

암모니아 및 아질산성 질소 산화세균의 분리 및 특성

이용석 · 유주순 · 정수열¹ · 박춘수² · 최용락*

동아대학교 생명자원과학부, ¹동주대학 식품과학계열, ²주식회사 E & P

(2002년 11월 19일 접수, 2003년 1월 2일 수리)

본 연구는 폐수 중의 질소 제거를 위한 생물학적 처리용 미생물 개발을 위한 목적으로 질소의 산화 능력이 뛰어난 균주를 분리하였다. 분리된 세균 중에서 질소 산화능과 생육 속도가 뛰어난 CH-N 균주를 선별하였으며, 생리, 생화학적 특성 조사에 의해 *Bacillus* sp.로 추정되어 *Bacillus* sp. CH-N이라 명명하였다. 분리 균주는 0.5% glucose가 포함된 초기 pH가 7.0인 암모니아 및 아질산성 질소 함유 배지에서 30시간 배양 후 각각 85%와 90%의 암모니아성과 아질산성 질소의 감소율을 나타내었다. 폐수 및 생활하수에 분리 균주를 이용한 결과, 수질 속의 암모니아성 질소가 단시간에 크게 감소시키는 효과를 확인하였다. 균주를 고정시킨 담체의 질소산화 효과를 시험하고자 *Bacillus* sp. CH-N을 고정시킨 세라믹 담체를 이용한 결과, 배양 2일 후에는 암모니아성 질소가 전부 제거되었다.

Key words: 질소산화균, *Bacillus* sp., 미생물고정화, 고정담체, 액체배양

서 론

인간 및 가축의 분뇨, 도시하수, 산업폐수, 비료에 의한 농업 폐수 및 쓰레기 침출수에 포함된 질소성분은 호소의 부영양화를 일으켜 수생 생태계의 악 영향을 끼친다.¹⁾ 이들 질소 오염원의 질소 형태를 살펴보면, 암모니아성 질소와 유기질소로 구성되어 있다. 일반적으로 자연계에서의 질소 사이클은 질소분자(N₂) → 암모니아성 질소(NH₃-N) → 아질산성 질소(NO₂-N) → 질산성 질소(NO₃-N) → 질소분자(N₂)의 순환고리에 의해 질소의 존재 형태가 변화한다.²⁾ 암모니아성 질소는 질산화 반응에 상당량의 산소를 소모함으로써 수중 용존 산소를 고갈시키며, 유리 암모니아 형태의 경우는 어패류에 독성을 발휘하기도 한다. 아질산성 질소는 신속하고 용이하게 질산성 질소로 전환한다. 질산성 질소는 질소 분해의 최종 생성물로 인체에 유해하며 유아의 청색증을 일으키는 원인이 된다.

이러한 질소 오염원을 제어하는 방법은 물리·화학적 처리법과 생물학적 처리법이 알려져 있다. 물리·화학적 처리법으로 암모니아 stripping법이나 불연속적 염소 처리법이 주로 암모니아 질소의 제거에 이용되고 있다. 생물학적 처리법에서는 암모니아 형태의 질소를 질산화 미생물에 의해 아질산성 질소 및 질산성 질소로 질산화 시키고, 탈질균에 의해 질소 가스로 탈질 처리를 수행하고 있다. 암모니아성 질소의 산화는 *Nitrosomonas* sp.에 의하여 아질산성 질소로 되며, 불안정한 아질산성 질소는 *Nitrobacter* sp.에 의하여 질산성 질소로 산화되며, 이 경로는 더 빠르게 반응이 진행되어진다.³⁾ 이 등은^{4,5)} *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas* sp.를 이용하여 기질, 온도 변화 등의 조건 변화 및 고정화 균주를 이용한 효율적 탈

질 방법을 연구해 왔다. 유기 오염 물질들을 제어하는 생물학적 방법이 있지만 여러 가지 어려운 점이 있다.

미생물의 고정화는 미생물을 담체에 결합시키거나 한정된 공간 내에 포획하는 것으로 생물 공학 분야에 오래 전부터 이용되어 왔으며, 최근에는 고정화법을 이용하여 산물의 분리 정제를 간단히 하는 방법을 개발하고 있다. 이러한 고정화 미생물을 폐수 속의 오염 물질 제거에 이용할 경우 원하는 미생물을 배양하거나 순치한 후 고정화 할 수 있어 높은 효율을 얻을 수 있고 미생물의 유실이 없어 반응기 내에 유용한 미생물을 고농도로 유지 할 수 있다. 또 온도나 pH 같은 환경 조건이 급격히 변화하거나 독성물질이 유입되어도 고정화 미생물 자체의 완충 작용에 의해 활성이 변하지 않는 장점을 가지고 있다.^{7,8)} 또한 처리 수와 미생물의 분리가 매우 용이하여 별도의 분리시설이 불필요하므로 공정의 규모를 대폭 줄일 수가 있다.

따라서 본 연구에서는 질소를 제거해 줄 수 있는 미생물을 폐수 처리에 이용하고자 질소 산화능이 우수하며 자연계에서 생육이 양호한 *Bacillus* sp.를 분리하여 균주의 특성을 밝히며, 질소 산화능을 조사하여 실처리 공정에 적용할 수 있는 균주 개발을 위한 기초적 연구를 수행하였기에 보고 하고자한다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 동정. 본 연구에 사용한 균주는 부산·경남 근교의 생활 하수 및 공장 폐수로 오염된 토양 환경 조건을 가진 10여 가지 지역의 토양을 채취하여 분리된 세균 중에서 질소의 이용이 양호한 *Bacillus* sp. 균주를 분리하여 사용하였다. 얻어진 콜로니 수백 개를 암모니아가 함유된 배지(Table 1)에서 7일간 진탕 배양을 하면서 암모니아성 질소 산화능이 우수한 균주를 이차적으로 분리하였다. 분리된 균주 중에서 *Bacillus*의 생리·생화학적 특성을 갖는 암모니아 질소 산화능이 가장 우수한 균주를 선별하였다. 균주의 일반적인 계대 배

*연락처

Phone: 82-51-200-7585, Fax: 82-51-200-6993
E-mail: ylchoi@mail.donga.ac.kr

Table 1. Media composition for the measurement of nitrification

| Ammonia oxidizing medium | | Nitrite oxidizing medium | |
|---|---------------------|-------------------------------------|---------------------|
| Component | Concentration (g/l) | Component | Concentration (g/l) |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 0.5 | NaNO ₂ | 0.5 |
| Na ₂ HPO ₄ | 13.5 | Na ₂ HPO ₄ | 13.5 |
| KH ₂ PO ₄ | 0.7 | KH ₂ PO ₄ | 0.7 |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.1 | MgSO ₄ 7H ₂ O | 0.1 |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.18 | CaCl ₂ 2H ₂ O | 0.18 |
| NaHCO ₃ | 0.5 | NaHCO ₃ | 0.5 |
| FeCl ₃ 6H ₂ O | 0.014 | FeCl ₃ 6H ₂ O | 0.014 |

For nitrite oxidizers, all components were dissolved and sterilized at 121°C for 15 min. Ammonium sulfate stock solution was separately sterilized, and added to the basal medium for ammonium oxidizers.

양은 LB-broth를 사용하였으며, 질소 산화 측정을 위한 배지의 조성은 Table 1에 나타난 바와 같다.

균주의 동정은 각종 형태, 생리학적, 생화학적 특성을 API 50 CHB Kit를 사용하여 Bergey's manual of systematic bacteriology에 준하여 동정하였다.⁹⁾

질소산화측정을 위한 배양. 암모니아 질소의 산화를 측정하기 위하여 ammonium sulfate를 첨가한 배지에서 배양한 후, 시간대에 따른 암모니아성 질소의 경시적인 감소율 변화를 보고자 하였다. 일정시간대 별로 샘플링하여 균 생육 정도를 측정하고 생육된 균을 4°C, 10,000 rpm에서 원심분리하여 얻은 배지의 상정액에 존재하는 암모니아성, 아질산성 및 질산성 질소의 함량을 측정하였다. 또한, 아질산성 질소의 산화를 확인하기 위해서는 sodium nitrite를 첨가한 배지에서 배양한 배양 상정액으로 부터 동일 방법으로 샘플링하여 균 생육 정도를 측정하고 생육된 배지의 상정액에 존재하는 각종 아질산성 질소와 질산성 질소의 함량을 측정하였다.

분석방법. 분리 균주의 생육도는 610 nm에서 흡광도로 측정하였으며, 사용한 기기는 UV-spectrophotometer(Ultrospec3000, Pharmacia Biotech, USA)를 사용하였다. 암모니아 및 아질산성 질소 산화 균주의 산화율은 배지 내의 암모니아성 질소, 아질산성 질소 및 질산성 질소의 농도 변화를 경시적으로 측정하였다. 암모니아성 질소는 인돌페놀법, 아질산성 질소는 디아조화법, 질산성 질소는 부루신법을 이용하였으며, 이는 수질 오염 공정 시험법에 준하여 분석하였다.¹⁰⁾

분리 균주의 담체 고정화 및 질소 산화능 측정. 미생물을 담체에 고정화시키는 방법은 분리한 *Bacillus* sp. 균주를 48시간 동안 배양한 배양액에 하루 동안 건열 멸균시킨 평균 직경이 0.5 mm의 세라믹 담체를 완전히 잠기게 담근다. 미생물 배양액과 담체가 섞여진 샘플을 실온에서 좌우로 흔들어 주는 장치(호기적 조건)로 48시간 정도 반응시키면서 담체에 고정시킨다. 이 때 건조된 담체의 다공질 공극 사이로 수분이 충전되면서 미생물 입자가 흡착, 고정되어 생물막을 형성하게 된다. 이 과정에서 형성된 생물막의 모습을 전자 현미경으로 관찰하여 확인한다. 질소 산화능의 측정은 미생물이 부착된 담체를 1/50, 1/250(v/v)의 양이 되게 액체 배지에 접종한 후, 경시적으로 암모니아성 질소와 질산성 질소의 변화 양상을 측정하였다.

전자현미경 관찰. 배양한 미생물을 담체에 고정시킨 sample

을 2~4% glutaraldehyde(0.1 M Cacodylate buffer pH 7.2, 0.1% MgSO₄ 포함)로 30분에서 24시간동안 실온에서 전고정한다. Cacodylate buffer pH 7.2로 2시간 동안 세척하고, 0.2 M cacodylate buffer(pH 7.4)에 1% 되게 녹인 오스미움산 용액으로 4°C에서 24시간 동안 2차 고정시킨다. 고정된 샘플에서 용액을 제거한 뒤에 탈수를 한다. 탈수 과정은 50%, 70%, 95% 에탄올에서 각 10분간, 그리고 무수 에탄올에서 10분 간 2회 탈수한다. 탈수한 뒤에 샘플을 풍건하고, 임계점 건조기에서 건조한 뒤에, 주사 전자 현미경(SEM)으로 관찰하여 사진 촬영하였다.¹¹⁾

결과 및 토의

균주의 분리 및 동정. 생활 하수, 공장 폐수 및 오염된 토양 환경에서 토양을 채취하여, 10 g을 100 ml의 멸균수에 넣고 200 rpm, 30분 동안 혼합한 후 6단계 희석 평판법으로 LB 배지에 도말하여 생성된 콜로니를 암모니아가 함유된 배지(Table 1)에서 7일간 진탕 배양을 하여 농화된 균주를 고체평판 배지에서 도말하여 37°C에서 1일 배양하였다. 생성된 콜로니를 4일간 액체 배양하면서 질소 이용이 우수한 균주를 분리하여, 그람양성균이며 암모니아 및 아질산성 질소를 산화시키는 균주를 분리하여 CH-N이라 하였다. 분리 균주를 동정하고자 생리, 생화학적 특성을 API 50 CHB Kit로 조사한 결과와 전자 현미경으로 관찰한 결과를 Table 2와 Fig. 1에 나타내었다. 분석된 생리 생화학적 특성을 Bergey's manual에 의해 검토한 결과 그람양성의 짧은 간균인 *Bacillus* sp.로 확인되어 *Bacillus* sp. CH-N으로 명명하였다.

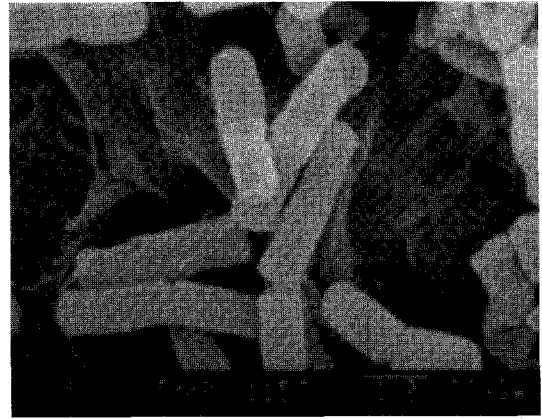
분리된 균주의 생육 특성. 분리 균의 배양학적 조건에 따른 질소의 산화력을 조사하고자 배양온도 및 배양배지의 초기 pH에 따른 균주의 생육 특성을 조사하였다(Fig. 2). 분리 균주 *Bacillus* sp. CH-N은 교반 속도 180 rpm, 배양 온도 37°C에서는 초기 pH 4.5에서 pH 10까지의 범위에서 생육이 왕성하였으며, 배양된 균주의 밀도를 높게 접종한 경우는 보다 더 넓은 범위의 초기 생육 pH에서도 생육 활성이 가능하였다(자료 미제시). 배양 온도를 달리한 28°C에서 37°C의 범위에서는 생육이 양호하였다. 분리균주의 최적생육 조건은 37°C에서 pH 7인 증성에서 생육도와 질소산화률이 가장 우수함을 확인할 수 있

Table 2. Biochemical and physiological characteristics of isolated *Bacillus* sp. CH-N

| Characteristics | <i>Bacillus</i> sp. CH-N |
|------------------------------|--------------------------|
| Gram strain | + |
| Shape | short rods |
| Assimilation on | |
| Glycerol | - |
| Erythritol | + |
| D-arabinose | + |
| L-arabinose | - |
| Ribose | - |
| D-xylose | - |
| Adonitol | - |
| 8 methyl-D-xylose | + |
| Galactose | - |
| Glucose | - |
| Fructose | - |
| D-ribose | + |
| D-sucrose | + |
| D-sorbitol | - |
| Sorbose | + |
| Rhamnose | - |
| Dulcitol | - |
| Inositol | + |
| Mannitol | + |
| α -methyl-D-mannoside | + |
| α -methyl-D-glucoside | + |
| N-acetyl glucosamine | + |
| Amygdalin | + |
| Arbutin | + |
| Esculin | + |
| Salicin | + |
| Cellobiose | + |
| Maltose | - |
| 2-ketogluconate | - |
| Histidine | + |
| Alanine | + |
| Serin | + |
| Citrate | - |
| Acetate | + |
| N-acetyl glucosamine | + |
| DL-lactate | + |
| 3-hydroxy-benzonate | - |

었다. 또한 4°C에서 45°C의 배양온도에서도 비교적 양호한 생육 활성을 나타내고 있음을 실험을 통해 알 수 있어서, 미생물을 이용한 생물학적 처리의 문제점인 겨울철 처리 효율에 있어서도 안정적인 처리 효율을 유지할 수 있는 균주로서 이용이 가능할 것으로 예상된다.

***Bacillus* 균주의 배지 중 암모니아성 질소 산화 능력.** 분리 균주 *Bacillus* sp. CH-N을 30°C에서 배양시켜서 glucose 농도에 따른 질소 산화능을 비교한 결과는 Fig. 3에서 보여주고 있다. 분리 균주는 OD₆₁₀에서 약 O.D 1.5까지의 성장률을 보였으며, 배양 48시간 이후에 0.25% glucose 첨가 배양에서 암모니아성 질소를 85% 정도까지 감소시키고, 암모니아성 질소의 산화가 증가되면서 배양 24시간에는 아질산성 질소의 생성이

**Fig. 1. Scanning electron microscopic photography of strain *Bacillus* sp. CH-N (x15000).**

최고치를 나타내었다가 이후 감소되는 현상을 볼 수 있었다(Fig. 3a). 질소 원으로 암모니아성 질소를 첨가한 배지에서의 생육도는 glucose의 농도를 0.5%로 2배 증가시킨 처리 주에서 약간 증가하는 것으로 나타났다. 암모니아성 질소의 감소량과 아질산성 질소의 상대적인 생성량의 경시적인 변화 시험을 실시한 결과, 이는 탄소원의 농도가 증가함에 따라 더욱 빨라지며 산화율이 증가되어지는 현상을 확인하였으며, 0.5% glucose로 처리한 *Bacillus* sp. CH-N은 더 빠른 암모니아의 제거율을 보였으며, 상대적으로 아질산성 질소는 0.5% glucose 처리 주에서 보다 빨리 제거되는 것으로 나타났다(Fig. 3b). 따라서 이 균주를 생물학적 처리용 미생물 제재로서 개발 시에는 저농도 탄소원에서의 균주 생육 조건 확립과 저렴한 탄소원을 이용한 배양 시험을 실시하여 보다 더 경제적이고 적합한 배양 조건과 질소 제거 효과의 확립을 위한 실험이 더욱 요망되어진다.

***Bacillus* 균주의 배지 중 아질산성 질소 산화능력.** 질소원으로 아질산을 첨가한 배지에서 분리 균주의 질소 산화능을 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다. 탄소원의 농도를 0.25% glucose를 첨가하였을 때, *Bacillus* sp. CH-N 균주는 배양 48시간 후 50% 잔류량을 보였으나 탄소원의 농도가 0.5% 첨가하였을 때는 아질산성 질소가 90% 이상 소모되었다. 아질산성 질소의 급격한 산화 이루어지는 12시간 경에는 질산성 질소가 최대의 증가치를 보이다가 점차 급격한 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 남 등⁶⁾이 분리한 질소 산화 균주는 아질산성 질소 산화시에 4일 후에는 아질산성 질소가 거의 제거되면서 상대적으로 질산성 질소가 증가되는 균주였으나 본 실험에서의 균주는 아질산성 질소의 감소에 따른 질소 제거 효과가 뛰어난 것으로 생각되어 질소 제거용 균주로서 더욱 적합하다고 할 수 있겠다.

폐수 중의 암모니아성 질소 산화능력. 분리 균주인 *Bacillus* sp. CH-N을 공장 폐수와 생활 폐수를 이용하여 폐수에 존재하는 암모니아성 질소 및 아질산성 질소 산화율을 측정하였다. 미리 전 배양한 균주를 접종하고 아무런 영양 요소를 첨가하지 않고서 30°C에서 진탕하면서 질소의 산화율을 측정 한 결과를 Fig. 5와 Fig. 6에 나타내었다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 폐수 중 암모니아성 질소는 CH-N을 처리한 경우 48%의 감소를

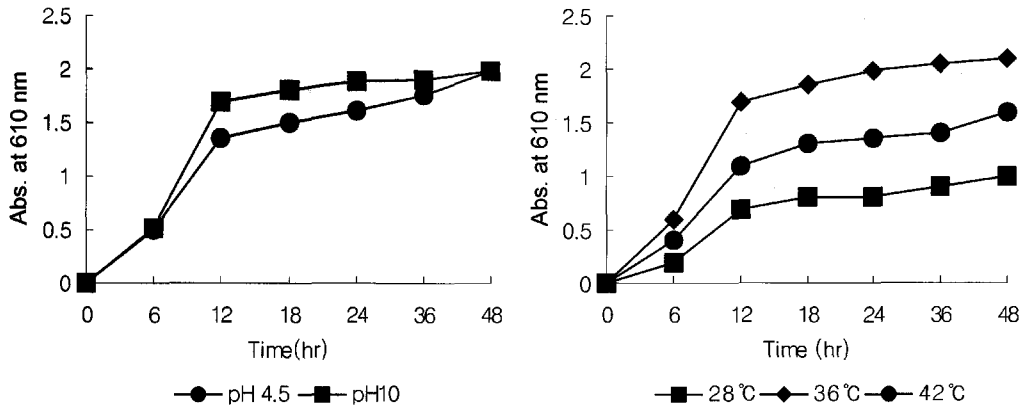


Fig. 2. Effect of initial pH (a) and temperature (b) on cell growth of *Bacillus* sp. CH-N strains. a) Effect of initial pH (temp. 37°C) b) effect of temperature on growth rate for *Bacillus* sp. CH-N after 48 h culture in L-broth (pH 7.0).

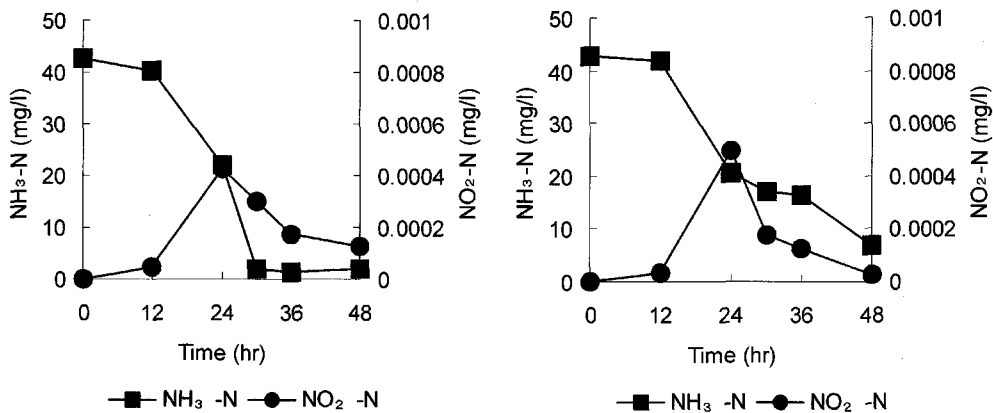


Fig. 3. Ammonia oxidizing ability of *Bacillus* sp. CH-N in ammonia oxidizing medium supplemented with glucose as carbon source. Sampling for inverting growth profiles and nitrogen oxidizing made every designated time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C. Glucose was added to the media with a final concentration of 0.25% (a) and 0.5% (b), respectively.

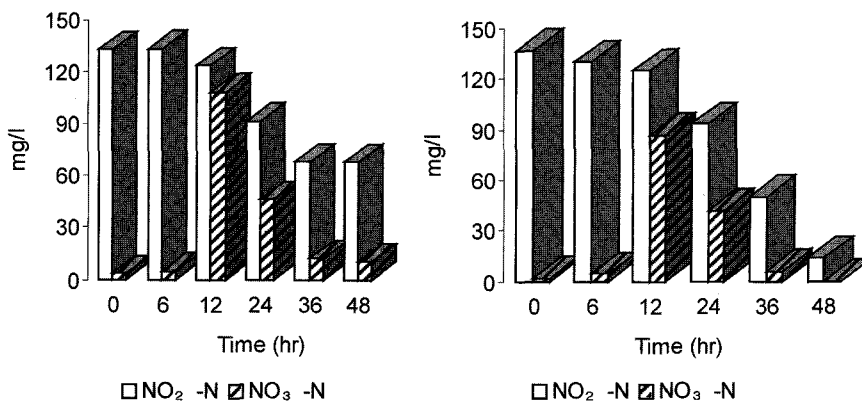


Fig. 4. Nitrite oxidizing ability of *Bacillus* sp. CH-N in nitrite oxidizing medium supplemented with 0.25% and 0.5% glucose as carbon source. Sampling for inverting growth profiles and nitrogen oxidizing made every designated time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C. Glucose was added to the media with a final concentration of 0.25% (a) and 0.5% (b), respectively.

을 보여 암모니아성 질소의 급속한 감소로 악취가 제거되었으며 아질산성 질소가 늘어나는 것을 확인할 수 있었다. 아질산성 질소는 각 초기 배지에 존재하는 농도에 비해 121배와 120배 증가하였다. 따라서 공장 폐수에서의 질소 제거 능력은 사용한 분리 균주에서 높은 제거 효과를 나타내었다. Fig. 6은 생활 하수 중 암모니아성 질소의 산화를 나타낸다. 배지에서 생

육 시 질소 산화 능력이 우수한 *Bacillus* sp. CH-N이 공장 폐수와 생활 폐수에서도 생육 영양원의 무 첨가 상태에서 높은 질소 제거 능력을 보였다. 그러나 배양 시간이 길어짐에 따라 암모니아 제거 효율이 거의 변화가 없는 것은 폐수 중의 영양원이 고갈된 것이 원인으로 생각된다. 따라서 생물학적 처리 시스템에서 air blower만 이용하여 공기와 함께 미생물을 폭기

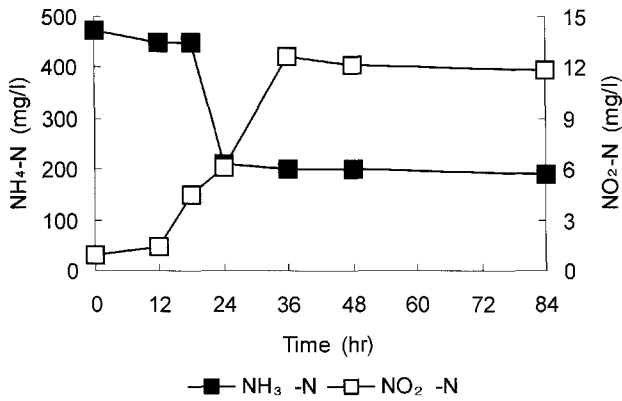


Fig. 5. Ammonia oxidizing ability of *Bacillus* sp. CH-N in waste water. Strain was incubated at 30°C until the OD₆₁₀ reached 1.0. The culture cells were suspended in waste water and incubated for days 30°C. Sampling for investing growth profiles and nitrogen oxidizing was made every designed time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C.

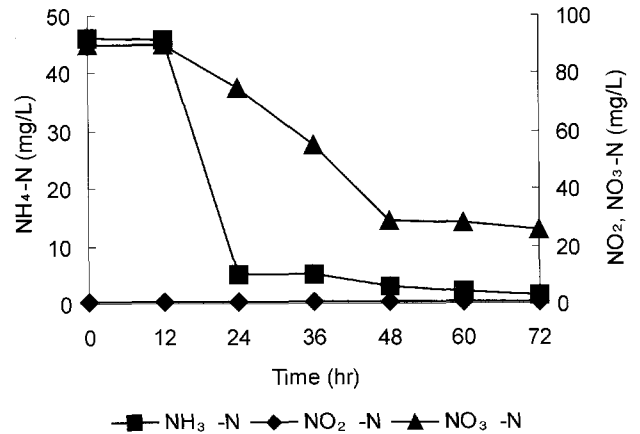


Fig. 8. Effect of ammonia oxidizing ability of carrier immobilized cell. CH-N supplied glucose for carbon source. Sampling for inverting growth profiles and nitrogen oxidizing made every designated time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C.

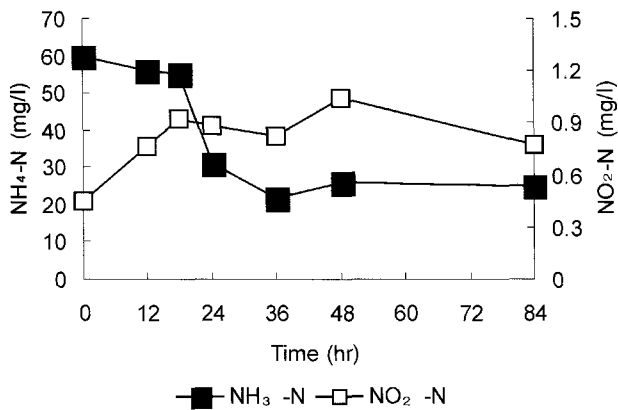


Fig. 6. Ammonia oxidizing ability of *Bacillus* sp. CH-N in sewage. Strain was incubated at 30°C until the OD₆₁₀ reached 1.0. The culture cells were suspended in sewage and incubated for days 30°C. Sampling for investing growth profiles and nitrogen oxidizing was made every designed time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C.

조 내로 보충함으로써 폐수내의 질소 제거 처리가 가능할 것으로 예상되어서 혐기적 배양 및 호기적 배양에 따른 확인 실험이 더 요구되어진다.

미생물고정 담체를 이용한 질소산화효과. 질소 산화 우수 균주 *Bacillus* sp. CH-N을 48시간동안 배양한 배양액을 세라믹 담체에 고정시켰다. 담체에 고정된 미생물의 상태를 확인하고자 주사전자현미경(SEM)으로 관찰하여 사진 촬영한 결과, 담체의 공극에 수많은 미생물이 잘 고정되어 있는 것을 확인하였다(Fig. 7).

미생물을 고정시킨 고정 담체를 이용한 질소의 산화능을 조사하고자, 고정 담체를 질소 배지에 넣고 30°C에서 교반 시키면서 암모니아성 질소와 아질산성 질소가 경시적으로 산화되어 변화된 결과를 Fig. 8에 나타냈다. 담체를 1/50, 1/250(v/v) 양으로 접종한 시험한 결과, 반응 후 24시간에는 초기의 암모니아성 질소가 전부 없어진 결과를 보였다. 이때, 균주를 직접 배양한 처리 구에서와 같이 아질산성 질소의 일시적 생성을 확인하였다. 아질산성 질소를 배양용액에 처리한 경우 또한 전부 질산성 질소로 산화되어지는 결과를 나타내었다.

같은 질소의 농도를 처리하여 균주가 고정된 담체와 액체 배양균을 처리한 결과를 비교해보면, 담체의 경우 반응 후 24시간에 초기의 암모니아성 질소와 질산성 질소가 전부 없어진 반면, 액체 배양균은 36시간에 전부 없어졌다. 이 결과는 담체가

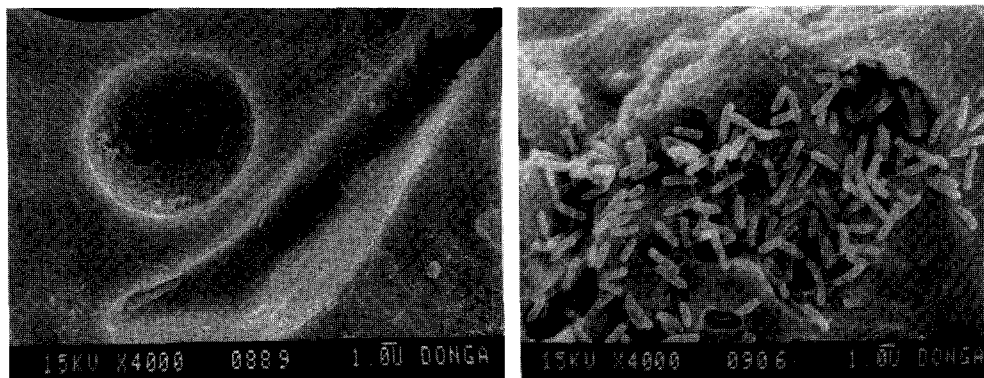


Fig. 7. Electron microscopic scanning of the ceramic carrier before (a) and after (b) immobilization with *Bacillus* sp. CH-N.

액체 배양액보다 효율이 우수함을 나타내준다.

이러한 암모니아성 질소의 제거에는 세라믹 담체에 고정된 균주의 질소 산화효과를 액체 배양한 균주의 처리구와 비교해 보면, 담체에 고정된 균주의 처리구가 더 효율적이었다. 앞으로 다양한 방법의 미생물 고정 담체를 이용한 담체 고정 효과 실험을 수행하여 더욱 더 좋은 효과를 가진 미생물 고정용 담체 개발이 요구되어진다.

감사의 글

본 연구는 동아대학교 교내 학술 연구비 (2002) 지원 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Yun, D. I., Lee, J. T., Kim, D. J. and Lee, K. Y. (1998) The effect of external carbon sources on batch denitrification process. *Kor. J. Appl. Microbiol.* **26**, 96-101.
2. Anderson, I. C. and Levine, J. S. (1986) Relative rates of nitric oxide and nitrous oxide production by nitrifiers, denitrifiers, and nitrare respirers. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**, 938-945.
3. Fang, H. Y. and Chou, M. S. (1993) Nitrification of ammonia nitrogen in refinery wastewater. *Water Research.* **27**, 1761-1765.
4. Song, J. Y., Hwang, S. Y. and Kim, D. S. (2001) A Study on the denitrification characteristics of permeabilized *Paracoccus denitrificans*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **16**, 290-294.
5. Lee, S. I., Park, S. K. and Lee, W. H. (1994) Temperature dependency of denitrification rate with addition of various electron donors, *J. Kor. Soc. Environ. Engineers* **16**, 677-683.
6. Nam, B. S., Ryu, W. R., Lee, Y. H., Kim, J. M. and Cho, M. H. (1999) Isolation and characterization of ammonia and nitrite nitrogen oxidizing strains. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **14**, 76-81.
7. Kuai, L. and Verstraete, W. 1998. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 4500-4506.
8. Won, C. H., Lee, M. H. and Yun, J. S. (1997) Simultaneous removal of nitrogen and organics in septic tank effluent using immobilized microorganisms for nitrification and denitrification. *J. Kor. Soc. Environ. Eng.* **19**, 683-692.
9. Suh, K. H., Kim, B. J., Cho, M. C., Kim, Y. H. and Kim, S. G. (1998) Removal of ammonia-N by immobilized nitrifier consortium. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **13**, 76-81
10. Krieg, M. R. and Holt, J. G. (1984) In *Bergey's manual of systematic bacteriology* The Williams and Wilkins Co., Baltimore, USA.
11. APHA, AWWA, WEF. (1992) In *Standard methods for the examination of water and wastewater* (18th ed.) Washington D.C.
12. Nam, E. S., Choi, J. W., Cha, S. K. and Ahn, J. K. (2002) Isolation and identification of thermostable β -glycosidase-producing microorganism from hot spring of volcanic area at Atagawa in Japan. *Kor. J. Microbiol. Bitechol.* **30**, 151-156.

Microbial Immobilization, Characterization and Isolation of Nitrogen Oxidizing Bacteria

Yong-Seok Lee, Ju-Soon Yoo, Soo-Yeol Chung¹, Choon-Soo Park² and Yong-Lark Choi* (Division of Biotechnology, Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea; ¹Dept. of Food Science, Dongju College, Busan 604-715, Korea; ²E & P Corp., Busan, Korea)

Abstract: In order to improve the system for biological nitrogen oxidizing process in sewage and wastewater, a bacterium having high abilities to oxidize of nitrogen was isolated from wastewater and polluted soils. The strain was identified to *Bacillus* sp. CH-N, based on the physiological and biochemical properties. Characteristics and oxidizing ability of both ammonia and nitrite were examined for the strain, *Bacillus* sp. CH-N. The strain showed the oxidizing rate about 80% to 90% on the sewage and wastewater after 48 h culture. The nitrogen oxidizing rate was increased in proportion to the initial concentration of glucose. The microorganism, *Bacillus* sp. CH-N cell immobilized on ceramic carrier were evaluated for the oxidation of ammonia in culture media.

Key words: nitrogen oxidizing bacteria, *Bacillus* sp., immobilization, carrier, aquaculture

*Corresponding author