

## 호수의 저질토에서 호기적 탈질화 세균의 분리

민상현 · 정원화<sup>1</sup> · 손재학 · 안태영\*

단국대학교 자연과학대학 미생물학과, 서울대학교 분자미생물학 연구센터

<sup>1</sup>환경처, 영산강 환경관리청

대청호와 소양호의 저질토에서 탈질화 세균을 분리하였다. Modified succinate minimum 배지에서 자라난 80여개의 균주 중 10개의 균주가  $\text{NO}_3^-$ 에서  $\text{N}_2\text{O}$ 를 생성하였고 이중 2개(균주 DN-1과 3)의 균주만  $\text{NO}_2^-$ 에서  $\text{N}_2\text{O}$ 를 생성하였다. 균주 DN-1은  $\text{NO}_3^-$ 에서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성량이  $129.9 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 였고 균주 DN-3은  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성량이  $132.1 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 이었다. 두 균주는 growth yield가 증가하면서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성이 증가하였으며 넣어준  $\text{NO}_3^-$ -N과  $\text{NO}_2^-$ -N의 80% 이상이  $\text{N}_2\text{O}$ 로 생성되었다. 균주 DN-1의 호기적 탈질화 작용능은  $137.1 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 였으며, 균주 DN-3은  $133.7 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 였고 growth yield는 두 균주 모두 혐기적 조건보다 약 2배 높았지만 생성한  $\text{N}_2\text{O}$ 의 양은 유사하였다. 그러므로 분리한 균주는 호기적 조건에서도 탈질화 작용능을 나타내고 있다.

KEY WORDS □ sediment of lake, growth yield, aerobic denitrification,  $\text{N}_2\text{O}$  production

100여년전에 알려지기 시작한 탈질화 작용은 혐기적 조건에서 nitrate가 산소 대신 최종 전자 수용체로 작용하여 nitrate가 환원되면서 에너지를 생성하는 과정으로 세균에 의해서만 일어나는 과정이다. 탈질화 작용은 토양에서 질소원의 소실로 인한 농업적인 면(7), 폐수처리에서 탈질화 작용에 의한 과대한 combined nitrogen의 제거능(10), 탈질화 작용의 반응 산물과 중간 산물인 일산화 질소( $\text{N}_2\text{O}$ , NO)에 의한 오존층의 파괴(16), 반응의 중간 산물인  $\text{NO}_2^-$ 와 NO의 독성,  $\text{NO}_2^-$ 와 2차 아민의 반응으로 발암물질인 nitrosamine의 생성(13) 등과 질소고정으로 생성된 질소원의 대기중으로 반환에 의한 global nitrogen cycle의 완성 등에서 관심을 갖게 한다(24).

생태계에서 탈질화 세균의 주요 서식지는 토양, 저질토, 해양, 담수 및 오염된 서식지이며 식물, 동물과 인간에서도 발견된다(28). 탈질화 세균은 주로 그람 음성, 중온성, 조건 호기성 세균이다. 대표적인 균속은 종속 영양 세균인 *Alcaligenes*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*와 독립 영양 세균인 *Rhodobacter*로 이들 4개의 속에서 주로 연구가 진행되고 있다. 일반적으로 탈질화 작용은 혐기적 조건에서 일어나고(9) 산소에 의해 억제 받으나 절대 혐기성 세균에서 일어난다는 보고는 없다(24). 반면, 호기적 조건에서도 탈질화 작용이 일어난다는 보고가 종종 있었다(12, 15, 25). 1984년 Robertson과 Kuenen은 폐수처리 중 *Thiosphaera pantotropha*라는 균주를 발견하여 호기적 조건에서 산소와 nitrate를 최종 전자 수용체로 동시에 사용하는 것을 발견하였으며(18), Lloyd 등은 호기적 조건에서도 탈질화 작용이 지속적으로 일어난다고 보고하

였다(14).

본 연구에서는 대청호와 소양호의 저질토에서 호기적 탈질화 세균을 분리하고 acetylene blockage method를 이용하여 호기적 및 혐기적 조건의 탈질화능을 측정 비교하였으며 분리된 균주 DN-1과 DN-3이 혐기적 조건에서는 nitrate, 호기적 조건에서는 산소와 nitrate를 최종 전자 수용체로 이용하는 호기적 탈질화 세균임을 밝히고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 균주의 분리

시료는 대청호와 소양호에서 채취한 저질토의 slurry를 modified succinate salt agar 배지에 0.1 ml/점종하여 30°C의 anaerobic chamber (Forma)에서 3~5일간 배양하였다. 탈질화 세균을 분리하기 위하여 modified succinate salt agar 배지[sodium succinate 4 g,  $\text{KNO}_3$  1 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 g, mineral solution 10 ml, Bacto agar 15 g, D.W. 990 ml]를 사용하였다(17). 배양 후 형성된 균체를 Tryptic soy agar (Difco) 사면배지에 점종하여 다음 실험을 위해 4°C에서 보관하였다.

#### 균주의 확인

분리된 균주가 탈질화 세균인지 확인하기 위하여 modified Samuelson broth [potassium acetate 4 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.87 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.54 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 g,  $\text{KNO}_3$  1 g, mineral solution 20 ml, D.W. 980 ml]를 사용하였으며(19), 분리된 균주를 점종 배양하면서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성을 12시간 간격으로 측정하였다.  $\text{N}_2\text{O}$ 의

생성은 acetylene blockage method (1, 6, 26)를 사용하여 gas chromatography (Young In)로 측정하였다. 분리된 균주의 활성

Tryptic soy broth에 20 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 와 10 mM  $\text{KNO}_3$  또는  $\text{KNO}_2$ 를 첨가하여  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성을 측정하였다. Acetylene은 head space의 5~7%가 되도록 멸균된 주사기로 첨가하여 주었으며 GC의 detector는 thermal conductivity detector (TCD), column은 Porapak Q를 사용하였다. Carrier gas인 헬륨을 분당 30 ml로 흘려주었으며 injection port의 온도는  $150^\circ\text{C}$ , column oven의 온도는  $65^\circ\text{C}$ , detector의 온도는  $85^\circ\text{C}$ 로 유지하였다.

#### 호기적 및 혐기적 조건에서 탈질화

호기적 조건과 혐기적 조건에서 탈질화 작용은 TSB에 20 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 와 10 mM  $\text{KNO}_3$ 를 첨가한 배지에 균을 접종하여 질소 가스로 치환한 혐기적 조건과 치환하지 않은 호기적 조건에서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성을 GC로 측정하였다.

#### Growth yield의 측정

Growth yield의 측정을 위한 배양은 screw cap septum vial (Pierce)에 배지 9 ml과 24시간 동안 배양한 균주 1 ml을 접종하여 실험하였다. Growth yield 측정은 호기적 조건과 혐기적 조건하에서 수행하였으며, 접종한 균의 농도는 O.D. 0.2 (약  $4.6 \times 10^6$  CFU/ml)로 맞추어 접종하였다. O.D.는 600 nm에서 spectrophotometer (Milton Roy)로 측정하였다.

## 결 과

#### 균주의 분리

탈질화 세균은 1992년 7월부터 1993년 2월까지 소양호와 대청호의 저질토 시료에서 분리하였다. 소양호 시료는 상갈리 유역에서 댐앞까지 5개 정점, 대청호는 분노 처리장에서 회남교 밑까지 4개 정점에서 채취하였다. Modified succinate salt agar 배지에서 80여개의 균주를 분리하였다.

#### 균주의 확인

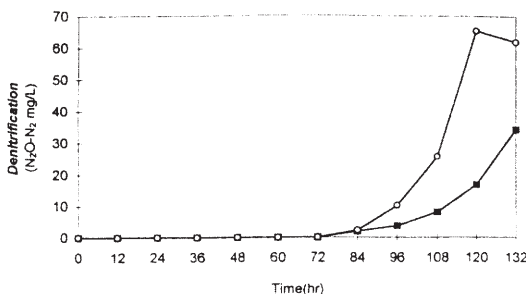


Fig. 1.  $\text{N}_2\text{O}$  production from strains DN-1 (■) and DN-3 (○) with acetate as a carbon source (10 mM  $\text{KNO}_3$ , 4 g/l acetate,  $30^\circ\text{C}$ ).

분리된 균주가 비발효성 탄소원인 초산을 탄소원으로 이용하여 성장할 수 있는지를 조사하였다. 균주 DN-1은 초산을 탄소원으로하여  $\text{NO}_3^-$ 에서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성은 72시간이 지나면서 일어나기 시작하여 132시간이 되면  $34.3 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 의 생성능을 보였다 (Fig. 1). 균주 DN-3도 72시간이 지나면서  $\text{N}_2\text{O}$ 를 생성하여 120시간에는  $65.4 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 의 생성능을 보였다 (Fig. 1).

분리한 균주의 탈질화 작용을 확인하기 위해  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성능을 측정하였다. 초산을 탄소원으로하여 액체 배지에서  $\text{N}_2\text{O}$ 를 생성한 균주는 80여개 균주 중 10개였다. 선택된 10개의 균주 중  $\text{NO}_2^-$ 에서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성을 보인 균주는 DN-1과 DN-3이었다 (Fig. 2와 3). 즉 이들 균주는 nitrite reductase가 존재하고 있음을 알 수 있었다.

#### 분리된 균주의 활성도

분리된 균주 DN-1과 DN-3에서  $\text{NO}_3^-$ 와  $\text{NO}_2^-$ 로부터  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성능과 growth yield를 측정 비교하였다. 균주 DN-1의  $\text{NO}_3^-$ 에서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성량은  $129.9 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 이었고 균주 DN-3은  $132.1 \text{ N}_2\text{O-N}_2 \text{ mg/l}$ 이었다. Growth yield와  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성을 비교하면 두 균주는 growth yield가 증가하면서  $\text{N}_2\text{O}$ 의 생성이

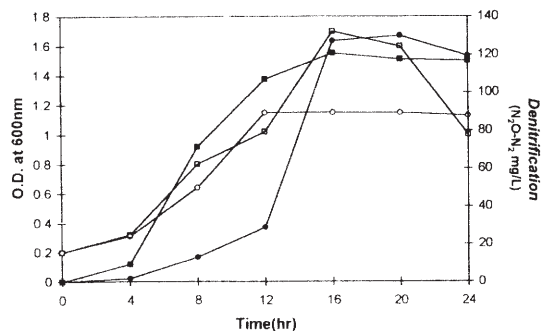


Fig. 2.  $\text{N}_2\text{O}$  production and growth from  $\text{NO}_3^-$  (●,  $\text{N}_2\text{O}$  production; ○, growth) and  $\text{NO}_2^-$  (■,  $\text{N}_2\text{O}$  production; □, growth) by DN-1 in TSB.

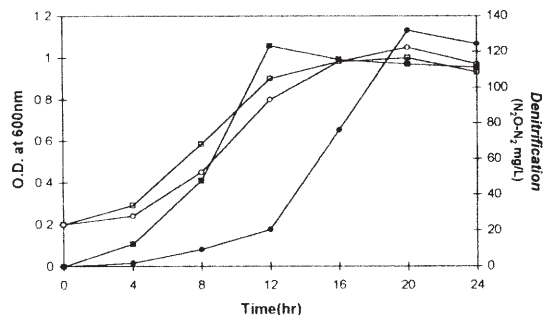


Fig. 3.  $\text{N}_2\text{O}$  production and growth from  $\text{NO}_3^-$  (●,  $\text{N}_2\text{O}$  production; ○, growth) and  $\text{NO}_2^-$  (■,  $\text{N}_2\text{O}$  production; □, growth) by DN-3 in TSB.

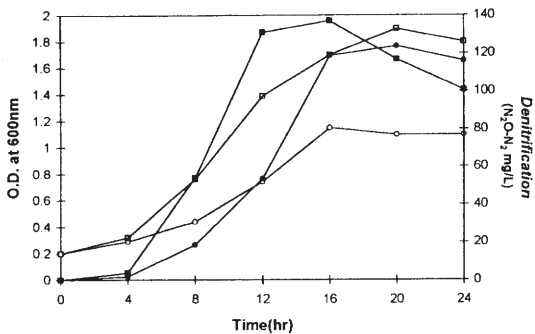


Fig. 4.  $N_2O$  production and growth from anaerobic (○, O.D.; ●,  $N_2O$  production) and aerobic (□, O.D.; ■,  $N_2O$  production) conditions by DN-1.

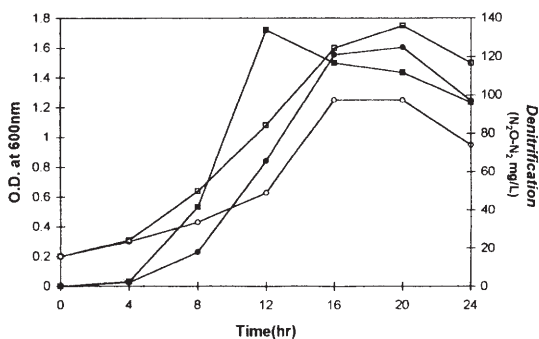


Fig. 5.  $N_2O$  production and growth from anaerobic (○, O.D.; ●,  $N_2O$  production) and aerobic (□, O.D.; ■,  $N_2O$  production) conditions by DN-3.

증가하고 있다. 또한 넣어준  $NO_3^-$ 의 80% 이상이  $N_2O-N_2$ 으로 생성되는 것을 보여 주고 있다 (Fig. 2와 3). 두 균주의 생성된  $N_2O$ 의 양과 growth yield는 Carson과 Ingraham (3)이 실험한 *Pseudomonas aeruginosa*와 같은 양상을 보였고  $N_2O$  생성량도 유사한 값을 보였다.

균주 DN-1의  $NO_2^-$ 에서  $N_2O$ 의 생성은 120.7  $N_2O-N_2$  mg/l이었고, 균주 DN-3은 123.4  $N_2O-N_2$  mg/l이었다. 두 균주에서  $N_2O$ 의 생성은 growth yield가 증가하면서 증가하며 넣어준  $NO_2^-$ 의 80% 이상이  $N_2O-N_2$ 로 생성되었다 (Fig. 2와 3).

#### 호기적 조건에서 탈질화

호기적 조건에서 탈질화 작용을 측정하여 혐기적 조건과 비교하였다. 균주 DN-1의  $N_2O$ 의 생성은 혐기적 조건에서 123.7  $N_2O-N_2$  mg/l, 호기적 조건에서 137.1  $N_2O-N_2$  mg/l으로 호기적 조건에서 생성량이 많고 생성속도도 빨랐다. Growth yield와 비교하면  $N_2O$ 의 생성이 증가하면서 growth yield가 증가하고 호기적 조건에서의 growth yield가 혐기적 조건보다 거의 2배가 되고 있다 (Fig. 4). 균주 DN-3도 유사한

양상을 나타내었다 (Fig. 5). 분리된 균주 DN-1과 DN-3의 growth yield는 혐기적보다 호기적 조건이 1.5배 이상 높게 나타났다. 그러므로 분리한 두 균주가 호기적 조건에서 산소와 nitrate를 동시에 최종 전자 수용체로 사용하고 있음을 알 수 있었다.

## 고 찰

탈질화 세균의 분리는 탈질화 세균이 혐기적 조건에서 비발효성 기질을 탄소원으로 하고, nitrate를 최종 전자 수용체로 하여 성장하는 성질을 이용하였다 (2, 21).

일반적으로 탈질화 세균에 의해 생성된  $N_2O$  혹은  $N_2$ 의 양이 growth yield와 비례하며, 넣어준  $NO_3^-$  혹은  $NO_2^-$ 의 80% 이상이  $N_2O$  혹은  $N_2$ 로 전환되고 (24), 두 종류 (Cu type과 Heme type)의 nitrite reductase 중 한 종류가 존재하며, nitrate의 전환이 빠르게 일어나고 nitrate의 respiratory reduction은 산소에 민감한 특성을 갖고 있다 (24). 또한 nitrous oxide reductase가 acetylene에 의해 억제되어 acetylene이  $N_2O$ 에서  $N_2$ 로 환원을 억제한다 (1, 6, 26). 그러나 non-respiratory denitrification 과정에서 일어나는  $N_2O$ 의 생성에는 영향을 미치지 않는다 (23). 본 연구에서 분리된 nitrite reductase의 유형은 결정되지 않았지만, 분리된 균주는  $N_2O$ 의 생성과 growth yield가 비례하고 (Fig. 2와 3), 넣어준  $NO_3^-$  혹은  $NO_2^-$ 를 80% 이상  $N_2O$ 로 변화 (Fig. 2와 3)시키고 있어 탈질화 세균의 특성과 잘 부합된다.

$N_2O$ 는 탈질화 작용에 의해서만이 아니라  $NO_2^-$ 의 산-촉매 파괴에 의한 화학적 탈질화 작용 (11), 질화 작용 (5, 8), dissimilatory nitrate reduction to ammonia (26)에 의해서 생성되고,  $NO_2^-$ 의 detoxification mechanism (20)에 의해서 생성된다. *Propionibacterium*에 의한  $NO_2^-$ 의 detoxification mechanism을 보면  $NO_2^-$ 에서  $N_2O$ 의 생성이  $NO_3^-$ 에서 보다 20~50배 빠르고 생성량은 1.5배 정도 많다 (9). 그러나 본 연구에서 분리된 균주는  $NO_2^-$ 에서  $N_2O$ 의 생성이  $NO_3^-$ 보다 빠르지만  $NO_3^-$ 에서  $N_2O$ 의 생성량이  $NO_2^-$ 에서 보다 많았다 (Fig. 2와 3).

대부분의 탈질화 작용은 혐기적 조건에서 일어난다. 그러나 saturated air condition에서도 탈질화 작용이 일어난다는 보고가 있었다. 종속 영양 질화세균이며 탈질화 세균인 *Thiosphaera pantotropha*는 호기적 조건에서 산소와 nitrate를 동시에 최종 전자 수용체로 하여 자랄 수 있다 (18). 또한 Lloyd 등 (14)은 호기적 조건에서 탈질화 작용은 예외적인 것이 아니라 일반적인 것이라고 주장하였다. 본 연구에 사용된 균주 역시 혐기적 조건에서는 물론 호기적 조건에서 탈질화 작용을 수행하며 (Fig. 4와 5) 호기적 조건에서 산소와 nitrate를 동시에 최종전자 수용체로 이용할 수 있음을 확인하였다. 호기적 조건에서 산소와 nitrate를 최종 전자 수용체로 이용하는 균주는 일반적으로 hetero-

trophic 질화 작용 (4, 18)을 수행하는 것으로 알려져 있는데 분리된 균주의 이러한 능력은 확인되어야 할 사항이다.

## 사 사

본 연구는 한국과학재단 우수연구센터 (서울대학교 분자미생물학 연구센터)의 연구비 지원에 의하여 수행되었다.

## 참 고 문 헌

- Balderston, W.L., B. Sherr, and W.J. Payne, 1976. Blockage by acetylene of nitrous oxide reduction in *Pseudomonas perfectomarinus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**, 504-508.
- Brock, T.D. and M.T. Madigan, 1988. Biology of microorganism, 5th ed., p. 601-606. Prentice-Hall International Editions, New Jersey.
- Carson, C.A. and A.L. Ingraham, 1983. Comparison of denitrification by *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Paracoccus denitrificans*. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**, 1247-1253.
- Castignetti, D. and T.C. Hollecher, 1984. Heterotrophic nitrification among denitrifier. *Appl. Env. Microbiol.* **47**, 620-623.
- Conrad, R. and W. Seiler, 1980. Field measurements of the loss of fertilizer nitrogen into the atmosphere as nitrous oxide. *Atmos. Environ.* **14**, 555-558.
- Fedorva, R.I., E.I. Milekhina and N.I. Ilyukina, 1973. Evaluation of the method of gas metabolism for detecting extraterrestrial life: Identification of nitrogen-fixing microorganisms. *Izv. Akad. Nauk SSSR Ser. Biol.* **6**, 797-806.
- Fierstone, M.K., 1982. Biological denitrification, p. 289-326. In F.J. Stevenson (ed.), Nitrogen in agricultural soils, Agronomy Monograph No. 22. American Society of Agronomy, Madison.
- Hynes, R.K. and R. Knowles, 1984. Production of nitrous oxide by *Nitrosomonas europaea*: Effects of acetylene, pH, and oxygen. *Can. J. Microbiol.* **30**, 1397.
- Kaspar, H.F., 1982. Nitrite reduction to nitrous oxide by propionibacteria: Detoxification mechanism. *Arch. Microbiol.* **133**, 126-130.
- Knowles, R., 1981. Denitrification, p. 623-369. In E.A. Paul and J. Ladd (ed.), Soil biochemistry, Vol. 5. Marcel Dekker, New York.
- Knowles, R., 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* **46**, 43-70.
- Krul, J.M., 1976. Dissimilatory nitrate and nitrite reduction under aerobic conditions by an aerobically and anaerobically grown *Alcaligenes* sp. and by activated sludge. *J. Appl. Bacteriol.* **4**, 245-260.
- Lijinsky, W., 1977. How nitrosamine cause cancer. *New Sci.* **27**, 216-217.
- Lloyd, D., L. Boddy, and K.J.P. Davies, 1987. Persistence of bacterial denitrification capacity under aerobic conditions: The rule rather than the exception. *FEMES Microbiol. Ecology* **45**, 185-190.
- Marshall R.O., H.J. Dishburger, R. MacVicar, and G.D. Hallmark, 1953. Studies on the effect of aeration on nitrate reduction by *Pseudomonas* species using  $^{15}\text{N}$ . *J. Bacteriol.* **66**, 254-257.
- McElroy, M.B., S.C. Wofsy, and Y.Y.L. Yung, 1977. Nitrogen cycle perturbations due to man and their impact on atmospheric  $\text{N}_2\text{O}$  and  $\text{O}_3$ . *Trans. R. Soc. Lond. B* **277**, 159-181.
- Noel, R.K., 1981. Enrichment and isolation, p. 112-142. In P. Gerhardt, R.G.E. Murray, R.N. Cotilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Kreig, and G.B. Briggs (ed.), Manual of methods for general bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Robertson, L.A. and J.G. Kuenen, 1984. Aerobic denitrification: A controversy revived. *Arch. Microbiol.* **139**, 351-354.
- Samuelson, M.O., 1985. Dissimilatory nitrate reduction to nitrite, nitrous oxide, and ammonium by *Pseudomonas putrefaciens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **50**, 812-815.
- Smith, M.S., 1983. Dissimilatory reduction of nitrite to ammonium and nitrous oxide by a soil *Citrobacter* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 854-860.
- Stanier, R.Y., J.L. Ingraham, M.L. Wheels, and P.R. Painter, 1984. The microbial world, 5th ed., p. 33-37. Prentice-Hall International Editions, New Jersey.
- Tiedje, J.M., 1982. Denitrification, p. 1011-1026. In A.L. Page, R.H. Miller, and D.R. Keeney (ed.), Methods of soil analysis, Pt. 2. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Madison.
- Tiedje, J.M., A.J. Sexton, D.D. Myrold, and J.A. Robinson, 1982. Denitrification: Ecological niches, competition and survival. *Antonie Leeuwenhoek J. Microbiol.* **48**, 569-583.
- Tiedje, J.M., 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium, p. 179-244. In A.J.B. Zehnder (ed.), Biology of anaerobic microorganisms. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- von Mecherner, K. and K. Wuhrmann, 1963. Beitrag zur Kenntnis der microbiellen Denitrification. *Pathol. Microbiol.* **26**, 579-591.
- Yoshinari, T., 1990. Emission of  $\text{N}_2\text{O}$  from various environments: The use of stable isotope composition of  $\text{N}_2\text{O}$  as tracer for the studies of  $\text{N}_2\text{O}$  biogeochemical cycling, p. 129-150. In N.P. Revsbeck and J. Sørensen (ed.), Denitrification in soil and sediment. Plenum Press, New York.
- Zumft, G.W., 1990. Bioinorganic aspects of

denitrification: Structure and reactions of  $N_xO_y$  compounds and their interactions with iron and copper proteins, p. 1-15. *In* N.P. Revsbeck and J. Sørensen (ed.), Denitrification in soil and sediment. Plenum Press, New York.

28. Zumft, G.W., 1992. The denitrifying prokaryotes, p. 554-582. *In* A. Balows, H.G. Troupers, M.

Dworkin, W. Harber, and K.R. Schleifer (ed.), The prokaryotes, 2th ed. Springer-Verlag, New York.

(Received November 2, 1994)

(Accepted November 9, 1994)

---

**ABSTRACT: Isolation of Aerobic Denitrifying Bacteria from Sediment of Lakes**

**Min, Sang-Hyeon, Won-Hwa Joung<sup>1</sup>, Jae-Hak Sohn, and Tae-Young Ahn\***  
(Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Dankook University, Chuncheon 330-714, and Research Center for Molecular Microbiology, Seoul National University, Seoul 151-742, <sup>1</sup>Yongsan River Environmental Management Office, Ministry of Environment, Kwangju 550-160, Korea)

Denitrifying bacteria were isolated from sediment of Daechung Reservoir and Lake Soyang. More than eighty strains appeared on the plate of modified minimal succinate medium, among which 10 strains produced  $N_2O$  from  $NO_3^-$ . Only two strains (strain DN-1 and strain DN-3) produced  $N_2O$  from  $NO_2^-$ . The amount of  $N_2O$  produced was 129.9  $N_2O-N_2$  mg/l for strain DN-1 and 132.1  $N_2O-N_2$  mg/l for strain DN-3, respectively. Growth yield of both strains appeared to be directly proportional to the  $N_2O$  production. More than 80% of added  $NO_3^-$ -N or  $NO_2^-$ -N were transformed as  $N_2O$  gas. The amount of  $N_2O$  produced under aerobic condition was 137.1  $N_2O-N_2$  mg/l for DN-1 and 133.7  $N_2O-N_2$  mg/l for DN-3. The aerobic growth yield was about two times higher than that of anaerobic growth yield. But the quantity of  $N_2O$  produced was not markedly changed. The yield of growth was proportional to the  $N_2O$  production under aerobic condition. Accordingly, it showed that strain DN-1 and DN-3 have the denitrification activity under aerobic condition.