, FENG Lifeng, et al. Bio-toxicity of pollutants in shallow groundwater in pesticide factory [J]. Environmental Pollution and Control, 2020, 42(12): 25-29.
- [6] 王林华, 欧阳乐飞, 张庆起, 等. 海洋水产品中重金属检测方法的研究进展 [J]. 水产养殖, 2020, 41(3): 5-8.
- WANG Linhua, OUYANG Lefei, ZHANG Qingqi, et al. Methods for detection of heavy metals in marine aquatic products [J]. Journal of Aquaculture, 2020, 41(3): 5-8.
- [7] 吴晓亭, 马晓研, 王晓昌, 等. A^2/O 工艺的污泥中生物毒性物质的迁移转化特性 [J]. 工业水处理, 2016, 36(1): 38-40.
- WU Xiaoting, MA Xiaoyan, WANG Xiaochang, et al. Immigration and transformation characteristics of biotoxic substances in sludge by A^2/O process [J]. Industrial Water Treatment, 2016, 36(1): 38-40.
- [8] 何祥, 李晓彤, 傅金祥, 等. 垃圾渗滤液生物毒性检测技术的应用与展望 [J]. 工业水处理, 2019, 39(5): 17-23.
- HE Xiang, LI Xiaotong, FU Jinxiang, et al. Application and outlook of biotoxicity detection technique for landfill leachate [J]. Industrial Water Treatment, 2019, 39(5): 17-23.
- [9] ISO 11348—3. Water quality-determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio Fischeri* (Luminescent bacteria test)—Part 3: Method using freeze-dried bacteria [S].
- [10] 杨杰, 朱正宏, 杨小元, 等. DELTatox 便携式毒性测试仪在 Q-TOX 和 B-TOX 两种模式下应用与探讨 [J]. 北方环境, 2011(8): 137-139.
- YANG Jie, ZHU Zhenghong, YANG Xiaoyuan, et al. DELTatox portable toxicity tester application and discussion in Q-TOX and B-TOX two modes [J]. Northern Environment, 2011(8): 137-139.
- [11] GUERRA R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents [J]. Chemosphere, 2001, 44(8): 1737-1747.
- [12] 杨尚源, 成钢, 曾剑, 等. 废水难生物降解与生物抑制毒性分析研究 [J]. 环境污染与防治, 2015, 37(12): 51-56.
- YANG Shangyuan, CHENG Gang, ZENG Jian, et al. Study of biodegradation-resistant and biological inhibition toxicity sewage [J]. Environmental Pollution and Control, 2015, 37(12): 51-56.
- [13] 黄满红, 李咏梅, 顾国维. 生物测试方法在城市污水毒性评价中的应用 [J]. 同济大学学报(自然科学版), 2005, 33(11): 1489-1493.
- HUANG Manhong, LI Yongmei, GU Guowei. Application of several bioassays on evaluating toxicity of municipal wastewater [J]. Journal of Tongji University (Natural Science), 2005, 33(11): 1489-1493.
- [14] FULLADOSA E, MURAT J C, BOLLINGER J C, et al. Adverse effects of organic arsenical compounds towards *Vibrio fischeri* bacteria [J]. Science of the Total Environment, 2007, 377(2/3): 207-213.
- [15] SHEN Kaili, SHEN Chaofeng, LU Yuan, et al. Hormesis response of marine and freshwater luminescent bacteria to metal exposure [J]. Biological Research, 2009, 42(2): 183-187.
- [作者简介] 宋张杨(1986—), 工程师, 理学博士。电话: 0371-66026306, E-mail: songzhangyang1986@126.com。
- [收稿日期] 2021-11-19(修改稿)