

高温好氧反硝化菌的分离鉴定及其反硝化性能研究

张苗^{1,3}, 黄少斌^{1,2,3*}

(1. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510006; 2. 华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室, 广州 510006; 3. 污染控制与生态修复广东省普通高等学校重点实验室, 广州 510006)

摘要:通过高温筛选,从燃煤电厂生物滴滤系统填料的生物膜上分离出 1 株高效好氧反硝化细菌 TAD1. 该菌株革兰氏染色呈阴性,短杆状,大小为 $(0.67 \sim 0.89) \mu\text{m} \times (1.03 \sim 1.41) \mu\text{m}$;经生理生化特性和基于 16S rDNA 序列分析,初步鉴定该菌为螯球菌属(*Chelatococcus* sp.). 对菌株 TAD1 的反硝化性能进行研究,结果表明,50℃ 高温、好氧培养条件下,该菌株 24 h 内将培养液中的硝酸盐氮由 63.79 mg/L 降至 0.46 mg/L,脱氮率高达 99.12%,反应过程中没有检测到亚硝酸盐氮的积累,氮气是反硝化过程的最终产物. 在反硝化过程中,pH 值呈逐渐上升趋势,而氧化还原电位(ORP)呈逐渐降低趋势. 对菌株 TAD1 的生态影响因子研究表明,其反硝化最适宜的 pH 值为 7.0~9.0,溶解氧浓度为 2.1~7.2 mg/L.

关键词:高温;好氧反硝化菌;16S rDNA 序列分析;反硝化性能;生物脱氮

中图分类号:X172;X703 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2011)01-0259-07

Identification and Denitrification Characteristics of a Thermophilic Aerobic Denitrifier

ZHANG Miao^{1,3}, HUANG Shao-bin^{1,2,3}

(1. College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 2. State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 3. The Key Laboratory of Environmental Protection and Eco-Remediation of Guangdong Regular Higher Education Institutions, Guangzhou 510006, China)

Abstract: A bacterial strain TAD1 with high nitrogen removal efficiency was isolated from biofilm of the biotrickling filter of a coal-fired power plant by thermophilic domestication. This bacterium was Gram negative, short rod, with the size of $(0.67\text{--}0.89) \mu\text{m} \times (1.03\text{--}1.41) \mu\text{m}$. It was identified as *Chelatococcus* sp. according to its physiological properties and the analysis of its 16S rDNA gene. Studied on its function of aerobic denitrification at the temperature of 50℃, the results showed that nitrate in the culture media was efficiently removed from 63.79 mg/L to 0.46 mg/L, and the nitrogen removal efficiency was up to 99.12% in 24 hours, and no nitrite was observed during the incubation, the major end product of the denitrification was nitrogen. During the denitrification of TAD1, the pH in the culture medium gradually increases, while the oxidation-reduction potential gradually decreases. The factors affecting aerobic denitrification by strain TAD1 were also discussed, indicating that the most suitable pH value for aerobic denitrification was 7.0-9.0, and the DO was 2.1-7.2 mg/L.

Key words: thermophilic; aerobic denitrifier; 16S rDNA sequence analysis; denitrifying characteristics; biological nitrogen removal

传统理论认为反硝化是一个严格的厌氧过程,因为一般的反硝化菌优先使用溶解氧呼吸,甚至在溶解氧浓度低达 0.1 mg/L 时也如此,这样就阻止了使用硝酸盐和亚硝酸盐作为最终电子受体.但近些年来人们在实际工程中不断发现好氧条件下的反硝化脱氮现象,Pochana 等^[1]在 SBR 反应器中观察到了 95% 的总氮去除率,在许多实际运行的好氧硝化池中也常常有 30% 的总氮脱除^[2].一些好氧反硝化细菌也已被筛选出来^[3-7],比如 Takaya 等^[8]筛选分离出 1 株好氧反硝化菌 *Pseudomonas* sp. strain k50,在溶解氧(DO)为 38 $\mu\text{mol/L}$ 时其脱氮效果为 0.03 $\mu\text{mol/min}$.廖绍安等^[9]利用间歇曝气选择性富集方法筛选出 1 株亚硝酸盐去除活性较高的好氧反硝化

菌 *S. maltophilia* strain X041,在溶解氧(DO)为 3.80~5.21 mg/L 的培养条件下,10 h 内将亚硝态氮由 26.81 mg/L 降至 0.

好氧反硝化的出现为生物脱氮提出了全新的途径,也奠定了好氧反硝化生物脱氮新技术的理论基础.同传统的缺氧环境中的反硝化相比,好氧反硝化有以下 3 个优点^[10]:①硝化和反硝化能够在同一反应器中进行,可以大大简化过程,减少建设投资;②

收稿日期:2010-01-28;修订日期:2010-04-13

基金项目:国家自然科学基金项目(20777019);广州市环境保护局广州市 2008 年污染防治新技术新工艺推广应用项目(穗环涵[2008]650 号)

作者简介:张苗(1986~),女,硕士研究生,主要研究方向为环境微生物,E-mail:chenmuxi1986@yahoo.com.cn

* 通讯联系人,E-mail:chshuang@scut.edu.cn

硝化产物可直接作为反硝化作用的底物,加速硝化反硝化进程,并提高脱氮效率;③反硝化释放出的 OH^- 可部分补偿硝化反应所消耗的碱度,使反应系统 pH 更稳定.但是现在发现的好氧反硝化细菌为数不多^[11~13],而高效的好氧反硝化细菌则更少^[14],并且筛选的反硝化细菌都只适应处理中温环境的废水,若处理高温废水则需对废水进行降温处理,从而给常规的生物处理技术带来较大困难;另外,烟气经过除尘和湿法脱硫后温度一般在 50°C 左右,若用常温好氧反硝化菌进行生物脱氮处理要装置降温设备,从而增加了脱氮成本.因此,筛选分离在高温条件下具有高效的好氧反硝化细菌以及对好氧反硝化的理论研究仍然是一项十分迫切的任务.

本研究从燃煤电厂生物滴滤系统的填料的生物膜上通过高温筛选,分离出 1 株能在 50°C 高温条件下进行高效好氧反硝化的菌株 TAD1. 并对其形态、生理生化特征和反硝化特性进行了分析,以期为好氧反硝化细菌应用于工程实践提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 培养基

反硝化培养基 DM (g/L): NH_4Cl 0.3; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7.9; KH_2PO_4 1.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1; 琥珀酸钠 4.0; KNO_3 0.6; 微量元素溶液 2 mL; pH 7.0 ~ 7.5.

微量元素溶液成分 (g/L): EDTA 50.0; ZnSO_4 2.2; CaCl_2 5.5; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 5.06; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5.0; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{22} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.57; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.61.

1.2 高温好氧反硝化细菌的筛选

用生物滴滤系统处理瑞明(广州)电厂电除尘和湿法脱硫后的烟气,系统在经过挂膜启动和微生物的适应期后,有氧条件下,随着烟气流量的增大, NO_x 的去除能力平稳增加^[15],因此,该系统生物膜上有好氧反硝化菌的富集.

1.2.1 高温好氧反硝化菌的初筛

本研究从上述生物滴滤系统的反应器内取出一块长有生物膜的填料至装有 90 mL 灭菌的反硝化培养液并装有玻璃珠的三角瓶中,振荡至生物膜脱落,取出填料.然后将三角瓶放入空气振荡器中把生物膜充分摇匀打碎.打碎后的生物膜在初始温度为 30°C ,160 r/min 的摇床振荡培养 48 h 后,将 10% (体积分数)的菌液接入 100 mL 新鲜的灭菌的反硝化培养液中,升温至 35°C ,摇床振荡培养 48 h 后,按

10% (体积分数)接种菌液至 100 mL 新鲜的灭菌的反硝化培养液中,如此按照上述方法筛选在高温条件下的优势菌种,直至升温至 50°C .升温培养期间,每隔 24 h 取培养后的菌液检测硝态氮和亚硝态氮浓度.

取 50°C 培养第 3 d 的菌液 1 mL 稀释涂平板.平板培养基中加入溴百里酚蓝,菌落周围产生蓝色晕圈,说明培养基中 pH 值升高,发生了反硝化作用.24 h 后挑选有蓝色晕圈的单菌落,在 DM 培养基经 3 次划线分离,分离出产生蓝色晕圈的即具有反硝化作用的菌株.初步筛选分离后把纯化后的菌株加入密封的培养瓶再筛选分离.

1.2.2 高温好氧反硝化菌的复筛

将上述分离纯化后得到的纯菌种菌落,分别接种于装有 100 mL DM 培养液的三角瓶中,并在每个三角瓶内加入几粒灭菌的玻璃珠(尽量减小厌氧微环境对实验结果的影响),用 4 层纱布包好瓶口,放入振荡培养箱,具体参数如下:温度 50°C ,转速 160 r/min,培养时间 24 h.取培养后的菌液检测硝态氮浓度,包括硝酸盐氮和亚硝酸盐氮,考察菌株对硝态氮的去除率.其中,只有 1 株菌 24 h 脱氮率 $>80\%$,说明此菌为好氧反硝化菌,编号为 TAD1 并保藏.

1.3 高温好氧反硝化细菌的鉴定

1.3.1 目的菌株的形态

将菌株接种至 DM 固体斜面培养基上, 50°C 培养 12 h 后进行扫描电镜观察.

1.3.2 目的菌株的生理生化鉴定

参照文献[16],对筛选菌株 TAD1 进行生理生化特征测定.

1.3.3 16S rDNA 的 PCR 扩增

将平板培养后的细菌直接挑取菌落作为 PCR 扩增模板.16S rDNA 扩增引物为:上游引物 F27:5'-AGAGTTTGATCTGGCTCAG-3';下游引物 R1522:5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3',引物由上海生物工程技术有限公司合成.PCR 反应体系(50 μL),反应程序如下: 94°C 预变性 4 min 后进入循环, 94°C 变性 30 s, 54°C 退火 30 s, 72°C 延伸 2 min,30 个循环后, 72°C 延伸 10 min.测序结果提交 GenBank 进行 Blast 比对.

1.4 菌株好氧反硝化能力测定

将 10% (体积分数)处于对数生长期的菌液接种于 100 mL 新鲜的灭菌的以硝酸钾为氮源、丁二酸钠为唯一碳源的反硝化培养液中, 50°C ,好氧振荡

培养 (160 r/min), 每隔 4 h 测定 NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 N_2 、菌体吸光度、pH、ORP 以及 COD。

1.5 分析方法

硝氮 (NO_3^- -N) 测定采用 GB 7480-87 酚二磺酸紫外分光光度法测定; 亚硝氮 (NO_2^- -N) 测定采用 GB 7493-87 *N*-(1-萘基)-乙二胺分光光度法; 氮气 (N_2) 采用岛津 GC-2104 型气相色谱仪, 条件为: 载气流量 He 25 mL/min, 柱温 32℃, 检测器温度 85℃, 气化室温度 75℃; 菌体生长吸光度: 采用吸光度法, 用 721 分光光度计在光密度为 480 nm 处测吸光度值; pH 值和氧化还原电位 (ORP) 测定采用 S-25 型 pH 计进行测定; COD: 采用重铬酸钾法测定; 溶解氧 (DO) 测定采用 YSI 型 DO 测定仪。

2 结果与讨论

2.1 菌株的鉴定

2.1.1 目的菌株的形态学特征

菌株 TAD1 为革兰氏阴性短杆菌, 大小为 (0.67 ~ 0.89) $\mu\text{m} \times$ (1.03 ~ 1.41) μm , 周生鞭毛。菌株 TAD1 的电镜照片见图 1。

2.1.2 菌株 TAD1 的生理生化鉴定

菌株 TAD1 的生理生化测定结果为: ONPG 和吲哚测定阴性; 葡萄糖和甲醇发酵不产酸; 脲酶试验、苯丙氨酸和精氨酸双水解阴性; 厌氧条件下可以生长, 为兼性厌氧菌; 接触酶、氧化酶和赖氨酸脱羧酶阳性; 卵磷脂酶阴性, 可进行反硝化反应; 柠檬酸盐利用阳性; 甲基红 (MR) 试验、V-P 试验、明胶液化试验、淀粉水解试验、产硫化氢试验和脲青素试验阴性; 葡萄糖氧化为氧化型。

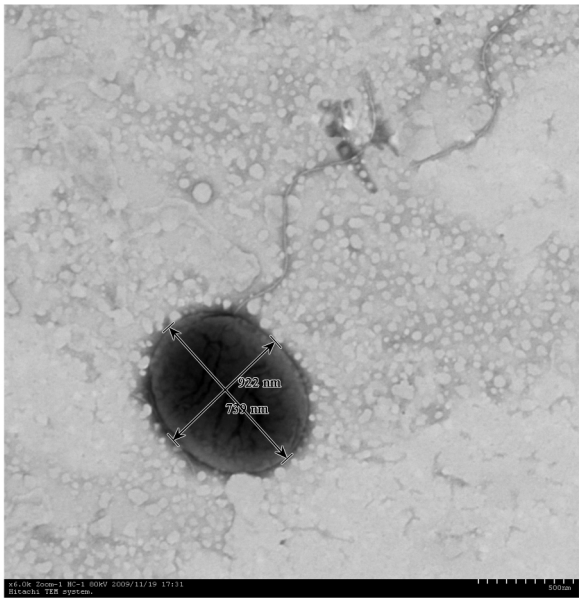


图 1 菌株 TAD1 的形态特征

Fig. 1 Electron and microscopy photograph of strain TAD1

2.1.3 16S rDNA 测序测定及系统发育分析

经测序后获得片段长度为 1385 bp, 在 GenBank 数据库中比对表明, 菌株 TAD1 与 *Chelatococcus daeguensis* 的同源性为 99%, 其中与模式菌株 *Chelatococcus daeguensis* strain K106 最相似同源性达 99%。应用 MEGA 软件采用 Neighbor-Joining 法绘制 16S rDNA 系统发育树, 确定其进化地位, 结果如图 2 所示。结合菌株形态学及生理生化特性, 该菌株最有可能是螯台球菌属 (*Chelatococcus* sp.), 并命名为 *Chelatococcus daeguensis* strain TAD1。

2.2 *C. daeguensis* TAD1 好氧反硝化性能测定

C. daeguensis TAD1 在有氧条件下能以丁二酸

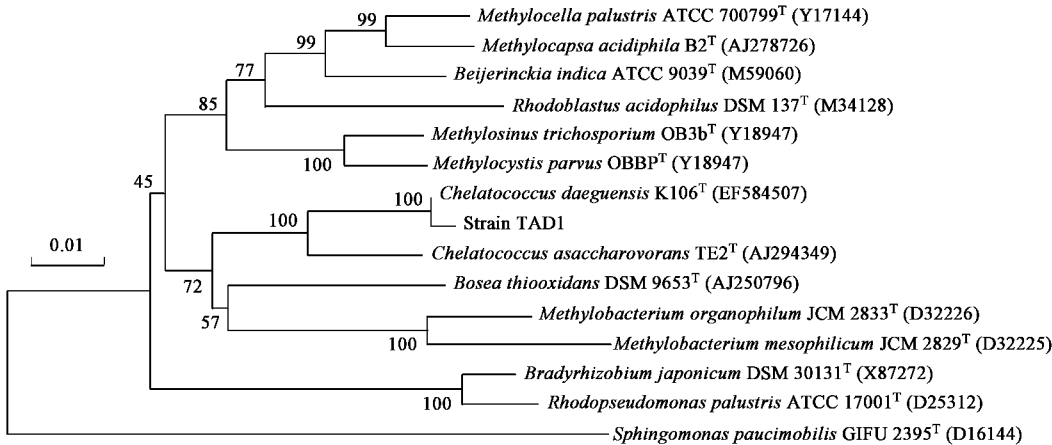


图 2 基于 16S rDNA 序列同源性用 NJ 法构建的菌株 TAD1 和其他相关细菌的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic trees of strain TAD1 and related bacteria based on the partial 16S rDNA sequences with Neighbor-Joining

钠为唯一碳源, 硝酸钾为氮源进行反硝化, 其 24 h 内生长曲线及 NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 N_2 、pH 值、ORP 和 COD 随时间变化的过程分别如图 3 ~ 6 所示。

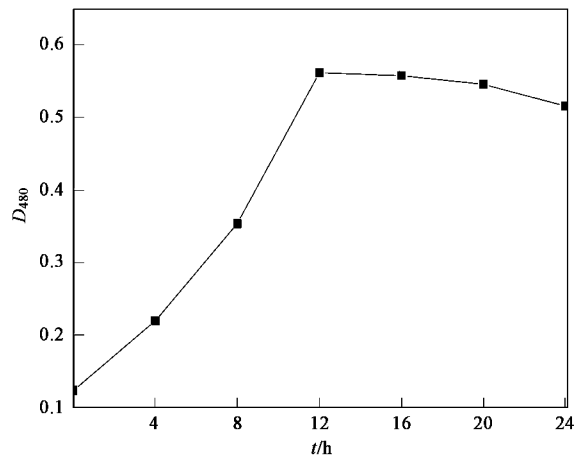


图 3 菌株 TAD1 的好氧反硝化生长曲线

Fig. 3 Growth curve of aerobic denitrification of strain TAD1

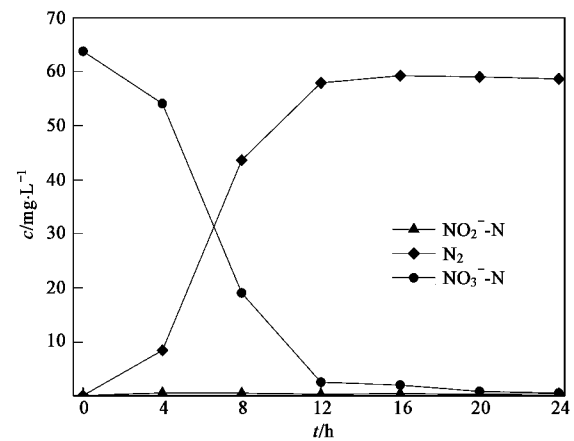


图 4 菌株 TAD1 的好氧反硝化特性

Fig. 4 Aerobic denitrification performance of strain TAD1

从图 3 可以看出, 菌株在 0 ~ 4 h 为适应期, 4 h 后开始进入对数生长期, 12 h 达到最大生长量, 之后进入稳定生长期。从图 4 中可以看出, 硝酸盐氮的浓度从开始的 63.79 mg/L 降至 0.46 mg/L, 去除率达到 99.12%; 氮气是反硝化的最终产物; 整个反应过程中, 没有出现亚硝酸盐的积累, 很可能是菌株 TAD1 的亚硝酸盐还原酶在硝酸盐还原酶存在时具有很高活性, 经菌体硝酸盐还原酶产生的亚硝酸盐在很高活性的亚硝酸盐还原酶作用下迅速被还原。将菌株 TAD1 的好氧反硝化性能曲线与其生长曲线图进行对比可知: 整个培养过程中, 菌株在对数生长期硝酸盐氮浓度急剧降低, 说明这个时期是细菌生长和繁殖最旺盛的时期, 细胞合成所需要的能量和还原能力主要

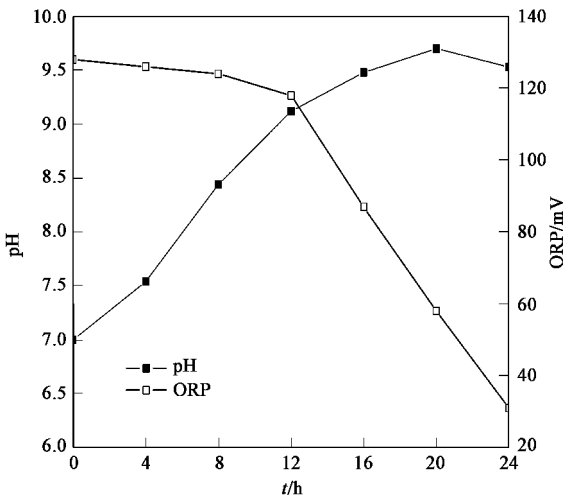


图 5 菌株 TAD1 反硝化过程中 pH 值和 ORP 的变化曲线

Fig. 5 Curves of pH and ORP in the denitrification process of strain TAD1

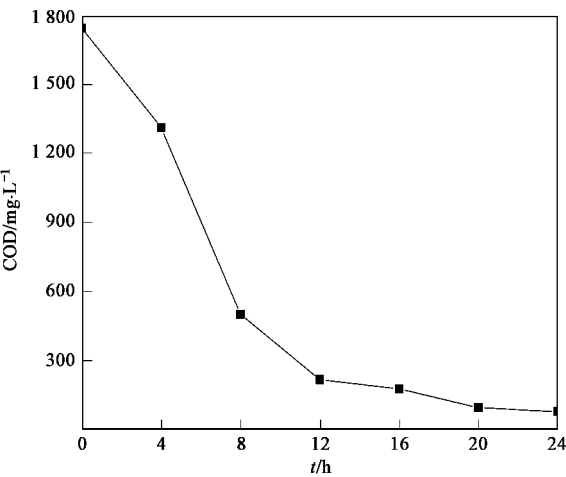


图 6 菌株 TAD1 反硝化过程中 COD 的变化曲线

Fig. 6 Curve of COD in the denitrification process of strain TAD1

在这一阶段被消耗; 而在菌株进入稳定期后, 硝酸盐氮浓度降低的趋势趋于缓慢。由此可知, 菌株 TAD1 的反硝化作用主要发生在对数生长期。

如图 5 所示, 在培养过程中, pH 值呈上升趋势, ORP 呈降低趋势。pH 值上升可能有两方面原因: 一是碳源丁二酸钠的代谢产物呈碱性; 二是反硝化反应产生碱度^[17]。而 ORP 下降是因为反硝化过程中, 氮的形态由高价态还原成低价态, 相应的氧化还原电位就会降低。

从图 6 可以看出, 在第 4 ~ 12 h 菌体进入对数生长期后, COD 值迅速降低。说明此阶段有机碳源被反硝化过程大量消耗, 这与菌体在此阶段所需最多还原力是相吻合的。也就是说, 菌株在好氧条件下是以有

机碳源作为电子供体,而硝酸盐和氧气共同作为电子受体进行呼吸.这与国外报道的多数好氧反硝化细菌都需要有机碳源作为其电子供体是一致的^[18~20].

2.3 *C. daeguensis* TAD1 利用硝酸盐和亚硝酸盐好氧反硝化效果的对比

从上述实验知道,菌株 TAD1 在反硝化过程中不产生亚硝酸盐的积累.按照优先原则的理解,微生物应优先选择氧化还原电位高的硝酸盐作为电子受体,硝酸盐还原的产物亚硝酸盐不被优先利用,应该会产生积累^[21].在氧存在的条件下,硝酸盐和亚硝酸盐究竟哪一个更容易被菌株 TAD1 利用是本研究的关键.在此,实验研究了初始菌量基本相同的硝酸盐培养液和亚硝酸盐培养液进行比较.2 个培养过程中碳氮比均为 9,初始硝态氮浓度约为 113.69 mg/L,丁二酸钠作为碳源.反应条件为 50℃,初始 pH 值 7.0,160 r/min 振荡培养.

实验结果如图 7 所示,当以硝酸盐为氮源时,NO₃⁻-N 质量浓度由 113.69 mg/L 降低到 1.21 mg/L,脱氮率达到 98.94%;当以亚硝酸盐为氮源时,NO₂⁻-N 质量浓度由初始 113.58 mg/L 降低到 85.31 mg/L,脱氮率仅为 24.89%,远远低于硝酸盐的反应过程.由此可见,菌株 TAD1 更容易利用硝酸盐为氮源进行好氧反硝化.这与微生物的优先原则是一致的.此外,亚硝酸盐的积累可以理解为菌株 TAD1 的亚硝酸盐还原酶只有在硝酸盐还原酶存在时才具有较高活性,当培养液以亚硝酸盐为氮源时,因无硝酸盐的存在不能诱导产生硝酸盐还原酶,故亚硝酸盐还原酶活性较低.具体原因还需要从酶学角度进一步探讨.

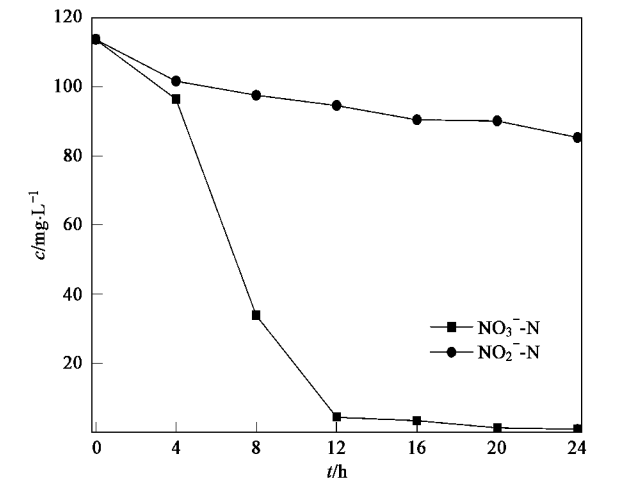


图 7 利用硝酸盐和亚硝酸盐进行反硝化过程
Fig.7 Aerobic denitrification process of nitrate and nitrite

2.4 初始 pH 值对 *C. daeguensis* TAD1 好氧反硝化效果的影响

调整培养液的初始 pH 值后,等量接种对数期生长的细菌,50℃ 好氧振荡培养(160 r/min),实验结果如图 8 所示.

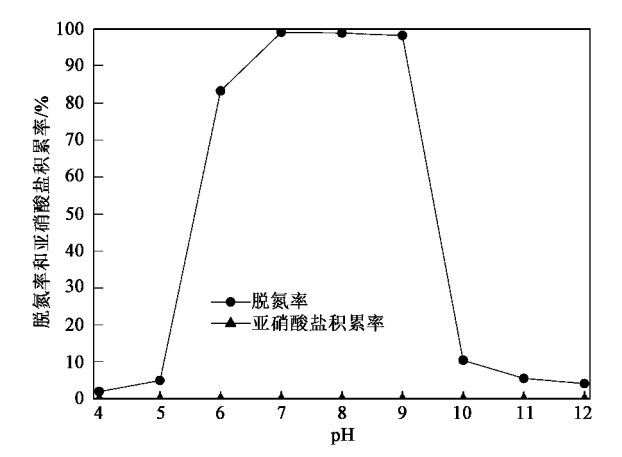


图 8 初始 pH 值对菌株 TAD1 好氧反硝化效果的影响
Fig.8 Effects of beginning pH on aerobic denitrification by strain TAD1

从图 8 可以看出,不同初始 pH 值的培养液均有不同程度的好氧反硝化发生.在较低初始 pH 值下,菌株 TAD1 的反硝化效果较低,初始 pH 值为 4 时,脱氮率仅为 2%.随着初始 pH 值的升高,脱氮率逐渐升高.当初始 pH 值为 7 时达到最大的脱氮率为 99.02%;pH 值为 8 时,脱氮率也很高为 98.81%;pH 值为 9 时的脱氮率为 98.14%;但当初始 pH 值升高至 10 时,脱氮率下降到 10.47%.可见在偏碱(pH 7~9)的条件菌株 TAD1 有较好的反硝化效果但在酸性(pH < 6)和碱性(pH ≥ 10)的条件下,菌株对硝酸盐基本没有多少去除.说明 pH 值能直接影响反硝化酶的活性,当 pH 值超过了微生物酶的适应范围,微生物对营养物质的吸收和酶的活力都相应受到影响^[22].由此可知,菌株 TAD1 反硝化最适宜的 pH 值范围是 7.0~9.0.

2.5 溶解氧对 *C. daeguensis* TAD1 好氧反硝化效果的影响

对好氧反硝化菌来说,溶解氧(DO)是至关重要的一个生态指标.为考察溶解氧对菌株 *C. daeguensis* TAD1 好氧反硝化效果的影响,实验通过调控振荡器转速来实现培养液中不同的 DO 浓度^[23],DO 在培养 24 h 后用 DO 测定仪测得.实验过程中控制温度为 50℃.实验结果如图 9 所示.

从图 9 可以看出,溶解氧浓度为 2.1~11.3

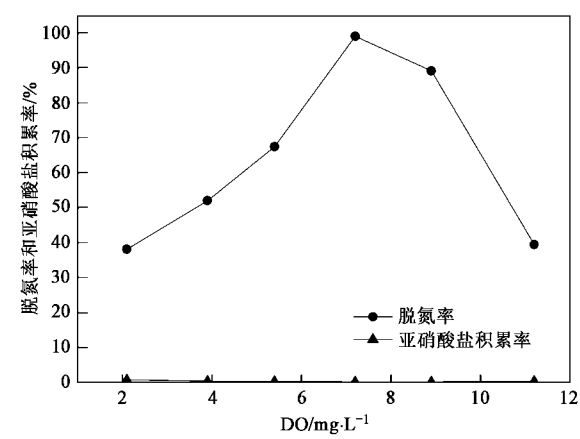


图9 不同DO浓度对菌株TAD1好氧反硝化效果的影响
Fig.9 Effects of DO on aerobic denitrification by strain TAD1

mg/L,培养液中初始氧化态氮浓度为78.14 mg/L,50℃水浴培养24 h后,菌株TAD1的脱氮率受到溶解氧的影响.在一定范围内,随着溶解氧浓度的升高,菌株的脱氮率升高;当溶解氧浓度达到7.2 mg/L时,脱氮率最大达99.08%;溶解氧浓度继续升高,脱氮率下降.可见,溶解氧浓度对菌株TAD1的反硝化脱氮效果有显著的影响.

多数研究者发现,在一定范围内,反硝化率受溶解氧浓度的影响.当DO降低到某个限值时,随DO降低反应效率迅速升高.说明DO存在一个阈值,但是这个阈值根据微生物种类、底物及环境条件的变化而不同.也有少数研究者发现某些菌种反硝化率不受溶解氧的限制^[24].Huang等^[18]在利用*Citrohucter diversus*进行好氧反硝化的研究中指出,DO浓度是该细菌进行好氧反硝化的关键因素,DO浓度为2~6 mg/L时,细菌生长速度和反硝化率最合适.Patureau等^[19]在研究菌株*Microvirgula aerodenitrificans*时发现,当DO的质量浓度>4.5 mg/L时,其对该菌株的反硝化效果没有影响;在DO的质量浓度低于4.5 mg/L时,其反硝化活性随着DO浓度的降低而增强.而Su等^[25]应用分离的反硝化菌*Pseudomonas stutzeri* SU2,气体中O₂浓度为92%时,其反硝化速率在90 h内达到99.24%,可以说受氧浓度的影响.本研究筛选的高温好氧反硝化菌*C. daeguensis* TAD1,当溶解氧浓度为2.1~11.3 mg/L时,其脱氮率受到溶解氧的影响.

3 结论

(1)从燃煤电厂生物滴滤系统填料的生物膜上经高温筛选得到1株高效好氧反硝化菌TAD1,经形

态观察、生理生化实验以及16S rDNA序列分析,初步鉴定该菌株为螯台球菌属(*Chelatococcus* sp.).该菌株是1株新型好氧反硝化菌.

(2)*C. daeguensis* TAD1在50℃高温、好氧条件下能以硝酸盐为电子受体进行反硝化,24 h脱氮率高达99.12%,在此过程中,没有出现亚硝酸盐的积累.菌株TAD1的反硝化主要发生在对数生长期,氮气是反硝化过程的最终产物.

(3)*C. daeguensis* TAD1进行反硝化时的最适初始pH值为7.0~9.0;溶解氧(DO)对菌株的好氧反硝化有抑制作用,在DO浓度为2.1~11.3 mg/L的范围内,随着溶解氧浓度的升高,其脱氮率先升高后降低.

参考文献:

[1] Pochana K, Keller J. Study of factors affecting simultaneous nitrification and denitrification (SND) [J]. *Water Science and Technology*, 1999, **39**(6): 61-68.

[2] Randall C W, Barnard J L, Stensel H D. Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal [M]. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, 1992.

[3] 陈咄圳,王立刚,王迎春,等.异养硝化-好氧反硝化菌的筛选及脱氮性能的实验研究[J]. *环境科学*, 2009, **30**(12): 3614-3618.

[4] 金敏,王景峰,孔庆鑫,等.好氧异养硝化菌*Acinetobacter* sp. YY-5的分离鉴定及脱氮机理[J]. *应用与环境生物学报*, 2009, **15**(5): 692-697.

[5] 张光亚,方柏山,闵航,等.一株好氧反硝化菌的特征及系统进化分析[J]. *华侨大学学报(自然科学版)*, 2004, **25**(1): 75-78.

[6] 蒋艳艳,胡正华,黄耀.异养硝化/好氧反硝化菌的分离鉴定及其在不同培养条件下产N₂O研究[J]. *环境科学*, 2009, **30**(7): 2105-2111.

[7] Kim J B, Cho K S, Jeong S K, et al. Identification and characterization of a pigment-producing denitrifying bacterium [J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2008, **13**: 217-223.

[8] Takaya N, Catalan-Sakairi M A B, Sakaguchi Y, et al. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide [J]. *Applied and Microbiology Biotechnology*, 2003, **69**(6): 3152-3157.

[9] 廖绍安,郑桂丽,王安利,等.养虾池好氧反硝化细菌新菌株的分离鉴定及特征[J]. *生态学报*, 2006, **26**(11): 3718-3724.

[10] Wang P, Li X T, Xiang M F, et al. Characterization of efficient aerobic denitrifiers isolated from two different sequencing batch reactors by 16S-rRNA analysis [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2007, **106**(6): 563-567.

[11] 王弘宇,马放,苏俊峰,等.不同碳源和碳氮比对一株好氧反硝化细菌脱氮性能的影响[J]. *环境科学学报*, 2007, **27**(6): 968-972.

- [12] 黄运红,龙中儿,许杨.一株好氧反硝化细菌的筛选及初步鉴定[J].食品科学,2007,**28**(8):266-268.
- [13] Patureau D, Zumstein E, Delgenes J P, *et al.* Aerobic denitrifiers isolated from diverse natural and managed ecosystems[J]. Microbial Ecology, 2000, **39**: 145-152.
- [14] 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[J].环境科学学报,2009,**29**(1):111-117.
- [15] Jang R, Huang S B, Chow A T, *et al.* Nitric oxide removal from flue gas with a biotrickling filter using *Pseudomonas putida*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, **164**:432-441.
- [16] 东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001. 370-378.
- [17] 周少奇.厌氧氨氧化与反硝化协同作用化学计量学分析[J].华南理工大学学报,2006,**34**(5):1-4.
- [18] Huang H K, Tseng S K. Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment [J]. Applied and Microbiology Biotechnology, 2001, **55**(1):90-94.
- [19] Patureau D, Bernet N, Delgenes J P, *et al.* Effect of dissolved oxygen and carbon-nitrogen loads on denitrification by an aerobic consortium[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2000, **54**(4):535-542.
- [20] Kornaros M, Lyberatos G. Kinetics of aerobic growth of a denitrifying bacterium, *Pseudomonas denitrificans*, in the presence of nitrates and/or nitrites[J]. Water Research, 1997, **31**(3):479-488.
- [21] 马放,王弘宇,周丹丹,等.好氧反硝化菌株 X31 的反硝化特性[J].华南理工大学学报(自然科学版),2005,**33**(7):42-46.
- [22] 王弘宇,马放,苏俊峰,等.好氧反硝化菌株的鉴定及其反硝化特性研究[J].环境科学,2007, **28**(7):1548-1552.
- [23] Taylor S M, He Y L, Zhao B, *et al.* Heterotrophic ammonium removal characteristics of an aerobic heterotrophic nitrifying-denitrifying bacterium, *Providencia rettgeri* YL[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, **21**:1336-1341.
- [24] Pai S L, Chong N M, Chen C H. Potential application of aerobic denitrifying bacteria as bioagents in wastewater treatment [J]. Bioresource Technology, 1999,**68**(2):179-185.
- [25] Su J J, Liu B Y, Liu C Y. 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 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2001, **90**:457-462.