

## 당밀과 질산성 질소의 C/N ratio 변화에 따른 탈질 및 미생물 군집 특성에 관한 연구

엄한기 · 김성철\*

경기대학교 환경에너지공학과

### A study on the denitrification and microbial community characteristics by the change of C/N ratio of molasses and nitrate nitrogen

Hanki Eom and Sungchul Kim\*

Department of Environmental Energy Engineering, Kyonggi University, Suwon 16227, Republic of Korea

(Received March 23, 2018; Revised April 18, 2018; Accepted April 23, 2018)

To compare the denitrification efficiency, this study used molasses and methanol were used as external carbon sources. Specific experimental conditions were classified according to C/N ratio conditions. The batch test showed that the denitrification efficiency increased as C/N ratios of molasses and methanol rose. The most suitable C/N ratio of molasses turned out 4:1 considering the concentration of the residue chemical oxygen demand (COD) and the denitrification efficiency, which was 91.4%. Specific denitrification rate (SDNR) drawn as a kinetic factor demonstrated that molasses and methanol showed similar SDNR values as C/N ratios of molasses and methanol increased. Under the condition of C/N ratio 4:1, 0.0292 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g mixed liquor volatile suspended solid (MLVSS)/day (molasses), 0.0299 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g MLVSS/day (methanol) were found. Sludge adapted to molasses showed that *Bacterium Pseudomonas* sp. and *Bergeyella* sp. dominated through an analysis of microbial community. In addition, some bacteria were high convergences than the variety of microbial community. Accordingly, it was assumed that molasses focus on growing microorganisms specialized in denitrification and applied as a replaceable external carbon source that can enhance denitrification performance.

**Keywords:** C/N ratio (Carbon and Nitrogen ratio), denitrification, molasses, microbial community, SDNR (Specific Denitrification Rate)

질산성 질소(Nitrate, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)를 N<sub>2</sub>로 탈질시키기 위해서는 탄소원이 충분해야 한다(Wiesmann, 1994). COD/total kjeldahl nitrogen (TKN)(C/N ratio) 비율이 낮아 탄소원이 부족할 경우에는 질소를 제거하는데 한계가 있으며, 생물학적 탈질 작용이 원활히 이루어지지 않을 경우 하수처리장 방류수 수질기준 중 총 질소(T-N 20 mg/L)의 수질기준을 초과할 우려가 있다. 이에 따라 C/N ratio가 낮은 하수를 제거하기 위해서는 인위적으로 외부탄소원(External Carbon Source)을 주입해야 한다(Isaacs *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 2012). 그러나 외부탄소원의 주입은 탈질 후 잔류 유기물에 대한 처리가 요구되며, 외부탄소원 주입에 따른 약품비 등 운영비의 증가를 야기시킨다(Yoon *et al.*, 2010). 탈질을 향상시키기 위해 주로 사용되는 전자공여체(electron donor)로는 아세트산, 메탄올, 에탄올 등이 있다(Akunna *et al.*, 1993; Lee and Welander, 1996). 이들은 화학약품으로써 아세트산은 pH 조절의 어려움과 비용이 비싸다는 단점이 있다. 또한 메탄올은 일부 슬러지의 적응성과 탈질 속도 저하의 문제점이 제기된 바 있으며(Grabinska-Loniewska, 1991; Shin *et al.*, 2002), 경제적으로도 매우 부담이 큰 것으로

\*For correspondence. E-mail: [kmac40@kyonggi.ac.kr](mailto:kmac40@kyonggi.ac.kr);  
Tel.: +82-31-249-1476; Fax: +82-31-248-3987

알려져 있다. Jung *et al.* (2005)의 연구에서는 메탄올 주입에 따른 경제성을 평가하였는데 COD 또는 biochemical oxygen demand (BOD)/TKN 또는 T-N (COD/TKN or BOD/T-N)비가 3.5~3.9 조건에서 일평균 메탄올 투입은 9,832 kg이며, 이를 톤당 460,000원으로 환산하면 한화로 약 4,523,000원이 소요된다고 보고하였다.

또한 메탄올은 위험물에 속하며, 폭발성이 높아 관리가 매우 어려운 측면이 있다. 이에 따라 기존의 외부탄소원의 문제를 해결할 수 있는 대체 외부탄소원 개발이 필요한 실정이다. 최근 우수한 탄소원으로서 알코올류(ethanol, methanol), 자연 유기물(chaff, sawdust), 액상부산물(distillery, cheese, molasses) 등 다양한 물질을 이용한 연구가 진행되었다(Cunningham *et al.*, 2003; Dutta *et al.*, 2005; Su and Puls, 2007).

당밀(Molasses)은 설탕을 제조할 때 부산물로 생산되는 액체이다. 특히, 사탕수수 당밀은 설탕이 더 이상 결정화되지 않고 남은 검은색의 점성이 높은 액체이다. 당밀에서 당분은 자당(sucrose), 포도당(glucose), 과당(fructose)으로 구성되어 있다. 이와 같이 당밀은 대부분이 단당류로 구성되어 있기 때문에 외부탄소원으로써 재활용 가치가 우수하다. 또한 당밀은 kg당 한화로 약 200~300원으로 메탄올(kg당 약 1,000원)보다 약 4~5배 저렴하여 경제성도 매우 우수하다. 그 동안 당밀을 이용한 탈질 연구가 다수 시도되어 왔다. 당밀을 적용한 연구(Lee *et al.*, 2010)에서 탈질 성능은 우수하였으나, 잔류 유기물에 대한 2차 오염 문제와 최적 주입량에 대한 구체적인 연구는

미비한 실정이다. 따라서, 본 연구의 목적은 생물학적 탈질 시 외부탄소원으로써 당밀을 적용하고 C/N ratio 조건에 따른 동역학적 인자 변화와 탈질 성능을 평가하고자 한다. 또한 미생물 군집 분석을 통해 당밀이라는 신규 외부탄소원에 특화된 종속영양 박테리아의 변화를 관찰하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 외부탄소원(External carbon source)

본 연구에 사용된 당밀은 사탕수수 당밀로 Table 1에 화학 성분 및 영양소 함량을 나타내었다. 수분을 제외한 75% 건조 무게를 기준으로 당밀에 포함된 총 유기물 함량은 60~65%이며, 이 중 대부분이 당(48~56%)으로 이루어져 있다. 이 외에도 포도당과 과당이 각각 5~10% 함유되어 있어 분해가 쉬운 단당류가 주를 이루고 있는 것으로 나타났다. 미네랄 성분은 Ca, P, K, Na, Mg, Mn, Zn, Co, Fe가 포함되어 있으며, Fe 173.1 g/kg, K 51.0 g/kg가 가장 많은 부분을 차지하고 있는 것으로 나타났다(Lee *et al.*, 2013).

### 회분식 실험(Batch test)

초기 질산성 질소( $\text{NO}_3^-$ -N, Nitrate) 농도를 80 mg/L로 설정한 후 당밀의 COD와 질산성 질소의 함량비(C/N ratio)에 따라

**Table 1. Chemical composition of the molasses**

Organic substance	Content (% , 75% dry basis)	Mineral	Content (g/kg)
Total organic	60-65	Ca	9.2
Sugars	48-56	P	0.7
Sucrose	30-40	K	51.0
Glucose	5-10	Na	2.4
Fructose	5-10	Mg	4.0
Non-sugar	9-12	Mn	74.0
Crude protein	3	Zn	18.0
Carbohydrate	4	Co	6.6
Methoxy group	3-4	Fe	173.1
Organic acid	3.3		
Ash	10-15		
Inorganic substance	8-12		

**Table 2. Operate condition of batch reactor**

Volume (L)	pH	MLVSS (mg/L)	React time (h)
2	7.0-7.5	5,000	0~12

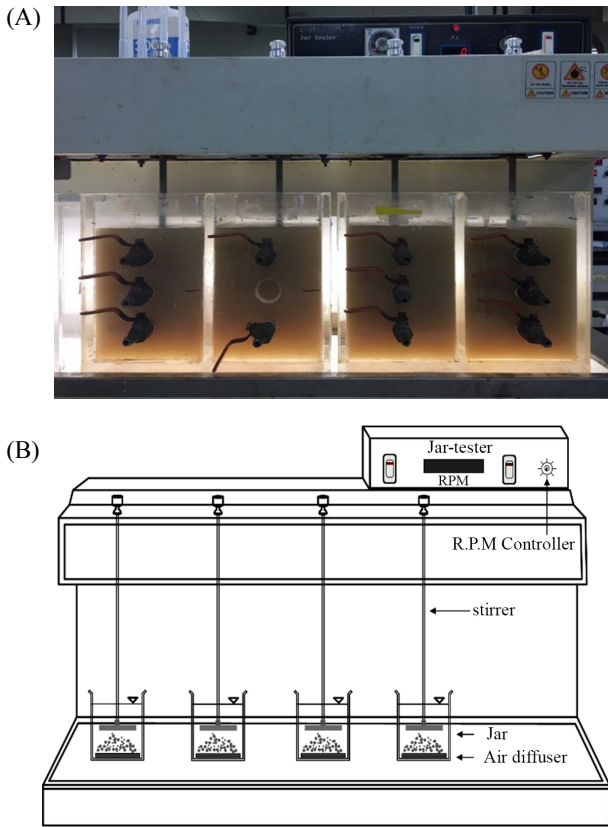


Fig. 1. Experimental equipment of batch reactor. (A) Picture of batch test, (B) Jar-tester.

Table 3. Experiment condition for denitrification according to C/N ratio

C/N ratio	Concentration (mg/L)		F/M ratio, g/COD g/MLVSS/day
	COD <sub>Cr</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	
1:1	80	80	0.032
2:1	160	80	0.064
3:1	240	80	0.096
4:1	320	80	0.128
5:1	400	80	0.160

회분식 실험을 진행하였다. 회분식 실험에 사용된 lab-scale 반응기의 체적은 2L이며, 공기 주입이 없는 무산소(anaerobic) 조건을 유지하였다. 회분식 실험의 초기 pH는 7.0~7.5이며, 미생물 농도(MLVSS, Mixed Liquor Volatile Suspended Solid) 5,000 mg/L, 반응시간은 12시간까지 변화를 확인하였다(Table 2 and Fig. 1). 실험조건으로 C/N ratio는 각각 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1로 구분하였다(Table 3). 초기 질산성 질소 농도 80 mg/L을 기준으로 COD 농도는 각각 80, 160, 240, 320, 400 mg/L이었으며, C/N ratio 조건에 따라 F/M ratio는 각각 0.032, 0.064,

0.096, 0.128, 0.160 g COD g/MLVSS/day으로 설정하였다. 회분식 실험은 외부탄소원의 탈질성능을 평가하기 위해 실험군으로 당밀, 대조군으로 메탄올(CH<sub>3</sub>OH, Methanol)을 주입하여 비교하였다.

### 비탈질율(SDNR, Specific denitrification rate)

당밀과 메탄올을 적용한 회분식 실험을 통해 동역학적 인자를 도출하고자 한다. 동역학적 인자로는 비탈질율(SDNR, Specific denitrification rate)을 측정하였다. 동역학적 인자는 Eq. (1)을 사용하여 평가하였으며, 총 반응시간 동안 제거된 질산성 질소의 양과 미생물 양에 대해 단위미생물당 탈질 효율을 비교하고자 하였다(Eom *et al.*, 2016).

$$SDNR(g\ NO_3^- - N\ removal/g\ MLVSS/day) = \frac{(N_0 - N)}{\theta \times X} \quad (1)$$

N<sub>0</sub> : Initial NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, mg/L

N : After NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, mg/L

θ : Hydraulic retention time, day

X : Microbial concentration, mg/L

### 미생물의 군집 분석(Microbial community)

당밀과 메탄올을 외부탄소원으로 사용한 슬러지에 대해 미생물 군집을 확인하였다. 당밀과 메탄올에 약 1개월간 적용된 각각의 슬러지는 illumina NGS (Next Generation Sequencing) 분석을 통해 미생물 군집을 평가하였다. 미생물 군집 비교는 Microgen 사에 pyrosequencing을 의뢰하였다. Power water®DNA isolation kit (MO BIO)를 이용하여 슬러지의 genomic DNA를 추출하였다. emPCR (emulsion-based PCR)을 수행하기 위해 16S universal primer 27F (5'-GAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')와 518R (5'-WTTACCGCGCTGCTGG-3')를 사용하였다. PCR 반응조건은 94°C에서 pre-denaturation 3분, denaturation 15초, 55°C에서 annealing 45초, 72°C에서 extension 1분 반응을 35회 반복하였으며, 72°C에서 8분간 extension 반응을 수행하였다. NGS 분석을 위해 70~75 mm PicoTiter plate (454 Life Sciences)와 8-lane gasket에 시료를 넣고 Genome Sequencer FLX plux (454 Life Sciences)를 이용하여 염기서열을 분석하였다. BLAST를 통해 Silva rRNA data base와 비교하여 종(species), 속(genus), 과(family), 목(order), 강(class), 문(Phylum)으로 분류하였다. 이후 CD-HIT-OTU 소프트웨어를 이용해 미생물 군집을 분석하였다(Li *et al.*, 2012).

## 결과 및 고찰

### 회분식 실험 결과

당밀과 메탄올을 외부탄소원으로 사용한 회분식 실험 결과, C/N ratio가 높을수록 질산성 질소가 빠르게 제거되는 것을 알 수 있었다. Table 4에 나타난 바와 같이 메탄올을 주입한 경우 C/N ratio 1:1에서 12시간 후 42.3%의 탈질 효율을 보였으며, C/N ratio가 각각 2:1, 3:1, 4:1, 5:1로 증가하면서 질산성 질소의 제거효율은 61.0, 83.1, 93.5, 92.8%로 나타났다. C/N ratio가 높은 4:1, 5:1에서 12 시간 후 초기 질산성 질소 80 mg/L가 90% 이상 제거되었다. 당밀을 주입한 경우에도 C/N ratio가

높은 4:1, 5:1에서 90% 이상의 탈질 효율을 보였다. C/N ratio에 따른 탈질 효율을 비교한 결과 메탄올이 당밀보다 질산성 질소 제거효율이 더 우수한 것으로 나타났다. 그러나 그 차이는 미비한 수준이었다. 탈질 반응에서 이상적인 C/N ratio는 공급된 유기탄소원 종류에 따라 다를 수 있으나(Monteith *et al.*, 1980; Skrinde and Bhagat, 1982), C/N ratio와 별개로 탄소원이 적을 경우, 탈질 효율은 저하될 수 있다(Her and Huang, 1995). 또한 최적 C/N ratio보다 공급된 탄소원이 높을 경우, 잔류 유기물에 의해 2차 오염이 발생할 수 있다(Weier *et al.*, 1993). 당밀을 이용한 탈질 실험에서 Kaplan *et al.* (1987)은 활성슬러지를 이용하여 약 2,000 mg/L의 질산성 질소를 제거하

**Table 4.** Comparison of denitrification efficiency according to C/N ratio of methanol and molasses

C/N ratio Time (h)	Methanol					Molasses				
	1:1	2:1	3:1	4:1	5:1	1:1	2:1	3:1	4:1	5:1
0	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0	80.0
1	78.2	72.2	71.6	72.4	71.7	77.4	75.8	73.7	73.3	73.1
2	75.6	63.8	62.6	60.2	58.8	75.8	66.9	66.2	63.4	62.8
3	72.0	54.2	50.2	45.6	44.2	72.9	57.8	58.4	49.4	50.2
4	69.1	47.4	40.3	33.2	28.5	69.5	50.2	46.8	36.4	34.6
5	65.5	40.6	34.4	23.2	14.8	66.8	44.3	39.6	27.8	17.7
6	63.8	35.6	24.2	14.4	10.5	62.4	38.1	28.6	19.4	12.5
7	58.4	34.2	18.4	10.5	8.9	55.4	35.8	23.4	15.2	10.2
8	55.6	33.9	15.6	8.2	6.9	52.6	35.0	19.6	9.0	8.6
9	50.5	33.8	14.1	7.2	6.2	51.4	34.8	17.2	7.7	7.8
10	47.1	32.3	13.9	6.6	6.0	51.2	34.5	16.6	7.3	7.2
11	46.8	31.8	13.6	5.5	5.5	51.6	34.4	15.2	7.2	7.1
12	46.2	31.2	13.5	5.2	5.8	51.8	34.2	14.3	6.9	7.0
R.E. (%)	42.3	61.0	83.1	93.5	92.8	35.3	57.3	82.1	91.4	91.3

**Table 5.** Characteristic of removal COD according to C/N ratio of methanol and molasses

C/N ratio Time (h)	Methanol					Molasses				
	1:1	2:1	3:1	4:1	5:1	1:1	2:1	3:1	4:1	5:1
0	80.0	160.0	240.0	320.0	400.0	80.0	160.0	240.0	320.0	400.0
1	72.9	129.6	207.2	290.4	367.6	69.9	143.6	215.4	293.9	373.1
2	62.8	96.8	172.1	242.8	317.3	63.6	108.9	186.2	255.3	332.9
3	48.8	59.4	123.8	185.8	260.4	52.3	73.4	155.8	200.7	283.8
4	37.5	32.9	85.2	137.5	199.2	39.1	43.8	110.5	150.0	222.9
5	23.4	18.5	62.2	98.5	145.7	28.5	20.8	82.4	116.4	157.0
6	16.8	10.4	22.4	64.2	129.0	11.4	11.4	39.5	83.7	136.8
7	15.2	8.2	18.2	49.0	122.7	11.0	10.2	19.3	67.3	127.8
8	14.2	8.0	15.2	40.0	114.9	10.1	10.0	7.5	43.1	121.5
9	10.5	8.1	11.2	36.1	112.2	9.2	9.5	7.2	38.0	118.4
10	8.8	8.1	10.4	33.7	111.4	9.0	9.1	6.9	36.5	116.1
11	8.6	8.2	10.1	29.5	109.5	8.6	8.8	6.6	36.1	115.7
12	7.9	8.0	9.8	28.3	110.6	8.4	8.5	6.3	34.9	115.3

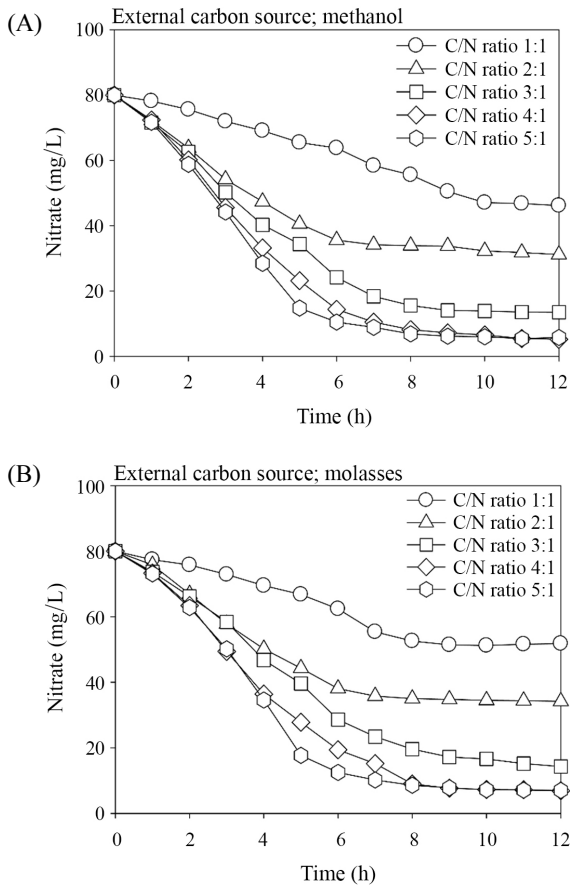


Fig. 2. Denitrification characteristic according to C/N ratio of external carbon source. (A) Methanol injection, (B) Molasses injection.

기 위한 최적 C/N ratio를 3.6:1로 보고하였다. 이 외에도 연속식 운전을 통한 탈질 실험에서 최적 C/N ratio는 4.3~5.8:1로 다양한 연구결과가 나타났다.

탈질 반응에 따른 유기물 제거특성 결과를 Table 5에 나타내었다. C/N ratio가 높을수록 탈질 효율은 우수한 것으로 나타났으나, C/N ratio 5:1에서 탈질에 소요된 유기물을 제외하고 메탄올과 당밀 주입조건에서 모두 COD 농도가 100 mg/L 이상 잔류하였다. 메탄올과 당밀을 주입하였을 때 C/N ratio 3:1 이하에서 약 7시간 후 탈질 효율이 급격히 저하된 이유는 탈질에 필요한 탄소원이 모두 소모되었기 때문이다. Figures 2와 3에 나타난 결과를 통해 C/N ratio에 따른 탈질 성능은 유기물 농도와 밀접한 상관관계를 보이는 것으로 나타났다. 당밀을 주입한 경우 C/N ratio 4:1에서 90% 이상의 탈질 효율을 보였으며, 초기 COD 농도 320 mg/L가 약 40 mg/L 이하까지 제거되었다. 이 조건에서 잔류 COD 농도에 대한 영향은 미비할 것으로 사료된다. 실험에 사용된 당밀은 분해가 쉬운 sucrose, glucose, fructose 등 총 유기물이 60~65% (Table 1)가 포함되

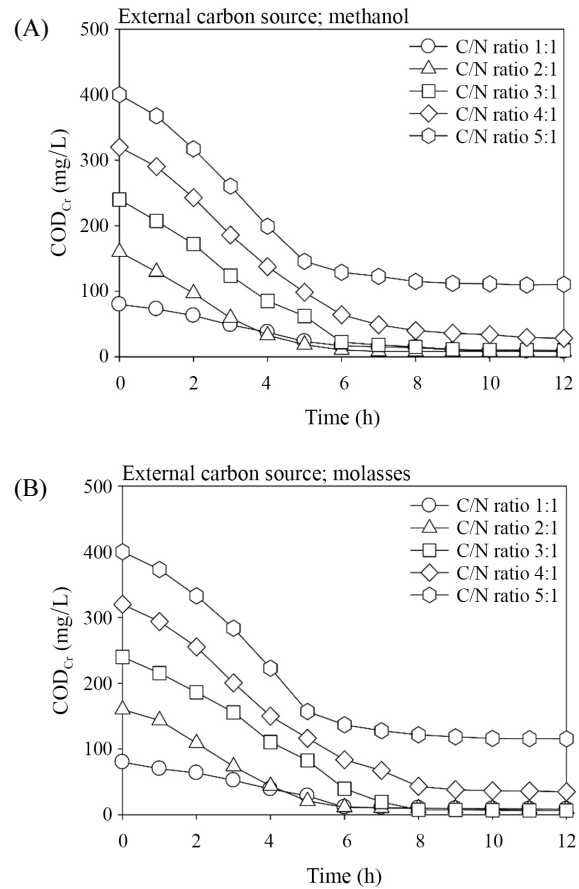


Fig. 3. COD removal characteristic according to C/N ratio of external carbon source. (A) Methanol injection, (B) Molasses injection.

어 있다. 이는 회분식 실험(C/N ratio 5:1)에서 탈질 반응이 거의 종료된 9시간 이후 소모된 당밀의 COD 제거율(69~71%)과 유사하다. 이러한 결과를 통해 탈질 미생물이 당밀 내 쉽게 이용된 탄소원을 대부분 사용한 것으로 해석할 수 있다(Lee *et al.*, 2013).

이에 따라 회분식 실험결과를 통해 당밀을 외부탄소원으로 적용할 경우 C/N ratio는 4:1 조건이 가장 적절한 것으로 판단된다. 또한 당밀이 메탄올과 유사한 탈질 효율을 보여 메탄올을 대체할 수 있는 외부탄소원이라고 판단된다.

### 동역학적 인자 도출

메탄올과 당밀을 투입한 탈질 실험에서 각 C/N ratio에 따른 SDNR 값을 도출한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 메탄올을 투입한 경우 SDNR은 C/N ratio 1:1에서 0.0135 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g MLVSS/day를 보였다. C/N ratio 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 조건에서는 각각 0.0195, 0.0266, 0.0299, 0.0297 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g MLVSS/day로 도출되었다. 당밀 투입 시 SDNR은



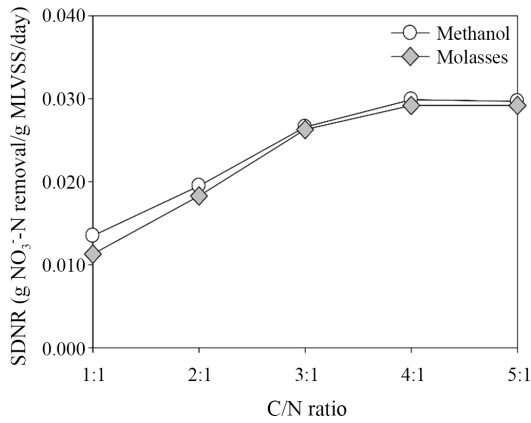
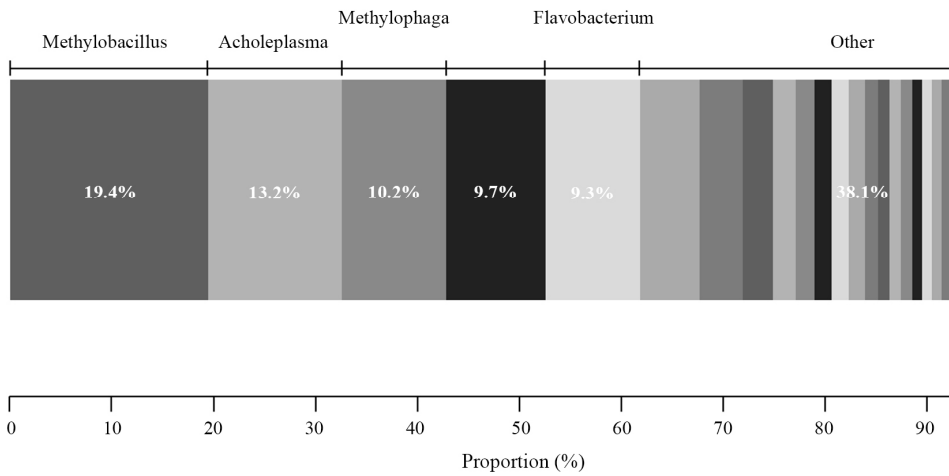


Fig. 4. Comparison of SDNR with C/N ratio of methanol and molasses.

C/N ratio 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 조건에서 각각 0.0113, 0.0183, 0.0263, 0.0292, 0.0292 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g MLVSS/day을 보였다. Henze (1986, 1989, 1991)는 질소제거 공정을 통해 SDNR을 0.036~0.401, 0.060~0.144, 0.024~0.120 day<sup>-1</sup> 범위에서 적용이 가능하다고 보고하였다. Henze와 Harremoës (1990)의 연구에서는 생물학적 및 화학적 처리를 병행할 경우 SDNR을 0.014~0.072 day<sup>-1</sup>로 설정하였다. Kujawa와 Klapwijk (1999)는 도시하수와 acetate를 이용한 회분식 실험에서 0.144~0.024 day<sup>-1</sup>의 SDNR 값을 도출한 바 있다. 본 연구를 통해 기존 연구와 비교한 결과 문헌과 유사한 범위 내의 인자값을 도출한 것을 알 수 있었다. 동역학적 인자 도출에 따른 결과를 비교하였을 때 메탄올 투입 시 비탈질율이 다소 높은 것으로 나타났다.

(A) Methanol injection



(B) Molasses injection

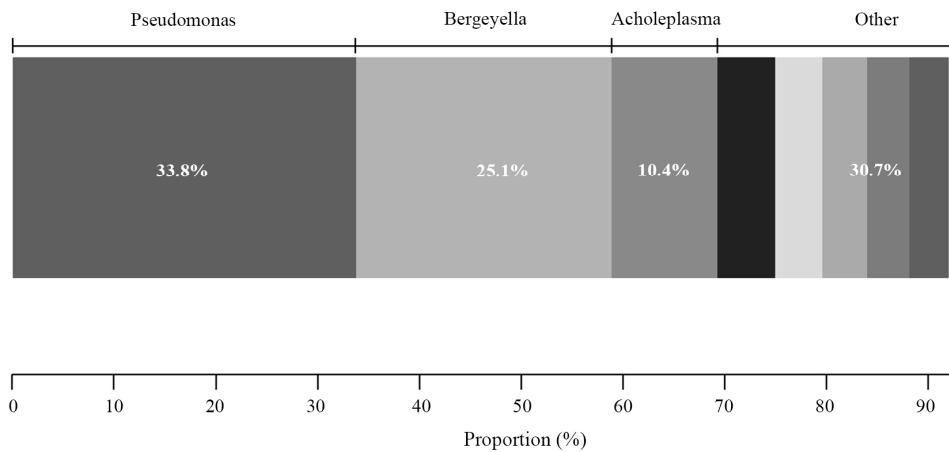


Fig. 5. Changes in microbial community according to injection of methanol and molasses.

그러나 C/N ratio가 증가할수록 메탄올과 당밀의 비탈질율이 거의 유사한 수치를 보였다. 이는 질산성 질소의 탈질 반응속도가 C/N ratio에 영향을 받는다고 해석할 수 있다. 또한 메탄올과 당밀을 비교하였을 때 C/N ratio가 높을 경우 두 외부탄소원은 동등한 탈질 효율을 나타낼 수 있음을 의미한다. 회분식 실험을 통한 탈질 효율 비교와 동역학적 인자 도출 결과를 토대로 적정 C/N ratio보다 탄소원이 적을 경우 탈질 효율이 낮아진다는 점을 확인할 수 있었다.

### 미생물 군집 변화 결과

NGS (Next Generation Sequencing) 분석을 통해 당밀과 메탄올을 외부탄소원으로 사용한 슬러지의 미생물 군집을 분류하였다. 당밀에 적용된 슬러지에는 51개의 분류군이 분류되었으며, 메탄올에 적용된 슬러지에는 총 87개의 분류군이 분류되었다. 이 중 37개의 분류군이 메탄올과 당밀에 적용된 슬러지에서 동시에 발견되었다. 당밀에 적용된 미생물의 경우 *Pseudomonas* sp., *Bergeyella* sp., *Acholeplasma* sp.이 주요 우점 분류군으로 나타났다. 위 미생물들은 전체 미생물 군집의 33.8, 25.1, 10.4%의 우점화율을 보였으며, 그 외 미생물은 30.7%를 나타냈다. 메탄올에 적용된 슬러지에는 *Methylobacillus* sp., *Acholeplasma* sp., *Methylophaga* sp., *Flavobacterium* sp.이 각각 19.4, 13.2, 10.2, 9.3%의 우점화율을 나타내었다(Fig. 5). 이 외에도 *Rhodobacteraceae* 미생물이 확인되었는데 이 미생물은 주로 해양, 갯벌 등에서 발견되는 박테리아로 다양한 탈질 미생물에 속해 있다(Michalski and Nicholas, 1988; Sasaki *et al.*, 1990; Hiraishi *et al.*, 1995; Takeno *et al.*, 1999).

메탄올에 적용된 슬러지에는 일반적으로 알려진 탈질 미생물이 존재하고 있다. *Methylobacillus* sp.에 포함된 *Methyloversatilis* sp.은 Benazolin-ethyl, 유기물 및 nitrate를 제거하는 균으로서 기존 연구에서는 탈질에 기여하는 미생물로 보고되고 있다(Cai *et al.*, 2011). 당밀에 적용된 슬러지에서 나타난 가장 큰 미생물 군집 변화는 *Pseudomonas* sp.와 *Bergeyella* sp.이 급격히 증가한 점이다. *Pseudomonas* sp.는 모든 탈질 미생물에서 널리 분포하며, 수소, 카본하이드레이트, 유기산, 알코올 등 다양한 유기물 화합물을 사용할 수 있다(Choi *et al.*, 2014). 또한 미생물 분류군이 87개에서 51개로 감소하여 당밀에 특화된 미생물이 집중적으로 성장한 것으로 나타났다. 이에 따라 당밀에 적용된 슬러지의 미생물 군집은 다양성 보다 집중성이 더 높게 나타난 경향을 보였다.

### 적 요

본 연구에서 탈질 효율 비교를 위해 당밀과 메탄올을 외부탄소원으로 사용하였다. 세부 실험조건은 C/N ratio 조건에 따라 구분하였다. 회분식 실험 결과, 당밀과 메탄올 모두 C/N ratio가 증가할수록 탈질 효율은 증가하였다. 당밀의 최적 C/N ratio는 잔류 COD 농도와 탈질 효율을 고려할 때 4:1로 나타났으며, 이때 탈질 효율은 91.4%이다. 동역학적 인자로 SDNR을 도출한 결과, C/N ratio가 증가할수록 당밀과 메탄올은 유사한 SDNR 값을 보였으며, C/N ratio 4:1 조건에서 0.0292 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g MLVSS/day (molasse), 0.0299 g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal/g MLVSS/day (mehtanol)로 나타났다. 미생물 군집 분석을 통해 당밀에 적용된 슬러지에는 *Pseudomonas* sp.와 *Bergeyella* sp. 박테리아가 우점화 된 것을 확인할 수 있었다. 또한 미생물 군집의 다양성보다는 일부 박테리아에 대한 집중성이 더 높게 나타났다. 이에 따라 당밀은 탈질에 특화된 미생물을 집중적으로 성장시키며, 탈질 성능을 높일 수 있는 대체 외부탄소원으로 적용이 가능할 것으로 판단된다.

### References

- Akumna, J.C., Bizeau, C., and Moletta, R. 1993. Nitrate and nitrite reduction with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Water Res.* **27**, 1303-1312.
- Cai, T., Qian, L., Cai, S., and Chen, L. 2011. Biodegradation of benazolin-ethyl by strain *Methyloversatilis* sp. cd-1 isolated from activated sludge. *Curr. Microbiol.* **62**, 570-577.
- Choi, J.S., Kim, J.T., and Joo, H.J. 2014. Effect of total dissolved solids injection on microbial diversity and activity determined by 16S rRNA gene based pyrosequencing and oxygen uptake rate analysis. *Environ. Eng. Sci.* **31**, 474-480.
- Cunningham, A.B., Sharp, R.R., Hiebert, R.H., and James, G. 2003. Subsurface biofilm barriers for the containment and remediation of contaminated groundwater. *Bioremed. J.* **7**, 151-164.
- Dutta, L., Nuttall, H.E., Cunningham, A., James, G., and Hiebert, R. 2005. *In situ* biofilm barriers: case study of a nitrate groundwater plume, Albuquerque, New Mexico. *Remediat. J.* **15**, 101-111.
- Eom, H.K., Choi, Y.H., and Joo, H.J. 2016. TDS removal using bio-sorption with AGS and high concentration nitrogen removal. *J. Kor. Soc. Water Environ.* **32**, 303-309.
- Grabinska-Loniewska, A. 1991. Biocenosis diversity and denitrification efficiency. *Water Res.* **25**, 1575-1582.
- Henze, M. 1986. Nitrate versus oxygen utilization rates in wastewater and activated sludge systems. *Water Sci. Technol.* **18**, 115-122.
- Henze, M. 1989. The influence of raw wastewater biomass on activated sludge oxygen respiration rates and denitrification rates. *Water*

- Sci. Technol.* **21**, 603–607.
- Henze, M.** 1991. Capabilities of biological nitrogen removal processes from wastewater. *Water Sci. Technol.* **23**, 669–679.
- Henze, M. and Harremoës, P.** 1990. Chemical-biological nutrient removal-the HYPRO concept. Proceeding of the 4<sup>th</sup>, pp. 499–510. Gothenburg Symposium Chemical water and wastewater treatment, Madrid, Spain.
- Her, J.J. and Huang, J.S.** 1995. Influences of carbon source and C/N ration on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. *Bioresour. Technol.* **54**, 45–51.
- Hiraishi, A., Muramatsu, K., and Urata, K.** 1995. Characterization of new denitrifying *Rhodobacter* strains isolated from photosynthetic sludge for wastewater treatment. *J. Ferment. Bioeng.* **79**, 39–44.
- Isaacs, S.H., Henze, H., Søeberg, H., and Kümmel, M.** 1994. External carbon source addition as a means to control an activated sludge nutrient removal process. *Water Res.* **28**, 511–520.
- Jung, I.C., Jo, H.G., Lee, D.H., and Kang, D.H.** 2005. Development and fuel scale application of the alternative carbon source based on the substrate compatibility. *J. Kor. Soc. Environ. Engineer.* **27**, 491–498.
- Kaplan, D.L., Riley, P.A., Pierce, J., and Kaplan, A.M.** 1987. Denitrification of high nitrate loads—efficiencies of alternative carbon sources. *Int. Biodeterior.* **23**, 233–248.
- Kim, J.S., Kim, K.R., Kang, H.S., Won, I.S., Kim, K.Y., and Lee, S.I.** 2012. Nitrogen removal characteristics in dynaflo biofilter system using sewage wastewater of low C/N ratio. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **34**, 189–194.
- Kujawa, K. and Klapwijk, B.** 1999. A method to estimate denitrification potential for predenitrification system using NUR batch test. *Water Res.* **33**, 2291–2300.
- Lee, B.S., Lee, K.Y., Shin, D.Y., Choi, J.H., Kim, Y.J., and Nam, K.P.** 2010. Denitrification by a heterotrophic denitrifier with an aid of slowly released molasses. *J. Soil Groundwater Environ.* **15**, 30–38.
- Lee, K.Y., Lee, B.S., Shin, D.Y., Choi, Y.J., and Nam, K.P.** 2013. Enhancement of denitrification capacity of *Pseudomonas* sp. KY1 through the optimization of C/N ratio of liquid molasses and nitrate. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **35**, 654–659.
- Lee, N.A. and Welander, T.** 1996. The effect of different carbon sources on respiratory denitrification in biological wastewater treatment. *J. Ferment. Bioeng.* **82**, 277–285.
- Li, W., Fu, L., Niu, B., Wu, S., and Wooley, J.** 2012. Ultrafast clustering algorithms for metagenomic sequence analysis. *Brief. Bioinform.* **13**, 656–668.
- Michalski, W.P. and Nicholas, D.J.D.** 1988. Identification of two new denitrifying strains of *Rhodobacter sphaeroides*. *FEMS Microbiol. Lett.* **52**, 239–243.
- Monteith, H.D., Bridle, T.R., and Sutton, P.M.** 1980. Industrial waste carbon sources for biological denitrification. *Progress Water Technol.* **12**, 127–141.
- Sasaki, K., Ohtsuki, K., Emoto, Y., and Hamaoka, T.** 1990. Treatment by a photosynthetic bacterium on the effluent from anaerobic digester of swine wastewater. *J. Soc. Agric. Struct.* **20**, 43–50.
- Shin, H.S., Chae, S.R., Nam, S.Y., Kang, S.T., and Paik, B.C.** 2002. The effect of anaerobically fermented leachate of food waste on nutrient removal in BNR (1). *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **24**, 1023–1031.
- Skrinde, J.R. and Bhagat, S.K.** 1982. Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. *J. Water Pollut. Control Fed.* **54**, 370–377.
- Su, C. and Puls, R.W.** 2007. 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.
- Takano, K., Sasaki, K., Watanabe, M., Kaneyasu, T., and Nishio, N.** 1999. Removal of phosphorus from oyster farm mud sediment using a photosynthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroides* IL106. *J. Biosci. Bioeng.* **88**, 410–415.
- Weier, K.L., Doran, J.W., Power, J.F., and Walters, D.T.** 1993. Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **57**, 66–72.
- Wiesmann, U.** 1994. Biological nitrogen removal from wastewater, pp. 113–154. In Fiechter, A. (ed.), *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Yoon, S.J., Kang, W.C., Bae, W.K., and Oh, S.E.** 2010. Autotrophic nitrite denitrification using sulfur particles for treatment of wastewaters with low C/N ratios (Batch Tests). *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **32**, 851–856.