

## 양어장수내의 암모니아성 질소제거를 위한 질화세균군의 고정화

김성구 · 서재관 · 이종석 · 공인수 · 서근학\*  
부경대학교 생물공학과, \*화학공학과

# Immobilization of Nitrifier Consortium for the Removal of Ammonium Ion in the Recirculating Aquaculture System

Sung-Koo KIM, Jae-Koan SEO, Jong-Seok LEE, In-Soo KONG and Keun-Hack SUH\*

Dept. of Biotechnology and Bioengineering, \*Dept. of Chemical Engineering,  
Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

The immobilization of a microorganism has been rapidly progressed with the development of biotechnology in recent years. Although it has been used as a tool to isolate products from biological media in various areas, it has not yet been practiced in the treatment of waste water. In this paper, we suggest a possibility to apply the immobilization technique in the recirculating aquaculture system.

We examined the ability of  $\text{NH}_4^+$  removal by nitrifier consortium immobilized in  $\text{Ba}^{++}$ -alginate,  $\kappa$ -carrageenan and agar bead at the concentration of 50 g/L, respectively. In order to use the immobilized nitrifier consortium as media in the fluidized bed reactor, the strength of bead was measured.  $\text{Ba}^{++}$ -alginate as a support material showed higher strength of bead. Also, the nitrifier consortium immobilized in  $\text{Ba}^{++}$ -alginate showed higher nitrification activity that could remove 20 mg/L ammonium ion than those immobilized in other two support materials, carrageenan and agar. The immobilized nitrifier consortium showed better nitrification activity than free nitrifier consortium.

**Key words :** immobilization, bead, nitrification, nitrifier consortium

### 서 론

미생물의 고정화는 최근의 바이오테크놀로지 발전과 같이하여 급속히 진보하였다. 고정화 미생물을 이용한 생물반응기는 현재 cellulose, methane, ethanol, L-aspartic acid, L-malic acid, L-alanine과 같은 아미노산, 페니실린의 전구물질, 아크릴아마이드 생산 등 의약, 화학품 제조분야에서는 이미 공업화되어 이용되고 있다 (Nakasaki *et al.*, 1989; Tanaka *et al.*, 1986; Furui *et al.*, 1985; Kim *et al.*, 1985). 이러한 분야에서는 생물매체를 산물과 쉽게 분리할 수 있는 고정화법을 이용하고 있다 (Arcuri *et al.*, 1983). 미생물 고정화법은 반응조 내에 유용한 미생물을 고농도로 유지 가능한 점, 온도, pH 등의 환경조건이 악화되어도 이에 대응이 가능한 점, 폐수의 성상에 맞는 미생물을 선택할 수 있는 점, 독성물질에 대한 저해작용이 적은 점 및 활성슬러지처럼 벌킹현상이 일어나지 않는다는 장점을 가지고 있다. 이러한 미생물 고정화법의 종류는 여러 가지가 있는데 폐수처리의 경우는 미생물을 고분자 물질로 둘러싸는 여러가지 고정화 미생물법이 연구되고 있다 (Furusaki, 1988; Karel *et al.*, 1985). 그러나 아직까지 실용화 단계로는 개발되지 못하였고 특히 실용화를 위해서는 원하는 특성을 가진 고정화 미생물의 개

발이 요구되고 있다 (Tanaka *et al.*, 1991).

양식 시스템은 크게 두 가지로 분류되는데 가두리 양식장이나 유수식 양식장과 같이 양식장이 위치한 자연 환경에 의존하는 개방적 시스템과 고밀도로 어류를 사육하면서 물리화학적 및 생물학적 수처리 장치를 도입하여 배출수를 정화시키는 순환식 양식장과 같은 폐쇄적 시스템이 있다 (Rijn, 1996; Chin *et al.*, 1993). 우리나라에서는 부족한 수자원 문제와 생성폐수의 처리 측면의 어려운 환경에서 어류 양식업의 발전을 위한 해결책으로 순환여과식 양어법을 이용한 고밀도 사육시스템이 제시되고 있다 (Kim *et al.*, 1985). 순환 여과 사육 시스템의 경우 어류 배설물과 잔류 사료 등으로 인한 암모니아 및 아질산염의 축적은 어류에 악영향을 미치게 된다 (Colt *et al.*, 1981; Meada, 1985). 또한 하천으로 유입된 폐수 역시 BOD로 대표되는 탄소물질과 함께 질소와 인 등으로 구성되어 있다. 이중 특히 질소는 부영양화를 촉진하며 수생생물에 대한 암모니아성 질소의 독성뿐만 아니라 많은 산소소모를 가져와 어패류 폐사의 원인이 된다. 이와 같은 유기성 폐수는 자연적인 정화기능을 증가시킨 방법에 의해 처리하는데 이를 생물학적 처리라고 부른다. 하천의 자연적인 정화기능은 대부분 저부에 부착서식하고 있는 미생물에 의존하고 있다. 이러한 하천 생물막의 정확력

을 탱크중에서 효과적으로 진행시키는 폐수 처리법이 생물막법이라 부른다 (Canovas-diaz et al., 1988; Miller and Nicholas, 1985; Suidan et al., 1987). 그러나 이러한 생물막을 반응조내에서 이용시 생물막의 형성은 자연적으로 부착하기 쉬운 균이 우점종이 되어 밀집하게 된다. 이로 인한 생물막 내부의 혐기조건 및 외부의 생물막이 물리적인 힘에 의해 떨어져 나오게 됨으로써 처리조내의 생물함량이 낮아지며 처리성능을 저하시키는 원인이 된다고 알려져 있다 (Tatsuo Sumino et al., 1993). 그러므로 이러한 문제점을 개선하는 방법으로 고정화 미생물법을 이용한 수처리 방법에 많은 연구가 진행되고 있다.

고정화법에서 현재 연구되어지는 고분자로는 천연고분자로서 콜라겐 (Collagen), 젤라틴 (Gelatin), 한천 (Agar), 알긴산 (Alginate), 카라기난 (Carrageenan), 셀룰로즈 (Cellulose) 등이 있고 인조고분자로서 폴리아크릴 아마이드 (Polyacrylamide), 에폭시 수지, 광경화성 수지, 폴리에스테르, 폴리스틸렌, 폴리우레탄, 폴리비닐알코올 (PVA), 폴리에틸렌 글라이콜 (PEG)이 있다. 본연구에는 미생물에 독성이 적은 천연고분자를 사용하여 고정화하였다.

질화균을 고정하는 경우 순수 균주를 사용한 예가 많은데 실용적으로는 하수처리장의 활성슬러지를 암모니아로 순치하여 질화세균군을 형성하거나, 질화균이 많은 활성슬러지를 입수하는 것이 보다 싼값으로 질화미생물을 공급할 수 있는 방법이다 (Sumino et al., 1991; Sumino et al., 1992). 본연구에서는 활성슬러지를 사용하여 질화세균군 (nitrifier consortium)을 제조한 뒤, 고정화하여 순환여과식 양어장의 질소나 암모니아를 제거하기 위한 적절한 고정화 방법을 살펴보고 각 고정화법으로 생성된 bead의 활성을 비교 검토하여 생물막법의 단점을 극복해 보고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 재 료

Agar, κ-carrageenan, alginate는 공업용 및 식용의 low grade로서 명신화성 (경남 양산 서창)에서 제공받았다.

#### 질화세균군의 제조

실험에 사용된 질화세균군은 수영하수처리장에서 반입된 활성슬러지로 제조되었다. 반입된 활성슬러지는 회분식으로 합성폐수를 사용하여 암모늄이온에 1개월간 순치시킨 후 질화균세균 (nitrifier consortium)으로 만든 뒤 고정화하였다. 순치시 사용한 합성폐수의 조성은 Table 1과 같다.

#### 질화세균군의 세포중량

**Table 1. Composition of artificial waste-water in a recirculating aquacultural system**

Composition	Concentration (mg/L)	Function
NH <sub>4</sub> Cl	59.43	20 ppm, N source
NaHCO <sub>3</sub>	71.4	Alkalinity control
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	18.85	P source

고정화되는 질화세균군의 균체량을 측정하기 위해 질화세균군의 건조중량을 측정하였다. 3,000 rpm 15분간 원심분리후 pellet을 모아 105°C에서 24시간 건조시킨후 측정하였다. 고정화농도계산을 위한 wet-weight도 아울러 측정하였다. 105°C에서 건조한 질화세균군의 dry cell weight는 2.345 g/L였으며, wet cell weight는 7.5 g/L였다.

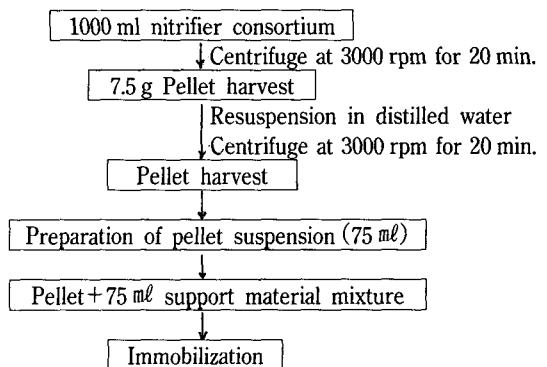
#### 질화세균군 고정화 방법 개발

##### 전처리

Fig. 1과 같이 고정화를 위한 전처리로 500 ml의 순치된 질화세균군을 3000 rpm에서 약 20분간 원심분리시킨후 상등액을 제거하였다. 다시 증류수로 현탁시킨후 다시 원심분리시켰다. Bead제조시 bead내의 wet cell의 농도를 50 g/L로 조정하기 위해 1L의 질화세균군 용액을 원심분리하여 나온 pellet에 증류수를 첨가하여 75 ml로 만든 후 75 ml의 bead조제용 생물고분자 용액을 첨가하여 총 150 ml의 bead를 제조하였다. 고정화시 사용된 peristaltic pump는 50 ml/min의 속도로 고정시켰으며 사용한 needle의 크기는 2 mm이다.

##### Ba<sup>++</sup>-Alginate법

고정화 장치의 개략적 모식도는 Fig. 2 (a)와 같다. 1% alginate와 pellet 혼합액을 유리용기에 넣은후 peristaltic pump를 사용하여 유리 실린더로 공급한다. 이어서 1% alginate와 cell pellet 혼합액을 needle를 통해 일정한 크기를 유지하면서 1.5% BaCl<sub>2</sub>용액 표면으로 적하시



**Fig. 1. Flowchart for the immobilization of nitrifier consortium.**

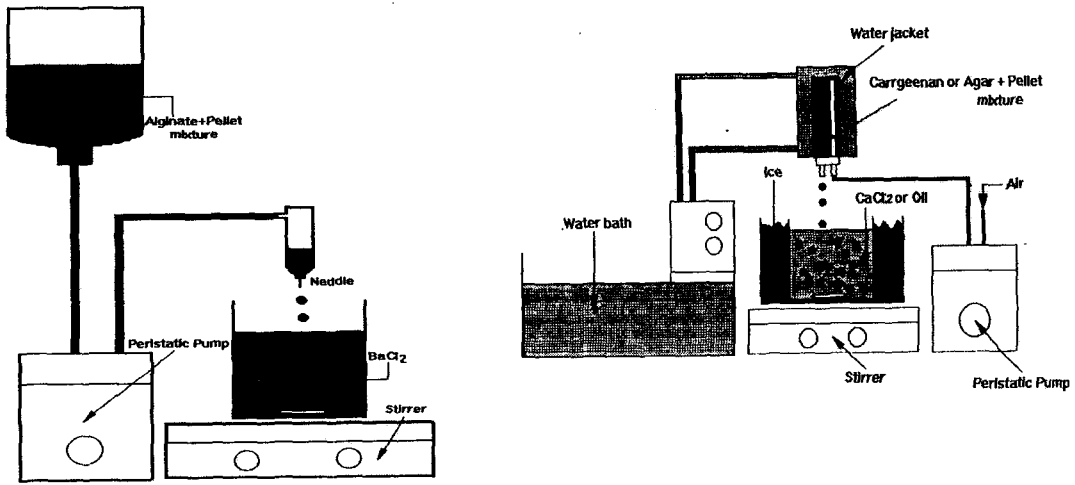


Fig. 2. Schematic of an apparatus for the immobilization of nitrifier consortium.

(a) Schematic diagram for  $Ba^{++}$ -Alginate preparation apparatus

(b) Schematic diagram for  $\kappa$ -Carrageenan and agar preparation apparatus

킨다. 1시간 후 형성된  $Ba^{++}$ -alginate bead를 20 ppm ammonia를 함유하는 인공폐수로 옮겨서 공기를 공급하면서 24시간 안정화 시켰다 (Nilsson et al., 1982; Tijhuis et al., 1992).

#### $\kappa$ -Carrageenan법

온도에 따른  $\kappa$ -carrageenan의 gel화를 이용한 것으로 4%  $\kappa$ -carrageenan은 약 50°C부터 gel화가 이루어진다. 실험장치의 개략적 모식도는 Fig. 2 (b)와 같다. 항온조를 55°C로 조정하고 oil은 10°C를 유지시킨다. Peristaltic pump를 사용하여 4%  $\kappa$ -carrageenan용액이 든 용기 내로 일정량의 공기를 주입한다. 공기압에 의해 4%  $\kappa$ -carrageenan용액은 needle을 통해 찬 oil내로 적하된다. 이때 온도를 계속 유지 시키기위해 heating jacket내로 55°C의 더운물을 계속 순환시킨다. Oil을 씻어내고 2% KCl 용액에 넣는다. 1시간 후 bead를 20 ppm ammonia농도의 인공폐수로 옮겨서 공기를 공급하면서 24시간 안정화 시켰다 (Arnaud et al., 1991; Hunik et al., 1994; Wijffels et al., 1991).

#### Agar법

실험장치는 Fig. 2 b의  $\kappa$ -carrageenan법과 같은 장치를 사용하였다. 온도에 따른 agar의 gel화를 이용한 것으로 4% agar는 약 50°C부터 gel화가 이루어진다. 항온조를 55°C로 조정하고 oil은 10°C를 유지시킨다. Peristaltic pump로 agar와 pellet 혼합액이 든 용기내로 일정량의 공기를 주입한다. 공기압에 의해 agar 및 pellet혼합 용액을 nee-

dle을 통해 찬 oil내로 적하시킨다. Oil을 씻어내고 2% KCl 용액에 넣어 안정화시킨다. 다시 1시간후 bead를 배지로 20 ppm ammonia농도의 인공폐수로 옮겨서 공기를 공급하면서 24시간 안정화 시켰다.

#### 각 Bead의 강도

각 bead의 강도는 breaking force로서 측정되었다. 사용한 물성측정기는 Rheometer nrm-3010D (Fudoh, Japan)로서 사용하여 bead 제조 즉시 측정하였다.

#### $NO_3^-$ 의 생성량 및 $NH_4^+$ 의 제거량 측정

1L 비고정화 질화세균균을 control로 하고 1L reactor에 150 ml의 질화세균균이 고정화된 bead를 첨가하여 1L 합성폐수에서 암모니아 제거능을 측정하였다. 조제한 bead는 batch 형태로 각각 인공폐수에 넣은 후 계속 폭기하면서 분석하였다.  $NO_3^-$ 의 생성량은 매 3시간마다 시료를 채취하여 Dionex사의 DX-100 Ion chromatography (Dionex company, USA)를 사용하여 측정하였으며,  $NH_4^+$ 의 제거량은 시료 50 ml에 1M NaOH를 첨가하여 암모니아로 변화시킨 후 이온전극법을 사용하여 측정하였다.

## 결 과

#### Bead의 성상

Fig. 3의 (a), (b), (c)는 각각  $Ba^{++}$ -alginate법,  $\kappa$ -carrageenan법, agar법으로 만든 bead의 성상이다. 같은needle을 사용하여 peristaltic pump의 속도를 일정하게 하여 만들었을 때 agar의 경우가 5mm의 평균직경을 가

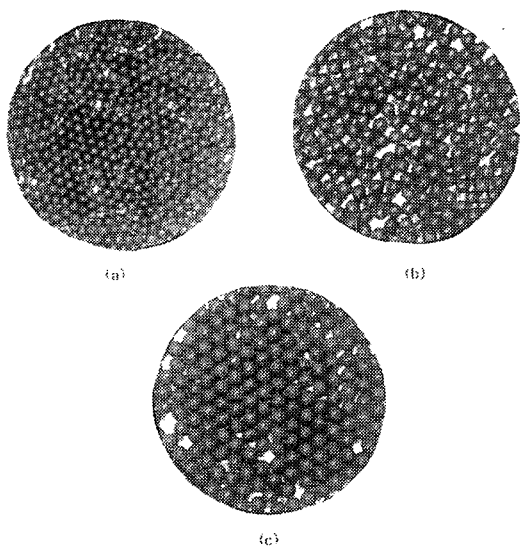


Fig. 3. Pictures of nitrifier consortium immobilized in various beads.

- (a) Ba<sup>++</sup>-Alginate bead containing nitrifier consortium (50 g wet cell/L)
- (b) κ-Carrageenan bead containing nitrifier consortium (50 g wet cell/L)
- (c) Agar bead containing nitrifier consortium (50 g wet cell/L)

지고 있었으며 가장 크기가 컸다. κ-carrageenan의 경우 4.5 mm, Ba<sup>++</sup>-alginate의 경우 2.5 mm의 평균직경을 가지고 있었으며 이는  $D=f(\eta)$ 의 관계에서 용액의 점도와 정비례 관계가 있었다. 각각의 용액 bead제조 온도인 55 °C, 55°C, 25°C에서의 점도는 4% agar의 경우 90 cpm, 4% κ-carrageenan의 경우 70 cpm, 및 1% alginate의 경우 30 cpm의 점도를 가졌으며 점도와 bead의 직경과는 비례 관계가 있음을 알 수 있었다.

각 bead의 강도

각 고정화법에 따른 강도는 Fig. 4와 같으며, 각 고분자의 같은 농도에서 Ba<sup>++</sup>-alginate bead가 2%일 때 1,450 g로 가장 강도가 높았으며 k-carrageenan bead, agar bead의 순서로 bead강도는 감소하였다. 질화반응조로 사용되고 있는 fluidized bed reactor에서 bead를 사용하기 위해서는 고정화 bead의 내구성이 높아야만 한다. 그러므로 강도로 볼 때 Ba<sup>++</sup>-alginate bead가 가장 이상적이라 할 수 있었다. 아울러 지속적인 양어장수 유입과 암모니아 제거를 위해서는 장시간동안 bead의 강도를 유지해야 한다. 그러나 본 실험에서 사용된 생물고분자의 경우 유입되는 양어장수에 존재하는 미생물에 의해 분해 효소가 나오거나 Ba<sup>++</sup>-alginate bead의 경우 Ba<sup>++</sup>이온의 지속적인 유출로서 15일 제부터 bead의 연화현상이 일어났다. 고정화 bead는 그 형태를 1개월간 유지하였다.

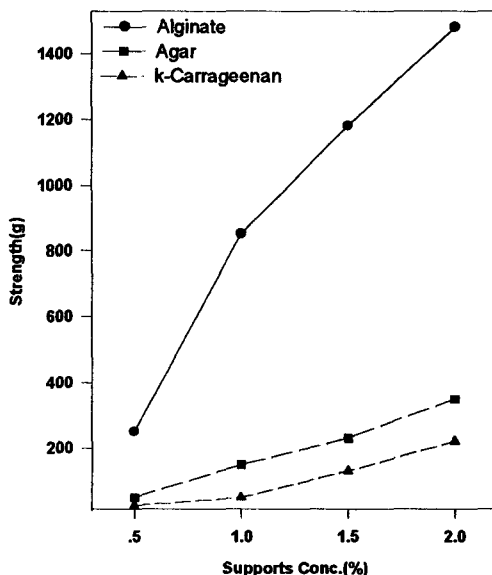


Fig. 4. Strength of beads prepared with various concentrations of biopolymers.

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>의 제거량 및 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>의 생성량

Fig. 5의 (a), (b), (c), (d)는 각각 같은량의 질화세균군을 함유하고 있는 고정화시키지 않은 질화세균군 (control), Ba<sup>++</sup>-alginate bead, agar bead, 및 κ-carrageenan bead에 고정화된 질화세균군의 암모니아 제거능, 질산생산능 및 pH의 시간에 따른 변화를 측정된 결과이다. Control인 비 고정화 질화세균군 (Fig.5. (a))의 경우 20 mg/L의 암모늄 이온을 제거하는데 약 9시간이 소요됨을 알 수 있었다. 또한 암모늄이온이 질화세균군에 의해 질산염으로 변하면서 질산염의 농도가 증가하며 이에 따른 pH가 다소 감소하였다.

Fig.5. (b)의 Ba<sup>++</sup>-alginate bead에 고정화된 질화세균군의 경우 20 mg/L의 암모늄 이온을 제거하는데 약 6시간이 소요됨을 알 수 있었다. 아울러 질산염의 농도는 10 ppm정도로 낮았다. 질산균내에 섞여있던 탈질세균들이 bead내부의 혐기적 조건하에서 질산균이 생성한 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>를 N<sub>2</sub>로 환원하게 됨으로서 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>의 농도가 낮았다. NO<sub>3</sub><sup>-</sup>의 농도가 낮으므로 결과적으로 pH도 거의 일정하게 유지함을 관찰할 수 있었다. 그러므로 고정화된 질화세균군을 사용함으로써 비고정화 질화균을 사용할 때보다 질화능 및 암모니아의 제거 효율이 증가함을 관찰할 수 있었다.

Fig.5. (c)의 agar bead에 고정화된 질화균군의 경우와 Fig.5. (d)의 κ-carrageenan bead에 고정화된 질화세균군의 경우는 매우 낮은 암모늄이온 제거 활성을 보여주었다. 이는 bead 제조시 agar와 κ-carrageenan의 sol화에 필

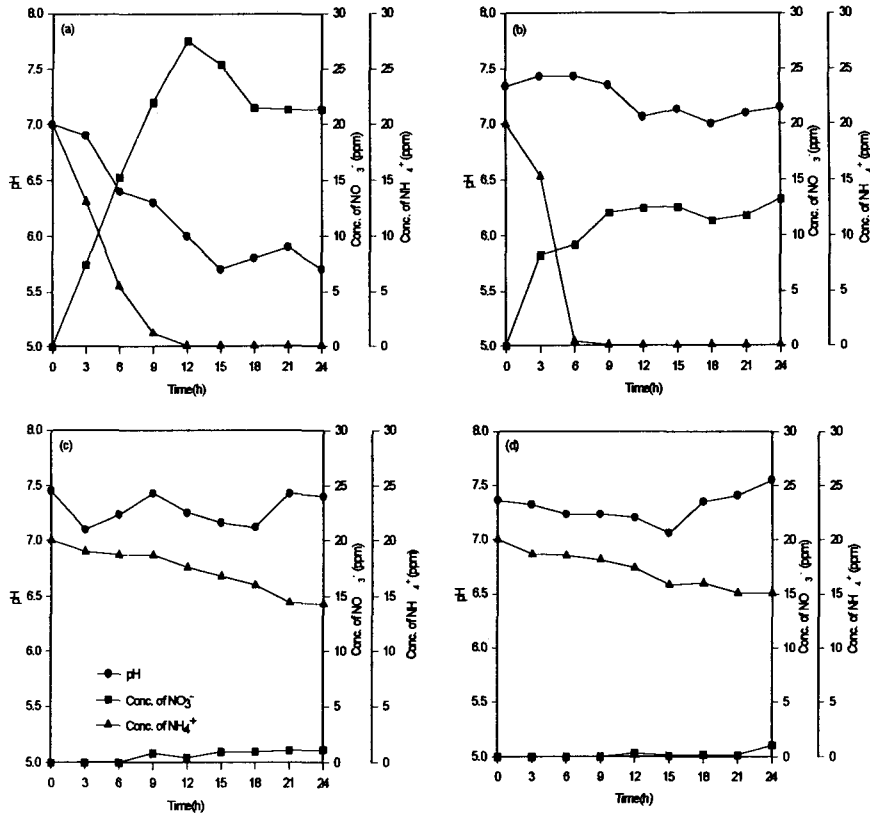


Fig. 5. Ammonia removal, nitrate production and pH changes of artificial water in recirculating aquacultural system by nitrifier consortium immobilized in various biopolymers.

- Free nitrifier consortium as a control
- Nitrifier consortium immobilized in  $\text{Ba}^{++}$ -Alginate bead
- Nitrifier consortium immobilized in agar bead
- Nitrifier consortium immobilized in  $\kappa$ -Carrageenan bead

요한 온도인 55°C에서 질화세균을 혼합하여 gel을 만들었다. 그러므로, 고정화 과정에 걸리는 20~30분동안 55°C의 온도에서 대부분 질화세균들이 열에 의한 damage를 받았기 때문에 질화활성 및 암모니아 제거 활성을 보이지 않았으리라 짐작된다.

## 고찰

고정화한 질화세균을 이용하여 양어장 순환수 혹은 폐수의 암모니아를 효과적으로 제거할 수 있다. 고정화 미생물을 이용한 질화 및 탈질공정의 경우 기존의 생물막법이 지닌 문제점을 해결해 줄 수 있는 방안을 제시하고 있다. 특히 성장속도가 느린 질화 및 탈질균의 경우 생물막법의 사용할 때 그 효율이 떨어지는데 반해 미생물 고정화법의 경우 질화 및 탈질균의 성장에 영향을 미치는 많은 요인을 배제할 수 있다는 장점을 지니지만 아

직까지 실용화되기까지는 많은 문제점을 지니고 있다. 가장 큰 문제점으로서 적절한 고정화제의 선정이다. 고정화제로 실용화되기 위해서는 몇 가지 조건을 만족시켜야 하는데 수용성의 재료로 상온에서 고정화가 가능할 것, 고정화시 및 고정화후 미생물에 대한 독성이 적을 것, 고정화 bead 내부로 기질의 투과성이 뛰어나는 것, 고정화제 자체가 생물분해력이 적고 내구성이 우수할 것, 미생물의 누출이 적을 것, 물리적으로 취약하지 않을 것, 가격이 싸울 것이다. 특히 이러한 고정화 미생물을 fluidized bed reactor에서 사용하기 위해서는 bead의 강한 내구력이 요구되어 지는데 본 실험에서는  $\text{Ba}^{++}$ -alginate bead의 breaking force가 1,450 g으로 가장 높은 내구력을 지니고 있으므로 가장 적합한 bead라고 할 수 있었다. 또한 고정화  $\text{Ba}^{++}$ -alginate에 고정화된 질산균의 경우 20 mg/L의 암모늄 이온을 제거하는데 약 6시간으로 높은 활성을 보여주었다. 그러나 agar 및  $\kappa$ -carrageenan에 고정화

된 질산균의 경우는 매우 낮은 활성을 보여주었다. 이것은 고온에서 bead를 제조하게 됨으로서 질화세균에 많은 손상을 주어서 활성을 잃어 버리게 되므로, 이러한 고정화법을 이용 할 때는 가능한 낮은 온도에서 빠른 시간내에 처리를 하여야만 높은 활성을 얻을 수 있을 것이다.

본 실험에서는 양어장 순환수에 가장 큰 문제인 암모니아성 질소의 제거에 초점을 두고있지만 이러한 고정화법을 실용화할 때에는 질소 제거뿐만 아니고 유기물, 인을 동시에 제거하는 방법이 개발 되어야만 한다.

## 요 약

최근 biotechnology 발전과 같이하여 미생물 고정화법이 급속히 진보하였다. 도처에 있는 biological media로부터 products를 추출하기 위해 미생물 고정화법은 많이 적용되고 있지만 아직 하수처리에 적용은 되고 있지 않다. 그러므로 본 연구에서는 순환 양식 시스템에 고정화 기술의 적용 가능성을 타진 하였다.

fluidized bed reactor에서 bead에 고정화된 질화세균을 사용하기 위해서는 고정화 bead의 내구성이 높아야 함으로 각 고정화법에 따른 강도는  $Ba^{++}$ -alginate bead가 1450 g의 breaking force로 가장 높은 내구력을 지니고 있음으로 가장 적합한 bead라고 할 수 있었다. 또한 20 mg/L ammonium ion을 제거 하는데  $Ba^{++}$ -alginate bead는 다른 두 bead보다 훨씬 높은 활성을 나타내었으며, 아울러 고정화 질화세균이 비고정화 질화세균보다 높은 질화 효율을 보여 주었다.

## 사 사

본 연구는 농림수산부에서 시행한 96년도 농림수산 첨단 연구사업의 연구 결과이며, 이에 관계자 여러분께 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Arcuri, E. J., J. R. Nichols, T. S. Brix, V. G. Santamarian, B. C. Buckland and S. W. Drew. 1983. Thienamycin production by immobilized cells of *Streptomyces cattleya* in a bubble column. *Biotech. & Bioeng.*, 25, 2399~2411.
- Arnaud, J. P. and C. Lacroix. 1991. Diffusion of Lactose in  $\kappa$ -carrageenan/locust bean gum gel beads with or without entrapped growing lactic acid bacteria. *Biotech. & Bioeng.*, 38, 1041~1049.
- Canovas-diaz, M. and J. A. Howell. 1988. Stratified mixed-culture biofilm model for anaerobic digestion. *Biotech. & Bioeng.*, 32, 348~355.
- Chin, K. K., S. L. Ong and S. C. Foo. 1993. A water treatment and recycling system for intensive fish farming. *Wat. Sci. Tech.*, 27 (1), 141~148.
- Colt, J. E. and D. A. Armstrong. 1981. Proceedings of the Bioengineering Symposium for Fish Culture. American Fisheries Society, Fish Culture section, Bethesda, 39~42.
- Furui, M. and K. Yamashita. 1985. Horizontal baffle effects on compaction of immobilized cell catalyst beds. *J. Ferment. Technol.*, 63 (1), 73~78.
- Furusaki, S. 1988. Engineering aspects of immobilized biocatalysts. *J. Chem. Eng.* 21 (3), 219~230.
- Hunik, J. H., G. Bos Ceas, P. Marijke, Hoogen van den, D. Cornelius, Gooijer De and Johannes Tramper. 1994. Co-immobilized *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter agilis* cells: Validation of a dynamic model for simultaneous substrate conversion and growth in  $\kappa$ -carrageenan gel beads. *Biotech. & Bioeng.*, 43, 1153~1163.
- Karel, S. F., S. B. Libicki and C. R. Robertson. 1985. The immobilization of whole cells : Engineering principles. *Chem. Eng. Sci.*, 40 (8), 1321~1354.
- Kim, J. H., D. K. Oh and Y. H. Park, D. A. Wallis. 1985. Production of penicillin in a fluidized-bed bioreactor using a carrier-supported mycelial growth. *Biotech. & Bioeng.*, 28, 1838~1844.
- Meada, J. W. 1985. *Progressive fish-culturist.* 47, 135.
- Miller, D. J. and D. J. D. Nicholas. 1985. Characterization of a soluble cytochrome oxidase/nitrite reductase from *Nitrosomonas europaea*. *J. Gen. Microbiol.*, 131, 2851~2854.
- Nakasaki, K., T. Murai and T. Akiyama. 1989. Dynamic modeling of immobilized cell reactor : Application to ethanol fermentation. *Biotech. & Bioeng.*, 33, 1317~1323.
- Nilsson, I. and S. Ohlson. 1982. Columnar Denitrification of water by immobilized *Pseudomonas denitrificans* cells. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 14, 86~92.
- Rijn, J. V. 1996. The potential for integrated biological treatment systems in recirculating fish culture. *Aquaculture*, 139, 181~201.
- Sumino, T., H. Nakamura, N. Mori and Y. Kawaguchi. 1992. Immobilization of nitrifying bacteria by polyethylene glycol prepolymer. *J. Ferm. Bioeng.*, 73, 37~42.
- Suidan, M. T., B. E. Rittmann and U. K. Traegner. 1987. Criteria establishing biofilm-kinetic types. *Wat. Res.*, 21 (4), 491~498.
- Sumino, T., H. Nakamura and N. Mori. 1991. Immobiliz-

- ation of activated sludge by the acrylamide method. *J. Ferm. Bioeng.*, 72, 141~143.
- Tanaka, K., M. Tada, T. Kimata, S. Harada, Y. Fujii, T. Mizuguchi, N. Mori and H. Emori. 1991. Development of new nitrogen removal system using nitrifying bacteria immobilized in synthetic resin pellets, *Wat. Sci. Tech.*, 23, 681~699.
- Tanaka, H., Kurosawa H. and Murakami H. 1986. Ethanol production from starch by a coimmobilized mixed culture system of *Aspergillus awamori* and *Zymomonas mibilis*. *Biotech. & Bioeng.*, 28, 1761~1768.
- Tatsuo, S., Hiroki N. and Naomichi M. 1993. Development of a high-efficiency wastewater treatment system using immobilized microorganisms. in "Industrial application of immobilized biocatalysts", (Marcel Dekker, Inc, NewYork), pp. 371~391.
- Tijhuis, L., Van M. C. M. Loosdrecht and J. J. Heijnen. 1992. Nitrification with biofilms on small suspended particles in airlift reactors. *Wat. Sci. Tech.*, 26 (9), 2207~2211.
- Wijffels R. H., C. D. de Gooijer, S. Kortekaas and J. Tramper. 1991. Growth and substrate consumption of *Nitrobacter agilis* cells immobilized in carrageenan : Part 2. Dynamic modeling. *Biotech. & Bioeng.*, 38, 232~240.

---

1997년 7월 4일 접수

1997년 9월 4일 수리