

액상 당밀과 질산성 질소의 C/N 비율에 따른 *Pseudomonas* sp. KY1의 탈질 능력 및 그 최적비율에 관한 연구

Enhancement of Denitrification Capacity of *Pseudomonas* sp. KY1 through the Optimization of C/N ratio of Liquid Molasses and Nitrate

이규연 · 이병선* · 신도연** · 최용주*** · 남경필[†]

Kyuyeon Lee · Byung Sun Lee* · Doyun Shin** · Yongju Choi*** · Kyoungphile Nam[†]

서울대학교 건설환경공학부 · *한국농어촌공사 농어촌연구원

한국지질자원연구원 희유자원연구센터 · *스탠포드대학교 토목환경공학부

Department of Civil and Environmental Engineering, Seoul National University

*Rural Research Institute, Korea Rural Community Corporation

**Rare Metals Research Center, Korea Institute of Geoscience and Mineral Resources

***Department of Civil and Environmental Engineering, Stanford University

(2013년 8월 19일 접수, 2013년 9월 23일 채택)

Abstract : This study was conducted to identify an optimal ratio of carbon to nitrogen (C/N ratio) for denitrification of nitrate using molasses as an external carbon source. A series of batch and column tests was conducted using an indigenous bacterium *Pseudomonas* sp. KY1 isolated from a nitrate-contaminated soil. For the initial nitrate-nitrogen concentration of 100 mg-N/L, batch test results indicated that C/N ratio of 3/1 was the optimal ratio with a relatively high pseudo-first-order reaction constant of 0.0263 hr⁻¹. At C/N ratio of 3/1, more than 80% of nitrate-nitrogen concentration of 100 mg-N/L was removed in 100 hrs. Results of column tests with a flow velocity of 0.3 mL/min also indicated that the C/N ratio of 3/1 was optimal for denitrification with minimizing remaining molasses concentrations. After 172 hrs of column operation (35 pore volumes) with an influent nitrate-nitrogen concentration of 100 mg-N/L, the effluent met the drinking water standard (i.e., 10 mg NO₃-N/L).

Key Words : Heterotrophic Denitrification, Molasses, Nitrate-nitrogen, C/N Ratio, *Pseudomonas* sp. KY1

요약 : 본 연구에서는 액상당밀을 외부탄소원으로 이용하는 탈질미생물 *Pseudomonas* sp. KY1의 탈질능력을 확인하고 최적의 C/N 비율을 도출하였다. 회분식 실험 결과, C/N 비율 3/1에서 0.0263 hr⁻¹의 유사1차반응상수가 도출되었고, 이 비율에서 100 mg-N/L의 초기 질산성질소는 실험시작 후 약 100시간 이내에 약 80%의 제거율을 보였다. C/N 비율 3/1의 컬럼 실험에서 초기 질산성질소 농도 100 mg-N/L의 오염수(유속 0.3 mL/min)는 실험시작 후 172시간(35 PV) 이후부터 실험 종료 시(62 PV)까지 최대 95%의 탈질효율을 보였고, 이 비율에서 2차 오염원으로 작용할 수 있는 잔류당밀의 농도를 최소화(125~180 mg-COD/L) 할 수 있었다.

주제어 : 종속영양성 탈질, 당밀, 질산성질소, C/N 비율, *Pseudomonas* sp. KY1

1. 서론

2011년 환경부 지하수 수질측정망 운영결과에 따르면(<http://www.me.go.kr/>) 대장균을 제외할 경우, 질산성질소(NO₃-N)는 수질기준 초과시료의 약 11%를 차지하여 지하수에서 가장 심각한 오염물질로 판단된다. 또한 최근 7년간 지하수 수질측정망 자료에 대한 통계에서도 전체 2,249개 수질기준 초과시료 중 약 20%(451개)가 질산성질소로 오염된 것으로 조사되었다. 질산성질소 오염은 주로 농어촌지역 지하수에서 특징적으로 나타나는데, 관개 농업과 축산에 관련된 분뇨와 비료 살포, 농약 사용, 축산폐수 유출, 정화조 누수 및 생활하수 등에 기인한 무기 또는 유기질소가 지하에 유입되어 발생된다. 그런데 2011년 환경부 상수도 통계에 따르면(<http://www.me.go.kr/>), 우리나라 농어촌지역 읍면단위 인구의 약

27%에 해당하는 약 245만 명이 생활용수의 대부분을 지하수 및 계곡수 등(마을상수도, 소규모급수시설)에 의존하며, 광역상수도가 보급된 농가에서도 상수도에 비하여 비용부담이 적은 천부관정을 설치하여 이용하는 사례가 많다. 결과적으로, 농어촌 지하수의 질산성질소 오염은 농어민에게 상수원 환경개선의 관점을 넘어 삶의 기본인 물 문제에 이르기까지 매우 중요한 사항이 아닐 수 없다.

질산성질소를 정화하기 위한 방법으로, 그 동안 역삼투법, 이온교환법, 전기투석법, 미생물학적 탈질 등 여러 방법이 제시되어 왔다.¹⁾ 이 가운데 미생물학적 탈질은 탄소원 및 에너지원의 종류에 따라 크게 독립영양성 및 종속영양성 탈질로 구분할 수 있다. 독립영양성탈질은 탄소원으로 이산화탄소를, 에너지원으로 무기물(황화합물, 철화합물 등)의 산화환원반응을 이용하여 질산성질소를 질소 기체로 환원시키는 방

[†] Corresponding author E-mail: kpnam@snu.ac.kr Tel: 02-880-1448 Fax: 02-873-2684

법이다. 종속영양성탈질은 외부에서 공급되는 유기탄소를 탄소원으로, 유기물의 산화환원반응을 에너지원으로 이용하는데 탈질반응속도가 독립영양성탈질에 비해 상대적으로 빠른 장점이 있다. 종속영양성탈질을 위해, 그 동안 우수한 탄소원으로서 알코올(에탄올, 메탄올), 자연유기물(밀집, 벚집, 톱밥, 숭),²⁻⁶⁾ 액상부산물(양조장 잔류액, 치즈 잔류액, 당밀)⁷⁻¹²⁾ 등 다양한 물질을 이용한 연구가 수행된 바 있다. 그러나 탈질효율이 높고 반응부산물이 발생하지 않는 알코올의 경우, 생산성 있는 수처리가 아닌 지하수에 대한 단순정화 목적으로 사용하기에는 가격이 높은 한계가 있다.^{13,14)} 반면 구입이 용이하고 가격이 저렴한 자연유기물의 경우에는 셀룰로우스, 헤미셀룰로우스, 리그닌 등의 난분해성 물질이 전체의 많은 부분을 차지하고 있기 때문에 분해속도가 느리고 분해미생물의 종류가 제한적인 한계가 있다. 액상부산물은 가격 접근성과 탈질미생물의 이용성이 우수하지만, 과도한 양을 주입할 경우 지하수 내 외부 탄소원에 의한 2차 오염을 야기할 우려가 있다.

최근에 질산성질소 오염지하수에 대한 정화를 위해, 액상부산물 중 하나인 당밀을 고체로 제조하여 장기간 탈질을 도모한 실내 컬럼실험 연구가 수행된 바 있다.¹⁵⁾ 그 결과 고체당밀에서 방출된 당밀은 종속영양성 탈질미생물로 하여금 탄소원 및 에너지원으로 이용되어, 381시간 동안 초기농도 20 mg-N/L의 질산성질소를 3 mg-N/L 이하로 저감시켰다. 그러나 탈질반응 후 1,169~3,406 mg-COD/L의 잔류당밀이 발생하는 등 2차 오염의 우려가 있어 이를 해결하기 위한 당밀의 최적 주입량에 대한 보다 구체적인 연구가 필요한 상황이다. 본 연구는 종속영양성 탈질미생물과 당밀을 이용한 탈질 기술 개발의 일부로서, 당밀에 의한 탈질능을 높이고 잔류당밀의 양을 최소화 하기 위한 액상 당밀의 최적 주입량을 찾기 위해 수행되었다.

2. 연구방법

2.1. 회분식 실험

초기 질산성질소 농도 100 mg-N/L에 대하여, 탄질비(액상당밀 중의 탄소와 질산성질소의 함량비; C/N 비율) 1/1, 2/1, 3/1, 4/1, 5/1, 10/1의 배지를 조성한 후 회분식 실험을 실시하였다. 본 연구에서 사용한 액상 당밀의 조성은 Table 1과 같고, C/N 비율 별 초기 및 잔류 COD 농도는 Table 2와 같다. 탈질미생물로는 경기도 ○○지역 충적 대수층의 토양시료에서 분리한 당밀을 유일 탄소원으로 이용하는 종속영양성 탈질미생물 *Pseudomonas* sp. KY1을 이용하였다.¹⁵⁾ 각각의 배지를 혐기성 상태로 조성하기 위하여, 160 mL 용량의 내열 유리 재질 시료병에 각각의 당밀 배지 98 mL를 채우고, 아르곤 기체를 이용하여 2분간 산소를 제거한 후, 용기의 상부를 부틸 고무마개와 알루미늄 뚜껑으로 닫고, 가압멸균기를 이용하여 121 °C, 15 psi에서 18분간 멸균하였다. 여기에 미리 배양한 *Pseudomonas* sp. KY1을 현탁액 상태로 각각의

Table 1. Chemical composition of the liquid molasses used for this study

Organic substance (%)		Inorganic substance (%)	
Glucose	5~10	Macronutrients (Na, K, Ca, Cl, P, S, Mg)	>5
Sucrose	30~40	Micronutrients (Cu, Fe, Zn, Mn, Co, Pb, Cd, As, Al)	<1
Fructose	5~10		
Crude protein	3		
Starches & polysaccharides	4	Miscellaneous	3-7
Methoxy group	3~4		
Organic acid	3		

Table 2. Initial and residual COD values at various C/N ratios

C/N ratio	1/1	2/1	3/1	4/1	5/1	10/1
Initial COD (mg-COD/L)	234	447	576	888	1056	2040
Residual COD, batch test (mg-COD/L)	91.4	248.4	351.2	380	356.2	916.7
Residual COD, column test (mg-COD/L)	59	ND	125	154	ND	794

ND: Not determined during the experiments

배지에 2 mL (>10⁸ CFU/mL) 씩 접종하였다. 이 후 상온(25 °C)에서 12일 동안 배양하면서, 각 30, 36, 48, 96, 192, 240, 288시간에 멸균주사기로 시료를 2 mL씩 채취 및 0.45 μm 여과지로 여과한 뒤 이온크로마토그래피(DX-80, Dionex, U.S.A.)로 질산성질소 농도를 측정하였다. 또한 분광광도계(DR-2800, HACH, U.S.A.)를 이용하여 화학적 산소요구량(COD; Chemical oxygen demand)으로 당밀농도를 측정하였다. 그리고 500 μL 유리 주사기를 이용하여 각 배양용기의 상부공간(headspace)에서 기체상 시료를 채취하고, 기체크로마토그래피(GC-TCD, Younglin, Korea)로 탈질의 최종 대사산물인 질소 기체를 분석하였다.

2.2. 컬럼실험

초기 질산성질소 농도 100 mg-N/L에 대하여, 액상 당밀의 C/N 비율을 1/1, 3/1, 4/1, 10/1로 하여 실내 컬럼실험을 실시하였다. 실험을 위하여 Pyrex 재질의 원통형 컬럼(길이×내경=20 cm×4 cm) 4개를 제작, 사용하였고(Fig. 1) 각 컬럼은 입자 지름 0.595~0.841 mm의 Ottawa 표준사(20-30 mesh; Fisher Scientific, U.S.A.)를 충전하였고 공극율은 0.37이었다. Ottawa 표준사에 탈질미생물 *Pseudomonas* sp. KY1을 부착하기 위해, 액체 당밀선택배지에서 생장시킨 탈질미생물 배양액(>10⁸ CFU/mL) 400 mL를 유량조절펌프를 이용하여 0.3 mL/min로 24시간 동안 컬럼에 유입 및 순환시켰다. 이후 매질에 대한 탈질미생물의 부착성을 높이기 위해 컬럼의 유입구와 유출구를 모두 닫고 48시간 동안 정치하였다. 이

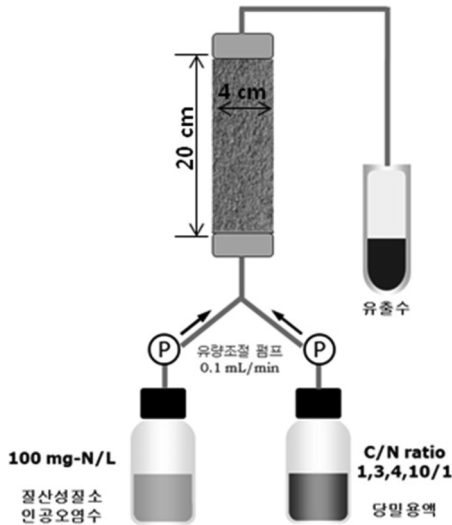


Fig. 1. Schematic diagram of the continuous up-flow soil column used for this study.

후 탈질미생물이 부착된 컬럼 내부로 질산성질소 오염수와 당밀용액을 동시에 유입시킬 수 있도록 컬럼 유입구에 Y자 모양의 유리관을 설치하였다. 질산성질소 인공오염수와 각각의 C/N 비율에 따른 당밀용액은 121°C에서 15 psi로 18 분간 멸균시킨 후 상온에서 식힌 후 컬럼으로 유입되었다. 질산성질소 인공오염수는 KNO_3 0.722 g/L, K_2HPO_4 0.4 g/L, KH_2PO_4 0.15 g/L, NH_4Cl 0.4 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L 및 미량성분용액 SL-10 (DSMZ 320) 10 mL/L 를 포함하였다. 질산성질소 인공오염수 및 당밀용액의 주입유량은 유량조절 펌프를 이용하여 0.1 mL/min이 되도록 조절하였다. 컬럼의 유입구로부터 유출구로 용액이 통과하는 시간은 4.9시간(1 pore volume, PV)이었다. 각각의 C/N 비율에 따른 질산성질소와 당밀농도의 변화추이를 살펴보기 위하여 컬럼 유출수에서 실험 시작 후 5, 20, 25, 46, 53, 71, 76, 91, 97, 116, 125, 140, 164, 184, 190, 200, 206, 220, 231, 249, 255, 275, 282, 297, 303시간에 시료를 채수하여 수소이온농도(pH)와 용존 산소농도(DO; Dissolved oxygen)를 측정하였다. 이 후 이온크로마토그래피(DX-80, Dionex, USA)와 분광광도계(DR-2800, HACH, USA)로 질산성질소 및 COD로 측정된 당밀농도를 분석하였다. 모든 컬럼실험은 상온에서 수행되었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 회분식 실험

회분식 실험 결과, C/N 비율이 높을수록 질산성질소는 짧은 시간 내에 저감되었다(Fig. 2). C/N 비율이 낮은 1/1, 2/1에서는 실험종료 시까지 초기 질산성질소 100 mg-N/L 이 각각 40% 이상, 60% 이상 저감되었다. C/N 비율이 중간 정도인 3/1, 4/1에서는 100시간 내에 초기 질산성질소 100 mg-N/L 이 90% 이상 저감되었다. C/N 비율이 높은 5/1, 10/1에서는 50 시간 내에 초기 질산성질소 100 mg-N/L이 90% 이상 저감되었

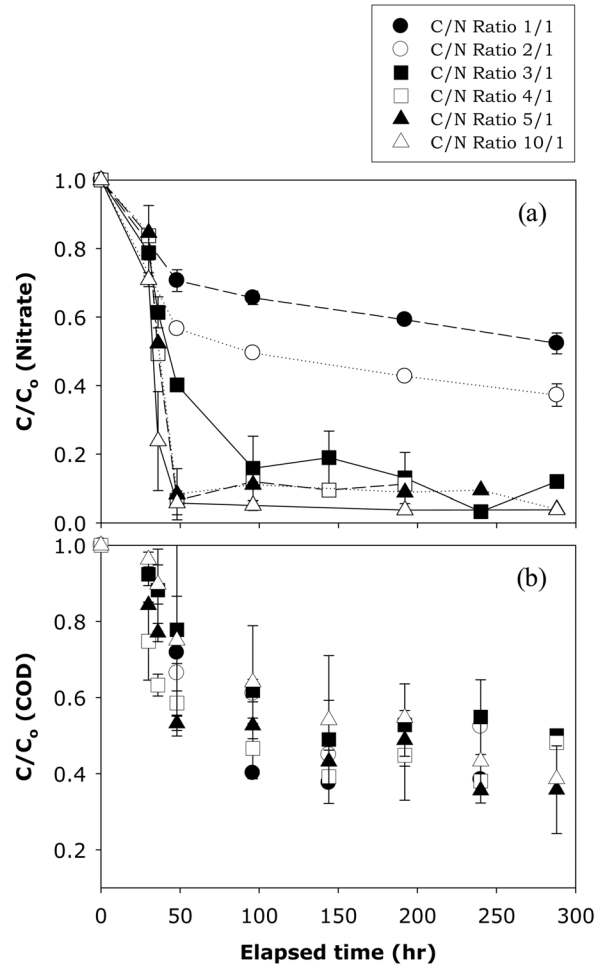


Fig. 2. Batch test results showing nitrate removal and COD values as indirect molasses concentrations at various C/N ratios by a heterotrophic denitrifier *Pseudomonas* sp. KY1.

다. 하지만, 서로 다른 C/N 비율에서 COD의 감소는 질산성질소와 달리 C/N 비율에 따른 차이를 보이지 않았다. 결과적으로, 이 실험에서 당밀의 초기 농도만 탈질의 반응속도 차이를 야기하는 것을 알 수 있었다. 탈질의 중간 대사물인 아질산이온은 실험기간 중 1 mg/L 이하로 검출이 되었으며, 지속적인 축적은 관찰되지 않았다. 본 결과와 유사한 현상(낮은 아질산성질소 검출)은 Almeida 등에¹⁶⁻¹⁸⁾ 의해서도 보고된 바가 있다. 각 C/N 비율에 따른 질산성질소의 반응속도를 계산하기 위하여, 실험 시작으로부터 100시간 내의 결과를 바탕으로 질산성질소 농도에 의존적인 유사1차반응상수(Pseudo-first-order rate constant, k')를 도출한 결과(Fig. 3), C/N 비율 1/1, 2/1에서 0.0044 hr⁻¹, 0.0072 hr⁻¹로 낮은 반면, 3/1, 4/1, 5/1, 10/1에서는 0.0263 hr⁻¹, 0.0295 hr⁻¹, 0.0281 hr⁻¹, 0.0315 hr⁻¹와 같이 상대적으로 큰 반응상수 값을 보였다. 탈질반응에서 이상적 C/N 비율은 공급된 유기탄소원의 종류에 따라 다를 수 있지만,^{11,12,19)} 분명한 것은 이상적 C/N 비율보다 탄소원이 적을 경우, 질산성질소와 아질산성질소의 저감율은 낮아질 뿐만 아니라, 이 두 물질이 탈질 최종산물인 질소기체로 전환되는 것이 저해될 수 있다는 점이다.¹⁹⁻²¹⁾ 반면, 이상적

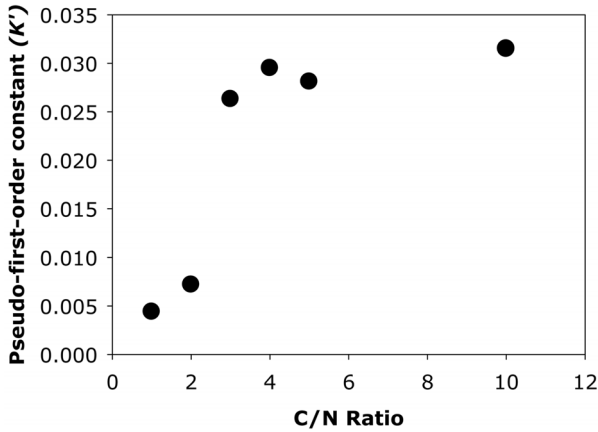
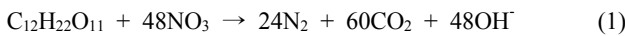


Fig. 3. Pseudo first-order reaction constants (K') at various C/N ratios.

C/N 비율보다 공급된 탄소원의 농도가 높은 경우, 잔류 탄소원에 의한 2차 오염이 발생할 수 있다. Kaplan 등²²⁾은 활성슬러지 미생물을 이용한 실험에서 2.05 g/L의 질산염을 정화하기 위해서는 C/N 비율 3.6/1로 당밀을 주입하는 것이 최적이라고 하였다. 또한, Quan 등²³⁾은 당밀과 연속회분식반응기(Sequencing batch reactor, SBR)를 이용한 탈질실험에서 최적 C/N 비율은 4.3-5.8/1라고 하였다. 본 회분식 실험의 결과는, C/N 비율 2/1 이하에서는 질산성질소 저감속도가 크게 저하되나, 3/1 이상에서는 유사1차반응상수가 유사하게 나타나고 90% 이상의 탈질 효율을 나타내었다.

탈질의 최종 대사산물인 질소 기체의 양은 식 (1)로부터 추정할 수 있다.⁷⁾



질산성질소 100 mg-N/L가 주입된 100 mL배지에서의 이론적 질소기체 발생량은 약 8 mL이며, 이는 용기 상부공간의 약 11.76%에 해당한다. 회분식 실험결과, 비록 이론적인 수치에 도달하지는 못하였으나 실험시작 후 165시간까지의 질소기체는 대부분 5~11% 범위로 측정되었다(Fig. 4). C/N 비율이 낮은 1/1, 2/1에서는 실험 후 65시간 이후(이때의 질산성질소 제거율은 각각 33~49%, 50~63%임) 질소 기체는 각각 ~5%, ~7%를 유지하였다. C/N 비율이 중간 정도인 3/1, 4/1에서는 약 90%의 질산성질소 저감이 발생한 100시간 이후 각각 ~9%, ~5%를 유지하였다. 그리고 C/N 비율이 상대적으로 높은 5/1, 10/1에서는 약 90%의 질산성질소 저감이 발생한 50시간 이후 각각 ~5% 및 ~11%가 발생하였다.

한편, 잔류될 경우 2차 오염원으로 작용할 우려가 있는 당밀농도를 나타내는 COD는 시간경과에 따라 지속적으로 감소하였고, 최종적으로 실험종료 시에는 모든 C/N 비율에서 공통적으로 약 56%의 소모율을 보였다(Fig. 2). 낮은 C/N 비율(1/1, 2/1)에서는 초기단계에서 대부분의 당밀의 소모가 발생하여 중기 이후로 COD의 추가소모량이 거의 없었음에 비해, 높은 C/N 비율(5/1, 10/1)에서는 실험종료 시까지 COD가

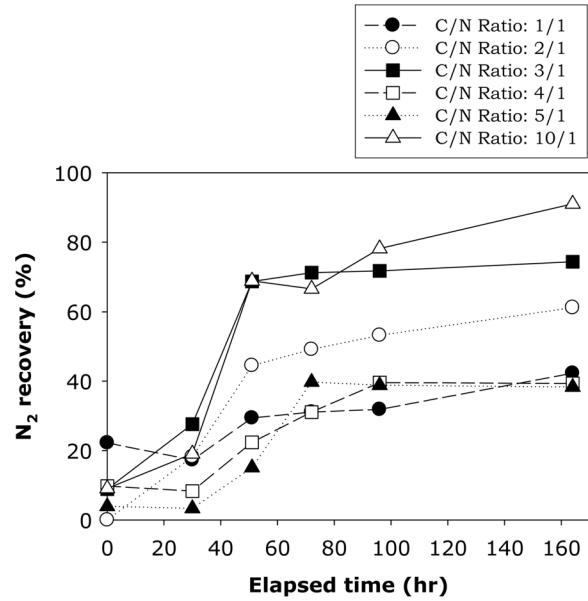


Fig. 4. Dinitrogen gas concentrations as a final product of denitrification at various C/N ratios.

점진적으로 꾸준히 감소하였다. 본 연구에서 사용한 당밀의 경우 미생물에 의한 분해가 쉬운 단당류 및 이당류(자당, 과당 및 포도당)를 약 48-56% 가량 포함하고 있는데, 이는 본 회분식 실험에서 소모된 당밀의 비율(56%)과 유사하다. 이는 실험종료 시에는 탈질미생물이 당밀 내 쉽게 이용 가능한 탄소원을 대부분 사용한 것으로 해석될 수 있다. 이상의 결과를 종합하여 유사1차반응상수를 기준으로 살펴보았을 때, 주입된 당밀의 양을 최소화하며 동시에 질산성질소 제거를 최대로 기대할 수 있는 C/N 비율은 3/1로 생각된다.

3.2. 컬럼실험

컬럼실험 결과, 질산성질소는 C/N 비율이 높을수록 짧은 시간 내에 저감되었다(Fig. 5). 초기 농도 100 mg-N/L의 질산성질소는 C/N 비율 1/1에서 20 PV(약 98시간) 경과 후 약 50%까지 저감되었으나, 이후 시간에는 저감을 보이지 않고 유출구에서 약 50 mg-N/L의 질산성질소가 꾸준히 검출되었다. C/N 비율 3/1 및 4/1에서는 20 PV경과 후 공통적으로 약 85%까지 저감되었다. 이후 35 PV경과 후부터 실험종료 시(62 PV; 약 304시간)까지 C/N 비율 3/1에서는 약 95%까지 저감되어 유출구에서 10 mg-N/L 내외의 질산성질소가 검출되었고, 4/1에서는 약 99%까지 점진적으로 저감되어 유출구에서 질산성질소가 거의 검출되지 않았다. C/N 비율 10/1에서는 컬럼 유출수 기준으로 10 PV 이후부터 질산성질소가 검출한계(225 µg-N/L) 이하²⁴⁾로 거의 검출되지 않았다. 실험기간 동안 유출수에서 측정된 용존산소농도(Dissolved oxygen, DO)는 지속적으로 2 mg/L-DO 이하로 측정되어 탈질조건이 적절하게 형성되고 있었으며, pH는 C/N 비율 10/1을 제외한 모든 C/N 비율에서 7부근에서 유지되어 탈질에 적절한 조건이었다(Fig. 6).

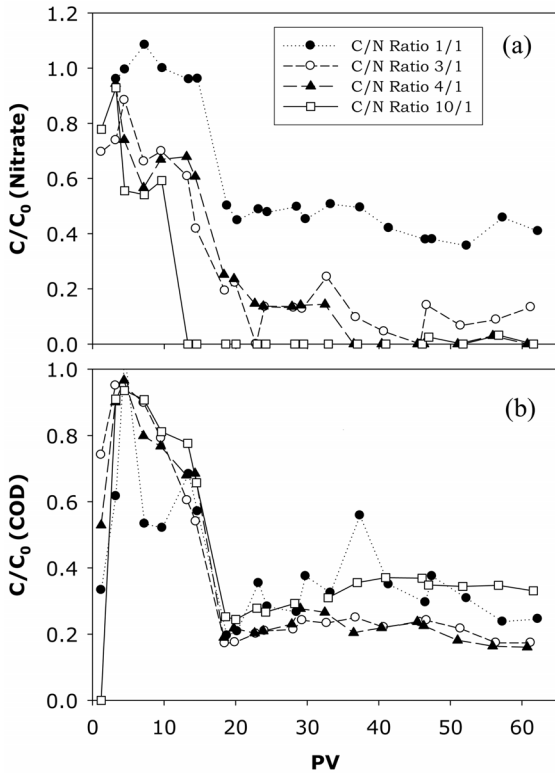


Fig. 5. Nitrate removal (a) and COD values (b) as indirect molasses concentrations at various C/N ratios in a sand column inoculated with *Pseudomonas* sp. KY1.

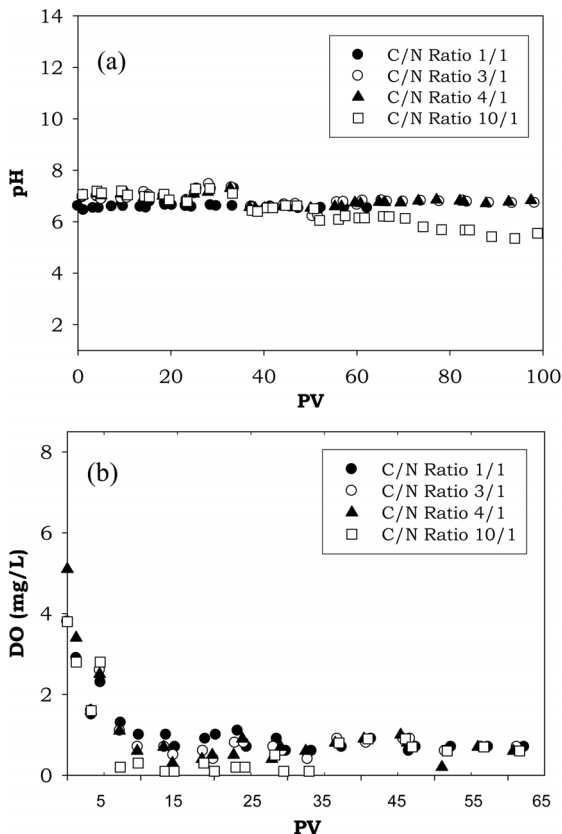


Fig. 6. Changes in (a) pH and (b) DO at various ratios of carbon to nitrogen during the column test.

한편, COD로 측정된 당밀농도는 각 C/N 비율의 차이와는 관계없이, 시간경과에 따라 유사한 양상으로 감소하였고, 20 PV(약 98시간) 이후 모든 C/N 비율에서 공통적으로 약 70% 내외의 소모율을 보였다(Fig. 5). 시간에 따른 당밀 소모양상이 C/N 비율과 관계없이 유사한 것은 회분식 실험의 결과와 유사하였으나, 소모율에서는 차이를 보였다(회분식 실험의 경우 당밀 소모율은 약 56%). 컬럼실험과 회분식실험의 소모율의 차이는, 컬럼실험의 경우 미생물에 의해 쉽게 소모되기 힘든 당밀 내 유기물들이 충전 모래에 잔류하여 당밀의 COD가 상대적으로 적게 환산되었기 때문일 가능성이 있다. 그러나, 이에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다. 각 C/N 비율에 따른 잔류 COD 농도는 Table 2에 나타내었다.

컬럼실험 결과를 종합하면, C/N 비율 3/1 이상에서는 100 mg-N/L의 질산성질소 인공오염수를 먹는물 수질기준 이하인 10 mg-N/L 이하로 저감시킬 수 있었다. 또한 당밀의 소모율도 약 70%로 유사하였다. 그런데 C/N 비율 3/1, 4/1 및 10/1의 질산성질소 저감율(90% 이상)과 당밀소모율(70%)이 유사할 지라도, 잔류당밀의 양적인 측면에서는 커다란 차이가 있다. 즉, 낮은 C/N 비율에서는 소량소모에 따른 소량의 잔류당밀이 발생하지만, 높은 C/N 비율에서는 대량 소모된 당밀만큼 그에 해당하는 대량의 잔류당밀이 발생한다. 이를 토대로 판단할 때, 주입된 당밀의 양을 최소화하여 탈질 후 잔류당밀의 양을 최소화하고, 동시에 탈질의 목표수준(먹는물 수질기준 이하)을 달성할 수 있으며, 더불어 적정주입에 따라 잔류 당밀을 최소화할 수 있는 C/N 비율 3/1이 가장 적절한 비율로 판단된다.

4. 결론

질산성질소 제거율과 잔류 당밀을 고려할 때, 당밀을 이용한 중속영양성 탈질미생물의 질산성질소 제거효율은 C/N 비율 3/1에서 최적인 것으로 판단되며, 회분식 실험에서 100 mg-N/L의 질산성질소 인공오염수를 먹는물 수질기준(10 mg-N/L) 이하로 처리하는데 걸리는 시간은 100 hrs이고 그때의 유사1차반응상수는 0.0263 hr⁻¹이었다. 컬럼실험에서는 같은 농도의 질산성질소를 먹는물 수질기준 이하로 제거하는데 182 hrs(37.77 PV)가 소요되었다.

사사

이 연구는 농림수산식품기술기획평가원 농림기술개발연구(과제번호 106108-3) 및 한국환경산업기술원 토양·지하수 오염방지기술개발사업(GAIA Project)의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다. 서울대학교 건설환경종합연구소의 기술적 지원에도 감사드립니다.

참고문헌

1. Moon, H. S., Ahn, K.-H., Lee, S., Nam, K. and Kim, J. Y., "Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system," *Environ. Pollut.*, **129**, 499~507(2004).
2. Aslan, Ş. and Türkman, A., "Biological denitrification of drinking water using various natural organic solid substrates," *Water Sci. Technol.*, **48**(11), 489~495(2003).
3. Avnimelech, Y., Diab, S. and Kochba, M., "Development and evaluation of a biofilter for turbid and nitrogen rich irrigation water," *Water Res.*, **27**(5), 785~790(1993).
4. Soares, M. I. M. and Abeliovich, A., "Wheat straw as substrate for water denitrification," *Water Res.*, **32**(12), 3790~3794(1998).
5. Su, C. and Puls, R. W., "Removal of added nitrate in the single, binary, and ternary systems of cotton burr compost, zerovalent iron, and sediment: implications for groundwater nitrate remediation using permeable reactive barriers," *Chemosphere*, **67**, 1653~1662(2007).
6. Volokita, M., Abeliovich, A. and Soares, M. I. M., "Denitrification of groundwater using cotton as energy source," *Water Sci. Technol.*, **34**(1), 379~385(1996).
7. Boaventura, R. A. R. and Rodrigues, A. E., "Denitrification kinetics in a rotating disk biofilm reactor," *Chem. Eng. J.*, **65**, 227~235(1997).
8. Cunningham, A., Sharp, R. R., Hiebert, R. and James, G., "Subsurface biofilm barriers for the containment and remediation of contaminated groundwater," *Bioremediat. J.*, **7**, 151~164(2003).
9. Dutta, L., Nuttall, H. E., Cunningham, A., James, G. and Hiebert, R., "In situ biofilm barriers: case study of a nitrate groundwater plume, Albuquerque, New Mexico," *Remediat. J.*, **15**, 101~111(2005).
10. Lee, D., Lee, I., Choi, Y. and Bae, J., "Effects of external carbon source and empty bed contact time on simultaneous heterotrophic and sulfur-utilizing autotrophic denitrification," *Proc. Biochem.*, **36**, 1215~1224(2001).
11. Monteith, H. D., Bridle, T. R. and Sutton, P. M., "Industrial waste carbon sources for biological denitrification," *Prog. Water Technol.*, **12**, 127~141(1980).
12. Skrinde, J. R. and Bhagat, S. K., "Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification," *J. Water Pollut. Control Fed.*, **54**(4), 370~377(1982).
13. Kapoor, A. and Viraraghavan, T., "Nitrate removal from drinking water-review," *J. Environ. Eng.*, **123**(4), 371~380(1997).
14. Louzeiro, N. R., Mavinic, D. S., Oldham, W. K., Meisen, A. and Gardner, I. S., "Process control and design considerations for methanolinduced denitrification in a sequencing batch reactor," *Environ. Technol.*, **24**, 161~169(2003).
15. Lee, B. S., Lee, K., Shin, D., Choi, J. H., Kim, Y. J., and Nam, K., "Denitrification by a heterotrophic denitrifier with an aid of slowly released molasses," *J. Soil Groundwater Environ. Korea*, **15**(4), 30~38(2010).
16. Almeida J. S., Reis, M. A. M. and Carrondo, M. J. T., "Competition between nitrate and nitrite reduction in denitrification by *Pseudomonas fluorescens*," *Biotechnol. Bioeng.*, **46**, 476~484(1995).
17. Ye, R. W., Arunakumari, A., Averill, B. A. and Tiedje, J. M., "Mutants of *Pseudomonas fluorescens* deficient in dissimilatory nitrite reduction are also altered in nitric oxide reduction," *J. Bacteriol.*, **174**(8), 2560~2564(1992).
18. Betlach, M. R. and Tiedje, J. M., "Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification," *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**(6), 1074~1084(1981).
19. Her, J. J. and Huang, J. S., "Influences of carbon source and C/N ration on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough," *Bioresour. Technol.*, **54**(1), 45~51(1995).
20. Narkis, N., Rebhun, M. and Sheindorf, C. H., "Denitrification at various carbon to nitrogen ratios," *Water Res.*, **13**, 93~98(1979).
21. Weier, K. L., Doran, J. W., Power, J. F. and Walters, D. T., "Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate," *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **57**(1), 66~72(1993).
22. Kaplan, D. L., Riley, P. A., Pierce, J. and Kaplan, A. M., "Denitrification of high nitrate loads-efficiencies of alternative carbon sources," *Int. Biodeterior.*, **23**, 233~248(1987).
23. Quan, Z. X., Jin, Y. S., Yin, C. R., Lee, J. J. and Lee, S. T., "Hydrolyzed molasses as an external carbon source in biological nitrogen removal," *Bioresour. Technol.*, **96**(15), 1690~1695(2005).
24. Siu, D. C. and Henshall, A., "Ion chromatographic determination of nitrate and nitrite in meat products," *J. Chromatogr. A*, **804**, 157~160(1998).
25. Rust, C. M., Aelion, C. M. and Flora, J. R. V., "Control of pH during denitrification in sub-surface sediment microcosm using encapsulated phosphate buffer," *Water Res.*, **34**(5), 1447~1454(2000).
26. Brady, N. C. and Weil, R. R., "The nature and properties of soils," Prentice Hall, New Jersey 13th ed(2002).
27. Rivett, M. O., Buss, S. R., Morgan, P., Smith, J. W. N. and Bemment, C. D., "Nitrate attenuation in groundwater: a review of biogeochemical controlling processes," *Water Res.*, **42**(16), 4215~4232(2008).