

异养硝化-好氧反硝化菌株 DN1.2 的脱氮特性研究^①

黄 钧^② 杨 航 牟丽婷 李毅军

(中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

摘 要 对一株具有异养硝化-好氧反硝化能力的恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida* DN1.2 进行了研究,初步探讨了不同碳源种类、碳氮比、pH 值、温度、氨氮质量浓度对 DN1.2 菌株脱氮作用的影响。结果表明,该菌在异养硝化过程中能同时去除化学需氧量(COD)和氨氮,并且不积累硝酸盐和亚硝酸盐。碳氮比是影响其脱氮效果的重要因素。不同碳源种类下菌株的脱氮能力按大小排序为:乙酸盐>葡萄糖>柠檬酸盐>甘油。脱除氨氮和 COD 的最适初始 pH 为 7.0~7.5,最适温度为 30~34℃。在菌株 DN1.2 转化的氨氮中有超过 50% 的部分被完全从水体中去除,细胞对氨氮的同化率为 38.5%。

关键词 异养硝化,好氧反硝化,恶臭假单胞菌 DN1.2

0 引 言

传统生物脱氮理论认为,自养硝化在自然界的硝化过程中占主导地位,异养硝化现象虽然早在 19 世纪末 20 世纪初就被发现,但由于在复杂的环境中其作用不甚明显,因此一直少于研究。近 20 多年来不断有关于异养硝化现象的报道出现。报道的异养硝化菌又大都具有好氧反硝化功能^[1],单株菌可以同时完成化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)的去除和将氨氮转变为氮气或氮氧化物从水体中完全去除,这为实现在同一反应器内同时硝化反硝化奠定了基础。因此异养硝化菌正逐渐成为研究热点。目前已被分离出来的异养硝化菌主要有: *Paracoccus pantotropha* (*Thiosphaera pantotropha*), *Alcaligenes faecalis*, *Arthrobacter* sp, *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus* sp, *Pseudomonas alcaligenes*, *Bacillus*, *Ancinetobacter* 等^[2-8],其分离源的多样性证明了异养硝化现象在自然界中是广泛存在的,异养硝化的能力也并不只存在于特定种属的细菌中。尽管这些异养硝化菌都具有同步去除有机碳源和氨氮的能力,但它们在硝化产物、反硝化能力等方面仍然具有各自的特点,这表明异养硝化的途径也存在着多样性的可能,从废水脱氮反应器中分离到的一株异养硝化-好氧反硝化菌——*Pseudomonas putida*

DN1.2^[9](以下简称 DN1.2),说明了这一点。该菌株同时具有自养硝化和异养硝化的能力,在两种硝化过程中都不积累硝酸盐和亚硝酸盐。该菌株还具有好氧反硝化能力,对硝酸氮和亚硝酸氮都能利用。在文献[9]研究的基础上,本文对该菌株的脱氮特性进行了一系列更深入的研究,取得了更进一步的结果。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

本实验室保藏菌株 DN1.2,分离自废水脱氮处理反应器,经鉴定为恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)。

1.2 培养基(g/L)

KH₂PO₄ 0.7, MgSO₄·7H₂O 0.5, CaCl₂·2H₂O 0.5, (NH₄)₂SO₄(随试验内容而变),葡萄糖(随试验内容而变),5M NaOH 溶液调 pH 7.2~7.4, 121℃ 灭菌 20min。

1.3 检测方法

NH₄⁺-N:采用水杨酸-次氯酸盐分光光度法。

NO₂⁻-N:采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法。

NO₃⁻-N:采用麝香草酚分光光度法。

TN:采用碱性过硫酸钾法消解紫外分光光度法。

① 863 计划(2006AA06Z330)资助项目。

② 女,1968 年生,研究员;研究方向:环境生物学;通讯作者,E-mail: huangjun@cib.ac.cn
(收稿日期:2007-12-25)

COD_{Cr}:采用重铬酸钾消解分光光度法。

NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、TN、COD_{Cr}等的测定采用德国 WTW 多功能水质分析仪(The Spectroquant Analysis System PhotoLab S12),工作电压 12V。消煮使用 WTW 公司产 CR 2200 加热器。测定所用试剂为默克(Merck)公司配套试剂。

1.4 试验方法

试验均采用 250ml 三角瓶,装液 50ml,170rpm 或 200rpm 条件下运行。样品经 eppendorf Centrifuge 5804R 离心机 4000rpm,8min 离心后测定。

1.4.1 DN1.2 在不同初始 COD 浓度下对氨氮和 COD 的去除试验

以葡萄糖为碳源,分别配制 COD 为 500 mg/L, 1000mg/L,2000mg/L,氨氮均为 100mg/L 的培养基。接种量 6% (v/v), 对照组加等体积无菌水。在 30℃,170rpm 条件下培养,定时取样测定 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 和 COD 浓度。

1.4.2 DN1.2 去除氨氮最适碳源浓度试验

以葡萄糖为碳源,起始氨氮浓度 80mg/L 左右,葡萄糖浓度 1‰,2‰,3‰,4‰,对应的 COD 分别为 1000mg/L、2000mg/L、3000mg/L、4000mg/L,培养基其它成分相同。接种量均为 2% (v/v), 30℃,200rpm 振荡培养 24h 后测定 COD 和氨氮。

1.4.3 DN1.2 去除氨氮最适碳源种类试验

分别以葡萄糖、蔗糖、乙酸钠、柠檬酸钠、甘油、碳酸钠为唯一碳源,按照 C/N(碳氮质量比)为 4:1 分别配制 5 种不同碳源的培养基(起始氨氮浓度均为 100mg/L 左右),其他条件同 1.4.2。

1.4.4 DN1.2 去除氨氮最适 pH 试验

以葡萄糖为碳源,配制起始 COD 均为 1000mg/L 的不同 pH 值的培养基,调节 pH 分别为 6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5,其他条件同 1.4.2。

1.4.5 DN1.2 去除氨氮最适温度试验

实验设计同 1.4.4,培养温度分别为 20℃、25℃、30℃、34℃、37℃。

1.4.6 DN1.2 对氨氮浓度的耐受性试验

以葡萄糖为碳源,配制起始 COD 均为 2000mg/L,初始氨氮浓度分别为 50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000mg/L 的培养基,其他条件同 1.4.2。

1.4.7 DN1.2 脱氮过程中的氮平衡试验

以葡萄糖为碳源,配制 COD 约 2000mg/L,氨氮约 90mg/L 的培养基。接种量 2% (v/v),对照用同体积灭菌水代替,30℃,200rpm 振荡培养,24h 后分

别测定培养液和离心后上清液的 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、TN,对氨氮和总氮的去除率进行分析,计算菌株在此培养过程后细胞同化氮元素的比例和系统反硝化产物的比例。

2 结果与讨论

2.1 DN1.2 在不同初始 COD 浓度下对氨氮和 COD 的去除

试验结果见图 1(a),1(b),1(c)。从图中可以看出,在 COD/N 分别为 5:1、10:1、20:1 的 3 种有机

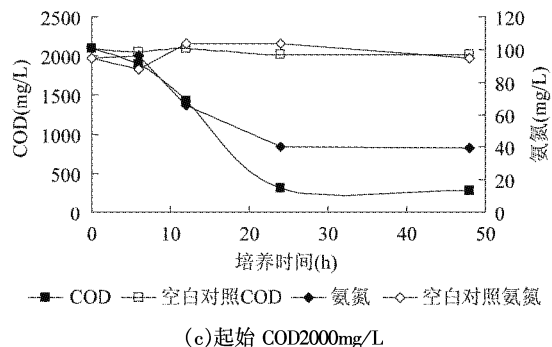
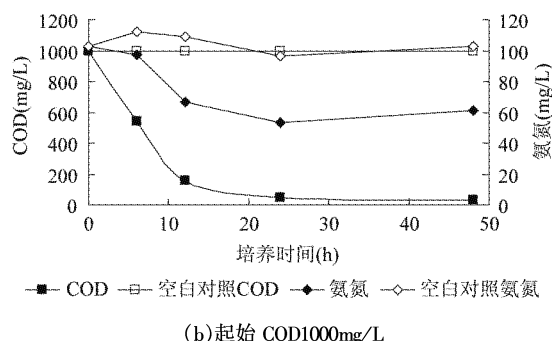
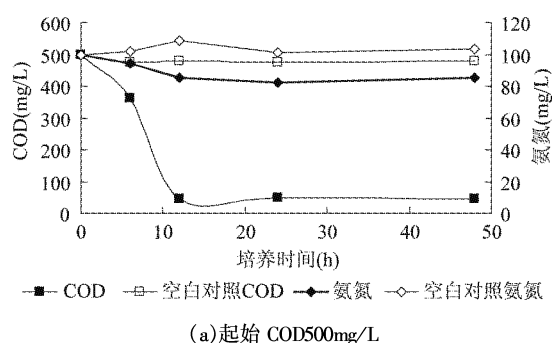


图 1 不同 COD 浓度下 DN1.2 对氨氮和 COD 的去除

碳源脱氮培养基中,COD 都得到了很好的去除,去除率为 85%~97%。整个反应过程中,系统中均未发现 NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 的积累。在初始氨氮浓度基

本一致的情况下,氨氮的去除率与培养基初始 COD 浓度有很高的关联性,初始 COD 500mg/L 时,氨氮的最大去除率不到 20%,初始 COD 1000mg/L 时,氨氮的去除率可达到 48%,而初始 COD 2000mg/L 时,氨氮的去除率达到了 58% 以上。另外从图中还可看出,培养 12h 后初始 COD 500mg/L 和 1000mg/L 的培养体系中的碳源就消耗殆尽,之后氨氮的去除也基本停止;培养 24h 后初始 COD 2000mg/L 的培养体系中也出现类似的情况。相比于林燕^[10]等分离的两株异养硝化菌 *Bacillus* sp. LY 和 *Brevibacillus* sp. LY 经过 24d 培养对葡萄糖碳源(COD 浓度为 400 ~ 600mg/L) 去除率分别为 71.7% 和 52.6%,可见 DN1.2 对有机碳源的利用是较快的,并且对氨氮的去除和对碳源的消耗是相偶联的,碳氮比是影响其脱氮效果的重要因素。

2.2 DN1.2 去除氨氮的最适 C/N

经过更进一步的试验证明 DN1.2 具有同时去除氨氮和有机碳源的能力(见图 2)。摇瓶震荡培养 24h 后,在初始 COD 为 1 000mg/L(C/N = 5)时 DN1.2 对葡萄糖碳源的利用率最高(98%),而在初始 COD 为 3 000mg/L(C/N = 15)左右时对氨氮的去除率最大(86%),在 COD 1 000 ~ 3 000mg/L 时,氨氮去除率随着碳源浓度的增加而增大,而在初始 COD 浓度为 4 000mg/L(C/N = 20)时,菌株对 COD 和氨氮的去除率均有显著的下降。该试验条件下,COD 3 000mg/L 是 DN1.2 去除 COD 和氨氮综合最优的碳源浓度。培养体系中 COD 和氨氮能得到同步的去除,并在一定条件下呈现正相关性,这进一步证明了 DN1.2 的异养硝化性能。DN1.2 并没有像自养硝化菌那样通过固定二氧化碳获得碳源来自养硝化,而是直接利用培养体系中的有机碳源合成生命体和进行异养硝化。陈赵芳等^[8]试验表明 $m(C)/m(N)$ 为 10 时为异养硝化菌株 YY4 的最佳脱氮 C/N,大于或小于该值菌株的脱氮效果都下降。因此进一步说明了 C/N

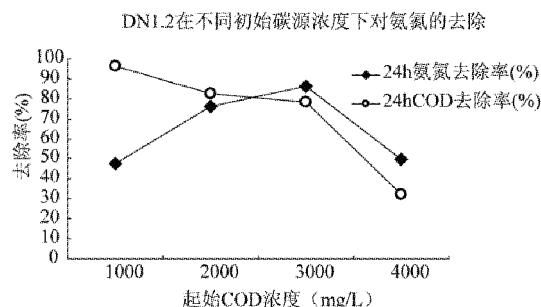


图 2 DN1.2 在不同 C/N 下对氨氮的去除

是影响异养硝化菌脱氮效果的重要因素。

2.3 DN1.2 去除氨氮的最适碳源种类

经过多种碳源的实验发现, DN1.2 可利用多种碳源进行脱氮(图 3)。在乙酸钠为唯一碳源的培养基中有最高的氨氮去除率(54.3%),在葡萄糖、柠檬酸钠为碳源的培养基中稍次之;在碳酸钠为唯一碳源的培养基中的氨氮去除率为 16%,反映了 DN1.2 也具有一定的自养硝化能力;而在蔗糖和甘油为碳源的培养基中对氨氮的去除极少。张光亚^[6]等报道的异养硝化菌利用乙酸钠也有较高亚硝酸产率。

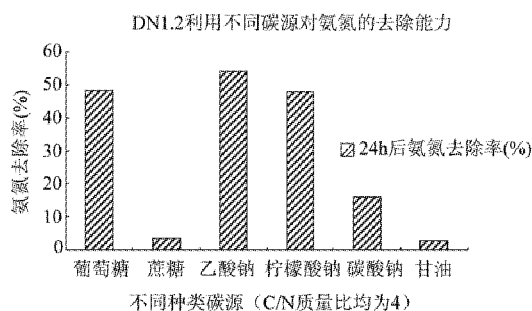


图 3 DN1.2 利用不同碳源对氨氮的去除

2.4 DN1.2 去除氨氮的最适 pH

在不同初始 pH 培养的试验表明, DN1.2 在初始 pH7.0 ~ 7.5 的范围内无论是 COD 的去除率还是氨氮的去除率都是最高的, 分别为 92.0% 和 38.7%;而在初始 pH 低于 6.5 后 DN1.2 对 COD 和氨氮的去除都受到明显抑制;而在初始 pH 为 8.0 乃至增加到 8.5 时,碳源和氨氮的去除率只是缓慢下降(见图 4)。这说明该菌株更适应中性略偏碱的环境。而 *P. pantotrophus* ATCC 35512 的最适 pH 为 8.0^[7],陈赵芳等报道的异养硝化菌最适 pH 为 9.0^[8]。

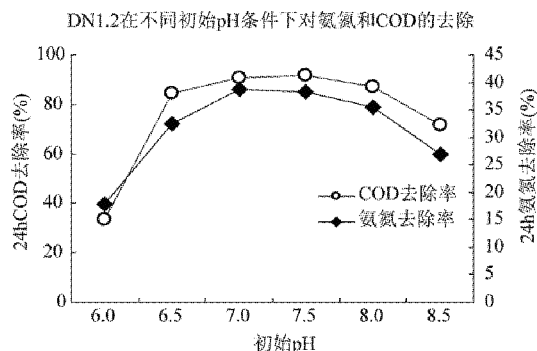


图 4 DN1.2 在不同初始 pH 条件下对氨氮和 COD 的去除

2.5 DN1.2 去除氨氮的最适温度

不同培养温度试验表明, DN1.2 在 30 ~ 34℃ 之间能最大程度地去除 COD 和氨氮(见图 5), COD 去

除率接近 95%, 氨氮去除率接近 48%。随着温度的降低, 菌株去除 COD 和氨氮的能力都快速下降, 当温度下降到 20℃ 时, 对 COD 和氨氮的去除几乎停止。说明此试验条件下低温对于 DN1.2 去除 COD 和氨氮有较大的负面影响。这与陈赵芳等报道的异养硝化菌最适温度一致^[8], 而低于 *P. pantotrophus* ATCC 35512 的最适温度 37℃^[7]。

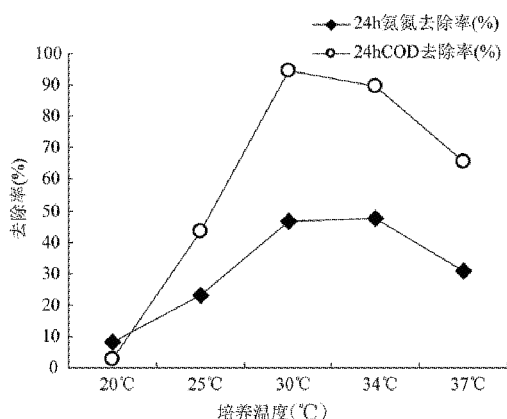


图 5 不同培养温度下 DN1.2 对氨氮及 COD 的去除情况

2.6 DN1.2 对氨氮浓度的耐受性

初始氨氮浓度的梯度试验表明: 在起始 COD 浓度为 2 000mg/L 条件下, 当初始氨氮浓度小于等于 500mg/L 时, DN1.2 对 COD 的去除率都在 90% 以上, 对氨氮的去除量受氨氮初始浓度变化的影响不大, 稳定在 90~110mg/L。当初始氨氮浓度在 600~1 000mg/L 时, COD 的去除率急剧下降到 30% 左右, 氨氮去除量约为 30~50mg/L (见图 6(a)、(b)), 推

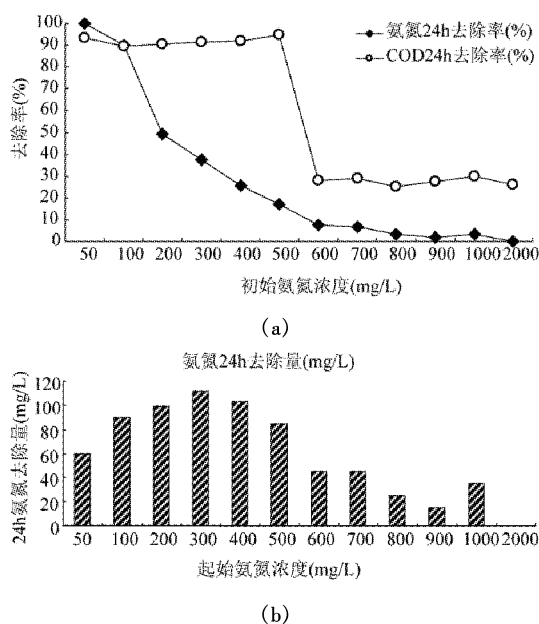


图 6 不同初始氨氮浓度对 DN1.2 去除氨氮的影响

测菌株代谢受到较强烈的抑制, 但还能耐受这样的初始氨氮浓度。在初始氨氮 2000mg/L 的培养基中 24h 后已经检测不到氨氮的去除, DN1.2 对 COD 仍保持约 30% 的去除率。Joo^[11]等研究发现异养硝化-好氧反硝化菌 *Alcaligenes faecalis* No.4 在处理初始氨氮浓度 1000mg/L、C/N 为 4 的养猪废水时, 氨氮去除率约 80%, 而在初始氨氮浓度为 2000mg/L、C/N 为 7~8 时, 氨氮去除率几乎能达到 100%。根据 Joo 等的研究结果推测, DN1.2 有可能在较高的 C/N 条件下能够耐受更高浓度的氨氮。

2.7 DN1.2 脱氮过程的氮平衡

水体中的氨氮在微生物的作用下转化为各种形式的氮, 包括由氨氮的氧化而形成的亚硝酸氮、硝酸氮、羟胺等; 微生物细胞由于自身的生长代谢需要也会同化一部分氮, 主要以有机胺、氨基酸等形式存在于细胞内; 还有一部分氮以氮氧化物或氮气等气态形式逸散到外界气体环境中。从单纯水处理的角度来讲, 对被转化的氨氮来说, 以气态形式逸出的比例越大越好 (由于氮氧化物属温室气体, 因此最好转发为无害的氮气), 因为这样才实现了氮元素从水体中的完全去除; 而亚硝酸氮、硝酸氮、羟胺等都有毒性, 同化的氮进入了生物体并未从水体中去除, 可能带来二次污染, 因此它们所占比例越小越好。

经过 24h 的摇瓶培养, 本试验系统中 89.8% 的氨氮得到了去除, 而系统 (含菌体) 总氮去除率为 52.8% (见表 1)。总氮去除率低于氨氮去除率是因为细菌生长同化了部分氨氮, 这部分被同化的氮只是改变了存在形式 (从氨氮转变为细胞内有机态氮), 其对应的总氮值并没有从系统中去除。从表 1 可以算出: 被去除的氨氮中有 38.5% 被同化为细胞内氮; 有 58.8% 的氮从系统中完全去除, 这部分去除的氨氮即是系统损失的总氮; 另有 2.7% 转化为了水溶液中的其它氮存在形式, 由于未检测到硝酸氮和亚硝酸氮, 推测可能是羟胺。从 24h 后系统氮元素的分布图可看出 (见图 7), DN1.2 从体系中完全去除的氮 (52.8%) 明显多于同化到细胞的氮 (占 34.6%)。而 Joo^[12]等分离到的异养硝化菌 *Alcaligenes faecalis* No.4 和其突变株 L1 在用柠檬酸三钠作碳源的培养基中 (初始碳浓度 10000mg/L, 氨氮 1200mg/L) 分别经过 47h 和 68h 的好氧培养后异化性脱氮率分别为 48% 和 16%, 其中 L1 能 100% 去除氨氮, 但有 82.9% 被细胞同化。与之对比, 菌株 DN1.2 在本实验条件下更多的进行了异化脱氮, 同等条件下可以更好的降低二次污染和废水处理能

耗。

考虑到水处理工程中可用固液分离的方法将微生物与水相分离,因此只考察体系中的水溶液(不含菌体),则其培养前后总氮去除率为 87.4%。林燕^[10]等从膜生物反应器中分离得到两株异养硝化菌 *Bacillus* sp. LY 和 *Brevibacillus* sp. LY,在采用葡萄糖-氯化胺做碳源及氮源(初始 COD 浓度 400 ~ 600mg/L,氨氮 40 ~ 45mg/L)检验其硝化性能时,经

过 24d 的好氧培养,系统中总氮的去除率分别为 69.2%和 35.6%。与之对比,本试验菌株 DN1.2 对有氧条件更适应,同等条件下能明显加快总氮去除速率,且具有更好的总氮去除能力。

水溶液中的氨氮经过两段式的硝化和反硝化后一般转化为氮气从水体中逸出, DN1.2 在脱氮过程中去除的总氮究竟以何种形式逸出水体还有待进一步实验证明。

表 1 DN1.2 脱氮 24h 后氮元素分布

	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N; NO ₂ ⁻ -N	系统 TN(含菌体)	TN(上清液)	TN(菌体)
0 h(mg/L)	89.0	0	89.0	89.0	(菌体 TN 微量,忽略)
24h(mg/L)	9.0	0	42.0	11.2	30.8
去除率(%)	89.8	-	52.8	87.4	-

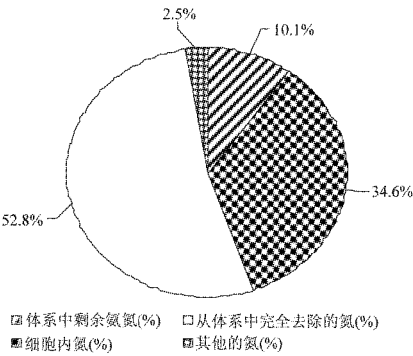


图 7 培养 24h 后体系中氮元素的分布

3 结 论

本文得出如下结论:(1)菌株 DN1.2 在异养硝化过程中能同时去除 COD 和氨氮。(2)C/N 是影响菌株 DN1.2 脱氮效果的重要因素。(3)菌株 DN1.2 对有机碳源的利用能力大小排序为:乙酸盐 > 葡萄糖 > 柠檬酸盐 > 甘油。(4)菌株 DN1.2 脱除氨氮和 COD 的最适初始 pH 为 7.0 ~ 7.5,最适温度为 30 ~ 34℃。(5)菌株 DN1.2 在异养条件下去除的氨氮中有超过 50%的部分完全从水体中去除,细胞对氨氮的同化率为 38.5%。

传统的生物脱氮观点认为氨氮的去除由时间和空间上各自独立的两个单元:硝化和反硝化协同完成,其中硝化的产物硝酸盐和亚硝酸盐是反硝化的反应底物。因此,氨氮要转变为氮气从水体中去除必须经过硝酸盐或亚硝酸盐的中间状态。而随着越来越多异养硝化菌的分离,人们发现它们在氨氮的去除过程中比自养硝化菌积累更少的亚硝酸盐,具有代表意义的菌株是 *P. pantotrophus* ATCC 35512,

被认为具有偶联的异养硝化-好氧反硝化能力^[7],在饱和氧条件下,它去除氨氮的过程几乎不积累亚硝酸盐。为了解释这种特异的现象,Wehrfritz^[13]提出了一个有别于传统自养硝化菌的电子传递途径模型:首先氨转化为羟胺,羟胺再转化为亚硝酸根,再将电子传递给细胞色素 c550(曾称 c551),后者是反硝化酶系的电子供体,通过细胞色素 c550 将电子传递给亚硝酸还原酶、一氧化氮还原酶、一氧化二氮还原酶,使亚硝酸根依次还原为一氧化氮、一氧化二氮、氮气,此模型中的各个酶已陆续被纯化^[14-17],该模型也得到了广泛的认同。本实验中的 DN1.2 具有和 *P. pantotrophus* ATCC 35512 非常相似的性质,很可能也拥有与之类似的功能酶系和电子传递链,其脱氮机理和代谢途径有待进一步研究。

致谢:中国科学院成都生物研究所的马欣荣研究员及研究生苟莎参与了部分研究工作,特此表示感谢。

参考文献

[1] Robertson L A, Cornelisse R, Vos P D, et al. Aerobic denitrification in various heterotrophic nitrifiers. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1989, 56(44): 289-299

[2] Daum M, Zimmer W, Papen H, et al. Physiological and molecular biological characterization of ammonia oxidation of the heterotrophic nitrifier *Pseudomonas putida*. *Current Microbiology*, 1998, 37(44): 281-288

[3] Mevel G, Prieur D. Heterotrophic nitrification by a thermophilic *Bacillus* species as influenced by different culture conditions. *Can J Microbiol*, 2000, 46:465-473

[4] Van Niel E W, Braber K J, Robertson L A, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in *Alcaligenes faecalis* strain TUD. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1992,

- 62(33):231-237
- [5] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No.4. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(2):184-191
- [6] 张光亚, 陈美慈, 韩如旻等. 一株异养硝化细菌的分离及系统发育分析. *微生物学报*, 2003, 43(2):156-161
- [7] Robertson L A, Kuenen J G. *Thiosphaera pantotropha* gen. nov. sp. nov., a facultatively anaerobic, facultatively autotrophic sulphur bacterium. *Journal of general microbiology*, 1983, 129(99): 2847-2855
- [8] 陈赵芳, 尹立红, 浦跃朴等. 一株异养硝化菌的筛选及其脱氮条件. *东南大学学报*, 2007, 37(3):486-490
- [9] 黄钧, 杨航, 李毅军. 一种异养硝化好氧反硝化细菌及其培养方法和用途. 发明专利. 申请号:200710049432.1.
- [10] 林燕, 孔海南, 何义亮等. 异养硝化细菌的分离及其硝化特性实验研究. *环境科学*, 2006, 27(2):324-328
- [11] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Piggery wastewater treatment using *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification. *Water Research*, 2006, 40: 3029-3036
- [12] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Improvement in ammonium removal efficiency in wastewater treatment by mixed culture of *Alcaligenes faecalis* No.4 and L1. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2007, 103(1):66-73
- [13] Wehrfritz J M, Reilly A, Spiro S, et al. Purification of hydroxylamine oxidase from *Thiosphaera pantotropha*. Identification of electron acceptors that couple heterotrophic nitrification to aerobic denitrification. *FEBS Letters*, 1993, 335(2): 246-250
- [14] Moir J W B, Wehrfritz J M, Spiro S, et al. The biochemical characterization of a novel non-haem-iron hydroxylamine oxidase from *Paracoccus denitrificans* GB17. *Biochemical Journal*, 1996, 319(3): 823-827
- [15] Moir J W B, Baratta D, Richardson D J, et al. The purification of a cd₁-type nitrite reductase from, and the absence of a copper-type nitrite reductase from, the aerobic denitrifier *Thiosphaera pantotropha*; the role of pseudoazurin as an electron donor. *European Journal of Biochemistry*, 1993, 212(2): 377-385
- [16] Fujiwara T, Fukumori Y. Cytochrome cb-type nitric oxide reductase with cytochrome c oxidase activity from *Paracoccus denitrificans* ATCC 35512. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(7): 1866-1871
- [17] Berks B C, Baratta D, Richardson D J, et al. Purification and characterization of a nitrous oxide reductase from *Thiosphaera pantotropha*. Implications for the mechanism of aerobic nitrous oxide reduction. *European Journal of Biochemistry*, 1993, 212(2): 467-476

Characteristics of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification strain DN1.2

Huang Jun, Yang Hang, Mu Liping, Li Yijun

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041)

Abstract

The performance of a strain of *Pseudomonas putida* named DN1.2 with the ability to conduct both heterotrophic nitrification and aerobic denitrification was studied. The effects of different carbon sources, C/N, pH, temperature and molar concentration of ammonia on the strain DN1.2 were detected. The results show that the strain DN1.2 has the capability of removing ammonia and COD(chemical oxygen demand) synchronously without accumulation of nitrate or nitrite. C/N is a key factor affecting denitrification. The comparison of the ammonia removal ability of the strain DN1.2 utilizing different carbon sources can be shown as acetate > glucose > citrate > glucerol. The most suitable conditions for the strain DN1.2 to remove ammonia and COD are pH 7.0 ~ 7.5 and 30 ~ 34 °C. There is over 50% of the total removed ammonia that can be wiped off the water system. The ammonia assimilation rate of the cell is about 38.5%.

Key words: heterotrophic nitrification, aerobic denitrification, *Pseudomonas putida* DN1.2