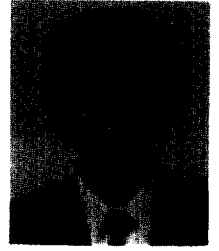


# 독립영양 질화세균의 분포와 이용

서울대학교 자연과학대학 미생물학과 하영철



암모니아를 아질산 또는 질산으로 산화시키는 과정인 질화작용(nitrification)은 암모니아와 함께 또 하나의 식물 및 미생물에 대한 질소원인 질산의 농도를 증가시켜 생물의 성장을 뒷받침하기도 하나(Fenchel and Blackburn, 1979) 생물체의 질소원에 있어서 세가지의 불이익을 초래하기도

한다. 질산은 암모니아와는 달리 토양이나 저질토(sediment)의 cation exchange site에 흡착되지 않으므로 쉽게 손실된다(Greenland, 1958). 또 무산소상태에서는 탈질화과정(denitrification)에 의하여 기체질소로 환원되어 생태계내에서 사라진다(Broadbent and Clark, 1965). 끝으로

**Table 1. Genera and Characteristics of the Chemoautotrophic Nitrifying Bacteria<sup>a</sup>**

Genus <sup>b</sup>	Morphology	Percentage of G + C	Growth range (pure culture)	Habitat
<b>Ammonium oxidizers</b>				
<i>Nitrosomonas</i>	Straight rods; motile with one or two subpolar flagella or nonmotile	47.4-51.0	5-40 °C, pH 5.8-9.5	Soil, marine, freshwater
<i>Nitrospira</i>	Spiral shaped; motile with peritrichous flagella or nonmotile	54.1	25-30 °C optimum, pH 7.5-8.0 optimum	Soil, will not grow in seawater
<i>Nitrosococcus</i>	Cocci in pairs or tetrads; motile with single or tuft of peritrichous flagella or nonmotile	50.5-51.0	2-30 °C, pH 6.0-8.0	Soil, marine, freshwater
<i>Nitrosolobus</i>	Lobular, pleomorphic cells partially compartmentalized by cytomembranes; motile with peritrichous flagella	53.6-55.1	15-30 °C, pH 6.0-8.2	Soil
<b>Nitrite oxidizers</b>				
<i>Nitrobacter</i>	Short rods; motile with a single polar flagellum or nonmotile	60.7-61.7	5-40 °C, pH 5.7-10.2	Soil, marine, freshwater
<i>Nitrospina</i>	Long, slender rods; nonmotile	57.7	20-30 °C, pH 7.0-8.0, grow only in 70-100% seawater	Marine
<i>Nitrococcus</i>	Spherical cells with cytomembranes forming a branched network in cytoplasm	57.7	20-30 °C, pH 7.0-8.0, grow only in 70-100% seawater	Marine

<sup>a</sup>All information, except growth ranges for *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*, was taken from S.D. Watson, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th Ed., Buchanan and Gibbons(eds.), pp. 450-456.

<sup>b</sup>A new species, *Nitrosovibrio tenuis*, has recently been proposed by Harms *et al.* (1976).

**Table 2. Growth Constants of Nitrifying Bacteria**

Organism	Substrate ( $\mu\text{M N}$ )	Generation time (h)	Activity ( $\text{pmol N} \cdot \text{cell}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )	Yield ( $\text{cells } \mu\text{g N}^{-1}$ )	Reference
<b><math>\text{NH}_4^+</math> Oxidizers</b>					
<i>N. oceanus</i>	10	500	--	--	Carlucci and Strickland (1968)
	42	552	--	--	Carlucci and Strickland (1968)
	50	331	--	--	Carlucci and Strickland (1968)
	$5 \times 10^3$	21	0.058	$1 \times 10^6$	Carlucci and Strickland (1968)
	$25 \times 10^3$	--	0.0012-0.083	$0.5 \times 10^6$	Watson (1965)
	$1 \times 10^5$	24	--	--	Carlucci and Strickland (1968)
<i>N. mobilis</i>	$4 \times 10^3$	12-13	--	--	Koops <i>et al.</i> (1976)
<i>Nitrosomonas</i> sp. <sup>a</sup>	$25 \times 10^3$	57-83	0.002-0.014	$0.6 \times 10^6$	Goreau <i>et al.</i> (1980)
<i>Nitrosomonas</i> sp. <sup>b</sup>		34.5			Belser and Mays (1980)
Mud isolate	292	40			Yoshida (1967)
Water isolate	1.5	500			Carlucci and Strickland (1968)
	$5 \times 10^3$	16			Carlucci and Strickland (1968)
<b><math>\text{NO}_2^-</math> Oxidizers</b>					
<i>N. gracilis</i>	$1 \times 10^3$	24-28	--	--	Watson and Waterbury (1971)
<i>N. mobilis</i>	$1 \times 10^3$	10-24	--	--	Watson and Waterbury (1971)
<i>Nitrobacter</i> sp. <sup>c</sup>	--	--	0.009-0.042	--	Belser (1979)
	--	--	--	$2 \times 10^6$	Bock (1978)
<i>Nitrospira</i> sp.	--	20	0.004	$8 \times 10^5$	Belser (1979)

<sup>a</sup>Range of values given for 0.5-20%  $\text{O}_2$  levels. <sup>b</sup>Marine strain D-41. <sup>c</sup>Range of activity values among five serotypes.

**Table 3. Half-Saturation Constants ( $K_m$ ) for Nitrifying Bacteria**

Organism/Observation	Substrate	$K_m^a$	Reference
<i>Nitrosomonas</i> sp. <sup>b</sup>	$\text{NH}_4^+$	$1-2 \times 10^3$	Belser and Schmidt (1980)
<i>Nitrosomonas</i> sp. <sup>c</sup>	$\text{NH}_4^+$	71-714	Focht and Verstraete (1977)
<i>N. europaea</i> <sup>d</sup>	$\text{NH}_4^+$	$0.3-1.6 \times 10^3$	Suzuki <i>et al.</i> (1974).
<i>Nitrosomonas</i> sp. <sup>e</sup>	$\text{NH}_4^+$	14.2	Knowles <i>et al.</i> (1965)
<i>Nitrosomonas</i> sp. <sup>f</sup>	$\text{NH}_4^+$	$2 \times 10^3$	Knowles <i>et al.</i> (1965)
<i>N. oceanus</i> <sup>g</sup>	$\text{NH}_4^+$	$1 \times 10^3$ (0.44)	Watson (1965)
		500	Carlucci and Strickland (1968)
		2-10 ( $0.89-4 \times 10^{-3}$ )	Carlucci and Strickland (1968)
Unknown isolate	$\text{NH}_4^+$	7.5-75 ( $3.3-33 \times 10^{-3}$ )	Yoshida (1967)
Natural populations	$\text{NH}_4^+$	0.10 ( $0.04 \times 10^{-3}$ )	Olson (1980)
		0.10 ( $0.04 \times 10^{-3}$ )	Hashimoto <i>et al.</i> (1983)
		5.0 ( $2.2 \times 10^{-3}$ )	Wada and Hattori (1971)
		0.02	Olson (1980)
	$\text{NO}_2^-$		

<sup>a</sup> $K_m$  values in  $\mu\text{M N}$ . Values in parentheses are for  $\text{NH}_3$ . <sup>b</sup>pH 7.5-8.0. <sup>c</sup>Pure cultures, sewage; 25°-30°C. <sup>d</sup>7.5-8.5°C. <sup>e</sup>8°C. <sup>f</sup>46°C. <sup>g</sup>Pure cultures.

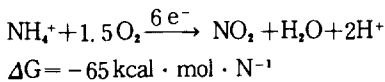
질산태의 질소가 생물체내의 질소의 주 형태인 아미노산의 질소로 되기 위해서는 암모니아로 환원되어야 하므로 질산의 동화는 상대적으로 많은 에너지를 필요로 한다.

## 1. 독립영양 질화세균의 특징

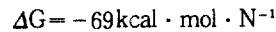
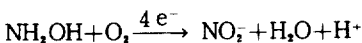
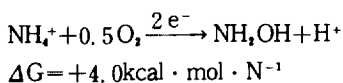
생태계내의 질화작용은 주로 화학합성 독립영양 세균(chemoautotrophic bacteria)에 의하여 이루어진다. 최근의 연구들에 의하면 중속영양세균의 일부가 질화작용을 할 수 있음이 보고되고 있으며 이러한 작용은 독립영양 질화세균의 활성이 낮은 저 pH의 산성토양에서 주로 나타나는 것으로 생각된다. 일반적인 생태계에서는 독립영양 화학세균의 질소산화물 생성능에 비하여 중속영양세균의 생성능이 0.1% 정도에 불과하므로(Wong-Chong and Loehr, 1975; Kido *et al.*, 1975) 독립영양 질화세균의 역할이 대단히 크다고 할 수 있다.

화학합성 독립영양 질화세균은 생장에 필요한 에너지를 암모니아를 아질산으로 산화시키거나 아질산을 질산으로 산화시켜 얻는다. 이러한 두 단계의 산화는 한 종의 세균에 의하여 수행되는 것이 아니라 서로 다른 종의 세균에 의하여 연속적으로 이루어지는데, 이 중 전자를 Nitroso-group 세균이라고 하며 후자를 Nitro-group 세균이라고 한다. 이들은 모두 간균 혹은 구균의 호기성 세균으로 이들이 분리 혹은 재분리되어 현재와 같은 분류체계를 이룬 것은 10~15년전에 불과하다(Table 1). 자연생태계에서 채집된 시료 및 순수분리된 균주의 성장속도(Table 2)와 기질친화력은 대단히 낮은 것이 특징이다(Table 3).

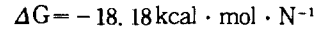
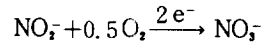
Kaplan(1983)이 정리한 바에 의하면 질화작용의 첫 단계는 다음과 같다.



이 과정은 다음의 두 단계로 다시 구별된다.



아질산의 산화는 산소분자를 최종전자 수용체로 이용하는 두 전자의 전달과정이다.



한편 세균은 CO<sub>2</sub>를 Calvin 회로를 통하여 환원시키면 탄소동화를 한다.

## 2. 질화세균의 성장 및 분포

대부분의 중속영양세균에 비하여 독립영양 질화세균의 성장은 대단히 느리다. *Nitrosomonas*와 *Nitrobacter*의 generation time은 순수배양체에서의 경우 최단 8시간까지 보고된 바 있으나, 자연생태계에서의 경우는 현실적으로 20시간 이상일 것으로 생각된다(Knowles *et al.*, 1965). 이는 자연생태계내에서 질화세균의 성장을 제한하는 많은 요인들이 실험실 실험에서는 제거될 뿐 아니라 배지내의 중탄산염에 의하여 세균의 성장속도가 증가되고 알칼리의 첨가로 배지내 pH를 유지시켜 줄 수 있으므로 성장속도가 증가되기 때문이다.

암모니아 산화세균인 *Nitrosomonas*가 한 분자의 CO<sub>2</sub>를 고정하기 위해서는 35개의 질소원자를 산화시켜 주어야 하나 *Nitrobacter*의 경우는 동일량의 CO<sub>2</sub>를 고정하기 위하여 *Nitrosomonas*의 세 배에 달하는 100개의 질소원자가 산화되어야 한다(Alexander, 1965). 이와같은 질소요구량의 차이는 암모니아 산화세균의 free energy change(ΔF)가 -65 kcal/mol인데 비하여 아질산 산화세균은 -20 kcal/mol에 불과하기 때문이다. 그러나 이러한 성장수율의 차이에도 불구하고 자연계내에서의 암모니아 산화세균 개체군이 아질산 산화세균의 경우에 비하여 반드시 큰 것은 아니다(Focht and Verstraete, 1977).

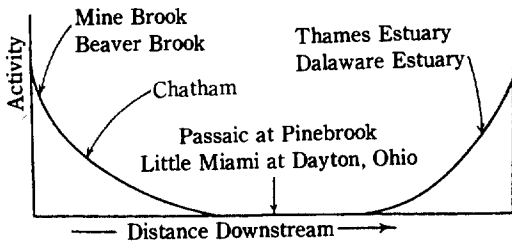
토양에서의 경우 그 pH값에 의하여 다소 차이가 있으나 *Nitrosomonas*의 개체군은 *Nitrobacter*에 비하여 약간 클 정도이다. 토양의 pH가 6.4로서 약산성이며 아질산의 축적이 나타나지 않는 토양에서의 경우 가능한 최대 세균수는 두 종류 모두 10<sup>6</sup>/g soil을 약간 넘는 값으로 거의 일치한다. 토양에서의 암모니아세균을 조사한 결과

**Table 4. Nitrifying bacteria in Passaic River water and solid-phase environments**

Environment	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> oxidizers			NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> oxidizers			No. of observations
	Range	Mean	Median	Range	Mean	Median	
Water	MPN/ml	MPN/ml	MPN/ml	MPN/ml	MPN/ml	MPN/ml	MPN/ml
	5.6-2,780	395	150	0 <sup>a</sup> -702	30	4	41
Surface sediment <sup>b</sup>	1,280-1,620,000	214,000	62,000	116-42,800	7,422	3,990	23
	MPN/g	MPN/g	MPN/g	MPN/g	MPN/g	MPN/g	
Surface sediment <sup>b</sup>	1,190-3,860,000	462,000	147,000	121-94,500	15,900	5,300	23
Rock associated	832,000-3,920,000	2,090,000	1,520,000	80,500-274,000	153,000	106,000	3
Algae associated	31,000-4,680,000	2,360,000		399-136,000	68,200		2
Plant associated	1,910-61,200,000	11,400,000	3,420,000	847-12,300,000	1,350,000	125,000	13

<sup>a</sup> 0.1/ml (one sample).

<sup>b</sup> The topmost sediment, approximately 1 cm thick. Both sets of entries are based on the same MPNs.



**Fig. 1. Location of Actively Nitrifying Zones.**

(Ardakani, *et al.*, 1974)에 의하면 그 개체군은 표층(0~2.5 cm)에서 10<sup>4</sup>/g으로 가장 높은 값을 보였으며 이때 아질산 산화세균은 이보다 50배 가량 높은 개체수를 나타내고 있다. 이와 같은 현상은 아질산과는 달리 암모니아는 진흙입자에 고정되어 표면에 농축되기 때문이다.

Tuffey 등(1974)은 미국의 Passaic강에서 강의 흐름에 따른 질화작용의 변동을 살펴보았다(Fig. 1). 상류의 개울과 하구수역에서는 높은 질화작용능을 나타내었으며 강의 본류수역에서는 낮은 질화작용능을 보였다. 개울의 높은 질화작용능은 저질층에서의 높은 질화세균 개체군과 그 활성에 따른 결과이며 하구수역에서는 부유물질의 농도가 증가하여 이에 부착되어 생존하는 질화세균의 개체군과 활성이 증가되기 때문이다. 강의 본류에서는 저질층에 존재하는 질화세균의 개체군에 비하여 그 위를 지나가는 물의 양이 상대적으로 크고 그 retention time이 짧기 때문에 그 활성이 대단히 낮다. 이는 물 자체에 존재하는 질화세균

의 개체군이 저질토에 비하여 상대적으로 작음을 의미한다. 실제로 물에 존재하는 질화세균의 개체군은 저질토의 표층이나 암석에 부착되거나, 식물 등의 표면에 부착된 것에 비하여 1% 미만의 낮은 값을 나타낸다(Table 4).

### 3. 응용생태학적 측면

#### 1. 농업

질산이 식물에 대하여 유용한 질소원이기는 하나 앞서 말한 비와 같이 지하수 또는 기체질소의 형태로 유실되기 쉬운 질소화합물이므로 질화작용은 농토에서의 질소원을 유실시키는 과정이라 생각할 수 있다. 따라서 비료의 투입시에는 질산의 형성을 지연시키기 위하여 암모니아 또는 요소를 천천히 방출시키는 비료를 개발하여 이용하거나 비료를 소량, 자주 두어하는 방법 그리고 질화작용의 저해제를 투입하는 방법을 시도하고 있다. 앞의 두 방법은 기질농도를 감소시켜 질화세균의 활성을 억제하는 방법이며 마지막은 암모니아의 초기 산화를 직접적으로 억제하는 방법이다. 이때의 저해제는 인체 혹은 다른 생물체에 대하여 안전하여야 한다. 또 다른 종류의 미생물에 의한 저해제의 분해가 이루어져야 하며 이상적으로는 이러한 분해과정이 시기적으로 작물의 성장이 활발해졌을 때 시작되어야 한다. 이와 같은 저해제로는 1964년에 Dow Chemical에서 개발하여 특허를

받은 N-Serve(2-Chloro-6-(trichloromethyl)pyridine)가 있다.

## 2. 폐수처리과정

국내에서의 폐수처리과정의 기본적인 목표는 지금까지도 생물화학적 산소요구량(BOD)를 줄이는데에 있다. 그러나 방류수가 유출되는 강이나 호수에서의 부영양화현상이 심각히 대두되고 있는 최근에는 2차처리 후 질소를 제거하는 과정인 3차처리과정에 대한 관심이 증가되고 있다. 2차처리가 종료된 후 85~90%의 질소는 암모니아의 형태로 존재한다. 따라서 질소의 제거는 질화작용-탈질화작용의 연결에 의하여 이루어진다. 이 경우 폐수처리의 속도결정단계는 긴 retention time을 필요로 하는 질화과정이 되는 데 실제 폐수처리공정의 운전에 있어서는 BOD의 제거, 질화작용, 탈질화과정에 관여하는 미생물의 최적 활성조건이 크게 다르므로 3공정으로 분리, 운전하는 것이 바람직하다(Mulbarger, 1971).

## 참고문헌

- Alexander, M. 1965. Nitrification. In 'Soil Nitrogen' ed. by W.V. Barthlomew and F.E. Clarke. *Amer. Soc. Agron.*
- Ardakani, M.S. *et al.*, 1974. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 38: 96-101.
- Broadbent, F.E. and F.E. Clarke, 1965. Denitrification. In 'Soil Nitrogen' ed. by W.V. Barthlomew and E.F. Clarke, *Amer. Soc. Agron.*
- Fenchel, T. and T.H. Blackburn, 1979. Bacteria and mineral cycling. Academic Press.
- Focht, D.D. and W. Verstraete, 1979. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. In 'Advances in microbial ecology vol. 1' ed-by M. Alexander. Plenum Press.
- Greenland, D.J., 1958. *J. Agr. Sci.* 50: 82-92.
- Kaplan, W.A., 1983. Nitrification. In 'Nitrogen in marine environment' ed. by E.J. Carpenter and D.G. Capone. Academic Press.
- Kido, T. *et al.*, 1975. *Arch. Microbiol.* 106: 165-169.
- Knowles, G. *et al.*, 1965. *J. Gen. Microbiol.* 38: 263-267.
- Matulewich, V.A. and M.S. Finstein, 1978. *Appl. Environ. Microbiol.* 35(1): 67-71.
- Mulbarger, M.C. 1971. *J. Water Pollut. Control Fed.* 43: 2059-2069.
- Tuffey, T.J. *et al.*, 1974. *Wat. Res. Bull.* 10(3): 555-564.
- Wong-Chong, G.M. and R.C. Loehr, 1975. *Wat. Res.* 9: 999-1002.