

硝化基质和产物对发光细菌的急性毒性

陈婷婷, 郑平*

(浙江大学环境工程系, 杭州 310029)

摘要:【目的】对硝化基质和产物对硝化过程的影响进行初步研究。【方法】采用发光细菌法, 在 pH = 7.0 的条件下, 测定了氨、羟胺、亚硝酸和硝酸对发光细菌的急性毒性(15 min-半抑制浓度(the half inhibitory concentration, IC₅₀))。【结果】单一物质的毒性试验结果表明, 硝化基质和产物对发光细菌的毒性随浓度的升高而增大, 且具有较好的线性关系; 氨、羟胺、亚硝酸和硝酸的 IC₅₀ 分别为 2180.2 mg/L、6.2740 mg/L、1207.2 mg/L 和 3140.3 mg/L; 其毒性大小顺序为: 羟胺 > 亚硝酸 > 氨 > 硝酸。按等效浓度混合法测定硝化基质和产物的联合毒性, 结果表明: 氨与羟胺、氨与亚硝酸、羟胺与亚硝酸对发光细菌的联合毒性呈相加作用; 氨与硝酸、羟胺与硝酸、亚硝酸与硝酸对发光细菌的联合毒性呈独立作用; 氨、羟胺、亚硝酸、硝酸四元混合物的联合毒性也呈相加作用。【结论】根据硝化基质和产物对发光细菌和硝化细菌抑制浓度的相关性, 可用发光细菌发光强度的变化指示硝化基质和产物的抑制作用。

关键词: 硝化基质; 产物; 发光细菌; 急性毒性

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2009) 06-0759-07

随着工农业生产的发展和人民生活水平的提高, 含氮有机物的排放量迅猛增加。大小水体成了这些污染物的收容所, 水体质量急剧恶化。氮素进入水体, 不但能作为生物的营养物质而诱发“富营养化”, 造成水生生态系统紊乱; 而且还能作为毒性物质, 直接威胁人类的健康。氮素所致的污染已经成为公众关注的焦点^[1]。

在现有的脱氮技术中, 生物脱氮是最为经济有效的治理技术。许多国家对生物脱氮技术进行了广泛而深入的研究, 并取得了丰硕的成果。硝化是多种新型生物脱氮技术的基础, 研究并掌握硝化过程的性能, 对新型生物脱氮技术的开发和应用具有重要的现实意义。

硝化即亚硝酸菌将氨氧化成亚硝酸, 再由亚硝酸盐氧化菌将亚硝酸氧化为硝酸的过程, 涉及氨、羟

胺、亚硝酸和硝酸等多种基质和产物。在自然界, 氨浓度通常不高, 生物转化中产生的羟胺和亚硝酸浓度也不高, 基质和产物的毒害作用不明显。在硝化装置中, 基质氨浓度较高, 工艺过程中会积累中间产物羟胺和亚硝酸以及最终产物硝酸。由于硝化过程中, 氨、羟胺、亚硝酸、硝酸对硝化细菌影响的直接测定较为困难, 因此有关氨、羟胺、亚硝酸和硝酸对硝化工艺性能的影响, 迄今鲜见系统的研究报道。基于在正常生活状态下, 明亮发光杆菌体内的荧光素, 经荧光酶作用会产生荧光, 当受到外界因素影响(如化合物的毒性作用)时, 发光减弱, 并呈线性相关的原理^[2], 以及发光强度检测较为简便的状况, 测定了氨、羟胺、亚硝酸和硝酸对发光细菌的急性毒性作用, 以其发光强度变化表征毒性浓度范围, 并通过毒性浓度范围与硝化细菌所受影响的分析, 为硝化过

基金项目: 国家自然科学基金项目(30770039); 国家高技术研究发展计划(2006AA06Z332)

* 通信作者。Tel: +86-571-86971709; E-mail: pzhen@zju.edu.cn

作者简介: 陈婷婷(1986-), 女, 四川广安人, 硕士研究生, 研究方向为环境微生物与废物生物处理。E-mail: chentingting.1986@163.com

收稿日期: 2009-01-21; **修回日期:** 2009-03-31

程的调控与优化提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种: 明亮发光杆菌 (*Photobacterium phosphoreum*) T₃ 变种, 购自中国科学院南京土壤研究所。培养液及培养基配方参照吴淑杭的博士论文^[3], 菌液制备方法如下: 将装有冻干粉的安培瓶置于 4℃ 冰箱内约 10~15 min, 把冻干粉溶解于经灭菌的 0.5 mL 3% NaCl 溶液中, 再迅速转入 50 mL 培养液中, 在 20℃ 恒温培养, 每 24 h 转接一次斜面, 将培养好的第三代斜面置于 4℃ 冰箱中, 作为菌种备用; 菌种接入培养基平板上, 在 20℃ 恒温培养 16~22 h 后, 加入 5 mL 3% NaCl 至发光细菌平板中, 适当振荡将菌体冲下, 用漩涡振荡器将菌液混匀, 浓度调节至合适范围, 作为试验菌剂备用。

1.1.2 试剂: 试验中使用的药品均为分析纯。NaCl, 天津市科密欧化学试剂有限公司; NaOH, 浙江杭州高晶精细化工有限公司; HCl, 中国杭州化学试剂有限公司; NH₄Cl, 衢州巨化试剂有限公司; NH₂OH, 上海试剂四厂; NaNO₂、NaNO₃, 上海振欣试剂厂。

1.1.3 仪器: DXY-2 型生物毒性(污染)测试仪, 中国科学院南京土壤所; YXQ-SG41-280 型手提式压力蒸汽灭菌锅, 上海华线医用核子仪器有限公司; ZHWY-Z102C 型恒温摇床培养箱, 上海智城仪器制造厂; PHS-9V 型 pH 计, 杭州华光无线电厂; 85-2 型磁力搅拌器, 杭州仪表电机厂; 微量注射器(10 μL), 上海光正医疗仪器有限公司。

1.2 单一毒物的毒性测定

控制室温在 20~25℃, 用 3% NaCl 分别将 NH₄⁺、NH₂OH、NO₂⁻、NO₃⁻ 配成 6 个浓度梯度(pH 值用 3% NaCl 配制的 0.1 mol/L 的 NaOH、HCl 调节至 7.0±0.2), 混合均匀后取 2 mL 加入平底玻璃管, 每个浓度做 3 次重复, 以 2 mL 3% NaCl 做为空白对照, 取 10 μL 试验菌剂于各玻璃管中, 振荡混匀, 15 min 后用生物毒性测试仪测定发光强度。通过空白对照发光度(相对发光单位 RLU 表示)的平均值 RLU₀ 和各浓度 3 组平行样发光度的平均值 RLU, 计算发光细菌的相对发光度 X(%), 即:

$$X(\%) = \left(\frac{RLU}{RLU_0} \right) \quad (1)$$

用直线内插法求出相对发光强度为 50% 时对应的化合物浓度, 即为该种化合物对发光细菌的

半数发光抑制浓度 IC₅₀。

1.3 多种毒物的联合毒性测定

根据单独试验所测得的 4 种硝化基质和产物的 IC₅₀, 采用等效浓度混合法进行联合毒性试验, 配置 6 组二元混合物, 即: A(氨+羟胺)、B(氨+亚硝酸)、C(氨+硝酸)、D(羟胺+亚硝酸)、E(羟胺+硝酸)、F(亚硝酸+硝酸); 一组 4 元混合物, 即: G(氨+羟胺+亚硝酸+硝酸)。测定方法同 1.2。

1.4 数据处理及分析方法

(1) 相对发光度 = 平均样品发光强度(mV)/空白发光强度(mV); (2) 利用 Originlab 7.5 和 SPSS 16.0 进行数据统计分析。

2 结果和分析

2.1 单一毒物的毒性效应

由硝化基质和产物中的单一物质对明亮发光杆菌的急性毒性试验数据绘制出图 1。对图 1 中的数据进行线性回归分析, 所得的线性回归方程见表 1。由表 1 可知, 发光细菌的发光强度与基质和产物浓度有很好的相关性, 相关系数为 0.9446~0.9847。采用线性回归方程, 求得氨、羟胺、亚硝酸、硝酸的 IC₅₀ 值分别为: 2180.2 mg/L、6.2740 mg/L、1207.2 mg/L、3140.3 mg/L, 即 4 种基质和产物的相对毒性大小为: 羟胺(6.2740) > 亚硝酸(1207.2) > 氨(2180.2) > 硝酸(3140.3)。

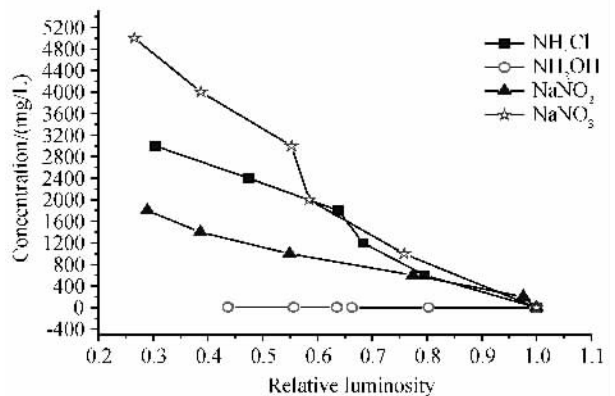


图 1 硝化基质和产物对明亮发光杆菌的剂量效应关系

Fig. 1 Dose response relationships of nitrification substrates and products to photobacterium.

2.2 4 种毒物的联合毒性

硝化基质和产物的多元混合物对明亮发光杆菌的联合毒性试验结果见表 2, 由表 2 中数据绘制出图 2、3。对图 2、3 中的数据进行线性回归分析, 所得的线性回归方程见表 3。由表 3 可知, 发光细菌

的相对发光度与混合物浓度有较好的相关性, 相关系数为 0.9280 ~ 0.9996。

表 1 单一硝化基质或产物的急性毒性

Table 1 The acute toxicity of single nitrification substrate or product

Nitrification substrates and products	Linear regression equation	Correlation coefficient(R)	IC ₅₀ /(mg/L)	IC ₅₀ value of 95% fiducial limit/(mg/L)
Ammonium	$y = -4558.2x + 4459.3$	0.9742	2180.2	1962.8 ~ 2688.2
Hydroxylamine	$y = -13.838x + 13.193$	0.9446	6.2740	5.1329 ~ 6.6918
Nitrite	$y = -2299.7x + 2357$	0.9847	1207.2	812.91 ~ 1372.6
Nitrate	$y = -6999.6x + 6640.1$	0.9631	3140.3	2993.9 ~ 3214.3

表 2 多元混合物对明亮发光杆菌的联合毒性

Table 2 Combined toxicity of multicomponent mixtures to photobacterium

Nitrification substrates and products	A (NH ₄ Cl + NH ₂ OH)	B (NH ₄ Cl + NaNO ₂)	C (NH ₄ Cl + NaNO ₃)	D (NH ₂ OH + NaNO ₂)	E (NH ₂ OH + NaNO ₃)	F (NaNO ₂ + NaNO ₃)	G (NH ₄ Cl + NH ₂ OH + NaNO ₂ + NaNO ₃)
Equivalent mixed concentration/(mg/L)	1090.1 + 3.1370	1090.1 + 603.6	1090.1 + 1570.2	3.1370 + 603.6	3.1370 + 1570.2	603.6 + 1570.2	545.05 + 1.5685 + 301.80 + 785.08
Equivalent mixing ratio	347.50:1	1.8061:1	1:1.4404	1:192.41	1:500.53	1:2.6014	347.50:1:192.41:500.53
Theoretical IC ₅₀ /(mg/L)	1093.2	1693.7	2660.3	606.74	1573.3	2173.8	1633.5
Practical IC ₅₀ /(mg/L)	1184.1	1595.8	4332.7	517.45	2074.5	3485.7	1433.1
The contribution of each component to IC ₅₀ /(mg/L)	1180.7 + 3.4000	1027.1 + 568.7	1775.4 + 2557.3	2.6800 + 514.77	4.1000 + 2070.4	967.87 + 2517.83	478.19 + 1.3761 + 264.78 + 688.77

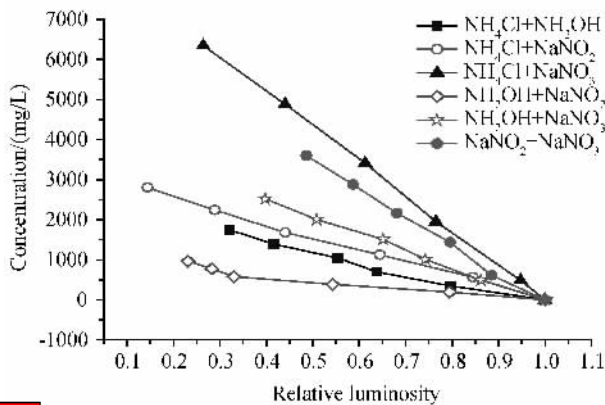


图 2 硝化基质和产物二元混合物的联合毒性

Fig.2 Combined toxicity of binary mixture of nitrification substrates and products.

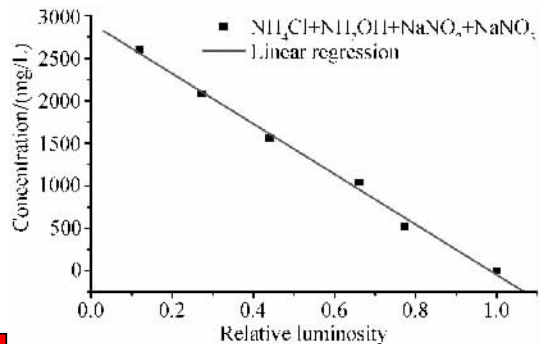


图 3 硝化基质和产物四元混合物的联合毒性

Fig.3 Combined toxicity of quaternary mixture of nitrification substrates and products.

表 3 多元混合物联合毒性

Table 3 Combined toxicity of multicomponent mixtures

Multicomponent mixtures	Linear regression equation	Correlation coefficient(R)	IC ₅₀ /(mg/L)
A (NH ₄ Cl + NH ₂ OH)	$y = -2586.4x + 2477.3$	0.9799	1184.1
B(NH ₄ Cl + NaNO ₂)	$y = -3182.8x + 3187.2$	0.9962	1595.8
C(NH ₄ Cl + NaNO ₃)	$y = -8660.1x + 8662.7$	0.9996	4332.7
D(NH ₂ OH + NaNO ₂)	$y = -1122.9x + 1078.9$	0.9280	517.45
E(NH ₂ OH + NaNO ₃)	$y = -4226.0x + 4187.5$	0.9972	2074.5
F(NaNO ₂ + NaNO ₃)	$y = -7122.7x + 7047.0$	0.9970	3485.7
G(NH ₄ Cl + NH ₂ OH + NaNO ₂ + NaNO ₃)	$y = -2958.8x + 2912.5$	0.9948	1433.1

对二元混合体系, 可采用等效图法判定混合体系的联合作用, 其原理如图 4 所示^[4]。

根据表 1、2 中的数据, 由图 4 的原理可绘制出

图 5

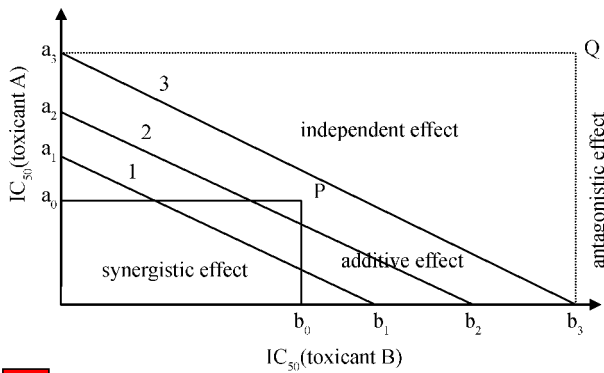


图4 联合毒性等效图^[4]

Fig.4 Equivalent effect of combined toxicity. Where a_2 is IC_{50} value of toxicant A, (a_1, a_3) is IC_{50} value of 95% fiducial limit of toxicant A, b_2 is IC_{50} value of toxicant B, (b_1, b_3) is IC_{50} value of 95% fiducial limit of toxicant B, a_0 is the contribution of toxicant A to IC_{50} value of the mixture, b_0 is the contribution of toxicant B to IC_{50} value of the mixture.

由图5中PA、PB、PC、PD、PE、PF 6个点所处的位置分析可知,氨与羟胺(A)、氨与亚硝酸(B)、羟胺与亚硝酸(D)的联合毒性为相加作用;氨与硝酸(C)、羟胺与硝酸(E)、亚硝酸与硝酸(F)的联合毒性为独立作用。

由于等效图法只能用于分析二元混合体系,对四元混合体系,由于成分较多,可采取计算法分

析^[4]。本实验对多元混合物采取等效混合,即按照单一毒物的 IC_{50} 之比混合,故有:

$$\chi_a = \frac{IC_{50(a)}}{IC_{50(a)} + IC_{50(b)} + \dots + IC_{50(n)}} \quad (2)$$

$$\frac{1}{IC_{50(E)}} = \sum \frac{\chi_i}{IC_{50(i)}} \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (3)$$

式中: χ_i —毒物 a、b、...、n 在混合物中所占的质量浓度比, $\sum \chi_i = 1$; $IC_{50(i)}$ —毒物 a、b、...、n 在单一体系中的 IC_{50} ; $IC_{50(E)}$ —多元混合物预期的 IC_{50} 。

根据表1中单一毒物的 IC_{50} 和式3,可计算出多元混合物的 $IC_{50(E)}$,再按下式计算 R 值。

$$R = \frac{IC_{50(E)}}{IC_{50}} \quad (4)$$

式中, IC_{50} 为实测混合物对发光细菌的半数发光抑制浓度。

根据 R 值,可以判定混合体系的联合作用类型:1)若 $R < 0.4$,则判为拮抗作用;2)若 $R > 2.5$,则判为协同作用;3)若 $0.4 < R < 2.5$,则判为相加作用。

由计算可知,四元混合物理论 $IC_{50(E)}$ 为 1633.5 mg/L,实测 IC_{50} 为 1433.1 mg/L, R 值为 1.1398,其联合作用类型为相加作用。

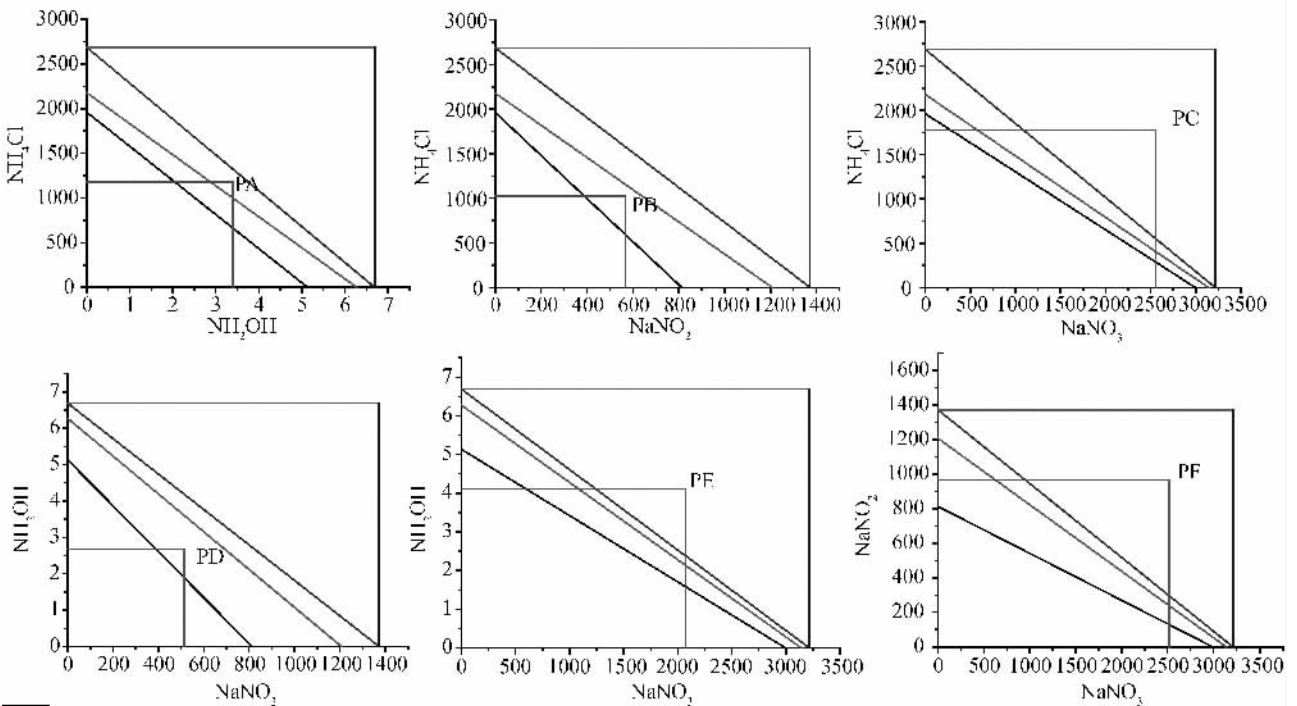


图5 硝化基质和产物二元混合物联合毒性等效图

Fig.5 Equivalent effect of combined toxicity of binary mixture of nitrification substrates and products.

3 讨论

3.1 基质和产物的单一毒性

氨和羟胺是亚硝酸细菌的基质;亚硝酸是亚硝酸细菌的产物,同时也是硝酸细菌的基质;硝酸则是硝酸细菌的产物。超过一定浓度后,这些基质和产物都可成为抑制剂,抑制硝化细菌生长^[4]。

氨可以呈分子态或离子态,氨毒主要由分子态氨(FA)所致^[4]。据文献报道,FA对硝酸细菌和亚硝酸细菌的抑制浓度分别为0.1~1.0 mg/L和10~150 mg/L^[5];Anthonisen等人发现^[6],FA对*Nitrobacter*菌株的抑制浓度为0.1214~1.1973 mg/L,对*Nitrosomonas*菌株的抑制浓度为12.07~182.07 mg/L。FA的分配率可由式5计算:

$$\text{分配率} = \frac{100\%}{1 + [H^+]/K_a} \quad (5)$$

25℃时,氨电离常数 K_a 为 5.6×10^{-10} 。根据式5,pH=7.0时,由氨的 IC_{50} 值2180.2 mg/L,可计算得FA对发光细菌的 IC_{50} 值为12.141 mg/L。在一些高氨氮废水中,如垃圾渗滤液的氨氮浓度可达2000~3000 mg/L,已分别超过氨对发光细菌和硝化细菌的 IC_{50} 值。由发光细菌与亚硝酸细菌的抑制浓度可知,氨对这两类细菌的毒性效应相当,因此,以发光细菌的 IC_{50} 值来指示氨对亚硝酸细菌的抑制状况具有较高的准确性。

羟胺是氨氧化的抑制剂^[7-8]。据Yang等^[8]报道,羟胺可抑制同步硝化-反硝化系统的脱氮作用。Willie等^[9]研究证实,羟胺浓度达到20 mg/L时,对氨氧化菌和亚硝酸氧化菌有较强的抑制作用。羟胺对发光细菌的 IC_{50} 值为6.2740 mg/L。Schmidt等^[10]研究发现,*Nitrosomonas europaea*细胞内的羟胺积累量最高可达33 mg/L,已远远超过羟胺对发光细菌和硝化细菌抑制浓度。而且,发光细菌对羟胺毒性作用的敏感性高于硝化细菌,因此,可用羟胺对发光细菌的 IC_{50} 值来反映其对硝化细菌的抑制状况,且指示性较好。

游离亚硝酸(FNA)是硝酸细菌的真正基质,也是亚硝酸细菌和硝酸细菌的真正抑制剂^[11]。Anthonisen等^[6]发现,FNA浓度为0.7384~8.7284 mg/L时,*Nitrosomonas*和*Nitrobacter*菌株的硝化活性均受抑制。

FNA占总亚硝态氮浓度的比例可由式6计算:

$$\frac{C_{FNA}}{C_{T,NO_2}} = \frac{1}{1 + K_a \times 10^{pH}} \quad (6)$$

25℃时,亚硝酸的电离常数 K_a 为 7.1×10^{-4} 。pH=7.0时,亚硝酸的 IC_{50} 值1207.2 mg/L,由式6可以算得FNA对发光细菌的 IC_{50} 值为0.1700 mg/L。马军等^[12]研究发现,当进水氨氮浓度为34.3~44.38 mg/L时,曝气生物滤池中的亚硝氮可积累到25 mg/L左右。在短程硝化工艺中,要求积累亚硝酸盐,其浓度往往高达数百 mg/L。若反应液pH得不到有效控制,硝化细菌便会受到抑制,并且发光细菌对亚硝酸毒性作用的敏感性高于硝化细菌,因此,可用发光细菌的 IC_{50} 值来反映其对硝化细菌的抑制状况,且指示性较好。

硝酸的毒性较低^[13-14],对发光细菌的 IC_{50} 值为3140.3 mg/L。Romano等^[15]研究了硝酸盐对*Scylla serrate*和*Portunus pelagicus*的影响,测得96h- IC_{50} 值为3601 mg/L和3355 mg/L,与本试验结果处于同一水平。目前有关硝酸盐对硝化细菌的毒性作用,文献报道尚不多见。

3.2 基质和产物联合毒性

3.2.1 二元混合物的联合毒性:

从毒理学上看,当毒物结构相似、性质相近、靶器官相同或作用机理类似时,其生物学效应往往呈相加作用;各种毒物毒害微生物的途径、方式以及作用部位各不相同,所产生的生物学效应也彼此无关,即独立作用^[4]。

由联合毒性试验结果可知,氨与羟胺(A)、氨与亚硝酸(B)、羟胺与亚硝酸(D)的联合毒性呈相加作用;氨与硝酸(C)、羟胺与硝酸(E)、亚硝酸与硝酸(F)的联合毒性呈独立作用。

郑平等^[16]研究发现,羟胺的积累与氨浓度呈正相关,在以羟胺为基质,而不加任何电子受体的培养液中,羟胺可被硝化细菌转化为氨,并积累于培养液中,同时还有少量的亚硝酸盐和联氨生成。从物质相互转化的角度看,氨与羟胺生物学效应可呈相加作用。

氨的毒害机理之一是作为解偶联剂,透过细胞膜后引起跨膜质子梯度瓦解^[17],亚硝酸的毒害机理之一也是作为解偶联剂,引起跨膜质子梯度瓦解。两者作用机理类似,因此,生物学效应也呈相加作用。

羟胺具有较强的还原力,在羟胺-亚硝酸还原酶的作用下,羟胺可与亚硝酸反应形成 N_2O ,即: $NH_2OH + HNO_2 \rightarrow N_2O + 2H_2O$ ^[18]。在硝化-反硝化系统中, N_2O 、NO、 NO_2 之间可以相互转化,NO、 NO_2 可对细菌产生强烈的抑制作用^[1],因此从毒物之间的

相互反应看,羟胺与亚硝酸两者之间的生物学效应可呈相加作用。

硝酸是硝化作用的最终产物,相对于其他几种物质,毒性较低^[12-13]。由于硝酸在混合物中对毒性作用的贡献较小,因此硝酸与其他物质的生物学效应呈独立作用。此外,羟胺代谢发生于细胞外周质中^[1],与硝酸代谢的部位不同,因此它与硝酸的生物学效应呈现独立作用。

3.2.2 四元混合物的联合毒性:由计算可知,四元混合物的联合毒性呈相加作用。在四元混合物中,硝酸对混合物毒性的贡献较小,联合毒性效应主要由氨、羟胺、亚硝酸 3 种物质产生,因此生物学效应呈相加作用。

4 结论

1)氨、羟胺、亚硝酸、硝酸对发光细菌均有毒性,其 IC_{50} 值分别为: 2180.2 mg/L、6.2740 mg/L、1207.2 mg/L、3140.3 mg/L,即 4 种硝化基质和产物的相对毒性大小顺序为:羟胺 > 亚硝酸 > 氨 > 硝酸。

2)氨、羟胺、亚硝酸、硝酸共存时,具有联合毒性。氨与羟胺、氨与亚硝酸、羟胺与亚硝酸的联合毒性呈相加作用;氨与硝酸、羟胺与硝酸、亚硝酸与硝酸的联合毒性呈独立作用;四元混合物的联合毒性呈相加作用。

3)硝化基质和产物对发光细菌具有抑制作用,对硝化细菌也有抑制作用,根据两者之间抑制浓度的相关性,可用发光细菌发光强度的变化指示硝化基质和产物的抑制作用。

参考文献

[1] 郑平,徐向阳,胡宝兰. 新型生物脱氮理论和技术. 北京: 科学出版社, 2004.

[2] 中国科学院南京土壤研究所. 生物毒性测试仪简介, 1991.

[3] 吴淑杭. 发光细菌法快速检测农产品中主要污染物联合毒性技术研究. 上海: 上海交通大学, 2007: 5 - 20.

[4] 郑平,冯孝善. 废物生物处理. 北京: 高等教育出版社, 2006.

[5] 王鹏,林华东. 短程硝化反硝化影响因素分析. 工业用水与废水(*Industrial Water and Wastewater*), 2007, 28 (2): 12 - 15.

[6] Anthonisen AC, Loehr RC, Parkasam TBS. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of Water Pollution Control Federation*, 1976, 48(5): 835 - 852.

[7] Blackburne R, Carvalho G, Yuan ZG, et al. Selective production of nitrite using hydroxylamine as inhibitor of nitrite oxidation. *Kuala Lumpur Malaysia, International Water Association*, 2003: 186 - 193.

[8] Yang L, Alleman JE. Investigation of batch - wise nitrite build - up by an enriched nitrification culture. *Water Science and Technology*, 1992, 26: 997 - 1005.

[9] Willie F, Harper Jr, Akihiko T. The effect of hydroxylamine on the activity and aggregate structure of autotrophic nitrifying bioreactor culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102: 714 - 724.

[10] Schmidt I, Look C, Bock E, et al. Ammonium and hydroxylamine uptake and accumulation in *Nitrosomonas*. *Microbiology*, 2004, 150: 1405 - 1412.

[11] Seung-Yeon Weon, Chan-Won Lee, Sang-Il Lee, et al. Nitrite inhibition of aerobic growth of *Acinetobacter* sp. *Water Research*, 2002, 36(18): 4471 - 4476.

[12] 马军,邱立平. 曝气生物滤池中的亚硝酸盐积累及其影响因子. 环境科学(*Environmental Science*), 2003, 24 (1): 84 - 90.

[13] Meade ME, Watts SA. Toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to juvenile Australia Crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *The Journal of Shellfish Research*, 1995, 14: 341 - 346.

[14] Romano N, Zeng C. Acute toxicity of sodium nitrate potassium nitrate and their effects on haemolymph composition and gill structure of early juvenile blue swimmer crabs, *Portunus pelagicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2007, 26: 1955 - 1962.

[15] Romano N, Zeng CS. Effect of potassium on nitrate mediated alterations of osmoregulation in marine crabs. *Aquatic Toxicology*, 2007, 85: 202 - 208.

[16] 郑平,冯孝善,Jetten MSM, et al. 厌氧氨氧化菌基质转化特性的研究. 浙江农业大学学报(*Journal of Zhejiang Agricultural University*), 1997, 23(4): 409 - 413.

[17] Kumar S, Nicholas DJD. Proton electrochemical gradients in washed cells of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter agilis*. *Journal of Bacteriology*, 1983, 154(1): 65 - 71.

[18] Garber EAE. ¹⁵N, ¹⁸O tracer studies on the activation of nitrite by denitrifying bacteria. *The Journal of Biological Chemistry*, 1982, 257: 8091 - 8097.

Toxicity of nitrification substrates and products to photobacterium

Tingting Chen, Ping Zheng*

(Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: [Objective] In this study, we studied the toxic effect of nitrification substrates and products on photobacterium. [Methods] The acute toxicities of nitrification substrates and products to photobacterium were studied with the 15-min half inhibitory concentration (IC_{50}) as indicator at pH = 7.0. [Results] The results of individual toxicity indicated that the toxicity of nitrification substrates and products to photobacterium increased with increasing concentration and there was a linear correlation. The IC_{50} values of ammonium, hydroxylamine, nitrite and nitrate were 2180.2 mg/L, 6.2740 mg/L, 1207.2 mg/L and 3140.3 mg/L, respectively, and their toxic order was hydroxylamine > nitrite > ammonium > nitrate. The combined effects of substrates and products were assayed by equivalent concentration mixing method. The results showed that the combined effects of ammonium and hydroxylamine, ammonium and nitrite, hydroxylamine and nitrite were additive effects, whereas the combined effects of ammonium and nitrate, hydroxylamine and nitrate, nitrite and nitrate were independent effects. The combined effect of all nitrification substrates and productions was also additive effect. [Conclusion] According to the correlation of the inhibiting concentration to photobacterium and nitrifying bacterium by nitrification substrates and products, the change of luminous intensity of photobacterium can indicate the inhibition from nitrification substrates and products.

Keywords: nitrification substrates; products; photobacterium; acute toxicity

(本文责编: 张晓丽, 谷志静)

Supported by the National Natural Science Foundation Project (30770039) and the National High-tech Development Program (2006AA06Z332)

* Corresponding author. Tel: +86-571-86971709; E-mail: pzheng@zju.edu.cn.

Received: 21 January, 2009/Revised: 31 March 2009

《微生物学报》答作者问——关于审稿

问: 我想知道我的稿件的处理状态, 如何查询?

答: 您可以登录网上查稿区, 输入您的用户名、密码, 即可查询到审稿状态; 如果不是太明白远程中获取的信息, 您也可以通过 e-mail 询问, 请注意务必要提示稿件编号, 编辑部会在收到您的来信的当天或者次日及时给予回复。

问: 我想尽早得到审稿结果, 或者提前发表, 有没有好的办法能使审稿老师快点。比如我们增加审稿费等方法?

答: 如上述所言, 我们已经告知了本刊处理稿件的程序和大致时间进度。

- (1) 在作者向我刊投稿之前, 应详细了解我刊的规定。审稿人评审一篇文章, 并给出谨慎的评审意见是需要一定时间的。所以, 作者在投稿之前应该留出足够多的时间给编辑部, 以便于进行评审。我们的承诺是在 2 个月之内给予答复, 5~7 个月之内刊出。
- (2) 如要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊编委会讨论并通过后, 可予提前刊出, 无需另加任何费用。

问: 我的文章现已审查完毕, 并收到了编辑部发来的“审稿意见”。我想咨询, 如果文章修改后, 再次投递, 是否还需要交稿件受理费? 是否仍然用原论文编号提交?

答: 这要分两种情况,

- (1) 如果你的文章已经被通知“退稿”了, 那么修改之后再投来的文章将按“新稿件”处理, 从程序上来讲和新投稿件是一样的, 仍需要缴纳稿件受理费。但是为便于稿件审理, 请作者在投稿时在文题的后面加上“原稿件号+修后再投”字样。
- (2) 如果是编辑部在审稿意见中要求您修改后再经本刊“复审”, 则不作为新稿处理, 请作者直接将修改稿上传到远程系统中, 不再另交稿件受理费。