

## **ỨNG DỤNG CHẾ PHẨM VI SINH VẬT CHỊU MẶN ĐỂ XỬ LÝ Ô NHIỄM NỀN ĐÁY TẠI ÂU THUYỀN THỌ QUANG, ĐÀ NẴNG**

*Đến tòa soạn 05/12/2016*

**Đỗ Văn Mạnh, Lê Xuân Thanh Thảo, Huỳnh Đức Long**

*Trung tâm Công nghệ Môi trường tại Đà Nẵng, Viện Công nghệ Môi trường,  
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

**Tăng Thị Chính**

*Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

**Vũ Đình Ngọ**

*Đại học Công nghiệp Việt Trì*

### **SUMMARY**

#### **THE APPLICATION OF SALT-TOLERANT MICROORGANISMS PRODUCT TO TREAT SEDIMENT POLLUTION IN THO QUANG DOCK, DA NANG**

*The digestion efficiency of total organic carbon, nitrogen (TOC and T-N) of organic sludge (OS) by microorganism is examined in this study. OS is filled with volume of 5 L for four chambers, microorganism is added in dosing of 10, 5, 1 and 0 mL corresponding to B1, B2, B3 and B4, respectively. OS is collected from Tho Quang dock (Danang city), entire digested experiment is carried out in the lab scale during 63 days. The TOC and T-N removed efficiency of M1 is 32 and 44%; M2 is 22 and 31%; M3 is 20 and 28%, and M4 is 12 and 14%, respectively, corresponding to initial values of 6575 and 70.5 mg/kg. It is surely conclusion that the big role of microorganism could contribute to reduce contaminant of the water body-bed. The obtained data of this work are high valuable to further studies and promising to improve environmental quality of coastal basin of Vietnam.*

**Keywords:** *microorganism, total organic carbon, nitrogen*

#### **1. MỞ ĐẦU**

Hiện nay, việc nghiên cứu nhằm kiểm soát ô nhiễm tại các thủy vực ngày càng được đề cập nhiều hơn do hoạt động gây ô nhiễm từ nước thải xả vào các lưu vực

chưa được kiểm soát, trong đó nhiều nghiên cứu đã chỉ ra vai trò của vi sinh vật (VSV) trong thủy vực và đặc biệt nền đáy là rất quan trọng [1-7]. Sự có mặt của các nhóm VSV trong môi trường không

những làm chức năng chỉ thị sinh học để đánh giá hiện trạng môi trường mà còn đóng một vai trò quan trọng trong việc duy trì sự cân bằng của tự nhiên. Nghiên cứu của Atreyee năm 2013 [1] và Huiluo Cao năm 2011 [2] được thực hiện tại vịnh Jiaozhou phía Bắc Trung Quốc, khu bảo tồn thiên nhiên Po Mai ven biển của Hồng Kông đã cho thấy cấu trúc quần xã của tác nhân oxy hóa amoniac hiếu khí gồm amoniac-oxy hóa Betaproteobacteria (Beta-AOB) và vi khuẩn cố oxy hóa amoniac (AOA) và gần đây hơn, tác nhân kị khí oxy hóa amoni (anammox) bởi vi khuẩn có thể thích ứng ở điều kiện môi trường bao gồm độ mặn, pH, các ion kim loại, nồng độ nitơ vô cơ, tổng photpho, tỷ lệ carbon hữu cơ-nitơ và các yếu tố trầm tích như kích thước hạt trung bình. Những nghiên cứu này đều chỉ ra mối quan hệ giữa nồng độ các chất ô nhiễm và mật độ sinh vật trong vai trò chuyển hóa chúng trong tự nhiên, tốc độ chuyển hóa các chất ô nhiễm đều phụ thuộc vào nồng độ và các yếu tố tác động bên ngoài môi trường và mật độ VSV trong môi trường. Tại Việt Nam, nghiên cứu về các thủy vực cũng đã dần được đề cập trong thời gian gần đây, tuy nhiên các công trình mới chỉ tập trung phần lớn vào các ao hồ tại các đô thị lớn như Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh và một số tỉnh thành khác như Đà Nẵng, Đà Lạt, Hà Nam, Thái Nguyên....[8-10]. Các kết quả nghiên cứu từ nhiều đề tài đều có nhận định nguyên nhân gây ô nhiễm chính các thủy vực là

do nước thải sinh hoạt và một phần nước thải từ làng nghề, các hộ sản xuất nhỏ tùy tiện thải xuống thủy vực tiếp nhận. Các nguồn ô nhiễm này thường làm tăng nồng độ các thành phần hữu cơ, dinh dưỡng và các kim loại nặng do đó vượt quá khả năng tự làm sạch của ao hồ, dẫn đến suy thoái chất lượng nước, thiếu hụt oxy, tăng lượng trầm tích. Từ đó, khiến cho môi trường nước của nhiều ao hồ đục bẩn, biến thành màu đen, hệ thống sinh thái bị đe dọa và rối loạn nghiêm trọng.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Hóa chất

Nghiên cứu sử dụng chế phẩm VSV chịu mặn dạng nước được phân lập từ mẫu bùn và mẫu nước thu nhận tại khu vực âu thuyền Thọ Quang thành phố Đà Nẵng, sau đó nuôi cấy và phối trộn để có được chế phẩm theo yêu cầu nhằm sử dụng cho quá trình thí nghiệm. Các chủng VSV được phân lập bao gồm *Bacillus subtilis* (DN 13) - Sinh enzym kitinase phân giải mạnh kitin; *Bacillus amyloquenfacciens* (TQ10)- sinh enzym amylase, enzym xenlulase; *Bacillus amyloquenfacciens* (TQ12)- sinh enzym amylase, enzym xenlulase và *Bacillus licheniformis* (TQ21) - Sinh enzym protease. Mật độ các nhóm VSV như sau:

DN13:  $2,9 \times 10^8$  CFU/ml;

TQ10:  $3,1 \times 10^8$  CFU/ml;

TQ12:  $2,7 \times 10^8$  CFU/ml;

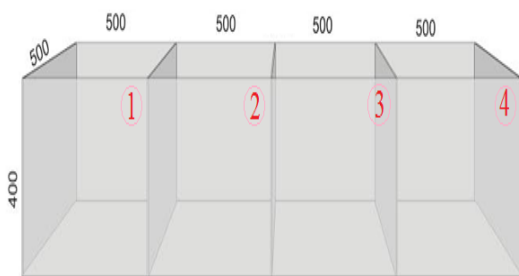
TQ21:  $3,5 \times 10^8$  CFU/ml.

Để so sánh hiệu quả, nghiên cứu sử dụng thêm chế phẩm BIO-EM có chứa VSV

phân hủy protein, tinh bột, xenlulo, kitin với mật độ tổng là  $3,7 \times 10^9$  CFU/ml. Ngoài ra, trong quá trình thí nghiệm không sử dụng bất kỳ hóa chất nào khác.

## 2.2. Thiết bị

Việc thí nghiệm được tiến hành trong các bể bằng thủy tinh có kích thước chiều dài  $\times$  rộng  $\times$  cao của mỗi bể là  $50 \times 50 \times 40$  cm, các bể này được ghép nối với nhau tạo thành dãy bể dính liền như hình dưới:



Hình 1. Mô hình thử nghiệm

Mô hình thí nghiệm được đặt trong phòng có nhiệt độ khoảng từ  $25-32$  °C, trên mỗi bể được đánh số từ 1 đến 4. Ngoài ra còn có 1 bể rời được đánh số thứ tự là 5.

## 2.3. Quy trình thí nghiệm

Hỗn hợp mẫu sử dụng cho thí nghiệm bao gồm mẫu nước và mẫu bùn được lấy tại khu vực bên trong Âu thuyền Thọ Quang. Vị trí lấy mẫu là điểm giao tiếp của vùng tiếp nhận nước thải từ các cống xả nước thải từ các khu dân cư và đặc biệt là nước thải từ trạm xử lý nước thải tập trung Khu công nghiệp Dịch vụ thủy sản Thọ Quang với nước thải từ khu vực tiếp nhận nguyên liệu hải sản vào khu vực chợ. Do đó thành phần các chất hữu cơ có chứa protein, lipid, xenlulo và tinh bột cao.

Đối với mẫu bùn, việc lấy mẫu được thực hiện bằng thiết bị lấy mẫu bùn trầm tích của hãng Wilco/Mỹ. Tổng lượng bùn cần lấy là 25 kg. Đối với mẫu nước, việc lấy mẫu được thực hiện bằng thiết bị lấy mẫu nằm ngang của hãng Wilco/Mỹ, độ sâu của mẫu ở vị trí cách mặt nước khoảng 3 m, đây là vị trí khoảng giữa tính từ mặt nước đến đáy âu thuyền.

Toàn bộ mẫu bùn và mẫu nước sau khi lấy được chứa trong 2 thùng cách nhiệt riêng biệt và vận chuyển về phòng thí nghiệm.

## 2.4. Tiến hành thí nghiệm

Việc đánh giá được tiến hành bằng cách sử dụng mẫu bùn và nước thu nhận được từ Âu thuyền Thọ Quang sau đó tiến hành bổ sung chế phẩm VSV được phân lập có nguồn gốc từ bùn và nước của Âu thuyền Thọ Quang. Mẫu sau khi mang về phòng thí nghiệm được đồng nhất và định lượng vào các bể với thể tích như nhau: 05 kg bùn và 05 lít nước/bể. Sau đó tiến hành bổ sung chế phẩm và bắt đầu quá trình theo dõi. Lượng chế phẩm được bổ sung vào các bể với thể tích lần lượt là: 10, 5, 1 và 0 ml tương ứng với các bể có số thứ tự từ 1 đến 4. Bên cạnh đó, để đánh giá khả năng thích ứng của chế phẩm mới tạo ra so sánh với chế phẩm thương mại bằng cách chuẩn bị bể số 5 nhưng được bổ sung chế phẩm thương mại BIO-EM. Ngay sau khi bổ sung chế phẩm, tiến hành lấy mẫu nước và mẫu bùn của tất cả 5 bể để tiến hành phân tích các chỉ số ban đầu của quá trình thử nghiệm.

Tiến hành thực nghiệm trong 02 tháng, định kỳ 07 ngày/lần lấy mẫu bùn để phân tích, theo dõi sự thay đổi của các thông số: TOC, TN, mật độ VSV hiếu khí, kỵ khí; VSV phân giải protein, kitin, tinh bột và xenlulo. Ngoài ra, nghiên cứu cũng theo dõi các chỉ tiêu hóa lý của mẫu nước.

### 2.5. Phương pháp phân tích

Phân tích thông số môi trường đã nêu trên theo phương pháp và thiết bị như sau:

**Với mẫu nước:** Nhiệt độ, pH, nồng độ muối được đo bằng thiết bị đo pH TOADKK, Nhật Bản.

**Với mẫu bùn:** Tổng Carbon hữu cơ được xác định theo TCVN 6642:2000 bằng thiết bị TOC - V<sub>CPH/CPN</sub> Shimazu, Nhật Bản.

Tổng Nitơ được xác định theo TCVN 6498:1999 bằng thiết bị TOC - V<sub>CPH/CPN</sub> Shimazu, Nhật Bản.

Mật độ vi sinh vật kỵ khí được xác định theo TCVN 6191-2:1996.

Mật độ VSV hiếu khí, VSV phân giải protein; VSV phân giải kitin; VSV phân giải tinh bột; VSV phân giải cellulose được xác định theo TCVN 4884:2001.

### 2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Toàn bộ kết quả của quá trình thực nghiệm đều được lấy giá trị trung bình và có độ lặp lại ba lần, số liệu trình bày trong các bảng biểu và hình được thống kê và vẽ đồ bằng phần mềm Microsoft Excel.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Sự thay đổi của các thông số hóa lý

Trong suốt quá trình, các chỉ số pH, nồng độ muối và nhiệt độ của mẫu đều được đo

nhau hằng tuần. Chỉ số pH trung bình của các mẫu là 7,8; độ muối là 23,5‰ và nhiệt độ dao động trong khoảng từ 25 đến 30 °C. Tại Bảng 1 cho thấy, chỉ số pH của mẫu cũng như nồng độ muối không thay đổi nhiều trong suốt quá trình thử nghiệm, điều này chứng tỏ các hoạt động sống và sinh trưởng của các chủng VSV bổ sung không làm thay đổi những thông số trên.

*Bảng 1. Các thông số đo nhanh hàng tuần*

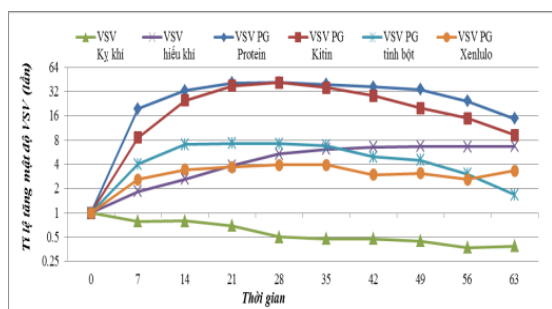
Thông số đo	Thời gian thử nghiệm									
Ngày thử	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63
Nhiệt độ (°C)	26.5	25.7	28.4	29.3	27.8	27.8	28.4	27.6	28.5	29.4
pH	7.87	7.85	7.83	7.85	7.87	7.76	7.81	7.87	7.85	7.87
Độ muối (‰)	23.5	23.4	23.4	23.4	23.5	23.5	23.5	23.6	23.6	23.6

Sau mỗi tuần thử nghiệm, các mẫu bùn tại mỗi bể được lấy để xác định tổng hàm lượng cacbon hữu cơ, tổng nitơ và các chỉ số vi sinh. Kết quả phân tích nhằm đánh giá khả năng thích ứng cũng như hiệu quả xử lý bùn của chế phẩm được mô tả sau đây.

### 3.2. Khả năng thích ứng của chế phẩm

Hình 2 biểu thị mật độ của các nhóm VSV tại bể thử nghiệm số 1 với lượng chế phẩm bổ sung là 10 ml. Trong tuần đầu tiên sau khi cho chế phẩm thì các nhóm VSV bắt đầu phát triển. Đối với tổng VSV hiếu khí, mật độ VSV nhóm này tăng 1,9 lần sau 1 tuần thử nghiệm, sau thời gian khoảng 4 tuần thì mật độ VSV thuộc nhóm này tương đối ổn định và tăng hơn 5 lần so với thời điểm ban đầu.

Đối với VSV phân giải protein, sau khi bổ sung chế phẩm vào mẫu cho thấy mật độ VSV nhóm này tăng lên khá nhanh, đạt tỷ lệ 19,5 lần sau 1 tuần và đạt 40,9 lần sau khoảng thời gian 3 tuần. Tuy nhiên, đến tuần thứ 5 thì mật độ VSV thuộc nhóm này bắt đầu giảm dần nhưng vẫn duy trì ở mức cao, điều này có thể do nguyên nhân hàm lượng các thành phần hữu cơ có chứa protein giảm đáng kể trên lớp bề mặt. Sau 2 tháng thử nghiệm mật độ VSV thuộc nhóm này vẫn duy trì và đạt 14,8 lần so với thời điểm ban đầu.



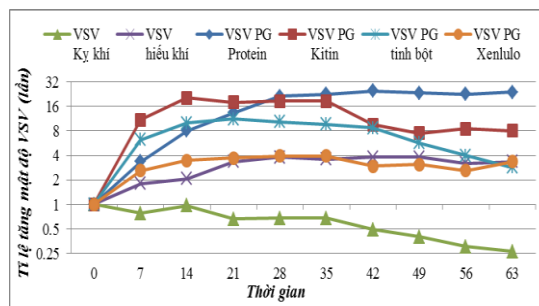
Hình 2. Tỷ lệ tăng mật độ VSV tại Bể 1

Đối với nhóm VSV phân giải kitin, mật độ VSV thuộc nhóm này tăng 8,6 lần sau 1 tuần và tăng lên 41,4 lần sau 4 tuần nuôi cấy sau đó mật độ VSV nhóm này bắt đầu giảm dần và sau 2 tháng thử nghiệm thì mật độ VSV thuộc nhóm này vẫn duy trì ở mức 9,3 lần so với thời điểm ban đầu.

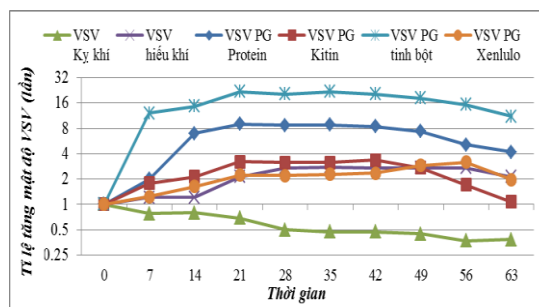
Đối với nhóm VSV phân giải tinh bột và phân giải xenlulo thì mật độ VSV thuộc các nhóm này cũng tăng lên nhưng mức độ tăng thấp hơn. Sau 1 tuần kể từ khi bổ sung chế phẩm thì mật độ VSV phân giải tinh bột tăng 4,0 lần trong khi đó mật độ VSV phân giải cellulose tăng khoảng 2,6 lần. Sau thời gian 4 tuần kể từ khi bắt đầu

bổ sung chế phẩm thì mật độ VSV thuộc nhóm phân giải tinh bột đạt 7,2 lần và mật độ VSV nhóm phân giải cellulose đạt 4,0 lần sau đó mật độ của cả 2 nhóm này bắt đầu giảm, nhưng vẫn duy trì ở mức 1,7 lần đối với nhóm phân giải tinh bột và 3,3 lần đối với nhóm phân giải xenlulo sau 2 tháng thử nghiệm.

Đối với các bể số 2 và số 3, tỷ lệ chế phẩm bổ sung vào các bể này theo thể tích tương ứng là 5 và 1 ml nên mật độ các nhóm VSV bổ sung thấp hơn nhiều so với bể số 1. Từ Hình 3 và Hình 4 cho thấy, mật độ các nhóm VSV phân giải protein, kitin, tinh bột và xenlulo đều tăng lên sau khoảng thời gian thử nghiệm, tuy nhiên mức độ tăng thấp hơn so với Bể 1.



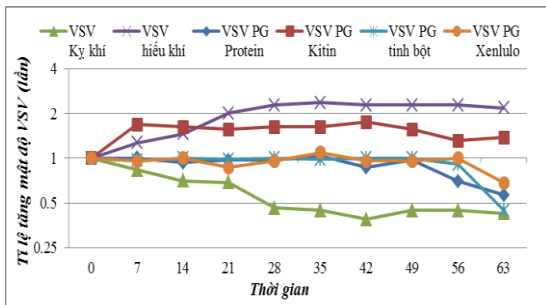
Hình 3. Tỷ lệ tăng mật độ VSV tại Bể 2



Hình 4. Tỷ lệ tăng mật độ VSV tại Bể 3

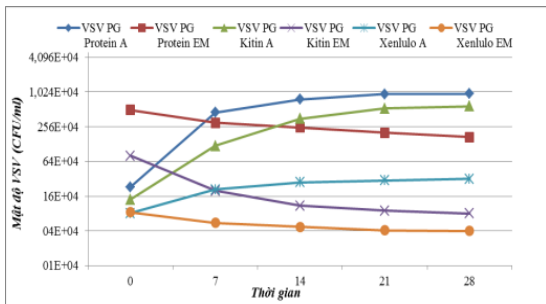
Đối với bể số 4, từ Hình 5 cho thấy mật độ các nhóm VSV tương ứng gần như ít biến động sau thời gian thử nghiệm.

Ngoài ra, ở tất cả các mẫu, mật độ VSV kỵ khí sau thời gian thử nghiệm 1 tuần cũng như trong suốt quá trình thử nghiệm đều có xu hướng giảm dần, điều này có thể do nguyên nhân chiều sâu của lớp nước và bùn nhỏ, khả năng khuếch tán oxy vào lớp nước và bùn tăng theo thời gian nên sẽ gây ức chế hoạt động của những nhóm VSV kỵ khí.



Hình 5. Tỷ lệ tăng mật độ VSV tại Bể 4

Hình 6 cho thấy khả năng thích ứng của chế phẩm thương mại so với chế phẩm thu nhận từ việc phân lập, tuyển chọn từ mẫu bùn và nước tại Âu thuyền. Ngay tuần đầu tiên sau khi bổ sung chế phẩm, mật độ các nhóm VSV tại bể 5 đều giảm đáng kể, điều này cho thấy khả năng thích ứng của các nhóm VSV là không tốt.

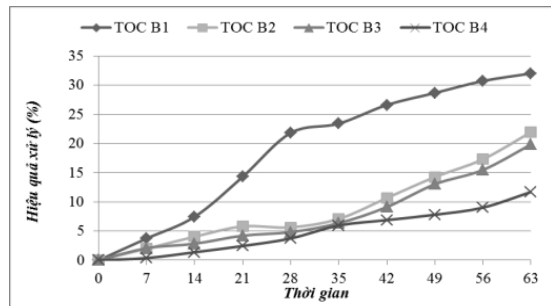


Hình 6. Tỷ lệ tăng mật độ VSV tại Bể 1 và 5

### 3.3. Đánh giá hiệu quả xử lý các thành phần hữu cơ có trong bùn

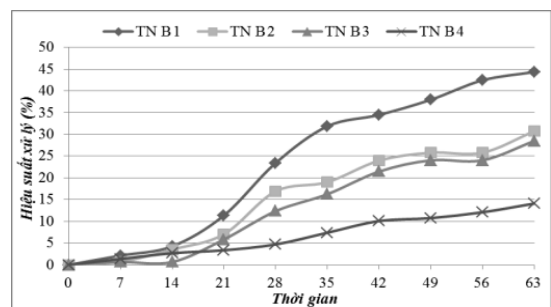
Từ Hình 7 và 8 cho thấy, sau khi bổ sung chế phẩm thì hiệu quả xử lý các thành

phần TOC và TN tăng lên rõ rệt. Mức độ xử lý tăng theo thời gian và thể tích chế phẩm bổ sung vào trong mẫu. Với hàm lượng TOC trung bình ban đầu trước khi bổ sung chế phẩm là 6575 mg/kg, sau 4 tuần thử nghiệm thì hiệu quả xử lý hàm lượng TOC tại các bể 1, bể 2, bể 3 và 4 lần lượt là 22%, 6%, 5% và 4%. Giá trị này tăng tương ứng sau 2 tháng thử nghiệm lần lượt là 32, 22, 20 và 12%.



Hình 7. Hiệu quả xử lý TOC tại các bể

Đối với bể 4, mặc dù không được bổ sung chế phẩm, tuy nhiên sau 2 tháng xử lý thì lượng TOC cũng giảm khoảng 12%. Điều này chứng tỏ các nhóm VSV có khả năng phân hủy các thành phần có chứa cacbon hữu cơ đã có sẵn trong môi trường bùn của đáy Âu thuyền, tuy nhiên mật độ không cao nên hiệu quả xử lý chậm hơn.



Hình 8. Hiệu quả xử lý TN tại các bể

Đối với Bể 1 được bổ sung lượng chế phẩm là 10 ml thì tốc độ phân giải TOC tăng nhanh nhất trong thời gian 4 tuần đầu,

sau đó tốc độ này tăng chậm lại. Điều này có thể được lý giải thông qua hàm lượng TOC trong bùn ở lớp bề mặt giảm dần sau thời gian xử lý đồng thời mật độ của các nhóm VSV có khả năng phân giải carbon hữu cơ ở lớp bùn cách bề mặt giảm dần.

Đối với hàm lượng TN, từ Hình 8 cho thấy sau khi bổ sung chế phẩm vào trong bùn thì tốc độ phân giải TN trong mẫu cũng tăng lên đáng kể. Sau thời gian 5 tuần kể từ khi bổ sung chế phẩm, hàm lượng TN trong bùn tại các bể 1, bể 2 và bể 3 đều giảm với tỷ lệ giảm tương ứng là 32, 19 và 16%. Đối với bể 4, mặc dù không được bổ sung chế phẩm nhưng hàm lượng TN trong mẫu bùn thu nhận tại cùng thời điểm sau 5 tuần thử nghiệm cũng giảm khoảng 7%. Chứng tỏ có các nhóm VSV phân giải nitơ có trong bùn. Tương tự như TOC, tốc độ phân giải hàm lượng TN tại các bể tăng nhanh trong khoảng thời gian 5 tuần đầu kể từ khi bắt đầu thử nghiệm. Kể từ tuần 6 trở đi thì tốc độ phân giải này chậm hơn. Kết thúc quá trình sau 2 tháng thử nghiệm cho thấy hiệu quả xử lý hàm lượng TN trong các bể thử nghiệm lần lượt là 44, 31, 28 và 14%. Từ kết quả trên ta có thể nhận định, đối với nhóm VSV phân giải nitơ thì khả năng thích ứng và phát triển tương đối mạnh, với thể tích chế phẩm bổ sung vào các bể lần lượt là 10, 5 và 1 ml thì sau 2 tháng thử nghiệm, mật độ các nhóm vi sinh vật phân giải nitơ trong bùn tại Bể 1 tăng nhanh nhất do đó hiệu quả xử lý tại bể này tương đối cao.

#### 4. KẾT LUẬN

Quá trình thử nghiệm cho thấy, các chủng vi sinh vật được phân lập và tuyển chọn từ bùn và nước của Ấu thuyền Thọ Quang có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt sau khi đưa trở lại môi trường của nó ở điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy những chủng VSV này có khả năng thích ứng và hoạt động mạnh trong môi trường có chứa các thành phần hữu cơ như protein, kitin, xenlulo cao với điều kiện nồng độ muối của môi trường là 23,5 ‰. Hiệu quả xử lý cao nhất các thành phần này được thể hiện thông qua mức độ giảm nồng độ TOC, TN tương ứng với 32 và 44% sau 2 tháng thử nghiệm. Như vậy, có thể khẳng định rằng VSV có vai trò rất lớn trong việc làm giảm thiểu các thành phần ô nhiễm có trong môi trường nước. Các số liệu thu được trong nghiên cứu hoàn toàn có giá trị rất cao, có thể là tiền đề cho những nghiên cứu chuyên sâu hơn, qua đó góp phần cải thiện chất lượng môi trường ở các lưu vực ven biển đang có nguy cơ ô nhiễm nặng tại Việt Nam.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Sims, Y. Zhang, S. Gajaraj, P. B. Brown, Z. Hu, "Toward the development of microbial indicators for wetland assessment", *Water Research.*, 47, (5), 1,1711-1725, (2013) .
2. H. Cao, M. Li, H. Dang, J. D. Gu, "Responses of Aerobic and Anaerobic Ammonia/Ammonium - Oxidizing Microorganisms to Anthropogenic

- Pollution in Coastal Marine Environments”, *Methods in Enzymology*, 496, 35-62, (2010).
3. C. Ahn, R. M. Peralta, “Soil bacterial community structure and physicochemical properties in mitigation wetlands created in the Piedmont region of Virginia (USA)”, *Ecological Engineering*, 35 (7), 1036-1042, (2009).
  4. C. Dorador, A. Busekow, I. Vila, J. F. Imhoff, K. P. Witzel, “Molecular analysis of enrichment cultures of ammonia oxidizers from the Salar de Huasco, a high altitude saline wetland in northern Chile”, *Extremophiles*, 12(3), 405-414, (2008).
  5. R. Gorra, M. Coci, R. Ambrosoli, H. J. Laanbroek, “Effects of substratum on the diversity and stability of ammonia-oxidizing communities in a constructed wetland used for wastewater treatment”, *Journal of Applied Microbiology*, 103 (5), 1442-1452 (2007).
  6. N. S. Moin, K. A. Nelson, A. Bush, A. E. Bernhard, “Distribution and diversity of archaeal and bacterial ammonia oxidizers in salt marsh sediments”, *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7461-7468 (2009).
  7. L. Yan, R. Inamori, P. Gui, K. Q. Xu, H. N. Kong, M. Matsumura, Y. Inamori, “Distribution characteristics of ammonia-oxidizing bacteria in the *Typha latifolia* constructed wetlands using fluorescent in situ hybridization (FISH)”, *J. Environ. Sciences*, 17(6), 993-997 (2005).
  8. S. Seitzinger, J. A. Harrison, J. K. Bohlke, A. F. Bouwman, R. Lowrance, B. Peterson, C. Tobias, G. V. Drecht, “Denitrification across landscapes and waterscapes: a synthesis”, *Ecological Applications*, 16, 2064-2090 (2006).
  9. T. E. Jordan, M. P. Andrews, R. P. Szuch, D. F. Whigham, D. E. Weller, A. D. Jacobs, “Comparing functional assessments of wetlands to measurements of soil characteristics and nitrogen processing”, *Wetlands*, 27, 479-497 (2007).
  10. W. R. Boynton, J. D. Hagy, J. C. Cornwell, W. M. Kemp, S. M. Greene, M. S. Owens, J. E. Baker, R. K. Larsen, “Nutrient budgets and management actions in the Patuxent River estuary, Maryland”, *Estuaries and Coasts*, 31, 623-651 (2008).