

Kjeldahl 증류법을 활용한 질산성-질소 및 암모니아성-질소 안정동위원소비 분석 및 질소오염원 추적 사례 연구

김민섭 · 박태진¹ · 윤숙희 · 임보라 · 신경훈³ · 권오상² · 이원석*

국립환경과학원 환경측정분석센터, ¹국립환경과학원 유역총량연구과, ²국립환경과학원 환경기반연구부, ³한양대학교 해양융합과

Introduction of Kjeldahl Digestion Method for Nitrogen Stable Isotope Analysis ($\delta^{15}\text{N-NO}_3$ and $\delta^{15}\text{N-NH}_4$) and Case Study for Tracing Nitrogen Source. Kim, Min-Seob, Tae-Jin Park¹, Suk-Hee Yoon, Bo-La Lim, Kyung-Hoon Shin³, Oh-Sang Kwon² and Won-Seok Lee* (Department of Environmental Measurement & Analysis Center, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Korea; ¹Department of Fundamental Environment Research, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Korea; ²Department of Watershed and Total Load Management Research Division, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Korea; ³Department of Marine Science and Convergence Technology, Hanyang University, Ansan 426-791, Korea)

Abstract Nitrogen (N) loading from domestic, agricultural and industrial sources can lead to excessive growth of macrophytes or phytoplankton in aquatic environment. Many studies have used nitrogen stable isotope ratios to identify anthropogenic nitrogen in aquatic systems as a useful method for studying nitrogen cycle. In this study to evaluate the precision and accuracy of Kjeldahl processes, two reference materials (IAEA-NO-3, N-1) were analyzed repeatedly. Measured the $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ and $\delta^{15}\text{N-NH}_4$ values of IAEA-NO-3 and IAEA-N-1 were $4.7 \pm 0.2\text{‰}$ and $0.4 \pm 0.3\text{‰}$, respectively, which are within recommended values of analytical uncertainties. Also, we investigated spatial patterns of $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ and $\delta^{15}\text{N-NH}_4$ in effluent plumes from a waste water treatment plant in Han River, Korea. $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ and $\delta^{15}\text{N-NH}_4$ values are enriched at downstream areas of water treatment plant suggesting that dissolved nitrogen in effluent plumes should be one of the main N sources in those areas. The current study clarifies the reliability of Kjeldahl analytical method and the usefulness of stable isotopic techniques to trace the contamination source of dissolved nitrogen such as nitrate and ammonia.

Key words: Kjeldahl method, nitrogen isotope analysis, stable isotope, nitrogen source trace, mixing model

서 론

생활하수 및 용수수요의 증가, 축산 및 농공단지 조

성 등으로 인하여 질산성 질소 및 암모니아성 질소 (NO_3 , NH_4)의 유입으로 인한 하천수의 수질악화 문제가 심각하게 대두되고 있다. 수질오염은 농경지에 살포된 농약 및 무기비료, 축산폐수, 공장폐수 등에서 기원된 질산염 등이 강우에 의해 유출되어 발생되며, 비점오염원이 넓은 지역에 산재되어 있기 때문에 배출원의 파악과 제어가 어렵다 (Choi *et al.*, 2002). 이러한 측면에서, 수질 시료 중 질

Manuscript received 1 June 2015, revised 13 July 2015,
revision accepted 30 September 2015
* Corresponding author: Tel: +82-32-560-8380, Fax: +82-32-560-7905,
E-mail: boystone@korea.kr

산성 질소 안정동위원소의 자연 존재비는 다양한 환경에서 지표수와 지하수의 오염원 규명에 활용되어 왔다 (Kohl *et al.*, 1971; Kellman and Hillaire-Marcel, 2003; Oren *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2011). 질산염의 질소동위원소 ($\delta^{15}\text{N}$) 조성은 토양기원이 4~9%, 화학비료 -1~2%, 가축분뇨 8~16%의 값을 나타내고 있어 오염원 기원을 판별하는 연구에 활용되고 있다 (Deutsch *et al.*, 2006; Chae *et al.*, 2009; French *et al.*, 2012). 국내에서는 하천수와 지하수의 질소오염원을 판별하기 위하여 질산염 (NO_3^-)의 질소 안정동위원소 ($\delta^{15}\text{N}$) 조성을 이용한 연구가 진행되고 있다 (Choi *et al.*, 2002; Min *et al.*, 2003; Choi *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2012).

수질에서 입자성물질의 질소 안정동위원소비 측정은 분석절차가 간단하고 보편화 되어있지만 (Kim *et al.*, 2014), 용존형태의 암모니아성 질소 ($\text{NH}_4\text{-N}$) 및 질산성 질소 ($\text{NO}_3\text{-N}$)의 안정동위원소비 측정은 분석방법이 용이하지 않아 (Sigman *et al.*, 1997; Holmes *et al.*, 1998) 국내에서는 널리 사용되지 못하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 암모니아성 질소 ($\text{NH}_4\text{-N}$) 및 질산성 질소 ($\text{NO}_3\text{-N}$)의 안정동위원소 분석을 위한 대표적인 전처리 방법의 하나인 Kjeldahl 증류법을 소개하고, 처리과정에서 주의해야 할 절차 (건조방법, 시료량 등) 및 환경시료에의 적용가능성에 대해서 기술하고자 한다.

재료 및 방법

1. Kjeldahl 증류법

수중에서 영양염의 일종으로 존재하는 질산성 질소 및 암모니아성 질소의 안정동위원소비 분석을 위해서 Kjeldahl 증류법 (Hauck, 1982; Bremner, 1996)을 이용하였다 (Fig. 1). 용존 질소 수용액 200 mL에 산화마그네슘 (MgO)을 첨가하여 증류한 후 0.01 N 황산 (H_2SO_4)에 암모니아 (NH_4^+) 증류액 15 mL를 30분 동안 포집한다. 증류관을 방냉한 후 남은 증류시료에 Devada alloy를 투입하여 질산염 (NO_3^-) 증류액 15 mL를 30분 동안 포집한다. 포집한 시료는 0.01 N 수산화나트륨 (NaOH)으로 pH를 3으로 조정한 후 건조하여 남은 백색 분말을 분석한다.

2. 표준시료의 조제

Kjeldahl 증류법을 이용한 안정동위원소 분석법의 정확도 및 정확성을 확보하기 위하여 국제표준기구 (IAEA)에서 판매하는 IAEA-NO-3 (Potassium nitrate KNO_3) 및

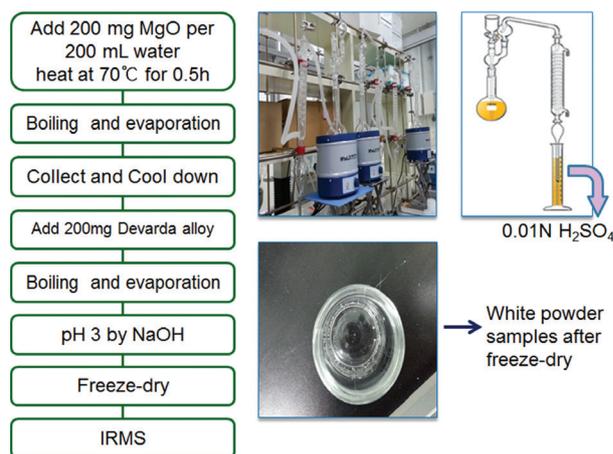


Fig. 1. Analytical procedure of Kjeldahl method.

IAEA-N-1 (Ammonium Sulfate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)를 표준시료로 사용하였다. 안정동위원소 분석기 (EA-IRMS: Elemental Analyzer - Isotope Ratio Mass Spectrometry, vario Micro cube-Isoprime 100, Elementar-Isoprime, U.K.)를 이용하여 질소 안정동위원소비를 측정하였으며 총 5회 반복 분석하였다 ($\text{KNO}_3\text{-N}$: $4.7 \pm 0.1\%$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\text{-N}$: $0.4 \pm 0.1\%$). 표준시료 (IAEA-NO-3, IAEA-N-2)를 3차 증류수에 녹여 다양한 농도 범위 ($0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 \text{ mg L}^{-1}$)로 조제하여 Kjeldahl 증류법을 통하여 얻어진 시료를 5회 반복 질소 안정동위원소비를 측정된 결과값으로 본 연구결과의 신뢰도를 조사하였다.

3. 시료 건조

Kjeldahl 증류법을 이용하여 얻은 액상시료의 질소 안정동위원소비 분석을 위해서 시료를 건조시켜 백색가루 형태로 변환시키는 과정이 필요하다. 시료를 건조시키는 방법으로는 오븐건조 (70°C)와 동결건조 (-80°C) 방법이 있으며, 비교 실험을 통하여 질소 안정동위원소비 분석에 적합한 건조방법을 비교 조사하였다. 오븐 (Oven, Laptec LDO-150F)건조는 1~2일의 시간이 소모되었으며, 동결 (Freeze Dryer, Ilshin Biobase FD5508)건조는 4~5일의 시간이 소모되었다.

4. 안정동위원소비 분석

0.5 mg의 시료를 틴 (Tin capsule)에 봉인하여 원소분석기-동위원소질량분석기 (EA-IRMS: Elemental Analyzer - Isotope Ratio Mass Spectrometry, vario Micro cube-Isoprime 100, Elementar-Isoprime, U.K.)를 이용하여 질소 안정동위

원소비를 분석하였다. 안정동위원소비는 %로 표현되며 δ 계산식은 아래와 같다.

$$\delta = [(R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1] \times 1000$$

$$R = {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$$

$\delta^{15}\text{N}$ 분석을 위한 표준물질은 IAEA-N-2 (Ammonium Sulphide), IAEA-NO-3 (Potassium nitrate)을 사용하였다. 각각의 분석 표준편차는 0.1‰, 0.2‰이다.

5. 환경시료에의 적용

하천에서의 효율적인 질소관리의 일환으로 질소화합물간의 분포특성 파악을 위하여 질산성 질소 및 암모니아성 질소의 기원을 파악하는 연구를 진행하였다. 연구지역으로 한강 지천의 상류지역, 하수처리 방류지역, 방류지역에서 1 km 거리의 하류지역을 선정한 후 현장에서 물 시료를 직접 채수하였다. 채수한 물을 아이스박스에 보관하여 실험실로 이동한 후 47 mm GF/F (Whatman) 여과지에 여과하여 Kjeldahl 증류법으로 질산성 질소 (${}^{15}\text{NO}_3\text{-N}$) 및 암모니아성 질소 (${}^{15}\text{NH}_4\text{-N}$)의 안정동위원소비를 분석하였다.

6. 기여율 계산

질소원의 잠재적인 기여율을 계산하기 위하여 Two-source mixing model (EPA method, Phillips *et al.*, 2003)을 사용하였다. 상류지역에서의 질산성 및 암모니아성 질소의 안정동위원소비를 A, 하수처리 방류지의 질산성 및 암모니아성 질소의 안정동위원소비를 B로 명명하여 대표값 (End-member)으로 설정한 후 각각의 질소원으로부터 하류지역으로의 기여율을 계산하였다.

결과 및 고찰

1. 시료 건조방법에 따른 안정동위원소비의 변화

Kjeldahl 증류법으로 얻어진 액상시료를 동결건조 (-80°C)와 오븐건조 (70°C)방법으로 수분을 제거한 후 질산칼륨 (KNO_3)의 질산성 질소 (${}^{15}\text{NO}_3\text{-N}$) 및 황산암모늄 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)의 암모니아성 질소 (${}^{15}\text{NH}_4\text{-N}$)의 안정동위원소비의 변화를 관찰하였다 (Table 1). 질산칼륨 시료는 분석 신뢰구간 (Fig. 2)의 농도범위에서 (0.4 ~ 10 mg L^{-1}) 오븐건조 시에 -8.1 ~ -2.0‰로 6.1‰의 광범위한 질소 안정동위원소비 변화를 보이지만, 동결건조 시에는 -4.9 ~ -4.1‰로 0.8‰의 미비한 변화를 보인다. 황산암

Table 1. Effects of oven and freeze drying of standard samples (NH_4Cl and KNO_3) on $\delta^{15}\text{N}$ (‰).

Standard material	Dry method	Standard material concentration (mg L^{-1})																				
		0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
NH_4Cl	Oven	-1.2	-1.7	1.1	1.1	1.3	1.7	1.6	1.4	1.6	1.6	1.8	1.4	2.2	2.5	2.2	2.4	2.5	2.4	2.4	2.4	
	SD	1.2	0.3	0.4	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	
	Freeze	0.6	0.3	0.7	0.9	0.6	0.7	0.3	0.4	0.9	0.9	0.6	0.3	0.8	0.6	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.5
	SD	0.4	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
KNO_3	Oven	-8.2	-6.9	-3.1	-3.2	-2.0	-3.9	-5.4	-2.9	-2.4	-2.4	-3.8	-5.7	-3.5	-4.2	-4.8	-8.1	-7.1	6.8	-7.2	-7.2	
	SD	2.3	1.5	0.5	0.9	0.1	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	Freeze	-6.5	-6.9	-5.9	-4.3	-4.3	-4.1	-4.5	-4.6	-4.3	-4.7	-4.3	-4.2	-4.3	-4.5	-4.6	-4.8	-4.4	4.5	-4.5	-4.5	
	SD	1.3	0.4	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	

모뎀 시료는 $0.1 \sim 10 \text{ mg L}^{-1}$ 농도범위에서 오븐건조 시에 $-1.7 \sim 2.5\text{‰}$ 로 4.2‰ 의 뚜렷한 질소 안정동위원소비 변화를 보이지만, 동결건조 시에는 $0.3 \sim 0.9\text{‰}$ 로 0.6‰ 의 미비한 변화를 보였다. 동결건조는 시료내 수분을 제거하는 가장 일반적인 방법으로 안정동위원소 분석에 적합하며 (Carabel *et al.*, 2006), 오븐건조 시 고온에 의한 일부 세포 및 유기물의 분해 및 파괴과정이 동반될 수 있다 (Lecea *et al.*, 2011). 일부 연구에서 오븐건조, 동결건조를 이용한 시료 건조방법이 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ 값에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 보고하였지만 (Bosley and Wainright, 1999; Kaehler and Pakhomov, 2001), 최근 연구에서는 다른 의견을 제시하고 있다. Brearley (2009)는 60°C 이상의 온도에서 시료를 건조할 경우에 대부분의 시료에서 $\delta^{15}\text{N}$ 값이 가벼워지는 경향을 보였으며, Lecea *et al.* (2011)는 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ 값이 무거워지는 경향을 보인다고 보고하였다. 그러므로 본 연구에서는 오븐건조에서 질소 안정동위원소비가 무거워지거나 가벼워지는 일정한 변화보다는 큰 변동폭이 관찰되었으며, 이러한 결과는 오븐건조 동안에 시료가 기체상 (gaseous ammonia) 형태로 증발하여 이에 수반되는 안정동위원소의 분별작용에 기인한 것으로 여겨진다. 동결건조방법은 승화 (sublimation) 과정을 통해서 물을 제거할 수 있기 때문에 증발과정을 통해서 물을 제거하는 오븐건조의 방식보다는 시료내의 안정동위원소비 변화를 최소화할 수 있다.

2. 시료 농도 변화에 따른 안정동위원소비의 정밀 · 정확도

표준물질 (KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)을 증류수에 녹여 0.1 mg L^{-1} 에서 10 mg L^{-1} 까지 20개의 시료를 만든 후 농도구배에 따른 질소 안정동위원소비의 변화를 살펴보기 위하여 Kjeldahl 증류법으로 실험을 진행하였다. 황산암모늄 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)의 $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ 는 $0.1 \sim 10 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도 범위에서 $\pm 0.2\text{‰}$ 내의 변동을 보였고 질산칼륨 (KNO_3)은 $^{15}\text{NO}_3\text{-N}$ 는 $0.1, 0.2, 0.3 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도를 제외하고 $0.4 \sim 10 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도범위에서 $\pm 0.3\text{‰}$ 내의 변동을 나타내었다 (Fig. 2). 전체적으로 황산암모늄의 암모니아성 질소 ($^{15}\text{NH}_4\text{-N}$)는 0.1 mg L^{-1} 의 낮은 농도에서도 검출이 되었지만, 질산칼륨의 질산성 질소 ($^{15}\text{NO}_3\text{-N}$)는 $0.1 \sim 0.3 \text{ mg L}^{-1}$ 의 저농도에서는 검출이 되지 않았다. Kjeldahl 증류법은 고온조건에서 NH_4^+ 를 NH_3 로 휘산시켜며, 휘산된 NH_3 는 차가운 콘덴서를 지나면서 냉각되어 pH가 낮은 0.01 N 황산 (H_2SO_4)에 포집되어 NH_4^+ 상태로 존재하게 된다. 그 이후 NO_3^- 는 Devada's alloy에 의해 NH_4^+ 로 환원된다. 시료 내에서 NH_4^+ 를 먼저 휘산시킨 후 NO_3^- 분석이 이루어지

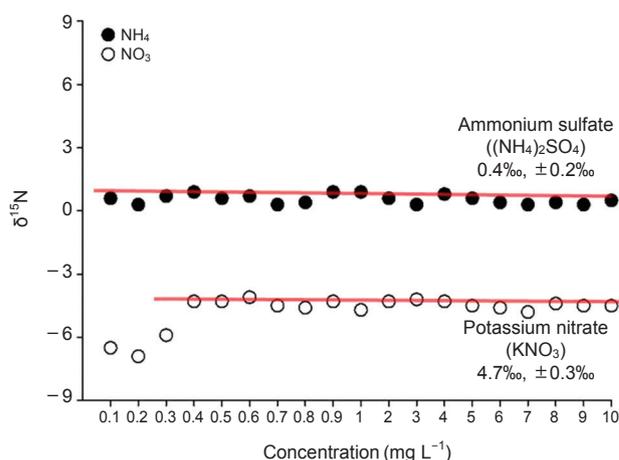


Fig. 2. Concentration of standard materials (KNO_3 and NH_4Cl) and measured nitrogen isotope ratio.

기 때문에 저농도에서의 분석은 용이하지 않는 것으로 여겨진다. 저농도에서 질산성 질소 ($^{15}\text{NO}_3\text{-N}$)의 분석을 위해서는 많은 시료량을 확보하거나 미생물을 이용한 탈질 미생물법을 이용해야 한다 (Sigman *et al.*, 2001). 탈질 미생물법은 미량의 시료 ($2 \sim 10 \text{ mL}$)를 사용하기 때문에 기존 방법에 사용되었던 시료의 부피를 1/100까지 감소시킬 수 있으므로 다양한 환경 시료에서의 분석을 가능하게 하고 있다.

3. 질소오염원 추적 사례

한강 수계 중권역으로 유입되는 질산염의 기원을 추적하기 위하여 남방 하천의 상류, 하수처리 방류장, 하류에서 시료를 채수하여, Kjeldahl 분석법으로 질산성 질소 ($^{15}\text{NO}_3\text{-N}$) 및 암모니아성 질소 ($^{15}\text{NH}_4\text{-N}$)의 안정동위원소비의 변화를 관찰하였다 (Fig. 3). 한강지천의 상류에서 질산염의 $^{15}\text{NO}_3\text{-N}$, $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ 값이 상대적으로 가볍게 나타나지만 (9.4‰ , 6.5‰), 하수처리 방류수 (20.1‰ , 14.3‰)가 유입되면서 하류 (18.4‰ , 9.8‰)에서는 무거운 경향을 보인다 (Fig. 3). Two-source mixing model (EPA method, Phillips *et al.*, 2003)을 적용하여 오염원 (하수처리장) 기원의 기여율을 평가한 결과, 방류수에서 유입되는 질산염이 하류로 흘러가면서 질산성 질소는 42%, 암모니아성 질소는 85% 증가하는 경향을 보인다. 인위적인 오염원은 점오염원과 비점오염원으로 나눌 수 있으며, 점오염원에는 하수처리장 및 폐수종말처리장, 축산농가에서 기인한 가축분뇨 등이 있고, 비점오염원에는 농경지에서 사용하는 질소비료나 산림에서 하천으로 유입되는 질소들이 있다 (Camargo *et al.*, 2006). 이러한 다양한 질소원의 수중생태계의 유입은 부

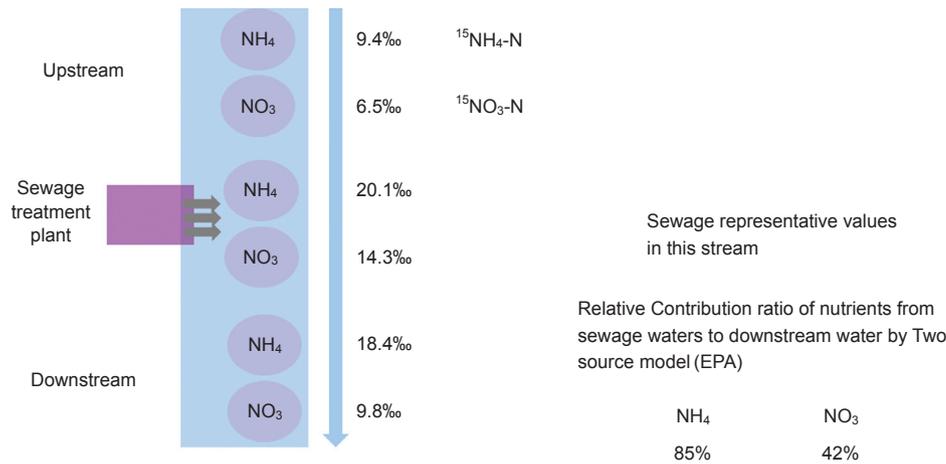


Fig. 3. Estimated contribution of dissolved nitrogen from sewage into downstream using two source model (EPA) for the Han River stream in June 2014.

영양화를 가속화시켜 식물플랑크톤, 부착조류, 대형 수생 식물과 같은 일차생산자의 증식을 초래한다 (Shin *et al.*, 2000). 부영양화 평가 및 모니터링이 주로 질산염, 인, 클로로필-*a*의 농도를 바탕으로 시행되지만 그 유입원을 찾기에는 어려운 부분이 있었다. 그러나 Kjeldahl 증류법을 활용한 질산성 질소 및 암모니아성 질소의 안정동위원소비를 조사한다면, 국내 하천수 및 지천에서 점오염원 및 비점오염원을 규명하는 것이 가능할 것으로 여겨진다.

적 요

본 연구는 Kjeldahl 증류법을 이용하여 암모니아성 질소 및 질산성 질소의 안정동위원소 분석법을 연구하였으며, 건조방법 및 시료 농도 범위에 따른 분석값의 변화에 대하여 고찰하였다. 표준시료를 다양한 농도 범위 (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg L⁻¹)로 조제하여 질산성 및 암모니아성 질소 안정동위원소비 (¹⁵NH₄-N, ¹⁵NO₃-N)를 분석한 결과, ¹⁵NH₄-N는 0.1 ~ 10 mg L⁻¹의 농도 범위에서 측정 가능하였으며 (±0.2%) ¹⁵NO₃-N는 0.4 ~ 10 mg L⁻¹의 농도 범위에서 측정 가능하였다 (±0.3%). Kjeldahl 증류법으로 얻어진 시료를 건조할 경우 오븐건조는 질소 안정동위원소비가 2.2%의 큰 변화를 보이지만, 동결건조는 0.5%의 작은 차이를 보이므로 동결건조방법이 적합하였다.

실증연구 일환으로 한강 수계 중권역의 한 지천에서 암모니아성 질소 (NH₄-N) 및 질산성 질소 (NO₃-N)의 안정동위원소비를 이용하여 질산염의 기원을 추적해 보았다. 지

천이 흘러가는 방향을 중심으로 상류, 하수처리 방류장, 하류로 구분하고 각각의 ¹⁵NH₄-N, ¹⁵NO₃-N 안정동위원소비를 분석하였다. 상류에서 질산염의 ¹⁵NO₃-N, ¹⁵NH₄-N 값이 가법계 나타나지만 (2%, 8%), 특성이 다른 질소화합물의 방류수 (23%, 14%)가 유입되면서 하류 (21%, 11%)에 영향을 주는 것으로 여겨진다. 본 연구를 통하여 수행된 ¹⁵NH₄-N, ¹⁵NO₃-N 안정동위원소비 분석법은 수생태계로 유입되는 다양한 질소 기원을 파악하여 효율적인 수질 관리를 위한 중요 정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다. 다만 이와 같은 기법을 적용하기 위해서는 추후 유역 오염원의 대표값 (end member)의 조사를 통하여 지속적인 자료구축이 이루어져야 할 것이다.

REFERENCES

Benfield, L.D., J.F. Judikins and B.L. Weand. 1982. Process chemistry for water and wastewater treatment. Prentice Hall Inc, Englewood Cliff. New Jersey, 212.

Bosley, K.L. and S.C. Wainright. 1999. Effects of preservatives and acidification on the stable isotope ratios (¹⁵N: ¹⁴N, ¹³C: ¹²C) of two species of marine animals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* **56**: 2181-2185.

Brearley, F.Q., J.D. Scholes and S.S. Lee. 2005. Nitrogen nutrition and isotopic discrimination in tropical ectomycorrhizal fungi. *Research in Microbiology* **156**: 184-190.

Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total, p. 1085-1121. In: *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, American Society for Agronomy (Sparks, D.L. *et al.*, eds.). Madison, Wisconsin, USA.

Camargo, J.A. and A. Alonso. 2006. Ecological and toxicologi-

- cal effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystem: A global assessment. *Environmental International* **32**: 831-849.
- Carabel, S., P. Godinez-Dominguez, L. Versimo, L. Fernandez and J. Freire. 2006. An assessment of sample processing methods for stable isotope analyses of marine food webs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **336**: 254-261.
- Chae, G.T., S.T. Yun, B. Mayer, B.Y. Choi, K.H. Kim, J.S. Kwon and S.Y. Yu. 2009. Hydrochemical and stable isotopic assessment of nitrate contamination in an alluvial aquifer underneath a riverside agricultural field. *Agricultural Water Management* **96**: 1819-1827.
- Choi, W.J., G.H. Han, H.M. Ro, S.H. Yoo and S.M. Lee. 2002. Evaluation of nitrate contamination sources of unconfined groundwater in the North Han River basin of Korea using nitrogen isotope ratios. *Geosciences Journal* **6**: 47-55.
- Choi, Y.J., J.W. Jung, W.J. Choi, K.S. Yoon, D.H. Choi, S.S. Lim, J.H. Jeong, B.J. Lim and N.M. Chang. 2011. Estimation of pollution sources of Oenam watershed in Juam lake using nitrogen concentration and isotope analysis. *Journal of Korean Society on Water Quality* **27**: 467-474.
- Deutsch, B., M. Mewes, I. Liskow and M. Voss. 2006. Quantification of diffuse nitrate inputs into a small river system using stable isotopes of oxygen and nitrogen in nitrate. *Organic Geochemistry* **37**: 1333-1342.
- French, C., L. Rock, K. Nolan, J. Tobin and A. Morrissey. 2012. The potential for a suite of isotope and chemical markers to differentiate sources of nitrate contamination: A review. *Water Research* **46**: 2023-2041.
- Fry, B. 2008. *Stable Isotope Ecology*. 3rd. Springer.
- Kaehler, S. and E.A. Pakhomov. 2001. Effects of storage and preservation on the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ signatures of selected marine organisms. *Marine Ecology Progress Series* **219**: 299-304.
- Hauck, R.D. 1982. Nitrogen-isotope ratio analysis, p. 735-779. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America (Page, A.L. et al., eds.). Madison, Wisconsin, USA.
- Heaton, T.H.E. 1986. Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: A review. *Chemical Geology* **59**: 87-102.
- Holmes, R.M., J.W. McClelland, D.M. Sigman, B. Fry and B.J. Peterson. 1998. Measuring $^{15}\text{N-NH}_4^+$ in marine, estuarine and fresh waters: An adaptation of the ammonia diffusion method for samples with low ammonium concentrations. *Marine Chemistry* **60**: 235-243.
- Kellman, L.M. and C. Hillaire-Marcel. 2003. Evaluation of nitrogen isotopes as indicators of nitrate contamination sources in an agricultural watershed. *Agriculture Ecosystem and Environment* **95**: 87-102.
- Kim, I.S., K.S. Lee, Y.S. Bong, J.S. Ryu and K.J. Kim. 2012. Nitrogen and Oxygen analysis of nitrate using denitrification method. *Journal of the Geological Society of Korea* **48**(4): 351-356.
- Kim, M.S., J.M. Kim, J.Y. Hwang, B.K. Kim, H.S. Cho, S.J. Youn, S.Y. Hong, O.S. Kwon and W.S. Lee. 2014. Determination of the Origin of Particulate Organic Matter at the Lake Paldang using Stable isotope ratios. *Korean Journal of Environmental Ecology* **47**(2): 127-134.
- Kohl, D.H., G.B. Shearer and B. Commoner. 1971. Fertilizer nitrogen: Contribution to nitrate in surface water in a corn belt watershed. *Science* **74**: 1331-1334.
- Lecea, A.M., A.J. Smit and S.T. Fennessy. 2011. The effects of freeze/thaw periods and drying methods on isotopic and elemental carbon and nitrogen in marine organisms, raising questions on sample preparation. *Rapid Communication Mass Spectrometry* **25**: 3640-3649.
- Michener, R. and K. Lajtha, 2007. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. 2nd. Blackwell publishing.
- Min, J.H., S.T. Yun, K. Kim, H.S. Kim and D.J. Kim. 2003. Geologic controls on the chemical behaviour of nitrate in riverside alluvial aquifers Korea. *Hydrological Processes* **30**: 1197-1211.
- Ministry of Environment of Korea, [http://www.law.go.kr/DRF/MDRFLawSe\(rvice.jsp?OC=me&ID=7134](http://www.law.go.kr/DRF/MDRFLawSe(rvice.jsp?OC=me&ID=7134) (July 3, 2012).
- Oren, O., Y. Yechieli, J.K. Bohlke and A. Doby. 2004. Contamination of groundwater under cultivated fields in an arid environment, central Arava Valley, Israel. *Journal of Hydrology* **290**: 312-328.
- Phillips, D.L. and J.W. Gregg. 2003. Source partitioning using stable isotopes; coping with too many sources. *Ecosystems of Ecology* **136**: 261-269.
- Sigman, D.M., M.A. Altabet, R. Michener, D.C. McCorkle, B. Fry and R.M. Holmes. 1997. Natural abundance-level measurement of the nitrogen isotopic composition of oceanic nitrate: an adaptation of the ammonia diffusion method. *Marine Chemistry* **57**: 227-242.
- Shin, J.K., J.L. Cho, S.J. Hwang and K.J. Cho. 2000. Eutrophication and water pollution characteristics of the Kyongan Stream to Paltang Reservoir. *Korean Journal of Environmental Ecology* **33**(4): 387-394.
- US EPA, National primary drinking water regulations, EPA 816-F-09-0004, <http://water.epa.gov/drink/contaminants> (July 3, 2012).
- Wassenaar, L.I. 1995. Evaluation of the origin and fate of nitrate in the abbotsford aquifer using the isotopes of ^{15}N and ^{18}O in NO_3^- . *Applied Geochemistry* **10**: 391-405.