

암모니아 및 아질산성 질소 산화균주의 분리 및 특성

남 범 식 · 류 원 룰 · 이 영 호 · 김 정 목 · †조 무 환
영남대학교 화학공학 및 공업화학부, ¹대경대학 환경공업과
(접수 : 1998 10. 12., 게재승인 : 1999. 1. 18.)

Isolation and Characterization of Ammonia and Nitrite Nitrogen Oxidizing Strains

B. S. Nam, W. R. Ryu, Y. H. Lee, J. M. Kim¹, and M. H. Cho[†]

School of Chemical Engineering & Technology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

¹Department of Environmental Industry, Taekyeung College, Kyongsan 712-850, Korea

(Received : 1998 10. 12., Accepted : 1999. 1. 18.)

Characteristics and oxidizing ability of both $\text{NH}_4\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ were examined for the strains isolated from wastewater treatment facilities and from natural systems by using Winogradsky columns. In case of $\text{NH}_4\text{-N}$, the most efficient strain was *Nitrosomonas* KB1 isolated from wastewater treatment facility of K corporation and in case of $\text{NO}_2\text{-N}$, it was *Nitrobacter* KB2 from the same site as *Nitrosomonas* KB1. For *Nitrosomonas* KB1, 91% of $\text{NH}_4\text{-N}$ was oxidized after 4 days of cultivation. Optimal growth temperature and initial pH of *Nitrosomonas* KB1 were 28°C and 7, respectively. In comparison to oxidizing rates with changing initial concentrations of $\text{NH}_4\text{-N}$, the ammonia oxidizing rate was increased up to 6.7 mg/day for the initial $\text{NH}_4\text{-N}$ concentrations for the region lower than 100 mg $\text{NH}_4\text{-N/L}$, but it was gradually reduced for the region higher than 100 mg $\text{NH}_4\text{-N/L}$. For *Nitrobacter* KB2, 90% of $\text{NO}_2\text{-N}$ was removed after culturing for 4 days. Optimal growth temperature and initial pH of *Nitrobacter* KB2 was 28°C and 7, respectively. And the nitrite oxidizing rate was increased in proportion to the initial concentrations of $\text{NO}_2\text{-N}$ up to 200 mg/L, and it was maintained almost 4.2 mg/day irrespective of initial $\text{NO}_2\text{-N}$ higher than 200 mg/L.

Key Words : $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, Winogradsky columns

서 론

생물체를 구성하고 있는 무기물질 중 단백질의 구조와 결체에 관여하는 질소(N)는 자연계에 널리 존재하는 무기 영양소이다. 질소를 형태별로 살펴보면 암모니아성 질소는 암모늄염을 질소량으로 나타낸 것으로 암모니아(NH_3), 암모늄이온, 암모늄염(NH_4^+), $\text{NH}_4\text{-N}$ 등으로 표현되며 시료를 염기성으로 한 다음 끓이거나 증류하여 추출할 수 있으므로 free ammonia라고도 부른다. 암모니아성 질소는 질소질 유기물 분해시 제 1차로 생성되는 질소이다. 또 아질산성 질소나 질산성 질소가 생물학적으로나 화학적으로 환원하여 암모니아성 질소를 형성한다(1-3). 아질산성 질소는 아질산염을 그 질소량으로 나타낸 것으로서 단지 아질산, 아질산이온(NO_2^-), 아질산염, $\text{NO}_2\text{-N}$ 등으로 표시되고 암모니아성 질소가 산화하여 생기며 질산성 질소가 환원하여

생기는 경우도 있다. 아질산성 질소는 신속하고 용이하게 질산성 질소로 전환하므로 그 농도가 극히 적은 경우에도 생물학적 과정으로 측정할 수 있다(2). 질산성 질소는 질산염을 그 질소량으로 나타낸 것으로서 질산, 질산이온(NO_3^-), 질산염, $\text{NO}_3\text{-N}$ 등으로 표시된다(14). 질소의 가장 안정된 형태로서 더 이상 산화가 진행되지 않으므로 질소 분해의 최종생성물이다. 그러므로 질산성 질소는 오래된 오염의 흔적을 나타내는 것으로서 위생적으로 의문될 것은 없으나 질산성 질소 자체가 인체에 유해하며 유아의 청색증, methemoglobinemia(blue baby)를 일으키는 원인이 된다(3). 환경 오염 측면에서의 질소 오염원을 살펴보면, 인간 및 가축의 분뇨, 도시하수, 산업폐수, 비료에 의한 농업폐수, 호수·하천의 저니(sediment)에서 발생하는 질소, 쓰레기 침출수에 포함된 질소 등이 있다(4). 수질환경 생태계에 있어서 질소에 의한 오염 형태는 호소의 부영양화 및 하천의 강부수성 그리고 해역의 적조발생 등이 있다(16). 도시하수의 질소 농도는 15~50 mg/L정도가 되며 이중 약 60%가 암모니아성 질소이며 나머지는 유기질소인데, 질소에 의한 문제점은 부영양화의 촉진 외에도 질산화가 진행되면서 산소를 소모한다는 것이다. 따라서 부영양화가 우려되는 지역에서는 총질소에 대한 규제를 하고 있으나 그 외의 지역에서는 총질소 보다는 질산화에 의한 산소소

† Corresponding Author ; School of Chemical Engineering & Technology, Yeungnam University, Kyongsan, Kyongpook 712-749, Korea

Tel : 053-810-2517, Fax : 053-814-8790

e-mail : mwcho@yucc.yeungnam.ac.kr

모를 방지하기 위해 암모니아성 질소에 대한 규제만을 하는 것이 보통이다(5). 이들 질소 오염원의 질소 형태를 살펴보면 암모니아성 질소와 유기질소로 구성되어 있다. 일반적으로 자연계에서는 질소 사이클에 의하여 질소의 존재 형태가 변화하는데 질소분자(N₂), 암모니아성 질소(NH₄-N), 아질산성 질소(NO₂-N) 그리고 질산성 질소(NO₃-N)가 순환고리를 형성하며 변화한다(6) 자연계에서 전자공여체로서 가장 많이 이용되는 일반적인 무기질소화합물은 암모니아와 아질산염이다 이들 화합물은 질화세균에 의하여 호기적으로 산화된다. 질화세균은 진세균에 속하며 토양이나 수계에 널리 분포한다(15). 암모니아성 질소는 *Nitrosomonas*에 의해 아질산성 질소로 산화되며, 불안정한 아질산성 질소는 *Nitrobacter*에 의해 질산성 질소로 산화되고, 이 과정은 단일 경로를 가지므로 반응이 빠르게 진행된다(7) 암모니아성 질소에서 아질산성 질소로 산화되는 것보다 아질산성 질소에서 질산성 질소로의 산화가 쉽다 그 이유는 암모니아성 질소에서 아질산성 질소로 산화되기 위해서는 3개의 산소원자가 요구되나 아질산성 질소에서 질산성 질소로 산화되는 데는 1개의 산소 원자가 소요되기 때문이다 또한 *Nitrosomonas*는 *Nitrobacter*보다 환경조건에 매우 민감하고 일된 아질산성 질소가 생성되면 쉽게 질산성 질소로 산화된다(8)

현재 분뇨, 축산폐수, 하수, 산업폐수 등의 처리에 광범위하게 적용되고 있는 생물학적 처리공법들은 모두 유기탄소성 오염물질들을 제거하는 기술로서 질소 오염원을 제거하기에는 여러 가지 어려운 점이 있다(9, 10). 그러므로 질소로 인한 수생태계의 부영양화를 방지하기 위하여 각종 처리장에서 질소를 충분히 제거할 수 있는 공정의 도입이 요구되며 새로운 공정의 연구 개발(14-21) 및 공정의 최적화(5)가 필요하다. 따라서 본 연구에서는 질소를 제거해 줄 수 있는 미생물을 자연계에서 광범위하게 분리하여 균주의 특성을 밝히며, 질소 자화능을 조사하여 실처리 공정에 적용할 수 있는 균주를 개발하고자 한다

재료 및 방법

균주의 분리 및 배지조성

자연계에서 암모니아성 질소 산화균주 및 아질산성 질소 산화균주의 분리를 위해 Winogradsky column을 이용하였다(11) 본 실험을 위해 제작된 Winogradsky column은 직경이 50 mm 이고 높이는 200 mm이다. 진흙 200 g, 효모 추출물 30 g, 탄산칼슘 5 g, 황산칼슘 5 g씩을 균일하게 혼합하여 column의 중간까지 채워 넣고 80℃에서 저온 살균한 다음 각기 다른 장소에서 채취된 시료들을 column에 100 mL를 채워 넣고 알루미늄 호일로 뚜껑을 덮어 100일 동안 농화배양하였다. Winogradsky column에 접종한 시료는 각기 다른 장소에서 채집한 것이다 충분히 농화된 Winogradsky column에서 균주를 취하여 Table 1의 배지에서 7일간 진탕배양을 하였다. 1차 진탕배양된 농화균주를 고체 평판배지에 도말하여 30일간 28℃에서 배양하였다. 평판배양한 균주의 colony를 분리하여 다시 액체배지에 접종한 후 7일간 배양한 후 5회에 걸쳐 계대배양하여 우수한 균주를 일체 되었다 순수 균주는 20% glycerol을 첨가하여 -70℃에서 냉동 보관하여 사용하였다. 획득된 암모니아 및 아질산성 질소 산화균주는 동정 및 특성 조사에 이용되었다.

Table 1. Media composition for the isolation of nitrifying strains.

Ammonia oxidizing strains		Nitrite oxidizing strains	
Component	Concentration (g/L)	Component	Concentration (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	NaNO ₂	1.0
K ₂ HPO ₄	3.5	K ₂ HPO ₄	3.5
EDTA-Fe	0.21	EDTA-Fe	0.21
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.75	MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.75
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.7	CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.7
NaHCO ₃	7.0	NaHCO ₃	7.0
CaCO ₃	trace	CaCO ₃	trace
sea sand	trace	sea sand	trace
pH	7.0	pH	7.0

분석방법

암모니아 및 아질산성 질소 산화균주의 성장 및 산화율은 배지 내의 암모니아성 질소, 아질산성 질소 및 질산성 질소의 농도 변화로 측정하였다. 암모니아성 질소는 인도페놀법, 아질산성 질소는 디아조화법, 질산성 질소는 부루신법을 이용하여 수질오염공정시험법(12)에 준하여 분석하였다. 균주의 성장은 660 nm에서 OD₆₆₀로 측정하였으며 사용한 기기는 UV-spectrophotometer (Shimadzu UV-160, Japan)를 사용하였다

온도의 영향

분리한 균이 암모니아와 아질산성 질소를 산화하는데 미치는 온도의 영향을 조사하기 위하여 배양온도를 20℃, 28℃, 35℃로 조절하여 액체배지에서 8일간 배양시킨 후 각 온도에서의 성장과 산화율을 비교 조사하였다.

초기배지의 질소 농도의 영향

분리한 균이 암모니아와 아질산성 질소를 산화하는데 미치는 초기배지의 질소 농도의 영향을 조사하기 위하여 초기 배지의 질소 농도를 50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/L로 각각 조정 한 후 초기 pH를 7, 교반속도를 200 rpm, 배양온도 28℃로 고정하여 액체배지에서 5일간 배양시킨 후 각 농도에서의 산화 속도를 비교 조사하였다.

pH의 영향

분리한 균이 암모니아와 아질산성 질소를 분해하는데 미치는 최적 pH를 조사하기 위하여 앞서 구한 최적 배양온도(28℃)에서 pH를 5에서 10까지 단계별로 조절한 액체배지를 사용하여 성장 특성을 조사하였다.

분리균주의 동정

분리한 암모니아성 질소 산화균주 및 아질산성 질소 산화균주의 동정은 각종 형태, 생리학적, 생화학적 특성을 분석하여 *Bergey's manual of systematic bacteriology*(13)에 준하여 동정하였다.

결과 및 고찰

균주의 분리 및 동정

10개의 Winogradsky column에 접종한 샘플을 고체배지에 평판 도말하였다 그 중 우수한 colony를 형성한 것은 암모니아성 질소 산화 균주의 경우 K회사 폐수처리장 폭기조, T시 분뇨처리장 폭기조, Y대학교 축사주변 소하천수에서 각각 접종한 시료이었고, 아질산성 질소 산화 균주의 경우 K회사 폐수처리장 폭기조, Y대학교 자연자원대 농지, Y대학교 축사주변 소하천수에서 접종한 시료이었다 위의 6 종류의 colony를 액체배지에 배양하고 다시 고체배지에 평판도말하는 것을 반복하여 순수 분리하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 균주의 형태학적, 배양학적 특성과 생리학적 특성을 분석하여 Bergey's manual에 의해 고려해 볼 때 암모니아성 질소 산화균주는 각각 *Nitrosomonas* sp., *Nitrosococcus* sp., *Nitrosomonas* sp.로 추정되며 *Nitrosomonas* KB1, *Nitrosococcus* CW1, *Nitrosomonas* BN1로 명명하였다. 분리된 아질산성 질소 산화균주는 모두 *Nitrobacter*로 추정되며, *Nitrobacter* KB2, *Nitrobacter* CW2, *Nitrobacter* GF2로 명명하였고, 그 분류학적 특성은 Table 3과 같다.

Table 2. Biochemical and physiological characteristics of ammonia oxidizing bacteria

characteristics	<i>Nitrosomonas</i> KB 1	<i>Nitrosococcus</i> CW 1	<i>Nitrosomonas</i> BN 1
Gram strain	-	-	-
Cell Shape	Rod	Coccus	Rod
Oxidation of			
$NH_3 \rightarrow NO_2^-$	+	+	+
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$	-	-	-
Reproduction			
Binary fission	+	+	+
Budding or binary fission	-	-	-
Motility	+	+	+
Cytomembranes present	+	+	+
Growth at			
4 °C	-	-	-
10 °C	+	+	+
20 °C	+	+	+
30 °C	+	+	+
40 °C	-	-	-
Aerobic growth	+	+	+
Anaerobic growth	-	-	-

Table 3. Biochemical and physiological characteristics of nitrite-oxidizing bacteria.

characteristics	<i>Nitrobacter</i> KB2	<i>Nitrobacter</i> CW2	<i>Nitrobacter</i> GF2
Morphology			
Gram	-	-	-
Cell Shape	Rod	Rod	Rod
Oxidation of			
$NH_3 \rightarrow NO_2^-$	-	-	-
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$	+	+	+
Reproduction			
Binary fission	-	-	-
Budding or binary fission	+	+	+
Motility	+	+	+
Cytomembranes present	+	+	+
Growth at			
4 °C	-	-	-
10 °C	+	-	+
20 °C	+	+	+
30 °C	+	+	+
40 °C	-	-	-
Aerobic growth	+	+	-
Anaerobic growth	-	-	-

우수 균주 선별

Nitrosomonas KB1, *Nitrosomonas* BN1, *Nitrosococcus* CW1을 28°C에서 성장시켜 암모니아성 질소 산화능을 비교한 결과는 Figure 1과 같고, *Nitrobacter* KB2, *Nitrobacter* CW2, *Nitrobacter* GF2를 28°C에서 성장시켜 아질산성 질소 산화능을

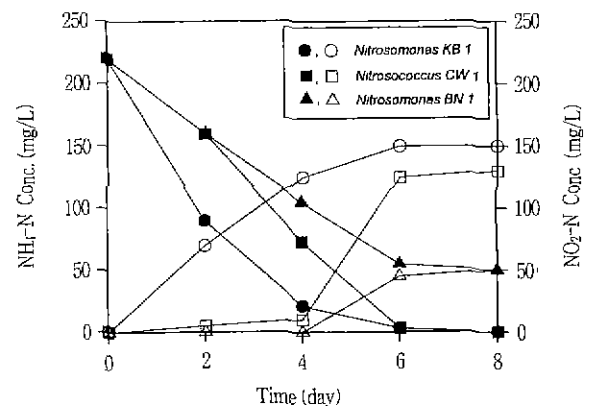


Figure 1. Ammonia oxidizing ability of *Nitrosomonas* KB1, *Nitrosococcus* CW1 and *Nitrosomonas* BN1. (Initial pH 7.0, Temp. 28°C, 200 rpm) Closed symbol : NH_4-N Conc., Open symbol : NO_2-N Conc

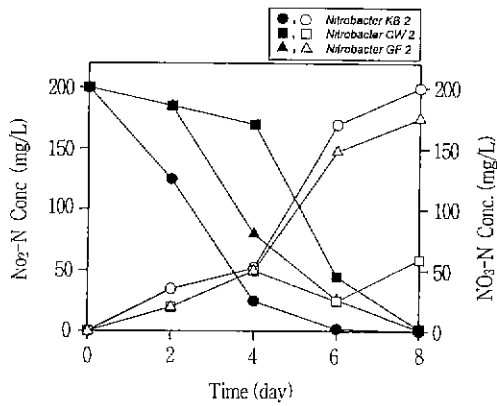


Figure 2. Nitrite oxidizing ability of *Nitrobacter* KB2, *Nitrobacter* CW2 and *Nitrobacter* GF2. (Initial pH 7.0, Temp. 28°C, 200 rpm) Closed symbol : NO₂-N Conc., Open symbol : NO₃-N Conc.

비교한 결과는 Figure 2와 같다. 암모니아 산화균주중에는 *Nitrosomonas* KB1의 산화율이 가장 우수하였으며 배양 4일만에 91%의 암모니아 산화능을 보였고, 암모니아의 산화가 정량적으로 발생되어 아질산으로 변화함을 보여주고 있다. 아질산성 질소 산화균주중에는 *Nitrobacter* KB2가 가장 우수하였으며 배양 4일만에 90%의 아질산성 질소를 산화시켰음을 알 수 있다.

온도의 영향

암모니아성 질소의 산화능이 가장 우수한 *Nitrosomonas* KB1과 아질산의 산화능이 가장 우수한 균주인 *Nitrobacter* KB2를 초기 pH 7, 교반속도 200 rpm에 고정하고, 배양온도 20°C, 28°C, 35°C에서 8일간 배양한 결과는 Figure 3, Figure 4와 같다. *Nitrosomonas* KB1은 28°C에서 가장 높은 암모니아성 질소 산화율을 나타내었다. 28°C의 경우 배양 4일만에 약 90%의 암모니아성 질소 제거능을 나타내었으나 20°C에서는 배양후 8일이 지나도 암모니아성 질소 산화율이 약 40%를 넘지 않았다. 이는 *Nitrosomonas* KB1이 저온에서는 성장능과 산화율이 떨어지며 온도에 매우 민감한 것으로 나타났다.

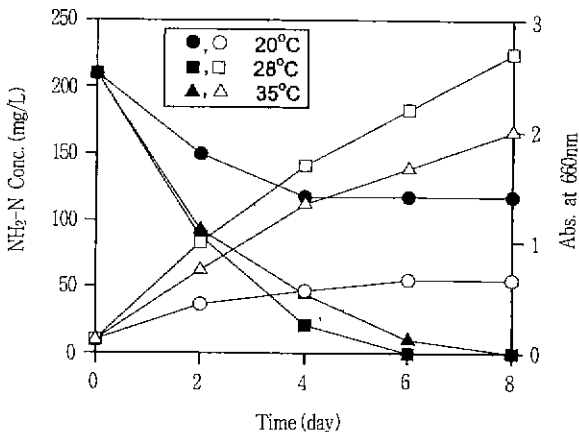


Figure 3. Effect of temperature on growth and ammonia oxidizing ability for *Nitrosomonas* KB1 after 8 days culture. (Initial pH 7.0, 200 rpm) Closed symbol : NH₄-N Conc., Open symbol : Abs. at 660 nm.

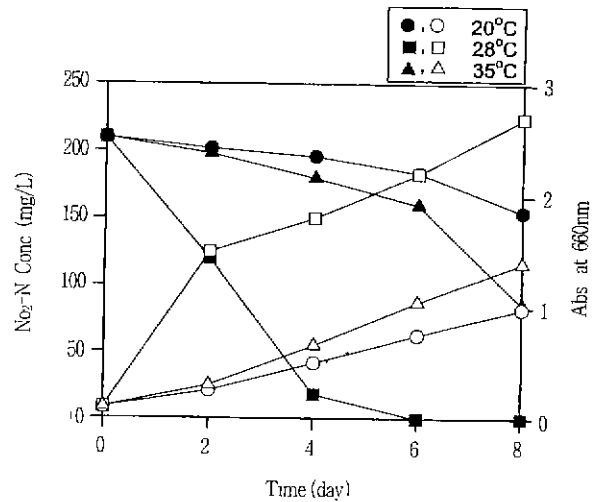


Figure 4. Effect of temperature on growth and nitrite oxidizing ability for *Nitrobacter* KB2 after 8 days culture. (Initial pH 7.0, 200 rpm) Closed symbol : NO₂-N Conc., Open symbol : Abs. at 660nm.

아질산성 질소 산화균주인 *Nitrobacter* KB2도 28°C에서 가장 높은 아질산성 질소 산화율을 나타내었다. 28°C의 경우 배양 6일 후에 아질산성 질소가 완전히 제거되었으나, 35°C의 경우에는 8일 후에 약 50%의 제거능을 나타내었고, 20°C에서는 8일 후에도 제거율이 10%를 나타내고 있다. 이 역시 온도에 매우 민감함을 알 수 있었다.

초기 배지의 질소 농도의 영향

초기 배지의 암모니아성 질소 농도를 50, 100, 150, 200, 250, 300 mg/L로 각각 조정 한 후 초기 pH를 7, 교반속도를 200 rpm, 배양온도를 28°C로 고정 한 후 *Nitrosomonas* KB1 균주를 배양한 결과는 Figure 5에 나타내었고, 초기 배지의 아질산성 질소 농도를 100, 150, 200, 250, 300 mg/L로 각각 조정 한 후 초기 pH를 7, 교반속도를 200 rpm, 배양온도를 28°C로 고정 한 후 *Nitrobacter* KB2 균주를 배양한 결과는 Figure 6에 나타내

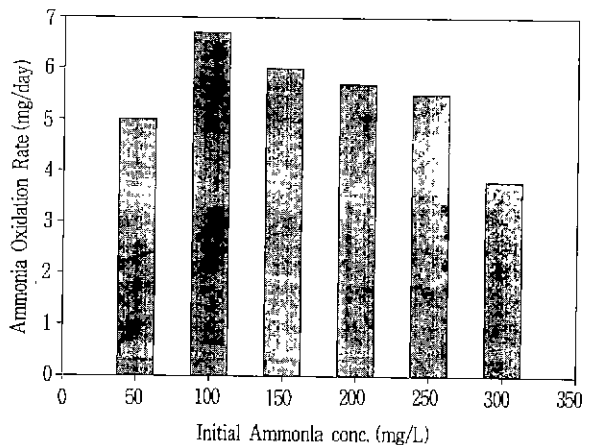


Figure 5. Effect of initial ammonia concentration on ammonia oxidation rate for *Nitrosomonas* KB1. (Initial pH 7.0, Temp. 28°C, 200 rpm).

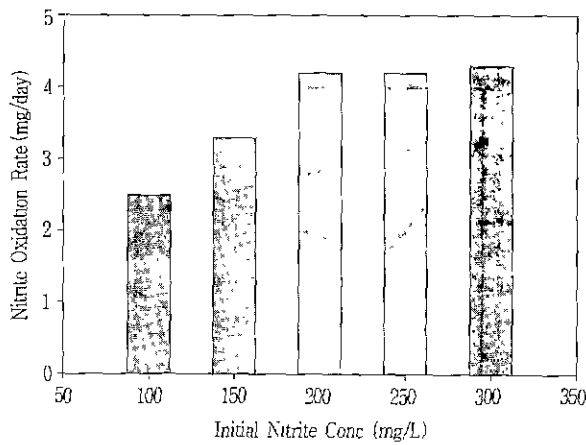


Figure 6 Effect of initial nitrite concentration on nitrite oxidation rate for *Nitrobacter* KB2. (Initial pH 7.0, Temp 28°C, 200 rpm)

었다 초기 배지의 암모니아성 질소 농도에 따른 산화속도는 100 mg/L 미만일 경우에는 6.7 mg/day까지 상승하다가 100 mg/L 이상에서는 점차 감소하였다 이러한 결과는 Inamori(22) 등이 발표한 *Nitrosomonas europaea*의 최대 산화 속도인 5 mg/day보다 높은 것으로 나타났으나, Uemoto(23) 등이 발표한 *Nitrosomonas europaea*의 최대 산화 속도인 7.6 mg/day보다는 낮은 것으로 나타났다. 그리고 초기 배지의 아질산성 질소 농도에 따른 산화속도는 아질산성 질소의 농도가 증가할수록 산화속도가 증가하였으며, 200 mg/L 이상에서는 약 4.2 mg/day로 산화속도가 유지되었다

pH의 영향

초기 배지의 암모니아성 질소 및 아질산성 질소의 농도를 200 mg/L로 조정된 후 초기 pH를 5, 6, 7, 8, 9, 10으로 조정하고, 교반속도를 200 rpm, 배양온도를 28°C로 고정하였다. *Nitrosomonas* KB1 균주에 의한 암모니아성 질소의 농도변화는 Figure 7과 같다. pH 5에서 암모니아성 질소의 산화능이 가장

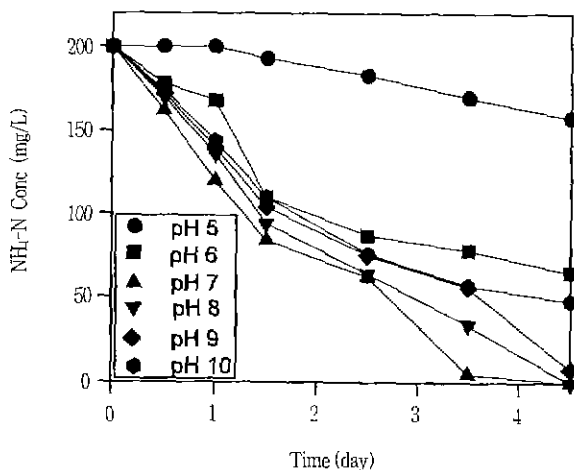


Figure 7. Effect of initial pH on ammonia oxidizing ability for *Nitrosomonas* KB1. (NH₄-N conc. 200 mg/L, Temp. 28°C, 200 rpm)

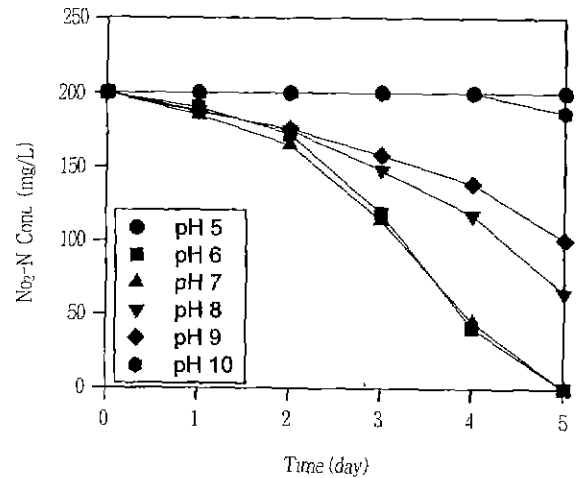


Figure 8. Effect of initial pH on nitrite oxidizing ability for *Nitrobacter* KB2. (Initial NO₂-N 200 mg/L, Temp 28°C, 200 rpm)

낮았으며 pH 7에서 가장 빨리 산화되는 것으로 나타났고, pH 8, 9, 10인 알칼리성에서 pH 6보다 산화능이 더 좋은 것으로 나타났으며 이러한 결과는 Alenka(24) 등이 발표한 결과와 유사하다.

Nitrobacter KB2 균주에 의한 아질산성 질소의 농도변화는 Figure 8과 같다 pH 5에서 아질산성 질소가 거의 산화되지 않았으며, pH 9에서도 산화가 거의 이루어지지 않았다. pH 6, 7의 경우에는 아질산성 질소의 산화력이 우수한 것으로 나타내었다 이것으로 미루어 보아 이 균주는 중성인 pH 영역에서 산화가 이루어지며 pH에 매우 민감한 것으로 판단된다.

요 약

Winogradsky column을 이용하여 자연계 및 폐수처리장 등 10 개소로부터 순수 분리한 균주에 대하여 암모니아성 질소와 아질산성 질소 산화능 및 특성을 조사하였다. 암모니아성 질소의 경우 가장 성능이 우수한 균주는 K회사 폐수처리장에서 분리된 *Nitrosomonas* KB1이었고 배양 4일 후 91%의 산화력을 보여주었다 아질산성 질소의 산화능이 가장 우수한 균주는 K회사 폐수처리장에서 분리된 *Nitrobacter* KB2이었고, 배양 4일 후 90%의 산화력을 보여주었다 *Nitrosomonas* KB1의 최적 성장 온도는 28°C, pH는 7이었다. 초기 배지의 암모니아성 질소의 농도를 조절해 산화 속도를 비교해 본 결과 100 mg/L 미만일 경우에는 6.7 mg/day까지 상승하다가 100 mg/L 이상에서는 점차 감소하였다 *Nitrobacter* KB2의 최적 성장 온도는 28°C, pH는 7이었다. *Nitrobacter* KB2 균주를 대상으로 초기 아질산성 질소의 농도를 변화시켜 산화 속도를 비교해 본 결과 아질산성 질소의 농도가 증가할수록 산화속도가 증가하였으며, 200 mg/L 이상에서는 약 4.2 mg/day로 산화속도가 유지되었다

감 사

본 연구는 1996년도 교육부 학술연구 조성비(생물화학공학 F-13)에 의하여 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Wuhmann, K. (1964), Nitrogen removal in Sewage Treatment Process, *Vehr. Int Ver Limnol.*, 15, 580.
2. Eckenfelder W. W. and Argaman (1989). Principles of Biological and Physical Chemical Nitrogen Removal, pp. 9-72, The Soap and Detergent Association, N.Y.
3. Gayle, B. D. and G. D. Boardman (1989), Biological Denitrification of Water, *J Envira. Eng.*, 115, 930-943
4. 류재근 (1995), 질소·인 (N, P) 제거 기술(I), *첨단환경기술*, 1, 5-9
5. Takashi Osada, Kiyonori Haga and Yasuo Harada (1991), Removal of Nitrogen and Phosphorus from Swine Wastewater by the Activated Sludge Units with the Intermittent Aeration Process, *Water Research*, 25(11), 1377-1388.
6. George, T. and F. L. Burton (1993). Wastewater Engineering, 3rd, p.694-696, Metcalf and Eddy, McGraw-Hill, New York
7. Fang, H. Y. and M. S. Chou (1993), Nitrification of Ammonia Nitrogen in Refinery Wastewater. *Water Research*, 27, 1761-1765
8. 이영대, 최용수, 신용배, 이정옥 (1995). 생물학적 질소제거 신공정, *대한환경공학회지*, 17(4), 387.
9. U S. EPA (1993), Manual of Nitrogen Control, U S E PA/625/R-93/010
10. 부산대학교 환경기술·산업개발 연구센터(1996), 하·폐수의 질소·인 제거 기술, p 197.
11. Thomas, D.B and Michael T.M (1991), Ecology of Microorganisms. *Biology of Microorganisms*, 17, 642-646.
12. 수질오염 폐기물 공정 시험방법 (1993), pp 179-188, 도서출판 동화기술, 서울.
13. Krieg, N R. and J G. Holt (1984), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Williams and Wilkins Co. Baltimore, U. S. A.
14. B. Halling Sorensen and S. E. Jorgensen (1993), "The Removal of Nitrogen Compounds from Wastewater" DFH, Institute A, Environmental Chemistry Section
15. 송주영, 이상호 (1997), Microcapsule에 고정화된 균주를 이용한 오·폐수 중의 생물학적 탈인 및 탈질 소화에 관한 연구, *한국생물공학회지*, 12(3), 269-275.
16. Wisemann, V. (1994). Biological Nitrogen Removal from Waste Water. *Advances in Biochemical Engineering*, 51, 113-121.
17. Einfeldt, J. (1992), The Implementation of Biological Phosphorous and Nitrogen Removal with the Bio-deniph process on a 265,000 PE Treatment Plant, *Water Science and Technology*, 25(4), 161-168.
18. Zhao, H., S. H. Isaacs, H. Soeberg, and M. Kummel, A Novel Control Strategy for Improved Nitrogen Removal in an Alternating Activated Sludge Process-Part II Control Development, *Water Research*, 28(3), 535-542
19. Irvine, R. L. and I. H. Ketchum (1986). Full-scale Study of Sequencing Batch reactor, U.S. EPA.
20. Heidman, J. A. (1975), An Experimental Evaluation of Oxygen and Air Activated Sludge Nitrification Systems with and without pH control, EPA report, Contract No 68-03-0349.
21. Richard I S. (1989), Principles and Practice of Phosphorus and Nitrogen Removal from Municipal Wastewater, The Soap and Detergent Association. New York
22. Inamori, Y., Wu, X. L., and Mizuochi, M.(1996), N₂O Producing Capability of Nitrosomonas Europaea, Nitrobacter Winogrdski and Alcaligenes Faecalis, Proceedings of the Environmental Biotechnology '96 Vol. 1, pp. 161-170, Palmerston, Noth New Zealand.
23. Uemoto, H., and Saiki, H. (1996), Nitrogen Removal by Tubular Gel Containing Nitrosomonas Europaea and Paracoccus Denitrificans, *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11), 4224-4228
24. Alenka P., Ivan M., France M., Eldor A. P. and James M. T (1998), Effects of pH and Oxygen and Ammonium Concentrations on the Community Structure of Nitrifying Bacteria from Wastewater, *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3584-3590.