

城市河道污水中好氧反硝化菌的 分离鉴定与特性

詹吉东^{1,2} 汤江武² 王新² 姚晓红² 吴逸飞² 周莉¹ 葛向阳^{1*}

(1. 华中农业大学生命科学与技术学院 湖北 武汉 430070)

(2. 浙江省农业科学院 植物保护与微生物研究所 浙江 杭州 310021)

摘要: 采用富集培养和 BTB(溴百里酚蓝)平板法从城市河道污水中筛选、分离获得了一株高效的好氧反硝化菌株 ADZ1, 48 h 内对硝酸盐的降解率为 93.1%, 总氮的去除率为 34.7%。16S rRNA 测序及系统发育分析结果表明该菌株属于 *Pseudomonas* sp., 经 VITEK[®] 2 系统鉴定为 *Pseudomonas putida*。对该菌株的反硝化特性进行了研究, 结果表明, 该菌株以乙醇为最佳碳源, 在碳氮比达到 12:1 时, 对硝酸盐的去除率达到 98% 以上, 总氮去除率达到 41.3%。该菌株对溶解氧、pH 有着广泛的适应性, 菌体活力强, 有着良好的应用前景。

关键词: 好氧反硝化, 城市河道, 生物脱氮, 恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)

Isolation and Characterization of Aerobic Denitrifier from the Sewage of Urban Rivers

ZHAN Ji-Dong^{1,2} TANG Jiang-Wu² WANG Xin² YAO Xiao-Hong²
WU Yi-Fei² ZHOU Li¹ GE Xiang-Yang^{1*}

(1. College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China)

(2. Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Science, Hangzhou, Zhejiang 310021, China)

Abstract: A bacterial strain ADZ1 that demonstrated higher efficient in the aerobic denitrification was isolated from the sewage of urban rivers on the selective medium, Bromothymol Blue (BTB), after enriched in the shaking flasks. The reduction efficiency for nitrate and the total nitrogen reached 93.1% and 34.7% within 48 hours respectively. Sequence of 16S rRNA suggested that strain ADZ1 belongs to the genus of *Pseudomonas*, and further was identified as *Pseudomonas putida* by VITE K[®] 2 systems. With the growth conditions that the ethanol served as the carbon source and C/N ratio was 12:1, the efficiency for nitrate and the total nitrogen reduction reached 98% and 41.3% respectively. Due to the broad adaptability to dissolved oxygen and pH, together with the high activity for aerobic denitrification, this strain showed the potential application in the future.

Keywords: Aerobic denitrification, Urban river, Biological denitrification, *Pseudomonas putida*

氮素是我国水体污染和富营养化的主要因素之一,生物脱氮技术因其经济、有效、易操作、无二次污染等特点成为研究的热点问题之一。传统理论认为,水中氮素的去除是将氨氧化形成的硝酸盐氮在缺氧的条件下被反硝化菌类还原为氮气和 N_2O ,即必须通过好氧硝化、缺氧反硝化这两个相对独立的过程。好氧反硝化现象在 20 世纪 50 年代被发现^[1-2],1988 年 Robertson^[3]在除硫和反硝化处理系统出水中首次分离出好氧反硝化泛养副球菌(*Paracoccus pantotropha*)、假单胞菌属的某一种(*Pseudomonas* spp.)和粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*)等,使得硝化反硝化过程在同一个反应器中同时进行成为可能。这不仅节约了投资和运行成本,缩短脱氮周期,而且反硝化释放的碱可以补偿硝化反应消耗的碱,这对突破当前生物脱氮技术面临的困境,深入研究和开展生物脱氮工艺具有重要意义。好氧反硝化功能菌的研究因而受到广泛的重视,我国研究人员也开展了一些研究,发现了不同类型的好氧反硝化细菌^[4-10]。好氧反硝化菌在不同生境中通常不是优势菌,并且反硝化能力存在差异,从不同环境中获得高效的功能菌株并使其在反应体系中成为优势种群而发挥反硝化作用仍是很有意义的工作。本文介绍了一株从城市河道污水中分离获得的一株好氧反硝化菌,并对其在不同条件下的好氧反硝化活性进行了探讨。

1 材料和方法

1.1 好氧反硝化菌的富集和筛选

从杭州市郊河道及京杭运河采集水样,混合后按 5% 的接种量,接入富集培养基^[11](柠檬酸钠 9.63 g, 硝酸钠 0.85 g, 磷酸二氢钾 1.36 g, 硫酸铵 0.27 g, 酵母提取物 1 g, 硫酸镁 0.19 g, 微量元素 1 mL, 去离子水 1 L, pH 7.3, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min)中,180 r/min、30°C 培养富集,3 d 后取 5 mL 的富集培养液到新的富集培养基中继续培养,重复 3 次。将富集好的培养液稀释 10^{-4} 、 10^{-5} ,涂布在 BTB(溴百里酚蓝)平板上[硝酸钾 1 g, L-天冬酰胺 1 g, 磷酸二氢钾 1 g, 氯化亚铁 0.05 g, 氯化钙 0.2 g, 硫酸镁 1 g, BTB 1 mL (1%溶于酒精), 琼脂 20 g, 去离子水 1 L, pH 7.3, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min]^[12],待菌落长出后挑取蓝色和具有蓝色晕圈的单菌落再在 BTB

平板上划线纯化作为初筛菌株。以硝酸钾为唯一氮源,筛选反硝化活性最高的菌株,培养基为:葡萄糖 0.5 g, 乙酸钠 0.35 g, 磷酸二氢钾 0.105 g, 硝酸钾 0.05 g。在 180 r/min、30°C 条件下培养 48 h。

1.2 分离菌株 16S rRNA 测序、系统发育分析和鉴定

1.2.1 分离菌株的 16S rRNA 测序:经分离纯化后获得一株具有较高反硝化活性的菌株,命名为 ADZ1。用 LB 培养基(蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, NaCl 10 g, 去离子水 1 L, pH 7.3, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min)培养 ADZ1,采用 Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction Kit (Bioer Technology Co. Ltd) 提取基因组 DNA,以提取获得的基因组 DNA 为模板,扩增 16S rRNA 片段。16S rRNA 的引物 1 序列^[13]为:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (*E. coli* bases 8 to 27), 引物 2 序列^[13]为:5'-TACCTTGTTACGACTT-3' (*E. coli* bases 1507 to 1492)。PCR 扩增体系为 25 μ L, 包括: $10 \times$ PCR Buffer 2.5 μ L (含有 15 mmol/L 的 Mg^{2+}), dNTPs (10 mmol/L) 0.5 μ L, 引物 1、2 (10 μ mol/L) 各 0.4 μ L, BSA (牛血清白蛋白) (1 g/L) 1 μ L, DNA 模板约 30 ng, Ex Taq DNA 聚合酶 0.75 U, 用 ddH₂O 补至 25 μ L。反应条件: 95°C 4 min; 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 1.5 min, 30 个循环; 72°C 8 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。采用 PCR 胶回收试剂盒回收纯化 1.5 kb 左右的目的片段,纯化回收的 PCR 产物送交上海 Invitrogen 生命技术有限公司测序。

1.2.2 系统发育分析:分离获得的菌株 ADZ1 的测序结果在 GenBank 中进行序列同源性比较,通过 BIOEDIT7.0 和 MEGA4.0 等软件进行多重序列比对分析,并以 Neighbor-joining 法构建系统发育树^[14]。

1.2.3 菌株的鉴定:采用法国 bioMerieux 公司的 VITEK[®] 2 细菌鉴定系统对 ADZ1 进行鉴定,使用 VITEK[®] 2 GN 卡,依据该设备提供的操作程序鉴定菌株 ADZ1。

1.3 不同碳源和碳氮比对菌株反硝化活性的影响

为测定目标菌株在不同碳源条件下对硝酸盐氮的降解情况,根据反硝化培养基^[3]设计如下培养基:硝酸钾 0.2 g/L, 磷酸二氢钾 0.105 g/L, 微量元素 2 mL, 碳源按照 10:1 的摩尔比加入, pH 7.2, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。用到的碳源为葡萄糖、柠檬酸

钠、蔗糖、乙醇、麦芽糖和乙醇,其中乙醇为灭菌后加入。经 LB 培养基活化后的菌体经离心后用无菌水重悬,反复 3 次后按 1% 的接种量加入含不同碳源的培养基中,140 r/min、30°C 条件下培养 48 h 后测定硝酸盐氮降解率。以不加菌的各培养基为空白对照,在未加碳源的培养基中加入等量菌液以检测自养反硝化活性。每个处理重复两次,该实验重复 3 次。在确定最佳碳源的基础上,改变碳氮比,检测不同碳氮比对目标菌株反硝化活性的影响。

1.4 菌株的生长特性及其在不同条件下对硝酸盐的还原能力

在最佳的碳源和最佳碳氮比条件下,采用 1.3 中相同的培养基,分别在投菌量 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 个/mL, pH 5、pH 6、pH 7、pH 8、pH 9, 厌氧(石蜡油封静置), 静止, 110、140、170、200 r/min 的条件下,测定目标菌株在不同投菌量、不同 pH 和不同溶氧条件下对硝酸盐的还原能力,每项实验重复 3 次。

为检测目标菌株的生长曲线以及在生长过程中对硝酸盐氮的降解,对氨氮和亚硝酸盐氮的积累。在最佳碳源和最佳碳氮比的条件下,采用 1.3 中相同的培养基,配置 48 个三角瓶,每个三角瓶 100 mL,接种量 1%,170 r/min、30°C 条件下培养。每 2 h 取出 2 个三角瓶放入 4°C 冰箱,最后测定其中的硝酸盐氮,氨氮,亚硝酸盐氮以及 OD_{600} ,每瓶取样 3 次测定,重复此实验 2 次。

1.5 分析方法

实验过程中测定硝酸盐、亚硝酸盐、氨氮和总氮的含量均采用气相分子吸收光谱法,对应国家标准分别为 HJ/T 198-2005、HJ/T 197-2005、HJ/T 195-2005、HJ/T 199-2005。

2 结果和讨论

2.1 分离菌株的测序和鉴定

采用 BTB 平板法从经过富集培养后的样品中获得 6 株具有反硝化活性的菌株,对 6 株菌株的初步筛选结果表明 ADZ1 在 48 h 内对硝酸盐的降解率为 93.1%,总氮的去除率为 34.7%。对菌株 ADZ1 进行了测序分析,获得了 1420 bp 的 16S rRNA 序列,与 GenBank 数据库序列进行 BLAST 比对,并挑选 6 株与该菌株相似性达到 99% 的典型菌株序列,通过 BIOEDIT 7.0 和 MEGA 4.0 等软件进行多重序列比对分析后构建系统发育树(图 1),结果表明该菌株属于 *Pseudomonas* sp.。采用法国 BioMerieux 公司的 VITEK[®] 2 细菌鉴定系统对 ADZ1 进行鉴定,使用 VITEK[®] 2 GN 卡,检测 ADZ1 对 47 种底物的利用能力,如表 1 所示,从该鉴定系统中得出菌株 ADZ1 为 *Pseudomonas putida*。在 *Pseudomonas* sp. 中已经有不少好氧反硝化的菌株发现^[3,7,12,15-19],也有从土壤环境中分离获得 *Pseudomonas putida* 的报道^[11],但来源于城市河道污水中的 *Pseudomonas putida* 菌株尚比较少见。

2.2 不同碳源和碳氮比对菌株 ADZ1 反硝化活性的影响

菌株 ADZ1 在不同碳源条件下的好氧反硝化活性有着明显的区别(图 2),其中以乙醇、柠檬酸钠和葡萄糖为碳源时对硝酸盐的降解率分别为 83.3%、73.6% 和 66.3%。碳源是影响好氧反硝化菌的反硝化活性的一个重要因素^[20-21],本研究获得的目标菌株以乙醇为最佳碳源,柠檬酸钠次之。在以乙醇为碳源条件下,测定了不同碳氮比对 ADZ1 反硝化活性的影响(图 3),结果表明,随着碳氮比的增加,

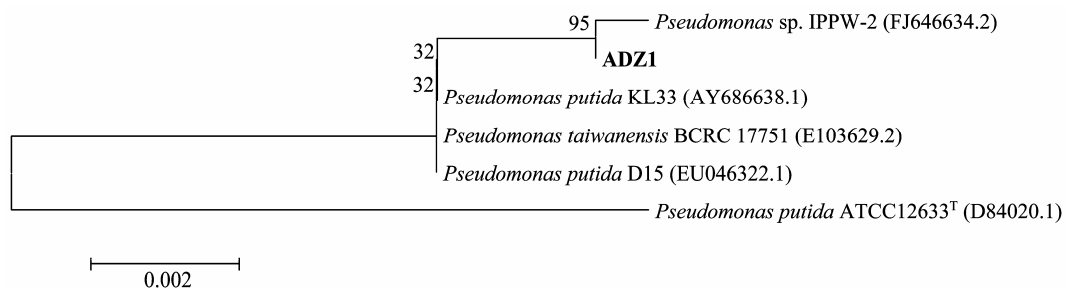


图 1 菌株 ADZ1 的 16S rRNA 系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA sequence of strain ADZ1

表1 菌株 ADZ1 在 VITEK® 2 GN 卡中的生理生化特性
Table 1 Physio-biochemical characteristics of the strain ADZ1 on VITEK® 2 GN card

鉴定指标 Identification index	鉴定结果 Identification result	鉴定指标 Identification index	鉴定结果 Identification result
丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶 Ala-Phe-Pro-arylamidase	(-)	β -N-乙酰葡萄糖苷酶 β -N-Acetyl-glucosaminidase	-
侧金盏花醇 Adonitol	-	谷氨酰芳胺酶 pNA Glutamyl arylamidase pNA	-
吡咯烷基芳胺酶 L-Pyrrolydonyl-arylamidase	-	D-葡萄糖 D-Glucose	+
L-阿拉伯醇 L-Arabitol	-	γ -谷氨酰转移酶 γ -Glutamyl-transferase	+
D-纤维二糖 D-Cellobiose	-	发酵/葡萄糖 Fermentation/glucose	-
β -半乳糖苷酶 β -Galactosidase	-	β -葡萄糖苷酶 β -Glucosidase	-
H ₂ S 产生 H ₂ S production	-	D-麦芽糖 D-Maltose	-
D-甘露醇 D-Mannitol	-	酪氨酸芳胺酶 Tyrosine arylamidase	+
D-甘露糖 D-Mannose	+	尿素酶 Urease	-
β -木糖苷酶 β -Xylosidase	-	D-山梨醇 D-Sorbitol	-
β -丙氨酸芳胺酶 pNA β -Alanine arylamidase	-	蔗糖 Sucrose	-
L-脯氨酸芳胺酶 L-Proline arylamidase	+	D-塔格糖 D-Tagatose	-
脂酶 Lipase	-	D-海藻糖 D-Trehalose	-
古老糖 Palatinose	-	柠檬酸盐(钠) Citrate (sodium)	+
5-酮-葡萄糖苷 5-Keto-D-gluconate	-	丙二酸盐 Malonate	+
L-乳酸产碱 L-Lactate alkalisation	+	氨基乙酸芳胺酶 Glycine arylamidase	-
α -葡萄糖 α -Glucosidase	-	鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	-
琥珀酸盐产碱 Succinate alkalisation	+	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	-
N-乙酰- β -半乳糖苷酶 β -N-Acetyl-galactosaminidase	-	脱羧酶阴性控制 Decarboxylase base	-
α -半乳糖苷酶 α -Galactosidase	-	组氨酸同化 L-Histidine assimilation	+
磷酸酶 Phosphatase	-	Courmarate	+
O/129 耐受 O/129 Resistance	+	β -葡萄糖苷酸酶 β -Glucuronidase	-
谷氨酸-甘氨酸-精氨酸芳胺酶 Glu-Gly-Arg-arylamidase	-	Ellman	-
L-苹果酸盐同化 L-Malate assimilation	+	L-乳酸盐同化 L-Lactate assimilation	+

ADZ1 的反硝化活性不断增加, 当碳氮比达到 12:1 之后, ADZ1 对硝酸盐的降解率达到 98% 以上(图 3)。碳氮比是好氧反硝化的一个重要的影响因素^[11,22], Kim 等分离获得的一株 *Pseudomonas putida* 菌在碳氮比为 8 时对硝酸盐的去除率达到最高的 95.9%, 随后随着碳氮比的增加对硝酸盐的去除率下降。而同时对一株 *Pseudomonas stutzeri* 的研究表明其硝酸盐去除效率随着碳氮比的增加而增加, 在碳氮比为 10 时, 硝酸盐去除率仅为 63.7%。ADZ1 在碳氮比为 8 和 10 时的硝酸盐去除率分别为 74.5% 和 84.7%, 与他们报道的结果有着明显的不同, 表明不同的碳氮比对不同菌株有着不同的影响, 合适的碳氮比对用好氧反硝化菌株去除硝酸盐的成本和效率有着重要的参考价值。

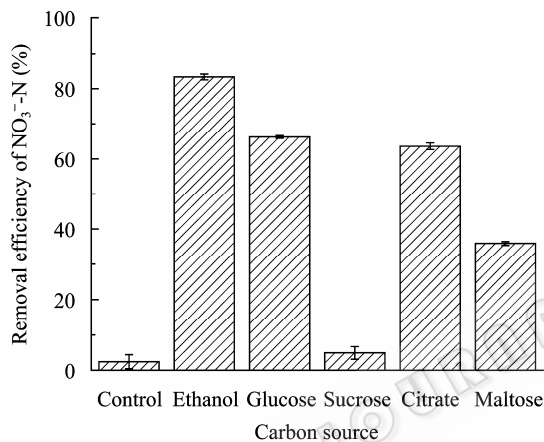


图 2 不同碳源对 ADZ1 反硝化活性的影响
Fig. 2 Denitrification activity of strain ADZ1 under different carbon source

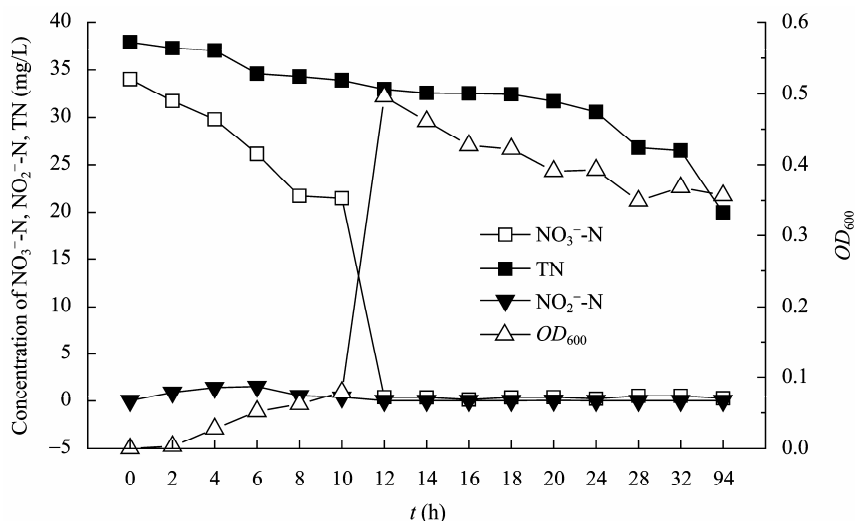


图 4 菌株 ADZ1 生长曲线及其在生长过程中对培养液中硝酸盐、总氮的去除
Fig. 4 Growth curve of strain ADZ1 and its reduction of nitrate and total nitrogen

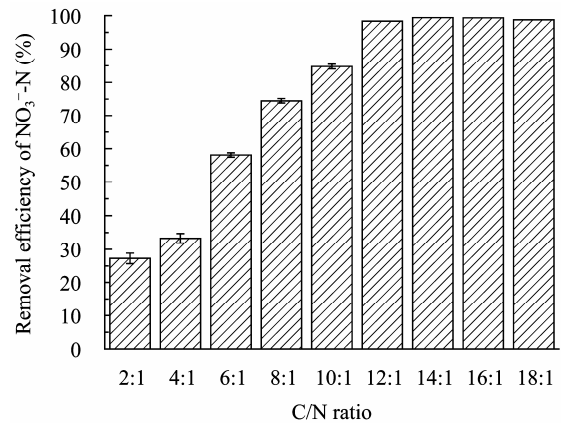


图 3 以乙醇为碳源时不同碳氮比对 ADZ1 反硝化活性的影响

Fig. 3 Denitrification activity of strain ADZ1 under different C/N ratio while ethanol served as carbon source

2.3 菌株 ADZ1 的生长特性及其应用前景

在最佳的碳源和碳氮比条件下, ADZ1 在以硝酸盐为唯一氮源的情况下可以很好的生长, 在 12 h 即达到稳定生长期。与此同时, 对硝酸盐的去除率达到 98% 以上, 在整个过程中前期 2-8 h 有亚硝酸盐的积累, 说明该菌在前期碳源充足的条件下产生了硝酸盐还原酶, 到 12 h 亚硝酸盐和硝酸盐有很大程度的降解, 实验结束时没有积累亚硝酸盐(图 4)。在本研究中采用的反硝化活性检测培养基均没有添加氨氮, 菌体仍然可以很好的生长, 表明 ADZ1 可以利用硝酸盐合成自身菌体所需氮源, 即该菌至少有 2 种 NO₃-N 的代谢途径, 同化性硝酸盐还原和异化性硝酸盐还原。而菌体生长达到稳定期和硝酸盐耗尽几乎同步表明 ADZ1 有着良好的利用或转化硝

酸盐能力, 并可能有进一步的硝酸盐转化潜力。本研究在 32 h 内 ADZ1 对总氮的去除率为 30%, 目前见于报道的好氧反硝化菌的脱氮效率通常在 20%–68% 之间^[5,21,23–24], 考虑到同化反硝化的能量消耗, 其脱氮效率也是较为理想的。

对该菌株在不同溶氧、投菌量和 pH 条件下反硝化活性的研究表明, ADZ1 在好氧、投菌量大于 10^3 个/mL 的条件下对硝酸盐的去除率均在 99% 以上, 在 pH 5–9 的条件下对硝酸盐的去除率在 98% 以上(见表 2)。通常好氧反硝化菌在溶氧小于

3 mg/L 的条件下才能有反硝化的作用, *Pseudomonas* sp. 的硝酸还原酶可以耐受不高于 4 mg/L 的溶氧^[22]。Kim 等^[11]分离获得的 *Pseudomonas putida* 可以耐受 5–6 mg/L 的溶氧。而菌株 ADZ1 无论在静止培养条件下, 还是在 200 r/min 的条件下, 也即溶解氧在 6 mg/L 左右的情况下, 仍有较好的硝酸盐去除率, 充分表明该菌株优异的对溶解氧的适应性。而较少的投菌量即起到良好的作用, 以及对 pH 的广泛适应性也进一步说明该菌株有着光明的应用前景。

表 2 菌株 ADZ1 在不同溶氧、投菌量和 pH 条件下对培养液中硝酸盐的去除率

Table 2 The reduction efficiency of nitrate of strain ADZ1 under different dissolved oxygen, bacterial abundance and pH					
转速/溶氧(r/min) Rotation rate/ Dissolved oxygen (r/min)	硝酸盐降解率(%) Removal efficiency of nitrate (%)	投菌量(个/mL) Bacterial abundance (个/mL)	硝酸盐降解率(%) Removal efficiency of nitrate (%)	pH	硝酸盐降解率(%) Removal efficiency of nitrate (%)
厌氧	14.31377	10^3	99.03594	5	98.90965
0	99.35757	10^4	99.41543	6	98.48455
110	99.25889	10^5	99.36793	7	98.78336
140	99.06103	10^6	99.39955	8	98.49871
170	99.24217	10^7	99.28883	9	98.79893
200	98.88005				

3 结论

(1) 从城市河道污水中分离获得了一株高效的好氧反硝化菌株 ADZ1, 48 h 内对硝酸盐的降解率为 93.1%, 总氮的去除率为 44.7%。16S rRNA 测序及系统发育分析结果表明该菌株属于 *Pseudomonas* sp., 经 VITEK[®] 2 系统鉴定为 *Pseudomonas putida*。

(2) 菌株 ADZ1 的最佳碳源是乙醇, 在以乙醇为碳源的条件下, 在碳氮比达到 12:1 时, 对硝酸盐的去除率达到 98% 以上。

(3) 菌株 ADZ1 在最佳碳源和碳氮比条件下, 生长 12 h 即几乎完全除去硝酸盐并达到稳定生长期。对溶氧和 pH 有着广泛的适应性, 菌体效能明显, 10^3 个/mL 的投菌量在实验体系中即可达到 99% 的硝酸盐降解率, 该菌株有着良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Krul JM. Dissimilatory nitrate and nitrite reduction under aerobic conditions by an aerobically and anaerobically grown *Alcaligenes* sp. and by activated sludge. *Journal of Applied Microbiology*, 1976, **40**(3): 245–260.
- [2] Marshall RO, Dishburger HJ, Macvicar R, et al. Studies

on the effect of aeration on nitrate reduction by *Pseudomonas* species using N15. *Journal of Bacteriology*, 1953, **66**(3): 254–258.

- [3] Robertson LA, Vanniell EJ, Torremans RM, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, **54**(11): 2812–2818.
- [4] 朱月琪, 卫晋波, 曾国驱, 等. 一株好氧反硝化菌的分离及特性研究. *微生物学通报*, 2009, **36**(4): 616–619.
- [5] 朱晓宇, 王世梅, 梁剑茹, 等. 两株高效好氧反硝化细菌的分离鉴定及其脱氮效率. *环境科学学报*, 2009, **29**(1): 111–117.
- [6] 张小玲, 张卫东, 张玲, 等. 好氧反硝化菌的选育及其初步应用. *微生物学通报*, 2008, **35**(10): 1556–1661.
- [7] 杨基先, 高珊珊, 马放, 等. 一株好氧反硝化细菌的分离鉴定及反硝化能力. *环境科学学报*, 2008, **28**(7): 1302–1307.
- [8] 苏俊峰, 马放, 高珊珊, 等. 一株好氧反硝化细菌的分离与鉴定试证. *哈尔滨工业大学学报*, 2008, **40**(12): 1919–1922.
- [9] 翟茜, 汪苹, 李秀婷, 等. 活性污泥中好氧反硝化菌的富集筛选及鉴别. *环境科学与技术*, 2007, **30**(1): 11–13.

- [10] 张光亚, 陈培钦. 好氧反硝化菌的分离鉴定及特性研究. 微生物学杂志, 2005, **25**(6): 23-26.
- [11] Kim M, Jeong SY, Yoon SJ, *et al.* Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at different C/N ratios. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2008, **106**(5): 498-502.
- [12] Takaya N, Catalan-Sakairim AB, Sakaguchi Y, *et al.* Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide. *Applied Environmental Microbiology*, 2003, **69**(6): 3152-3157.
- [13] Heuer H, Krsek M, Baker P, *et al.* Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(8): 3233-3241.
- [14] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution*, 1987, **4**(4): 406-425.
- [15] 王弘宇, 马放, 杨开, 等. 两株异养硝化细菌的氨氮去除特性. 中国环境科学, 2009, **29**(1): 47-52.
- [16] Chen F, Xia Q, Ju LK. Aerobic denitrification of *Pseudomonas aeruginosa* monitored by online NAD(P)H fluorescence. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(11): 6715-6722.
- [17] Ju LK, Chen F, Xia Q. Monitoring microaerobic denitrification of *Pseudomonas aeruginosa* by online NAD(P)H fluorescence. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2005, **32**(11/12): 622-628.
- [18] Su JJ, Liu BY, Liu CY. Comparison of aerobic denitrification under high oxygen atmosphere by *Thiosphaera pantotropha* ATCC 35512 and *Pseudomonas stutzeri* SU2 newly isolated from the activated sludge of a piggery wastewater treatment system. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, **90**(3): 457-462.
- [19] Su JJ, Liu BY, Lin J, *et al.* Isolation of an aerobic denitrifying bacterial strain NS-2 from the activated sludge of piggery wastewater treatment systems in Taiwan possessing denitrification under 92% oxygen atmosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, **91**(5): 853-860.
- [20] Bernat K, Wojnowska-Baryla I. Carbon source in aerobic denitrification. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, **36**(2): 116-122.
- [21] Bang DY, Watanabe Y, Noike T. An experimental study on aerobic denitrification with polyvinyl alcohol as a carbon source in biofilms. *Water Science and Technology*, 1995, **32**(8): 235-242.
- [22] Huang HK, Tseng SK. Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, **55**(1): 90-94.
- [23] Gupta SK, Mona K. Quantitative estimate of *Thiosphaera pantotroph* from aerobic mixed culture. *Water Research*, 2000, **34**(15): 3765-3768.
- [24] 吴松维, 孙华, 吴伟祥, 等. 好氧反硝化脱氮作用研究进展. 科技通报, 2008, **24**(5): 727-730.

征订启事

《腐植酸》杂志 2010 年征订启事

《腐植酸》杂志于 1979 年创刊, 由中国腐植酸工业协会主办, 是全国唯一的腐植酸类专业科技期刊, 面向国内外公开发行人。《腐植酸》杂志是《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊、《中国学术期刊(光盘版)》入编期刊、《中国核心期刊(遴选)数据库》入编期刊。本刊为国际标准大 16 开, 内设 60 页, 主要栏目有: “卷首语”“专题评述”“研究论文”“译文”“腐植酸质量检测”“协会(专业)标准讨论”“腐植酸文摘”“腐植酸专利简介”“腐植酸环保应用”“两会”动态”“信息传真”“‘乌金杯’采风”“腐植酸文献检索”等。

《腐植酸》杂志集学术性、专业性和实用性于一身, 内容广泛、指导性强、信息量大, 自 1979 年创刊以来, 受到广大读者的关注与好评。2010 年, 本刊将继续以“高扬绿色 关注民生”为指导, 设置丰富的内容, 为推动我国腐植酸产业的发展做好服务工作!

《腐植酸》杂志为双月刊, 国际刊号: ISSN1671-9212; 国内刊号: CN11-4736/TQ。每期定价 20.00 元, 全年 6 期, 年定价 120.00 元(含邮费)。

热诚欢迎各位新、老读者及时订阅! 如需过刊, 请直接与编辑部联系。

订购方式: 从邮局汇款至编辑部。

地 址: 北京市西城区六铺炕街 1 号 邮编: 100120

收件人: 《腐植酸》编辑部

电 话: 010-82784950, 010-82035180

传 真: 010-82784970

E-mail: chaia@126.com

网 址: www.chinaha.org