

## Bacillus sp. A8-8에 의한 수질 중의 암모니아 및 아질산성 질소 제거

이용석 · 유주순 · 정수열<sup>1</sup> · 최용락\*

동아대학교 생명자원과학부  
<sup>1</sup>동주대학 식품과학계열

### Removal of Ammonia and Nitrite in Water by *Bacillus* sp. A8-8

Yong-Seok Lee, Ju-Soon Yoo, Soo-Yeol Chung<sup>1</sup> and Yong-Lark Choi\*

Division of Biotechnology, Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea  
<sup>1</sup>Dept. of Food Science, Dongju College, Busan 604-715, Korea

#### Abstract

The purpose of this study is to improve the system for biological nitrogen oxidizing process in sewage and wastewater. A bacterium having high abilities to oxidize of nitrogen was one of the possessed on Lab. The strain was identified to *Bacillus* sp. A8-8, based on the physiological and biochemical properties. And the strain has ability degradation crude oil. In comparison with oxidizing rates with changing initial pH and temperature, the strain *Bacillus* sp. A8-8 was nitrogen oxidizing ability and growth rate on the various of pH, temperature. Oxidizing rates of the strain in sewage and wastewater were about 48% and 62%, respectively. The nitrogen oxidizing rate was increased in proportion to the initial concentration of glucose. The microorganism, *Bacillus* sp. A8-8, immobilized in ceramic carrier were evaluated for the oxidation of ammonia in culture media.

**Key words** – Nitrogen oxidizing, *Bacillus* sp., immobilization, ceramic media, aquaculture

#### 서 론

질소 오염원을 제거하는 방법은 물리·화학적 처리와 생물학적 처리법이 알려져 있다. 물리·화학적 처리법으로 암모니아 stripping 법이나 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 질소가스로 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 등[6,7,9,11]은 *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas* sp.를 이용하여 기질, 온도변화 등의 조건변화 및 고정화 균주를 이용한 효율적 탈질 방법을 연구해 왔다. 유기 오염 물질들을 제어하는 생물학적 방법이 있지만 여러 가지 어려운 점이 있다.

인간 및 가축의 분뇨, 도시 하수, 산업 폐수, 비료에 의한 농업 폐수 및 쓰레기 침출수에 포함된 질소 성분은 호소의 부영양화를 일으켜 수중 생태계의 악영향을 끼친다 [12]. 이들 질소 오염원의 질소 형태를 살펴보면, 암모니아

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 051-200-7585, Fax : 051-200-6993  
E-mail : ylchoi@mail.donga.ac.kr

성 질소와 유기질소로 구성되어 있다. 일반적으로 자연계에서의 질소 사이클은 질소분자( $N_2$ ) → 암모니아성 질소( $NH_4-N$ ) → 아질산성 질소( $NO_2-N$ ) → 질산성 질소( $NO_3-N$ ) → 질소분자( $N_2$ )의 순환 고리에 의해 질소의 존재 형태가 변화 되어진다[2]. 암모니아성 질소는 질산화 반응에 상당량의 산소를 소모하므로 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.

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 순치 한 후 고정화 할 수 있어 높은 효율을 얻을 수 있고 미생물의 유실이 없어 반응기 내에 유용한 미생물을 농도로 유지 할 수 있다. 또 온도나 pH 같은 환경 조건이 급격히 변화하거나 독성 물질이 유입되어도 고정화 미생물 자체의 완충 작용에 의해 활성이 변하지 않는 장점을 가지고 있다[10,11]. 또한 처리 수와 미생물의 분리가 매우 용이하여 별도의 분리 시설이 불필요하므로 공정의 규모를 대폭 줄일 수가 있다.

따라서 본 연구에서는 질소를 제거해 줄 수 있는 미생물을 폐수 처리에 이용하고자 자연계에서 생육이 양호하며 유기물 분해능이 우수한 균주인 *Bacillus* sp.를 이용하여 수

질 중의 질소 제거 능력을 조사하였으며, 이와 같은 질소 산화 능력을 수처리 공정에 적용할 수 있는 균주로 개발하고자 기초적 연구를 수행하였기에 보고 하고자한다.

## 재료 및 방법

### 실험 균주

본 연구에 사용한 균주는 유류 오염 지역에서 분리한 유류 분해능의 특성을 가진 균주로서 본 연구실에서 보관 중인 균주, *Bacillus* sp. A8-8을 사용하였다. 질소의 이용이 양호하도록 암모니아가 함유된 배지(Table 1)에서 7일간 진탕 배양을 하면서 암모니아성 질소 산화능이 있음을 확인한 뒤에 공시 균주로 사용하였다. 균주의 일반적인 계대 배양은 LB-broth를 사용하였으며, 질소 산화 측정을 위한 배지의 조성은 Table 1에 나타난 바와 같다.

### 질소 산화 측정을 위한 배양

암모니아성 질소의 산화를 측정하기 위하여 ammonium sulfate를 첨가한 배지에서 배양한 후, 시간대에 따른 암모니아의 경시적인 감소율 변화를 보고자 하였다. 일정 시간대 별로 샘플링하여 균 생육 정도를 측정하고 생육된 균을 4℃, 10,000 rpm에서 원심분리 하여 얻은 배지의 상등액에 존재하는 암모니아성 질소, 아질산성 질소 및 질산성 질소의 함량을 측정하였다. 또한, 아질산성 질소의 산화를 확인하기 위해서는 sodium nitrite를 첨가한 배지에서 배양한 배양 상등액으로부터 동일 방법으로 샘플링하여 균 생육정

Table 1. Media composition for the measurement of nitrification

| Ammonia oxidizing medium |                     | Nitrite oxidizing medium |                     |
|--------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|
| Component                | Concentration (g/L) | Component                | Concentration (g/L) |
| $(NH_4)_2SO_4$           | 0.5                 | $NaNO_2$                 | 0.5                 |
| $Na_2HPO_4$              | 13.5                | $Na_2HPO_4$              | 13.5                |
| $KH_2PO_4$               | 0.7                 | $KH_2PO_4$               | 0.7                 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$     | 0.1                 | $MgSO_4 \cdot 7H_2O$     | 0.1                 |
| $CaCl_2 \cdot 2H_2O$     | 0.18                | $CaCl_2 \cdot 2H_2O$     | 0.18                |
| $NaHCO_3$                | 0.5                 | $NaHCO_3$                | 0.5                 |
| $FeCl_3 \cdot 6H_2O$     | 0.014               | $FeCl_3 \cdot 6H_2O$     | 0.014               |

Place 75ml amounts of medium into 250ml Erlenmeyer flasks, and sterilize at 121℃ for 15 min. For nitrite oxidizers, add 0.5 g of  $NaNO_2$  per liter prior to sterilization. For ammonium oxidizers, sterilize a stock solution of  $(NH_4)_2SO_4$  separately from the basal medium and add aseptically to give a final concentration of 0.5 g/liter.

도를 측정하고 생육된 배지의 상등액에 존재하는 각종 아질산성 질소와 질산성 질소의 함량을 측정하였다.

**분석 방법**

실험 균주의 생육도는 610nm의 흡광도로 측정하였으며, 사용한 기기는 UV-spectrophotometer(Pharmacia Biotech, Ultrospec3000, U.S.A)를 사용하였다. 암모니아성 질소 및 아질산성 질소 산화 균주의 산화율은 배지 내의 암모니아성 질소, 아질산성 질소 및 질산성 질소의 농도 변화를 경시적으로 측정하여 비교하였다. 암모니아성 질소는 인돌페놀법, 아질산성 질소는 디아조화법, 질산성 질소는 부루신법을 이용하였으며, 이는 수질 오염 공정 시험법에 준하여 분석하였다[1].

**실험 균주의 담체 고정화 및 질소산화능 측정**

미생물을 담체에 고정화시키는 방법은 사용한 *Bacillus* sp. 균주를 48시간 동안 배양한 배양액에 하루 동안 건조 멸균시킨 평균 직경이 0.5 mm의 세라믹 담체를 완전히 잠기게 담근다. 미생물 배양액과 담체가 섞여진 샘플을 실온에서 좌우로 흔들여 주는 장치(shaker, 호기적 조건)로 48시간 정도 반응시키면서 담체에 고정시켰다. 이 때 건조된 담체의 다공질 공극 사이로 수분이 충전되면서 미생물 입자가 흡착, 고정되어 생물막을 형성하게 된다. 이 과정에서 형성된 생물막의 모습을 전자 현미경으로 관찰하여 확인하였다. 질소 산화능의 측정은 미생물이 부착된 담체를 1/50, 1/250 (v/v)의 양이 되게 액체 배지에 접종한 후, 경시적

으로 암모니아성 질소와 질산성 질소의 변화 양상을 측정하였다.

**전자현미경 관찰**

배양한 미생물을 담체에 고정시킨 sample을 2~4% glutaraldehyde (0.1M cacodylate buffer pH 7.2, 0.1% MgSO<sub>4</sub> 포함)로 30분에서 24시간동안 실온에서 전고정하였다. Cacodylate buffer pH 7.2로 2시간 동안 세척하고, 0.2M cacodylate buffer (pH 7.4)에 1% 되게 녹인 오스미움산(osmiumic acid) 용액으로 4℃에서 24시간 동안 2차 고정시켰다. 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, 주사전자현미경(SEM, JSM35CF, JAPAN)으로 관찰하여 사진 촬영하였다[8].

**결과 및 고찰**

***Bacillus* sp. A8-8의 생육 특성**

실험 균주의 배양학적 조건에 따른 질소의 산화력을 조사하고자 배양 온도 및 배양 배지의 초기 pH에 따른 균주의 생육 특성을 조사하였다 (Fig. 1). 실험 균주 *Bacillus* sp. A8-8의 균주는 교반 속도 180 rpm, 배양 온도 37℃에서는 초기 배지 pH 4.5에서 pH 10까지의 범위에서 생육이 양호하였으며, 배양된 균주의 밀도를 높게 접종한 경우는 보다

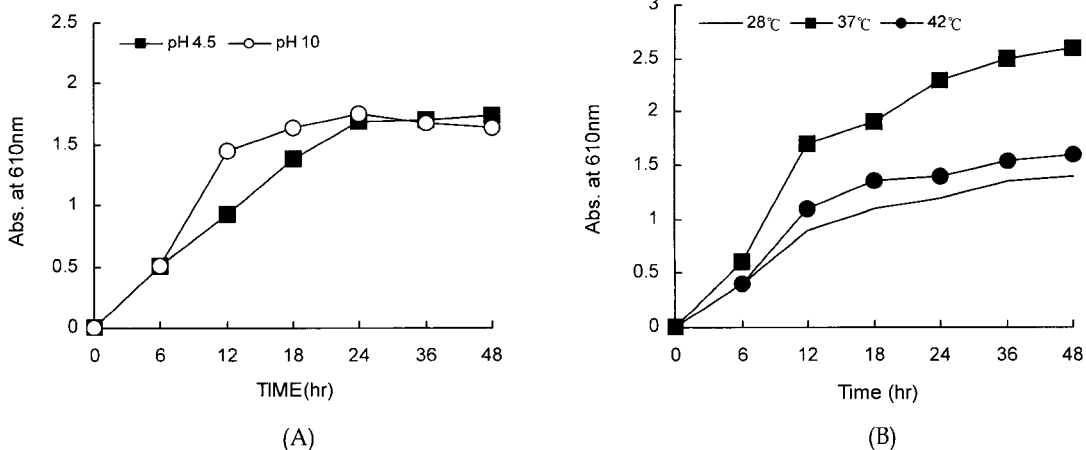


Fig. 1. Effect of initial pH and temperature on the growth of *Bacillus* sp. A8-8.

더 폭 넓은 범위의 초기 생육 pH에서도 생육 활성이 가능하였다 (자료 미제시). 다양한 배양 온도에서의 생육도를 실험한 결과 28℃, 37℃ 그리고 42℃에서 생육이 양호하였으며 비교적 양호한 생육 활성을 나타내 보이는 생육 가능 온도 범위는 4℃에서 45℃로 넓게 나타났다. 본 결과는 미생물을 이용한 생물학적 처리의 문제점인 겨울철 처리 효율에 있어서도 안정적인 처리 효율을 유지 할 수 있는 균주로서 이용이 가능할 것으로 예상된다.

**Bacillus** 균주의 배지 중 암모니아성 질소 산화 능력

실험 균주 *Bacillus* sp. A8-8을 30℃에서 질소원으로 암모니아성 질소인 sodium sulfate를 첨가한 배지에 배양시켜서 질소 산화능을 비교한 결과는 Fig. 2에서 보여주고 있다. 균주의 생육도는 탄소원 농도에 따라 약간의 차이를 보였으며, 배양 12시간 때부터 암모니아성 질소의 감소를 보이기 시작해 24시간 이후에 암모니아성 질소를 72% 정도까지 감소시키고, 암모니아성 질소의 산화가 증가되면서 배양 30시간 후에는 아질산 생성이 최고를 나타내었다가 점차 감소되는 현상을 볼 수 있었다(Fig. 2A). 탄소원으로 0.5% glucose를 첨가한 처리 주에서 0.25% glucose를 처리한 주보다 *Bacillus* sp. A8-8의 생장률이 보다 빨랐다. 배양 12시간 이후 더 빠른 암모니아성 질소의 제거율을 보였으며, 30시간 이후 잔존량이 측정되지 않았으며, 상대적으로 아질산성 질소는 0.5% glucose 처리 주에 비해 상대적으로 높은 증가를 보이다가 감소하였으며 이는 탄소원의 농도가 증가함에 따라 암모니아성 질소의 산화율이 증가되어지는

현상으로 확인할 수 있었다(Fig. 2B). 한편 탄소원으로 0.5%의 폐당밀을 사용한 경우는 배양 36시간 이후 암모니아성 질소가 거의 제거되었다. 이는 0.5% glucose를 첨가한 처리구 보다는 제거율이 늦어졌으나 0.25%의 처리구 보다는 매우 효과적이었다(Fig. 2C). 질산성 질소는 반응 초기부터 높은 수치를 보이다가 배양 24시간 이후부터 급격히 감소하여 glucose를 처리한 경우와는 상이한 결과를 보였는데, 이는 탄소원으로 사용한 폐당밀의 성분에 의한 것으로 생각되어진다. 따라서 이 균주를 생물학적 처리용 미생물 제재로서 개발 할 때에는 저 농도 탄소원에서의 균주 생육 조건 확립과 저렴한 탄소원을 이용한 배양 시험을 실시하여 보다 더 경제적이며 적합한 배양 조건과 질소 제거 효과의 확립을 위한 실험이 더욱 요망되어진다.

**Bacillus** 균주의 배지 중 아질산성 질소 산화 능력

질소원으로 아질산성 질소인 sodium nitrite를 첨가한 배지에서 실험 균주의 아질산성 질소 산화능을 측정할 결과는 Fig. 3과 같다. 탄소원의 농도를 0.25% glucose를 첨가한 *Bacillus* sp. A8-8 균주에서는 배양 24시간 이후 첨가하여준 모든 아질산성 질소를 모두 산화하였으며 탄소원 농도가 0.5% glucose를 첨가시킨 배지에서는 배양 12시간 이후 첨가하여준 아질산성 질소를 거의 소모하였다. 아질산성 질소의 산화 경향은 모든 아질산성 질소가 소모된 배양 12시간 전에 질산성 질소의 증가가 최대치를 보였다가 급격히 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 남[7] 등이 분리한 질소 산화 균주는 아질산성 질소 산화시에 4일 후

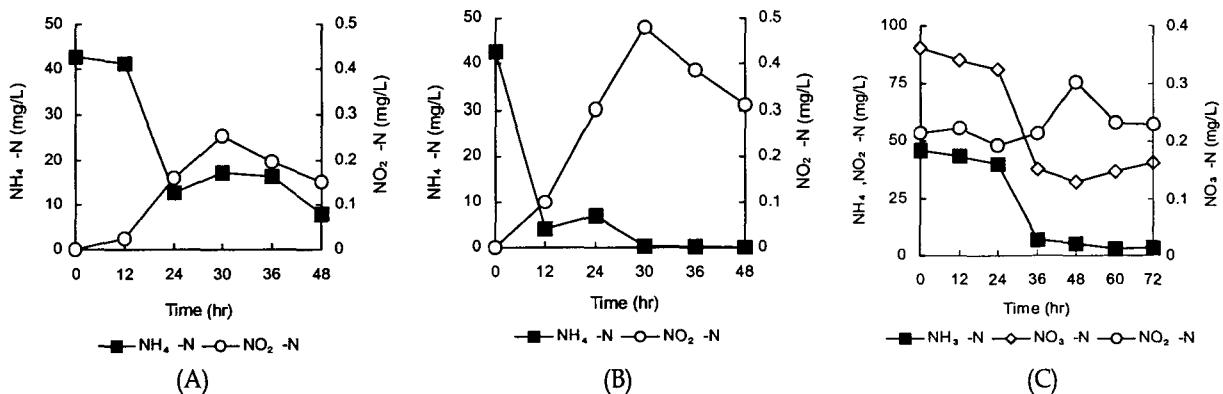


Fig. 2. Ammonia oxidizing ability of *Bacillus* sp. A8-8 supplied with glucose as carbon source. Sampling for investigating growth profiles and nitrogen oxidizing was made every designated time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4℃. A) 0.25% glucose B) 0.5% glucose C) 0.5% molasses.

*Bacillus* sp. A8-8에 의한 수질 중의 암모니아 및 아질산성 질소 제거

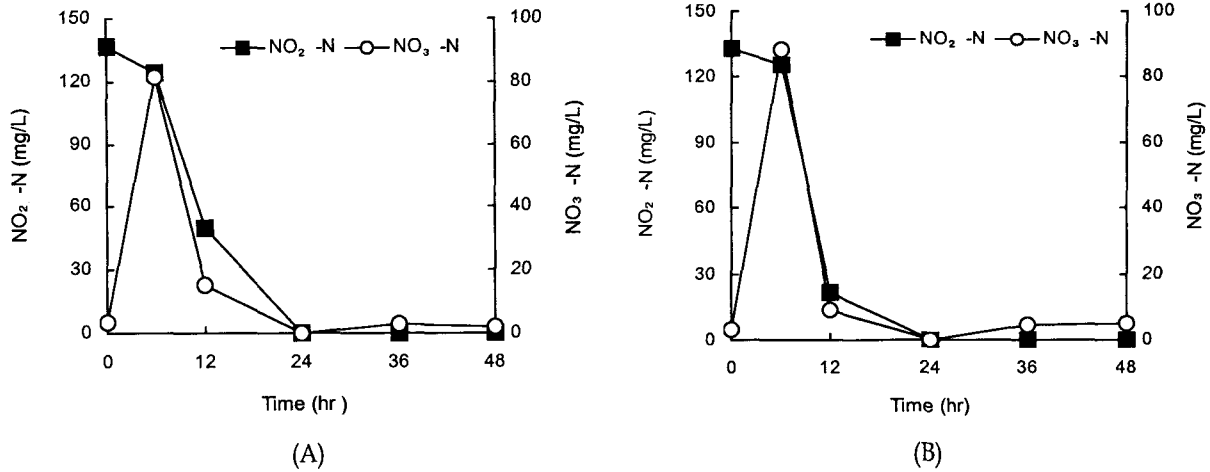


Fig. 3. Nitrite oxidizing ability of *Bacillus* sp. A8-8 supplied glucose for carbon source. Sampling for investing growth profiles and nitrogen oxidizing was every designated time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C. A) 0.25% glucose B) 0.5% glucose.

에는 아질산성 질소가 거의 제거되면서 상대적으로 질산성 질소가 증가되는 균주였으나 본 실험에서의 균주는 질산성 질소가 일시적으로 증가하다가 감소함으로서 질소 제거 효과가 뛰어난 것으로 생각되어 질소 제거용 균주로서는 더욱 적합하다고 할 수 있겠다.

폐수 중의 암모니아성 질소 산화 능력

실험 균주인 *Bacillus* sp. A8-8을 공장 폐수와 생활 하수를 이용하여 폐수에 존재하는 암모니아성 질소 및 아질산성 질소 산화율을 측정하였다. 미리 전 배양한 균주를 접종하고 아무런 영양원을 첨가하지 않고서 30°C에서 진탕하면서 질소의 산화율을 측정하여 Fig. 4와 5에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 도시 하수 중 암모니아성 질소는 *Bacillus* sp. A8-8을 처리한 경우 48시간 이후 48%의 감소율을 보였으며 아질산성 질소는 초기 농도에 비하여 4.5배 늘어난 후 급격히 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 공장 폐수에서의 질소 제거 능력은 사용한 분리 균주에서 높은 제거 효과를 나타내었다. Fig. 5는 산업 폐수 중 암모니아성 질소의 산화를 나타낸다. *Bacillus* sp. A8-8을 처리한 경우 62% 정도의 감소를 관찰하였으며, 이러한 암모니아성 질소의 급속한 감소로 악취가 제거됨을 관찰할 수 있었다. 아질산성 질소는 배양 48시간 이후 최고치가 되었다가 점차 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같이 질소 산화 능력이 우수한 *Bacillus* sp. A8-8의 균

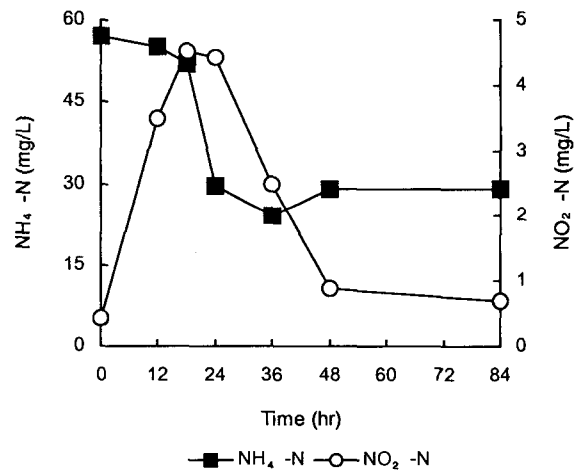


Fig. 4. Ammonia oxidizing ability of *Bacillus* sp. A8-8 in sewage. Strain was incubated at 30°C until the OD<sub>610</sub> reached 1.0 and centrifuged at 10,000 rpm 4°C. The culture cells were suspended in sewage water and incubated for days at 30°C. Sampling for investing growth profiles and nitrogen oxidizing was made every designated time intervals and centrifuged at 10,000 rpm at 4°C.

주가 공장 폐수와 생활 하수에서 생육 영양원의 무첨가 상태에서 높은 질소 제거 능력을 보였다. 그러나 배양 시간이 길어짐에 따라 암모니아성 질소 제거 효율이 거의 변화가 없는 것은 폐수 중의 영양원이 고갈된 것이 원인으로 생각된다. 이러한 결과는 생물학적 처리 시스템에 이용하

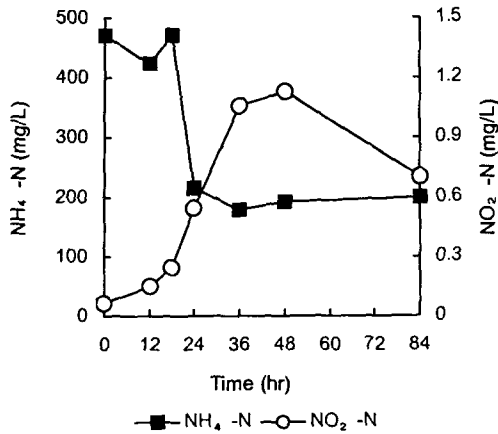


Fig. 5. Ammonia oxidizing ability of *Bacillus* sp. A8-8 in waste water. Strain was incubated at 30°C until the OD<sub>610</sub> reached 1.0 and centrifuged at 10,000 rpm 4°C. The culture cells were suspended in waste water and incubated for days at 30°C. Sampling for investing growth profiles and nitrogen oxidizing was made every designated time intervals and centrifuged at 10,000rpm at 4°C.

기 위하여 미생물을 고정시킨 담체를 폭기조 내로 보충함으로써 폐수내의 질소 제거 처리가 가능할 것으로 예상되어서 혐기적 배양 및 호기적 배양에 따른 확인 실험이 더 요구되어진다.

미생물 고정 담체를 이용한 질소 산화 효과  
 질소 산화 우수 균주 *Bacillus* sp. A8-8의 균주를 48시간

동안 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 6).

미생물을 고정시킨 고정 담체를 이용한 질소의 산화능을 조사하고자, 고정 담체를 암모니아성 질소로 sodium sulfate를 첨가한 배지에 넣었고 탄소원으로 0.5% 폐당밀을 첨가하여 30°C에서 교반 시키면서 암모니아성 질소와 아질산성 질소가 경시적으로 산화되어 변화된 결과를 Fig. 7에 나타냈다. 담체를 1/50, 1/250 (v/v) 양으로 접종한 시험 결과, 반응 후 24시간에는 초기의 암모니아성 질소가 전부 없어진 결과를 보였으며 액체 배양 조건에서와 같이 질산성 질소가 초기에 다량 존재하였다가 24시간 이후부터 크게 감소하는 경향이었다. 이때 균주를 직접 배양한 처리구에서와 같이 아질산성 질소의 생성은 계속하여 비슷한 양적 변화를 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 액체 배양액보다 효율이 우수함을 나타내준다.

이러한 암모니아성 질소의 제거에는 세라믹 담체에 고정된 균주의 질소 산화 효과를 액체 배양한 균주의 처리구와 비교해 보면, 담체에 고정된 균주의 처리구가 더 효

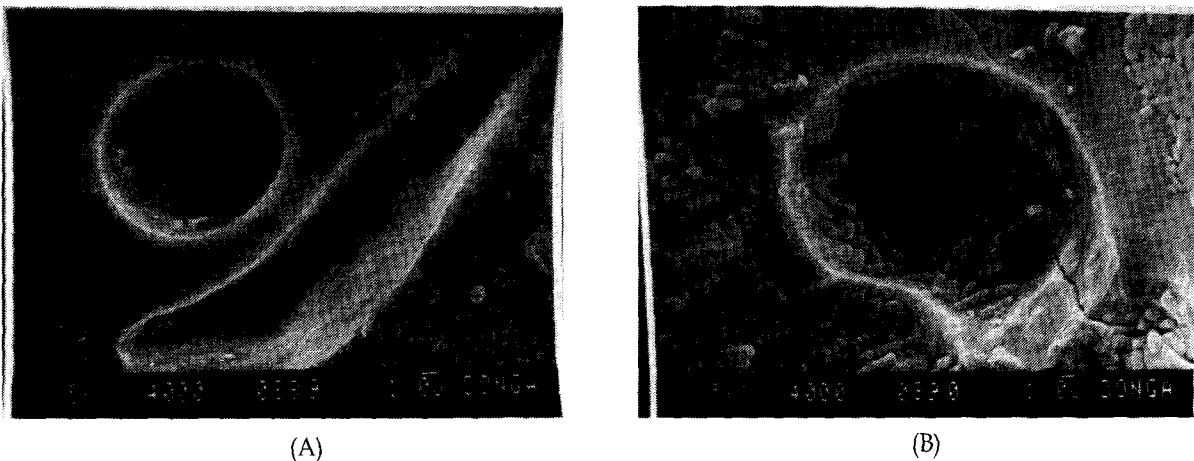


Fig. 6. Electron-microscopic scanning of the ceramic media compared with immobilized media..(A) ceramic media; (B) ceramic media immobilized by *Bacillus* sp. A8-8.

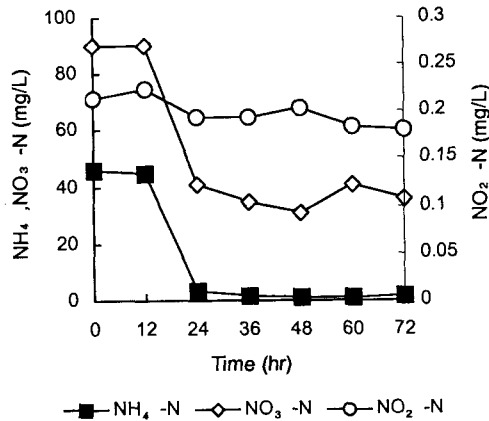


Fig. 7. Ammonia oxidizing ability of immobilized *Bacillus* sp. A8-8. Sampling for investing growth profiles and nitrogen oxidizing was made every designated time intervals and centrifuged at 10,000rpm at 4°C.

울적이었다. 앞으로 다양한 방법의 미생물 고정 담체를 이용한 담체 고정 효과 실험을 수행하여 더욱 더 좋은 효과를 가진 미생물 고정용 담체 개발이 요구되어진다.

## 요 약

본 연구는 폐수 중의 질소 제거를 위한 생물학적 처리용 미생물 개발을 위한 목적으로 유류 분해 능력이 뛰어난 균주인 *Bacillus* sp. A8-8을 사용하여 수질 중의 질소 산화능을 조사하였다. 사용한 균주는 0.5% 포도당이 포함된 초기 pH가 7.0인 암모니아성 질소 및 아질산성 질소 함유 배지에서 12시간 배양 후 각각 약 95.5%와 85%의 암모니아성 질소와 아질산성 질소의 감소율을 나타내었다. 산업 폐수 및 생활 하수에 분리 균주를 이용한 결과, 수질 속의 암모니아성 질소가 단시간에 크게 감소시키는 효과를 확인하였다. 균주를 고정시킨 담체의 질소 산화 효과를 시험하고자 *Bacillus* sp. A8-8을 고정시킨 세라믹 담체를 이용한 결과, 배양 1일 후에는 암모니아성 질소가 전부 제거되었다.

## 감사의 말

본 연구는 한국과학재단 지정 동아대학교 RRC (CIIPMS)의 지원 결과의 일부이며 이에 감사 드립니다.

## 참 고 문 헌

1. APHA, AWWA, WEF. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th eds. Washington DC.
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 M. S. Chou. 1993. Nitrification of ammonia nitrogen in refinery wastewater. *Water Research* **27**, 1761-1765.
4. Krieg, M. R. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, The Williams and Wilkins Co. Baltimore. USA.
5. Kuai, L. and W. Verstraete. 1998. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 4500-4506.
6. Lee, S. I., S. K. Park and W. H. Lee. 1994. Temperature dependency of denitrification rate with addition of various electron donors. *J. Kor. Soc. Environ. Engineers* **16**, 677-683.
7. Nam, B. S., W. R. Ryu, Y. H., Lee, J. M. Kim and M. H. Cho. 1999. Isolation and characterization of ammonia and nitrite nitrogen oxidizing strains. *Kor. J. Biotechnol. Bioengin.* **14**, 76-81.
8. Nam, E. S., J. W. Choi, S. K. Cha and J. K. Ahn. 2002. Isolation and identification of thermostable  $\beta$ -glycosidase-producing microorganism from hot spring of volcanic area at Atagawa in Japan. *Kor. J. Microbiol. Botechnol* **30**, 151-156.
9. Song, J. Y., S. Y. Hwang and D. S. Kim. 2001. A study on the denitrification characteristics of permeabilized *Paracoccus denitrificans*. *Kor. J. Biotechnol. Bioengin.* **16**, 290-294.
10. Suh, K. H., B. J. Kim, M. C. Cho, Y. H. Kim and S. G. Kim. 1998. Removal of ammonia-N by immobilized nitrifier consortium. *Kor. J. Biotechnol. Bioengin.* **13**, 76-81.
11. Won, C. H., M. H. Lee and J. S. Yun. 1997. Simultaneous removal of nitrogen and organics in septic tank effluent using immobilized microorganisms for nitrification and denitrification. *J. Kor. Soc. Environ. Engin.* **19**, 683-692.
12. Yun, D. I., J. T. Lee, D. J. Kim and K. Y. Lee. 1998. The effect of external carbon sources on batch denitrification process. *Kor. J. Appl. Microbiol.* **26**, 96-101.

(Received November 27, 2002; Accepted February 4, 2003)