

三氯乙酸(TCA)提取法与微波提取法检测活性污泥中 三磷酸腺苷(ATP)

赵奕良* 杨慧文 宋浩亮 陈倩瑜

(广东工业大学环境科学与工程学院 广东 广州 510006)

摘要:【目的】针对活性污泥法中的重要参数 ATP 进行研究分析, 通过在不同条件下检测污泥的活性, 得出以 ATP 为指标的污泥活性状态, 为准确判定活性污泥的活性提供依据。【方法】分别运用三氯乙酸(TCA)提取法及微波提取法检测活性污泥中的 ATP, 并对检测 ATP 的影响因素(TCA 浓度、冰浴时间、pH、微波频率及时间等)进行探讨与优化。【结果】运用 TCA 提取法检测 ATP 时, 在 1.0%–7.0% 的 TCA 体积百分数内, 活性污泥中 TCA 最佳体积百分数为 2.5%; 在 2–60 min 的冰浴时间内, 最佳冰浴时间为 10 min; 三羟甲基丙烷-乙二胺四乙酸(Tris-EDTA)缓冲液的最佳 pH 7.5; 运用微波提取法检测 ATP 适宜的微波辐射条件为: 功率 800 W, 辐射时间 15 s。【结论】TCA 提取法和微波提取法均可以检测活性污泥中的 ATP, 但与微波提取法相比, TCA 提取法更能保证从细胞内释放出来的 ATP 的完整性, 因此 TCA 提取法更适合用于检测活性污泥中的 ATP。

关键词: ATP, TCA, 微波, 荧光素酶, 活性污泥

Detecting adenosine triphosphate (ATP) in activated sludge by trichloroacetic acid (TCA) extraction and microwave extraction

ZHAO Yi-Liang* YANG Hui-Wen SONG Hao-Liang CHEN Qian-Yu

(*Environmental Science and Engineering College, Guangdong University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510006, China*)

Abstract: [Objective] To provide the basis for the activity of activated sludge, as an important index in activated sludge, adenosine triphosphate (ATP) is detected to study the activity of activated sludge in the research. [Methods] The research used the method of TCA and microwave to detect ATP in activated sludge. Influencing factors (such as the concentration of TCA, time of immersing in an ice bath, pH, frequency of microwave and treatment time with microwave) are also discussed. [Results] The optimal concentration of TCA in the activated sludge is 2.5% with the concentration of TCA of 1.0%–7.0%; during 2–60 min immersing time in an ice bath, the optimal time using ice bath is 10 min; the optimal pH of Tris-EDTA buffer is 7.5. The suitable conditions for the method of microwave are:

*Corresponding author: E-mail: 799748273@qq.com

Received: February 22, 2017; Accepted: March 17, 2017; Published online (www.cnki.net): June 02, 2017

*通讯作者: E-mail: 799748273@qq.com

收稿日期: 2017-02-22; 接受日期: 2017-03-17; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-06-02

800 W and 15 s for microwave irradiation. **[Conclusion]** The method of TCA and microwave can detect ATP in activated sludge. However, compared with the method of microwave, the method of TCA can guarantee the integrity of ATP, thus, the method of TCA is more suitable for detecting ATP in activated sludge.

Keywords: ATP, TCA, Microwave, Luciferase, Activated sludge

活性污泥法在城市污水处理中扮演着重要的角色^[1-5],但随着时代的发展,常规用来表征污泥活性的指标例如混合液悬浮固体颗粒(MLSS)、混合液挥发性悬浮固体颗粒(MLVSS)、污泥沉降比、污泥容积指数、水质检测等已无法完全满足精准表征其生物活性的要求^[6-8]。因此,目前仍需其他具有代表性的参数来表征活性污泥的活性状态。众所周知,三磷酸腺苷(ATP)作为广泛存在于微生物细胞中的能量通货,是细胞能量代谢的重要产物与细胞代谢可利用能量的携带者,细胞中的ATP含量与细胞所处的生长阶段、基质、菌种的差异以及代谢活性的变化、环境因子(如:温度、pH、有毒物质、DO)等有密切关系,通常一个细胞内的ATP含量为 5×10^{-16} – 5×10^{-15} g,一旦微生物死亡,ATP则会被释放出来进而被自身的酶降解或其他活的微生物利用^[9-11]。在这个程度上说,ATP是细胞乃至微生物生命活力的标志,它可作为衡量活性污泥中微生物生命活力的重要指标。在现有的ATP检测法中,荧光检测法具有操作简便、检测速度快、反应灵敏、适用范围广的特点^[12-14]。在荧光素酶与镁离子的催化下,ATP、荧光素和氧三者发生反应并产生荧光,当其他反应物过量时,发光强度与ATP成正比关系,因而通过测定荧光值可以对样品中的ATP含量进行定量。此外,微波辐射会产生非传导性的热量,非传导性介质(如水)对微波能量的吸收及内阻抗的循环会使微波能量转化为热能^[15]。利用微波的能量会导致微生物周边环境温度骤变以及微生物细胞快速裂解,ATP从细胞内得以释放。ATP提取是整个ATP检测过程的关键,因此完整且系统性地研究ATP的提取方法非常必要。目前,ATP的检测方法主要有

生物发光法、比色法、液相色谱法与电位法^[16-19],尽管国内在医疗器械、医疗消毒效果、医疗健康领域与饮用水等医疗与食品领域中有利用生物荧光法检测ATP^[20-23],也有关于利用三氯乙酸(TCA)提取活性污泥中ATP的研究^[24],但围绕TCA提取法中各种影响因素(TCA体积浓度、Tris-EDTA缓冲液的pH与冰浴时间)的探索与优化,进而检测活性污泥中ATP的相关研究则无阐述,同时,相对于HPLC法,荧光素酶法简单快速且检测仪器(微量荧光检测仪)小巧轻便、方便携带,该法不仅适合实验室研究,也方便进行实际环境中的样品研究;此外,有关利用微波辐射来提取活性污泥中ATP的方法则仍未被提及。另外,针对测定ATP来间接表明活性污泥活性的研究仍不多见^[6-8]。研究分别运用三氯乙酸(TCA)提取法及微波提取法检测活性污泥中的ATP,进而通过改变TCA浓度、冰浴时间、pH、微波功率及微波时间,考察其对检测活性污泥ATP的影响,并分别确定最佳检测条件。研究针对活性污泥法中的重要参数ATP进行研究分析,重点针对ATP的提取方法进行研究及优化,通过比较不同的检测方法检测活性污泥中的ATP,为准确判定活性污泥的活性提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

活性污泥,广州沥窖污水处理厂;三羟甲基氨基甲烷(Tris)、三氯乙酸(TCA),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乙二胺四乙酸(EDTA),上海泰坦科技股份有限公司;盐酸,衡阳市凯信化工试剂有限公司;氢氧化钠,天津市科密欧化学试剂有限公司;S0026型ATP检测试剂盒(ATP检测试剂、

ATP 检测试剂稀释液、0.5 mmol/L ATP 标准液与 ATP 检测裂解液), 上海碧云天生物技术研究所。

BLW0401 型微量荧光检测仪, 沈阳中科靛马生物工程有限公司; TDL-60B 型离心机, 上海安亭科学仪器有限公司; G8023CTL-K3 型微波炉, 广东格兰仕有限公司; pH-25 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; Genex 型移液枪, 上海麦尚科学仪器有限公司; JG018 型秒表, 深圳市万机创意电子科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 绘制标准曲线: 将 ATP 标准溶液、ATP 检测裂解液放置于冰浴中溶解后, 如表 1 所示, 分别用 ATP 检测裂解液将 ATP 标准溶液稀释成 0.01、0.10、1、10、100 $\mu\text{mol/L}$, 取 100 μL ATP 工作液加至 100 μL ATP 标准溶液中, 迅速混匀后放入微量荧光检测仪检测荧光值。

1.2.2 ATP 工作液配置: ATP 工作液由 ATP 检测试剂(ATP 试剂盒标配)经 ATP 检测试剂稀释液稀释而成(ATP 检测试剂:ATP 检测试剂稀释液=1:100)。吸取 50 μL ATP 检测试剂加至 5 mL ATP 检测试剂稀释液中即为 5 mL ATP 检测工作液, 此工作液可以在冰浴上暂时保存。

1.2.3 TCA 提取法试验: 将实验所需用具灭菌后放置微生物实验专用超净工作台中, 于冰浴中溶解 ATP 检测工作液。取 5 mL 活性污泥置于烧杯中,

加蒸馏水稀释至 500 mL, 充分搅拌均匀后制成污泥悬浮液。取 2 mL 污泥悬浮液于 10 mL 离心管中, 加入 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70 mL TCA 溶液后冰浴。吸取 100 μL 样品至 5 mL Tris-EDTA 溶液中, 混匀后在常温条件下 3 000 r/min 离心 5 min。取 100 μL ATP 工作液加至 100 μL 离心过的上清液样品中, 迅速混匀后用微量荧光检测仪检测。根据标准曲线得出样品中所含有的 ATP 浓度。

1.2.4 微波提取法试验: 取 2 mL 污泥悬浮液于 10 mL 离心管后加入 500 μL Tris-EDTA 缓冲液, 摇匀。将离心管置于烧杯中后放入微波炉, 在 160–800 W 频率条件下进行微波处理, 从微波炉取出离心管, 放于冰浴中至其冷却, 摇匀后在室温条件下 3 000 r/min 离心 5 min。取 100 μL ATP 工作液加至 100 μL 离心的上清液样品中, 迅速混匀后用微量荧光检测仪检测荧光值。根据标准曲线得出样品中所含有的 ATP 浓度。

2 结果与分析

2.1 ATP 标准曲线

通过配制不同浓度的 ATP 标准液, 由微量荧光检测仪检测反应过程所释放的荧光制得 ATP 标准曲线, 该曲线主要表明一定范围的 ATP 浓度所对应的荧光值, 将后续试验所得的荧光值对照此曲线, 即可得出底物对应的 ATP 浓度值, 如图 1 所示。

表 1 ATP 标准溶液
Table 1 Standard solution of ATP

ATP 浓度 The concentration of ATP ($\mu\text{mol/L}$)	ATP 标准液体积 The volume of standard solution of ATP (μL)	ATP 检测裂解液体积 The volume of cracking solution of ATP (μL)
100.00	60 (0.5 mmol/L 原 ATP 标准液)	240
10.00	100 (100 $\mu\text{mol/L}$)	900
1.00	100 (10 $\mu\text{mol/L}$)	900
0.10	100 (1 $\mu\text{mol/L}$)	900
0.01	100 (0.10 $\mu\text{mol/L}$)	900

注: 表中的原 ATP 标准液为 ATP 试剂盒内标配, 浓度为 0.5 mmol/L, 表中括号内为应取的标准液浓度, 括号外为相应应取的标准液体积。
Note: Original standard solution of ATP with the concentration of 0.5 mmol/L in Table 1 is from ATP kit, the concentration of standard solution of ATP which should be taken is shown in brackets, and the volume of standard solution of ATP which should be taken is shown outside the brackets.

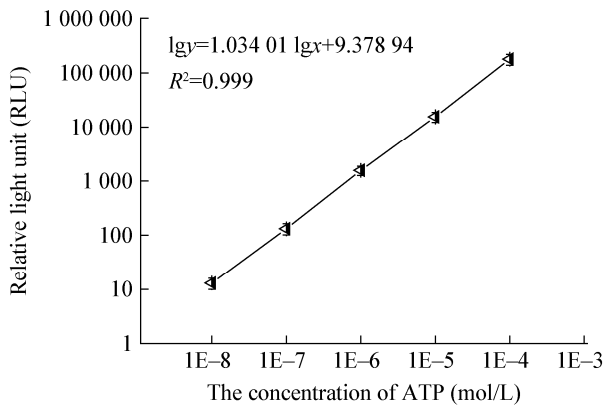


图1 ATP标准曲线

Figure 1 Standard curve of ATP

由图1可知,随着ATP浓度升高,其所对应的反应荧光值逐渐增大。该现象揭示了在一定的范围内,ATP浓度与荧光强度呈良好的线性关系,在已知实验反应荧光强度的前提下,通过此标准曲线可以计算得到活性污泥的ATP浓度。

2.2 TCA提取法检测活性污泥ATP

2.2.1 TCA浓度对检测结果的影响:在荧光素酶与镁离子的催化下,ATP、荧光素和氧三者发生反应并产生荧光(其中的荧光素酶、镁离子与荧光素为试剂盒中ATP检测试剂所包含),当其他反应物过量时,发光强度能与ATP成正比的线性关系,因而可通过测定荧光值对样品中的ATP含量进行定量测定。在检测前如何让ATP从细胞中释放出来是关键,TCA只是作为提取ATP的关键步骤,并不参与之后的ATP荧光反应。TCA的强酸特性可以引起微生物细胞壁孔径的扩大及细菌的细胞膜退化,使胞内的ATP可以轻易地通过细胞壁,同时,细胞中的ATP水解酶也被抑制。TCA浓度过低会导致ATP的提取效果不明显,浓度过高的TCA会抑制荧光素酶的活性,因此将TCA的体积百分数设定为1.0%–7.0%,探究TCA体积百分数对检测活性污泥中ATP的影响。

如图2所示,在1.0%–2.5%的TCA体积百分数内,荧光强度随着TCA浓度的增高逐渐增大至最大值。当TCA浓度为0时ATP无法被测出,即不加TCA时细胞内的ATP无法被释放,因而无

法被ATP检测试剂检测出来。TCA浓度的升高可以增强微生物细胞壁孔径的扩大效应及细菌的细胞膜退化,促使ATP释放;在2.5%–7.0%的TCA体积百分数内,荧光强度随着TCA浓度的增高逐渐降低,这可能是部分TCA使细胞壁与细胞膜变性后,残留的过量TCA由于其强酸性使荧光素酶失活,而在荧光反应中,荧光素酶、镁离子、ATP、荧光素和氧这几个条件缺一不可,反应过程由于缺少荧光素酶的催化作用而使ATP与荧光素无法完全反应,导致所释放的荧光降低。由此发现,用TCA法检测活性污泥ATP时,在1.0%–7.0%的TCA体积百分数内,TCA最佳体积百分数为2.5%。

2.2.2 冰浴时间对检测结果的影响:向活性污泥加入TCA后进行冰浴处理是为了让活性污泥与TCA发生充分反应,另外,ATP从细胞释放后容易发生水解或者被其他微生物吸收降解,低温条件能抑制其他微生物的活性,减小对ATP的降解从而保证ATP的完整性。冰浴时间实际上即TCA与细胞的反应时间,冰浴时间过短会使TCA与细胞无法反应完全,时间过长ATP可能会由于其不稳定性而发生变性或水解。控制冰浴时间范围为2–60 min,探究冰浴时间对检测活性污泥中ATP的影响。冰浴时间与检测活性污泥中ATP的关系,如图3所示。

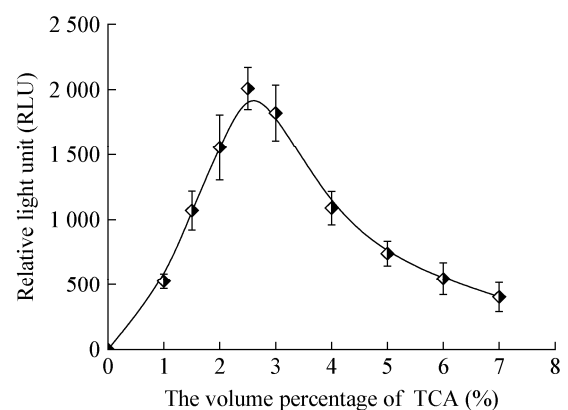


图2 TCA的体积百分数对检测ATP影响

Figure 2 The influence of concentration of TCA on detecting ATP

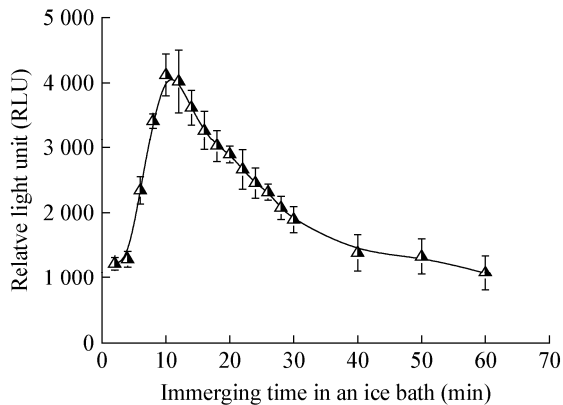


图3 冰浴时间对检测 ATP 的影响

Figure 3 The influence of ice bath time on detecting ATP

在 2–60 min 的冰浴时间内,活性污泥 ATP 浓度随着冰浴时间的延长总体上先升后降,并在 10 min 时 ATP 浓度达到最大值。从第 2 min 到第 10 min 时,ATP 突然增大至 4 121 相对光单位(RLU),TCA 逐渐与细胞反应完全,细胞中绝大部分的 ATP 得以释放,同时大量 ATP 水解酶与 TCA 发生反应而变性,随后可检测到的荧光强度逐渐下降,当 $t=28$ min 时,ATP 突然降低至 2 076 RLU,几乎只有第 10 min ATP 浓度的 1/2,此时可能大量的 ATP 与活性污泥中其他杂质发生反应或被剩余 ATP 水解酶所水解。该现象揭示了冰浴时间的长短均会影响活性污泥 ATP 的检测,当冰浴时间为 10 min 时,细胞中的大部分 ATP 得以释放并能够检测出来。因此用 TCA 法检测活性污泥 ATP 时,在 2–60 min 的冰浴时间内,最佳冰浴时间为 10 min。

2.2.3 缓冲液 pH 对检测结果的影响: Tris-EDTA 溶液作为生物缓冲溶液,能暂时为从细胞内释放出来的 ATP 提供稳定的液体环境,由于后续反应的需要,Tris-EDTA 溶液的 pH 会影响荧光素酶的活性,从生物学角度看,酶在一定的 pH 范围内才具有较高的活性,通过 NaOH 溶液或 HCl 溶液来调整 Tris-EDTA 缓冲溶液的 pH,从而来改变反应过程的 pH。将 pH 研究范围设定为 4.0–10.0,探究反应过程的 pH 对检测活性污泥中 ATP 的影响。

如图 4 所示,荧光强度随着 pH 的升高先升后降,荧光强度在 pH 为 7.0–8.0 的范围内有较大值,

并在 pH 7.5 时达到最大值。反应过程的 pH 过高和过低都会使荧光素酶发生灭活或变性,而荧光素酶作为 ATP-荧光素反应的催化酶,其灭活势必使该反应无法反应完全,从而造成荧光强度较低。用 TCA 法检测活性污泥 ATP 时,在 pH 为 4.0–10.0 内,Tris-EDTA 缓冲溶液最佳 pH 为 7.5。

2.3 微波功率对检测结果的影响

在微生物系统中,微波辐射会产生非传导性的热量,非传导性介质(如水)对微波能量的吸收及内阻抗的循环会使微波能量转化为热能。在微波条件下,利用微波的能量导致微生物周边环境温度骤变以及微生物细胞快速裂解,ATP 从细胞内得以释放。在一定的范围内,微波功率越大,相同时间内微波传导的能量越大,微生物细胞裂解的速率越快,ATP 释放的速率越快;当微波功率一定时,微波时间过低会使微生物细胞裂解彻底导致 ATP 无法完全从细胞中释放,微波时间过长时,过高的环境温度或小部分 ATP 水解酶会使 ATP 发生变性或水解。因此,将微波功率设定为 160–800 W,微波时间为 5–30 s,探究微波功率及微波时间对检测活性污泥中 ATP 的影响。

如图 5 所示,在 5–30 s 内,荧光强度(相对光单位,RLU)随微波功率由大到小的排列顺序为: $RLU_{(P=800\text{ W})} > RLU_{(P=640\text{ W})} > RLU_{(P=480\text{ W})} > RLU_{(P=320\text{ W})} > RLU_{(P=160\text{ W})}$,说明当微波时间一定时,在一定范围内微波功率越大,细胞裂解越彻底,所释放的

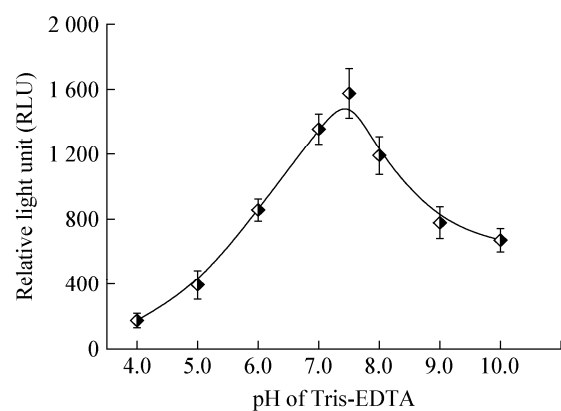


图4 缓冲液 pH 对检测 ATP 的影响

Figure 4 The influence of pH on detecting ATP

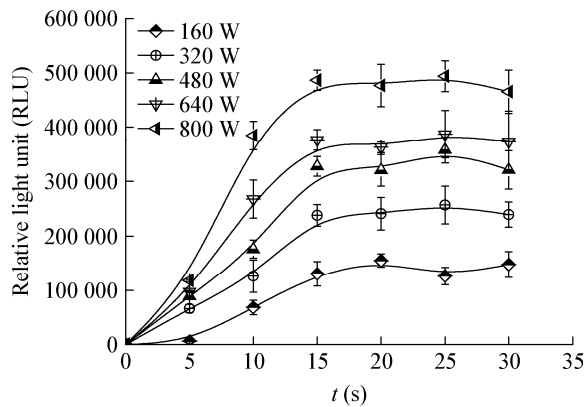


图5 微波功率对检测 ATP 的影响

Figure 5 The influence of frequency of microwave on detecting ATP

ATP 浓度越高, 荧光强度越大; 当功率 $P=800\text{ W}$ 时, 微生物细胞更能发生快速裂解, 细胞内绝大部分的 ATP 均被释放; 当功率保持一定时, 在 15 s 后荧光强度基本上呈稳定状态, 由于细胞周围的高温环境会使 ATP 不稳定而容易变性或被 ATP 水解酶部分水解, 该现象揭示了在一定范围内, 微波功率越高, 才能最大程度地保证 ATP 的完整性, 但微波辐射时间则有可能产生不良影响。而当微波时间为 0 s, 即不进行微波处理时细胞内的 ATP 无法被释放, 因而无法被 ATP 检测试剂检测出来。实验结果反映了微波功率与微波时间均会影响活性污泥 ATP 的检测。因此, 实验结果表明微波提取 ATP 的适宜条件为功率 800 W, 微波辐射时间为 15 s。

2.4 ATP 提取法比较

分别用 TCA 提取法和微波提取法检测活性污泥中的 ATP 并从中进行比选(TCA 提取法检测条件: 活性污泥中 TCA 体积分数为 2.5%, 冰浴时间为 10 min, Tris-EDTA 缓冲溶液 pH 为 7.5; 微波提取法检测条件: 微波功率为 800 W, 微波时间为 15 s, 每种方法各做 3 个平行样), 如表 2 所示。

一般情况下, 活性污泥中 ATP 的浓度为 1.4–2.2 mg/g VSS^[6], 由表 2 得知, 微波提取法测得的 ATP 浓度是一般活性污泥内 ATP 浓度的 27.8%–43.6%, 说明提取过程中 ATP 发生了降解, 而使用 TCA 提取法测得的 ATP 浓度更能接近真实值。

表 2 TCA 提取法与微波提取法的比较
Table 2 The difference between the method of TCA and microwave

样品 The sample	三氯乙酸 TCA	微波 Microwave
1	1 131	20 524
2	1 029	21 634
3	1 080	19 579
平均值/RLU The mean/RLU	1 080	20 579
ATP 浓度 The concentration of ATP (mol/L)	4.01×10^{-5}	1.26×10^{-5}
污泥的 ATP 浓度 The concentration of ATP in sludge (mg/g VSS)	2.03	0.61

注: TCA 提取法与微波提取法分别对污泥悬浮液样品进行稀释 55 倍与 1.25 倍, 表中的样品 ATP 浓度是由荧光值对照标准曲线再乘以稀释倍数, 再除以样品质量得出。

Note: The method of TCA and microwave are carried out on the samples of suspended sludge diluting 55 times and 1.25 times, respectively, and the concentrations of ATP in the table are calculated by the value of fluorescent according to the standard curve, then multiplied by the dilution ratios and divided by the quality of samples.

3 结论与讨论

虽然 TCA 提取法及微波提取法都可以检测活性污泥中的 ATP, 然而实验结果表明, 相对于微波提取法, TCA 提取法所提取的 ATP 更能接近活性污泥中真实的 ATP 浓度, 原因可能是非传导性介质对微波能量的吸收及内阻抗的循环会使微波能量转化为热能。周围的环境温度升高虽然会使细胞裂解释放出 ATP, 但高温会对使 ATP 变性, 又由于细胞外残留的小部分 ATP 水解酶对 ATP 的水解作用, 从而使 ATP 检测结果偏低; 而 TCA 法整个过程中无需高温, 较好地保证了 ATP 的完整性, 该现象揭示了运用 TCA 提取法能更好地检测从细胞内释放出来的 ATP 及其保证 ATP 的完整性, 反映了该法与微波提取法相比, TCA 法更适合用于检测活性污泥中的 ATP。

本研究分别运用 TCA 提取法及微波提取法检测活性污泥中的 ATP, 实验结果表明:

(1) 在一定的浓度范围内, TCA 浓度的升高可以增强微生物细胞壁孔径的扩大效应及细菌的

细胞膜退化,促使 ATP 释放,然而,当 TCA 浓度过高时,残留的过量 TCA 由于其强酸性使荧光素酶失活,因此运用 TCA 提取法检测 ATP 时,在 1.0%–7.0%的 TCA 体积百分数内,活性污泥中 TCA 最佳体积百分数为 2.5%。

(2) 冰浴时间即 TCA 与细胞内 ATP 的反应时间,在一定的冰浴时间内,TCA 逐渐与细胞反应完全,细胞中绝大部分的 ATP 得以释放,然而冰浴时间过长会使大量的 ATP 与活性污泥中其他杂质发生反应或被剩余 ATP 水解酶所水解。因此在 2–60 min 的冰浴时间内,最佳冰浴时间为 10 min。

(3) 反应过程的 pH 过高过低都会使荧光素酶发生灭活或变性,使反应无法反应完全,从而造成荧光强度较低。因此在 pH 为 4.0–10.0 范围内,Tris-EDTA 缓冲液的最佳 pH 为 7.5。

(4) 运用微波提取法检测 ATP 的适宜条件为微波功率 800 W,微波时间 15 s,将两种检测方法进行比较,发现运用 TCA 提取法能更好地检测从细胞内释放出来的 ATP 及其保证 ATP 的完整性,TCA 提取法更适用于检测活性污泥中的 ATP。

参考文献

- [1] Hammes F, Goldschmidt F, Vital M, et al. Measurement and interpretation of microbial adenosine tri-phosphate (ATP) in aquatic environments[J]. *Water Research*, 2010, 44(13): 3915-3923
- [2] He BS, Liu XH, Yue WW, et al. Rapid detection of bacteria without cultivation with a portable bioluminescence sensor system[J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2009, 3(9): 575-580
- [3] Shamis Y, Taube A, Mitik-Dineva N, et al. Specific electromagnetic effects of microwave radiation on *Escherichia coli*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(9): 3017-3022
- [4] Shamis Y, Taube A, Shramkov Y, et al. Development of a microwave treatment technique for bacterial decontamination of raw meat[J]. *Journal of Food Engineering*, 2008, 4(3): 99-107
- [5] Shamis Y, Patel S, Taube A, et al. A new sterilization technique of bovine pericardial biomaterial using microwave radiation[J]. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 2009, 15(3): 445-454
- [6] Yin J, Sang L, Li L. Status of application and study of ATP measurement in activated sludge process[J]. *Journal of Jilin Institute of Architectural and Civil*, 2007, 24(3): 7-11 (in Chinese)
尹军, 桑磊, 李琳. ATP 检测在活性污泥工艺中的应用进展[J]. *吉林建筑工程学院学报*, 2007, 24(3): 7-11
- [7] Xu XL, Shen XY. Evaluation of active indicator of activated sludge[J]. *Environmental Science*, 1993, 14(2): 58-62,95 (in Chinese)
许晓路, 申秀英. 活性污泥活性参数指标的选评[J]. *环境科学*, 1993, 14(2): 58-62,95
- [8] Li J, Yan H, Xiao BY. The research on the characterization and the detection methods for the activity of activated sludge[J]. *Industrial Water Treatment*, 2016, 36(8): 5-10 (in Chinese)
李静, 严红, 肖本益. 活性污泥活性的表征及其检测方法研究[J]. *工业水处理*, 2016, 36(8): 5-10
- [9] Wu XY, Chen SL, Ge MD. *Chen Yuezheng General Biology*[M]. 3rd Edition. Beijing: Higher Education Press, 2009: 53-66 (in Chinese)
吴相钰, 陈守良, 葛明德. *陈阅增普通生物学*[M]. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2009: 53-66
- [10] Zhu HY, Wu DN, Wang HL. Quantification of intracellular adenosine 5'-triphosphate and its metabolites by high performance liquid chromatography analysis[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2017, 35(1): 54-58 (in Chinese)
朱会宇, 吴丹妮, 汪海林. 高效液相色谱法测定细胞内三磷酸腺苷及其代谢物的含量(英文)[J]. *色谱*, 2017, 35(1): 54-58
- [11] Hong M. Application of ATP determination in waste water treatment plants[J]. *Chemical Engineer*, 2002(6): 56-58 (in Chinese)
洪梅. 三磷酸腺苷检测技术在污水处理厂的应用研究[J]. *化学工程师*, 2002(6): 56-58
- [12] Zhao Q, Liu JQ, Zhang YQ, et al. The application of detecting method of ATP-fluorescence in the field of monitoring of hygiene[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2014, 31(2): 217-218 (in Chinese)
赵奇, 刘吉起, 张玉勤, 等. ATP 荧光检测法在卫生监测领域的应用[J]. *中国消毒学杂志*, 2014, 31(2): 217-218
- [13] Xu HQ, Liang JS. Current situation about the application of spot rapid detection by detecting method of ATP-bioluminescence[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2016, 33(6): 587-590 (in Chinese)
许慧琼, 梁建生. ATP 生物荧光法在现场快速检测中的应用现状[J]. *中国消毒学杂志*, 2016, 33(6): 587-590
- [14] Li Y, Hu GQ, Lu Y, et al. The development and the application of detecting technology of ATP-fluorescence in the test of cleaning and disinfection in hospital[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2014, 31(11): 1205-1208 (in Chinese)
李晔, 胡国庆, 陆焯, 等. ATP 荧光检测技术在医院清洁消毒监测中的应用与发展[J]. *中国消毒学杂志*, 2014, 31(11): 1205-1208
- [15] Banik S, Bandyopadhyay S, Ganguly S. Bioeffects of microwave-a brief review[J]. *Bioresource Technology*, 2003, 87(2): 155-159
- [16] Stanley PE. A review of bioluminescent ATP techniques in rapid microbiology[J]. *Luminescence*, 1989, 4(1): 375-380
- [17] Jose DA, Mishra S, Ghosh A, et al. Colorimetric sensor for ATP

- in aqueous solution[J]. *Organic Letters*, 2007, 9(10): 1979-1982
- [18] Lwin A, Patel BA. High performance liquid chromatography method for the detection of released purinergic and biogenic amine signaling molecules from *in vitro* ileum tissue[J]. *Separation Science*, 2010, 33(11): 1538-1545
- [19] Katsu T, Yamanaka K. Potentiometric method for the determination of adenosine-5'-triphosphate[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1993, 276(2): 373-376
- [20] Zhu TT, Shen J, Sun HH, et al. Study on the application of ATP bioluminescence method to evaluate the cleaning effect of digestive endoscopy[J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2016, 33(5): 438-440 (in Chinese)
朱婷婷, 沈瑾, 孙惠惠, 等. ATP 生物荧光法在消化内镜清洗效果评价中的应用研究[J]. *中国消毒学杂志*, 2016, 33(5): 438-440
- [21] Li HF, Xu MD, Tong L, et al. Application of ATP bioluminescence method in the evaluation of surface cleaning and disinfection in ICU[J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2017, 27(3): 699-720 (in Chinese)
李会芳, 许梅笛, 佟柳, 等. ATP 生物荧光法在 ICU 环境物体表面清洁消毒效果评价中的应用[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(3): 699-720
- [22] Wu HQ, Li CS, Zhang JM, et al. Rapid detection of total bacteria lamount in drinking water by ATP bioluminescent method [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2009, 19(9): 1975-1978 (in Chinese)
吴慧清, 李程思, 张菊梅, 等. ATP 生物发光法饮用水中细菌总数快速测定方法研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009, 19(9): 1975-1978
- [23] Lu Y, Hu GQ, Lu LX, et al. Disinfection evaluation on epidemic focus by ATP bioluminescence assay[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2010, 20(5): 1090-1091 (in Chinese)
陆烨, 胡国庆, 陆龙喜, 等. 应用 ATP 生物荧光法对疫源地消毒效果评价的研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(5): 1090-1091
- [24] Nguyen LH, Chong NM. Development of an ATP measurement method suitable for xenobiotic treatment activated sludge biomass[J]. *Journal of Chromatography B*, 2015, 1000: 69-76

书 讯

CNKI 推出《中国高被引图书年报》

中国知网(CNKI)中国科学文献计量评价研究中心推出了一套《中国高被引图书年报》,该报告基于中国大陆建国以来出版的 422 万余本图书被近 3 年国内期刊、博硕、会议论文的引用频次,分学科、分时段遴选高被引优秀学术图书予以发布。据研制方介绍,他们统计并分析了 2013-2015 年中国学术期刊 813 万余篇、中国博士学位论文 101 万余篇、中国重要会议论文 39 万余篇,累计引文达 1451 万条。根据统计数据,422 万本图书至少被引 1 次的图书达 72 万本。研制方根据中国图书馆分类法,将 72 万本图书划分为 105 个学科,分 1949-2009 年和 2010-2014 年两个时间段,分别遴选被引最高的 TOP 10%图书,共计选出 70 911 本优秀图书收入《中国高被引图书年报》。统计数据显示,这 7 万本高被引优秀图书虽然只占全部图书的 1.68%,却获得 67.4%的总被引频次,可见这些图书质量上乘,在同类图书中发挥了更加重要的作用。该报告还首次发布各学科“学科 h 指数”排名前 20 的出版单位的评价指标,对客观评价出版社的社会效益——特别是学术出版物的社会效益具有重要的参考价值。

该报告从图书被引用的角度出发,评价图书的学术影响力,弥补了以销量和借阅等指标无法准确评价学术图书的缺憾,科学、客观地评价了图书、图书作者以及出版单位对各学科发展的贡献。

《中国高被引图书年报》把建国以来出版图书全部纳入评价范围属国内首创,是全面、客观评价图书学术影响力的工具,定量评价图书学术水平,在帮助图书馆建设特色馆藏和提高服务水平、帮助出版管理部门了解我国学术出版物现状、帮助科研机构科研管理、帮助读者购买和阅读图书等方面,均具有较强的参考价值,也为出版社评估出版业绩、决策再版图书、策划学科选题提供有用的信息。

《中国高被引图书年报》由《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司出版。该产品的形式为光盘电子出版物,分为理学、工学、农学、医学、人文科学和社会科学 6 个分卷,随盘赠送图书,欢迎您咨询、订购。咨询电话:010-82710850/82895056 转 8599; E-mail: aspt@cnki.net