

P52

호기적 조건하에서 NH_4^+ 로부터 N_2 를 발생시키는 균주의 순수분리 및 동정

조경숙¹ · 박경주 · 허선연 · 남수완² · 이민규¹ · 김중균

부경대학교 생물공학과

¹부경대학교 화학공학과

²동의대학교 생명공학과

국내 하·폐수의 보다 효율적인 처리를 위하여 질산, 탈질 동시 반응을 빨리 일으킬 수 있는 가능성이 높은 heterotrophs 균주를 screening 하기 위해서 *Bacillus* 균주들이 우점화되어 처리되는 하수처리 공장의 main reactor 및 sludge에서 얻은 샘플로부터 호기적 탈질균을 순수분리하기 위하여 glucose, NH_4Cl , KH_2PO_4 및 mineral solution만을 포함하는 agar plate에 streaking하였다. 2~3일 배양 뒤 다른 형태의 독립 colony를 수 개 얻었으며, 각 colony를 떼어 glucose, NH_4Cl , KH_2PO_4 및 mineral solution을 포함하는 액체 tube 배지에서 접종하고, 배지 위에 agar를 얹은 뒤 가스를 발생시키는 균주만을 몇 차례의 반복된 실험을 통해 순수하게 골라낸 다음, 50ml syringe에 산소를 같이 주입하여 배양하면서 각 균주가 발생하는 가스를 GC로 분석하여 호기적 조건하에서 NH_4^+ 로부터 N_2 가스 발생시키는 균주만을 순수 분리하였다. 위의 순수 분리 과정 중 최종 순수 분리된 균주는 다른 균주와의 친화성이 높아 순수 분리에 어려움이 많았고, 분리된 균주는 2종(KJ1, KJ2)이었다. 현미경상에서 관찰한 두 균주는 2~3개의 chain을 이루고 있고 motility가 매우 뛰어났으며 agar tube상에서 stabbing을 할 경우 표면은 물론이고 아래까지 깊숙이 잘 자라며 많은 가스를 발생시켰다.

순수 분리된 두 균의 동정은 먼저 미생물 자동 분석기 VITEK를 통하여 분석하였다. 분석 결과 Gram -인 *Enterobacter intermedius*와 92% 유사성을 가진 것으로 나타났다. 더 정밀한 동정을 위하여, Bioneer(주)의 16S-rDNA 분석방법을 이용하였는데, 그 결과 *Enterobacter*나 *Klebsiella* 균주의 다수 종과 90%이상의 유사성

을 가지고 있었다. Bergey's Manual을 보면 두 균주의 DNA의 유사성은 약 30~60%라고 되어있고, 두 균주의 차이는 motility의 유무였는데, 두 균주 모두 활발한 운동성을 갖고 있으므로 *Enterobacter*라 판단되며, 그 균주 중에서도 *E. asburiae*와 가장 유사성(96%)이 높은 것으로 나타났다. 이 균주들의 하·폐수처리 과정에 있어서의 역할에 대한 결과는 아직까지 보고 된 바가 없어 아주 흥미로운 결과를 얻었다.