

# 생분해에 따른 용존 유기물질 성상 및 중금속 구리와 결합특성 변화 Changes in the Characteristics of Dissolved Organic Matter by Microbial Transformation and the Subsequent Effects on Copper Binding

정가영 · 허 진<sup>†</sup>  
Ka-Young Jung · Jin Hur<sup>†</sup>

세종대학교 환경에너지융합학과  
Department of Environment & Energy, Sejong University

(2011년 10월 5일 접수, 2012년 1월 20일 채택)

**Abstract :** Microbial changes in the characteristics of dissolved organic matter (DOM) and the subsequent effects on the conditional stability constants of copper were investigated using 14 day-incubations of Pony Lake fulvic acid (PLFA), Suwannee River fulvic acid (SRFA) and the mixtures of the humic substances and glucose. After incubation, dissolved organic carbon (DOC) concentrations were diminished, and specific UV absorbance values and DOC-normalized fluorescence intensities increased. The microbial changes were minimal for the samples containing humic substances only whereas they were much pronounced for the mixtures with glucose. The extent of the changes increased with a higher content of glucose in the mixtures. The same trend was observed even for glucose solution. Our results suggest that labile organic moieties may be transformed into more chromophoric and humified components by biodegradation. For the mixture samples, the copper binding stability constants did not change or even decreased after incubation. Therefore, microbially induced enrichment of the fulvic- and humic-like carbon structures in DOM appears to result in little change or the decrease of the copper binding coefficients.

**Key Words :** Humic Substance, Biodegradation, Fluorescence Spectroscopy, Copper Binding, Fluorescence Quenching Method

**요약 :** 본 연구에서는 수 환경 내에서 일어나는 주요 자연분해과정 중 생분해 시 변화하는 용존 유기물질의 특성이 중금속 결합특성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 각각 호수와 하천 기원을 대표하는 Pony lake fulvic acid와 Suwannee river fulvic acid를 포함한 다양한 유기물을 대상으로 2주간 배양실험을 하여 변화하는 농도, 성상 및 중금속 구리 결합특성을 조사한 결과 각 시료 내 DOC농도는 감소하고 SUVA 값은 증가하였다. 특히 포도당 및 단백질계 탄소구조 함유비율이 높을수록 미생물에 의한 DOC 농도 분해율은 증가하였다. 포도당과 휴믹물질의 혼합비를 고려한 경우 배양 후 예측되는 혼합액의 DOC 감소율은 실제 측정값과 유사하였다. 그러나 SUVA값은 오히려 더 높게 나타나 생분해성 물질과 휴믹물질이 혼합할 경우 탄소구조 변화로 인한 휴믹화의 진행이 더 크게 나타날 수 있음을 보였다. Synchronous 형광스펙트럼 결과 배양 후 Pony lake fulvic acid의 경우 휴믹산계 형광특성이, Suwannee river fulvic acid에서는 펠빅산계 형광특성이 크게 증가하였다. 포도당 시료에서는 배양 전 관찰되지 않았던 단백질계와 펠빅산계 형광특성이 관찰되었다. 중금속 구리와 결합정도를 나타내는 log K 값은 미생물 배양 전과 후 휴믹물질 종류에 따라 변화가 없거나 혹은 약간 감소하는 경향을 나타냈다. 본 실험 결과는 미생물에 의한 휴믹물질 관련 형광구조의 증가가 중금속 결합력 강화에 영향을 미치지 않거나 오히려 감소시키는 것으로 보인다.

**주제어 :** 휴믹물질, 생분해, 형광스펙트럼, 중금속 구리 결합능, 형광소광법

## 1. 서론

용존 유기물질(Dissolved organic matter; DOM)은 수 환경 내 어디에나 존재하며 일반적으로 용존 유기탄소(Dissolved Organic Carbon; DOC) 농도를 사용하여 정량화하고 있다. DOM은 다양한 분자량과 작용기를 가진 복잡한 혼합체 구조를 가지며 생분해도에 따라 크게 생분해성 물질과 난분해성 물질로 구성된다. 대표적인 난분해성 유기물질인 휴믹물질은 일반적으로 수계 내 유기물질의 40~60%를 차지하는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 휴믹물질은 산과 알칼리 용액에서의 용해도에 따라 휴믹산(Humic acid), 펠빅산(Fulvic acid) 및 휴민(Humin)으로 분류되며 전형적인 하천 시료 내 휴믹물질 중 대부분을 차지하는 성분은 펠빅산이다.<sup>1)</sup> DOM은 수 환경 내에서 다양한 환경적 영향력을 가지고 있다. 예를 들어 생

태계 내 DOM은 탄소 순환 운반자 및 조류, 미생물의 영양분으로서 중요한 역할을 하며 정수 처리 시 멤브레인 파울링 문제와 염소소독부산물(DBP)의 전구체 역할을 한다.<sup>2)</sup> 또한 소수성 유기오염물 및 중금속과 결합하여 오염물의 거동, 생물이용도 및 독성도를 변화시킨다. 휴믹물질 내 존재하는 풍부한 산성 작용기(카복실기, 페놀기 등)는 중금속과 결합하여 수중 총 중금속 농도와 그 이동성을 증가시키는 역할을 한다.<sup>3)</sup> 이러한 휴믹물질의 특성은 수 환경 내에서 중금속의 거동 및 독성을 평가하는데 휴믹물질의 결합능 조사가 매우 중요하다는 것을 시사한다.

DOM의 성분 및 조성은 생생기원의 생·지화학적 특성에 따라 다양한 구조 및 성분을 가지는 비균질적인 특성을 가지게 된다. DOM이 수계 및 하천으로 유입되면 자연분해과정을 거치면서 그 화학적 구조와 성분이 변화한다. 그러므로

<sup>†</sup> Corresponding author E-mail: jinhur@sejong.ac.kr Tel: 02-3408-3826 Fax: 02-3408-4320

수 환경 변화에 대한 이해를 높이기 위해서는 자연분해과정에 의한 유기물 특성 변화에 대한 이해가 매우 중요하다. 다양한 자연분해과정 중 미생물 분해에 따른 DOM의 화학적 구조 및 성분 변화는 우리가 수계에서 관찰하는 DOM 농도 및 성상의 시간적 변화를 가장 대표적으로 반영한다고 볼 수 있다.

일반적으로 가지고 있는 상식은 미생물 분해과정에서 미생물이 DOM 성분 중 생분해성 유기물을 우선적으로 분해하고 이후 많은 에너지를 소모하면서 난분해성 유기물을 분해한다는 것이다. 그러나 미생물이 이용하는 생분해성 유기물 중 일부 탄수화물 및 아미노산은 난분해성 유기물질에 결합된 형태로 존재할 수 있으며 생분해 과정 동안 미생물 효소작용에 의한 유기물의 고분자화(혹은 휴믹화)가 일어날 수 있기 때문에 생분해 과정 중 유기물 내부에서 일어나는 성분 변화는 예상보다 훨씬 더 복잡한 양상을 보일 수 있다.<sup>4,5)</sup>

현재까지 생분해에 의한 휴믹물질 특성 변화 및 그 환경적 영향에 대해 보고된 연구는 많지 않으며 특히 중금속 구리의 결합능 변화에 대한 연구는 극히 제한적이다. 예를 들어 토양 휴믹물질의 경우 미생물 분해과정 후 중금속 구리와 결합력이 수십배 이상 증가했다는 실험결과가 보고된 바 있지만<sup>6)</sup> 수계에서 더 중요한 용존 휴믹물질에 대한 중금속 결합특성에 중점을 두고 미생물에 의한 변환과정과 관련하여 조사한 체계적인 연구는 아직 없었다. 따라서 본 연구에서는 생성기원이 다른 용존 휴믹물질을 대상으로 미생물 분해에 의해 변화하는 휴믹물질 농도 및 분광학적 특성이 중금속 결합특성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료

시료 내 생분해성 유기물과 난분해성 유기물을 대표하는 성분으로 각각 포도당(D-glucose, Aldrich)과 PLFA (Pony Lake Fulvic Acid, IHSS), SRFA (Suwannee River Fulvic Acid, IHSS)를 사용하였다. PLFA와 SRFA는 각각 호수 내 내부 생성(조류)기원, 하천 내 휴믹물질을 대표할 수 있으며 지금까지 휴믹물질 연구에 광범위하게 사용된 물질이다.<sup>7,8)</sup> 생분해 실험을 위해 포도당과 휴믹물질(PLFA, SRFA)을 각각 4:1로 혼합하여 인공시료를 제조하였다. PLFA 및 SRFA는 국제 휴믹학회(International Humic Substances Society, IHSS)로부터 구입하였다.

본 연구에서는 PLFA와 SRFA를 각각 PL A, SR A로, 휴믹물질과 포도당 혼합액을 PL B와 SR B로 표기하였다.

### 2.2. 배양 준비

미생물 배양 전 준비된 PLFA 및 SRFA은 증류수로 희석하여 초기 농도가 약 45 mg·C/L 정도되도록 하였다. 시료의

이온화 세기는 0.01 M이 되도록 NaCl을 사용하였다. 0.1 N HNO<sub>3</sub>과 0.1 N NaOH 용액으로 최종 pH가 6.0이 되도록 조절하였다. 배양 기간 동안 접종된 미생물에 대한 영양분 제한 가능성을 고려하여 최종시료에 C:N:P의 질량비율이 100:2.5:1이 되도록 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>와 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>을 첨가한 후 멸균된 100 mL 삼각 플라스크를 준비하여 각 플라스크에 시료를 50 mL씩 옮겨 담았다. 미생물 접종을 위한 시료는 한 강수로 하였으며 5 µm 공극 유리섬유 필터(55 mm, Advantec)를 이용하여 여과한 후 0.2 µm 멤브레인 필터를 사용하여 접종액을 10배 농축하였다. 각 배양 플라스크에 농축된 접종액을 총 시료 부피의 1%가 되도록 첨가하고 용기 입구를 봉한 후 25°C 항온 조건에서 14일간 암실 배양하였다. 미생물 접종으로 인한 유기탄소 농도 증가는 시료 총 유기탄소 농도에 비해 무시할 만한 수준이었다(0.55 mgC/L). 배양 기간 동안 시료 내 산소가 부족하지 않도록 플라스크 입구를 부분적으로 열어 매일 충분히 흔들어 주었다. 배양 전 시료 내 유기물 분석은 객관적인 비교를 위해 미생물 접종 후 실시하였으며 접종액 주입 후 즉시 0.2 µm 멤브레인 필터에 여과시켜 미생물 분해 효과를 배제한 후 분석하였다. 14일 배양 후 모든 시료 다시 0.2 µm 멤브레인 필터로 여과하여 분석을 실시하였다. 또한 동일조건에 대해 각 3개의 시료를 준비해 실험오차를 고려하였다.

### 2.3. 분석방법

미생물 배양에 따른 휴믹물질의 특성 변화를 관찰하기 위한 용존 유기탄소 농도(DOC)는 총 유기탄소 분석기(TOC Analyzer, Shimadzu V)로 정량화 하였고 고유 흡광도(SUVA) 측정에는 흡광 광도계(Evolution 60, Thermo Scientific)를 사용하였다. 형광 측정과 중금속 결합계수(log K)를 구하기 위해 형광 분광계(Luminescence spectrometer, Perkin-Elmer LS-50B)를 사용하였다. 측정 시 형광 분광계의 여기파장과 방출파장 형광세기를 조절하는 슬릿 slit)을 각각 10 nm로 고정하였다. Synchronous 형광 스펙트럼을 구하기 위해 방출파장과 여기파장 차이(Δλ)를 30 nm로 고정하여 파장 250 nm에서 600 nm까지 측정 하였다. 바탕액(Blank)으로부터 생길 수 있는 고유 형광세기를 고려하기 위해 매 측정 시마다 3차 증류수를 사용하여 형광측정을 실시하고 시료의 형광세기로부터 이를 차감하였다. 또한 형광세기는 습도 등의 외부조건에 따라 측정시간 별로 변동이 있을 수 있으므로 이러한 조건에 따른 영향을 고려하기 위해 0.05 M sulfuric acid를 용매로 quinine sulfate dehydrate 100 µg/L를 제조하여 형광 측정 시 여기파장과 방출파장 450 nm에 해당하는 형광세기를 시료의 형광세기 값에 대해 나누어 줌으로서 모든 시료의 형광세기의 단위를 quinine sulfate equivalents (QSE)로 표준화 하였다.<sup>9)</sup> 물 분자 활동에 의해 나타나는 라만 스펙트럼과 이로 인해 생기는 장파장에서의 2차 란리 산란(Raleigh scattering) 효과로 인한 용존 자연유기물질 형광특징 분석 방해효과를 제거하기 위해 290 nm 파장 이하의 빛

을 차단하는 필터를 사용하였다. 마지막으로 형광 측정 전 모든 시료에 대해 흡광 광도계로 측정된 254 nm에서의 흡광도 값이 0.1 이하가 되도록 희석하여 용존 휴믹물질 자체가 흡수하는 빛으로 생길 수 있는 영향(Inner-filter effect)을 최소화하였다.<sup>10)</sup> 한 시료에 대해 반복 측정된 결과 형광세기 및 흡광도는 1% 미만의 오차를 나타냈다.

중금속 구리 결합계수를 측정하기 위해 Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Aldrich, 99.9%)를 사용하였다. 구리는 용존 자연유기물질과 중금속 결합능을 조사하는데 자주 사용되는 물질로 다른 중금속에 비해 다루기 쉽고 비교적 독성이 적어 중금속 연구에 널리 사용되고 있다. 구리와 결합계수를 얻기 위한 DOC 농도는 10 mgC/L 이하가 되도록 하였으며 그 이상일 경우 시료를 희석하여 사용하였다. 구리 결합특성은 용액의 이온화세기와 pH에 영향을 받을 수 있으므로 용액의 이온화세기와 pH를 각각 0.01 M과 6.0이 되도록 NaNO<sub>3</sub>와 0.1 N HCl 용액을 사용하여 조절하였다.<sup>11)</sup> 구리 농축용액은 Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>를 증류수에 녹여 0.1 M을 만든 후 희석하여 각 0.0002 M, 0.001 M, 0.005 M, 0.01 M로 만들어 준비하였다. 실험을 위해 구리 농축용액 일부를 마이크로실린지를 사용하여 시료 내 Cu의 농도가 0~100 μM이 되도록 주입하였다. 이 때 시료 전체에 대한 부피변화가 크지 않도록 주입한 구리 농축용액의 부피는 전체 용액의 5% 이하가 되도록 주의하였다. 구리 농축용액과 시료가 충분히 결합하도록 1시간 동안 교반시켜 평형상태를 유도하고 30분 방치한 후 형광측정을 실시하였다. 구리 결합계수의 측정은 형광소광적정법<sup>12)</sup>을 사용하였다.

이것은 일정 휴믹산 농도에 중금속 농도를 점진적으로 증가시키는 적정방법으로

$$K_M = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (1)$$

$$F = F_0 + (F_{end} - F_0) \left( \frac{1}{2K_M C_L} \right) \left[ (1 + K_M C_L + K_M C_M) - \sqrt{(1 + K_M C_L + K_M C_M)^2 - 4K_M^2 C_L C_M} \right] \quad (2)$$

- 여기서, [M] : 중금속 이온 농도
- [L] : 휴믹물질 농도
- F : 중금속 적정 후 형광세기
- F<sub>0</sub> : 중금속 적정 전 초기 형광세기
- F<sub>end</sub> : 중금속 적정 후 최소한계 형광세기
- C<sub>L</sub> : 휴믹물질 내 리간드 농도(μM)
- K<sub>M</sub> : 중금속 결합상수(Conditional stability constant, 10<sup>6</sup>/M)
- C<sub>M</sub> : 적정 중금속 총 농도

식 (1), (2)에 의하여 비선형식(Ryan-Weber model)에 적용시켜 중금속 구리 결합계수를 결정하였다.<sup>12,13)</sup>

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 생분해 전, 후의 용존 유기탄소 농도 및 고유흡광도 변화

준비된 인공 수질시료의 용존 유기탄소 농도와 고유흡광도 변화를 비교하였다(Fig. 1). 각 기원 시료의 DOC 농도는 생분해 과정을 거친 후 감소하였으나 유기물 성상에 따라 그 감소폭은 크게 달랐다. 100% 순수 포도당(Glucose) 시료의 경우 배양 전 농도는 46.1 mgC/L에서 배양 후 3.80 mgC/L로 약 92% 감소하였고 순수 휴믹물질인 PL A, SR A에서는 배양 전 45.1 mgC/L와 42.0 mgC/L에서 배양 후 35.0 mgC/L, 33.9 mgC/L로 각각 22%, 19%의 분해율을 보였다. 휴믹물질과 glucose 혼합액인 PL B, SR B에서의 DOC감소율은 각각 79%, 78%로서 두 가지 기원 사이의 감소율에는 큰 차이가 없었다. 순수 포도당 용액과 비교했을 때 휴믹물질에 비해 포도당 비율이 높을수록 미생물 배양에 따른 DOC 농도의 감소율이 증가함을 알 수 있었다. 이것은 미생물이 분해가 어려운 휴믹물질보다 쉽게 분해되는 포도당을 먼저 섭취하여 에너지원으로 사용한다는 것을 암시하며 이 결과는 미생물에 의한 유기물 섭취가 휴믹성분보다 비휴믹성분에서 더 크게 나타난다고 보고한 Rosenstock 등<sup>14)</sup>의 결과와도 잘 일치한다.

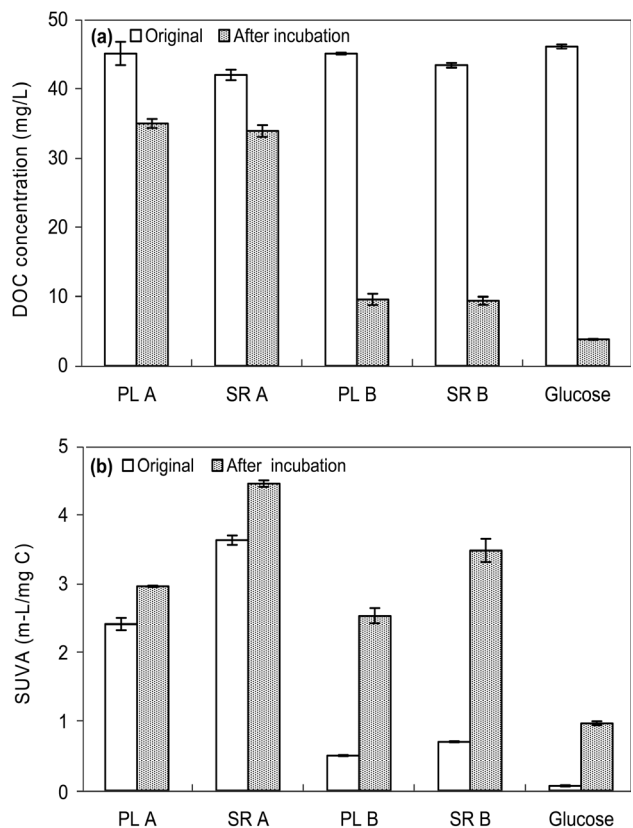


Fig. 1. Changes in (a) DOC concentrations and (b) SUVA values for humic substances (PL A and SR A), humic-glucose mixtures (PL B and SR B), and glucose samples by 14-day microbial incubation.

미생물 분해 후 SUVA값은 모든 시료에서 증가함을 보였다. 미생물 배양에 따른 SUVA값의 증가 경향은 이전의 연구결과와 잘 일치하였으며<sup>15,16)</sup> 특히 포도당 비율이 높을수록 SUVA 값은 더 큰 증가율을 보였다. 일반적으로 SUVA값의 증가는 유기물 구조 중 이중 결합 탄소 구조 및 방향족 성분 분포가 상대적으로 많아짐을 의미한다.<sup>4)</sup> 이러한 SUVA값의 증가는 비교적 분해가 쉬운 비방향족 탄소구조가 우선적으로 분해되고 생분해성 유기물의 휴믹화되는 경향으로 인해 일어날 수 있다. 생물학적 분해가 어렵다고 알려진 휴믹물질에서도 SUVA 값의 증가가 관찰되었는데, 그 이유는 미생물이 휴믹물질 중 약한 부분을 선택적으로 분해하여 방향족 성분물질의 분포가 상대적으로 많아졌기 때문으로 사료된다. 이것은 휴믹물질 중 일부가 생분해 될 수 있다는 이전 연구결과와도 일치한다.<sup>17)</sup>

포도당과 휴믹물질의 혼합비율을 그대로 적용하였을 때 예측되는 혼합액의 DOC감소율은 PL B, SR B 각 78%, 78%였고 실제 측정된 DOC감소율은 각 79%, 78%로서 서로 유사한 수치를 보였다. 이와 대조적으로 혼합액의 배양 후 예상 SUVA값은 PL B, SR B 각각 1.38, 1.68에서 실제로 측정된

SUVA값이 2.54, 3.49로서 예측보다 높은 수치를 보였다. 이것은 생분해성 물질과 휴믹물질이 함께 존재할 경우 생분해 과정 중 일어나는 휴믹화 경향이 크게 나타날 수 있음을 시사한다.

### 3.2. 생분해 과정에 의한 형광특성 변화

일반적으로 Synchronous 형광스펙트럼에서 관찰되는 피크에 따라 300 nm 이하 파장에서 나타나는 피크를 단백질/아미노산계(Protein-Like Fluorescence; PLF), 350 nm 부근에서 나타나는 피크를 펄빅산계(Fulvic-Like Fluorescence; FLF), 350 nm 이상에서 나타나는 피크를 휴믹계(Humic-Like Fluorescence; HLF)로 형광특성을 구분할 수 있다.<sup>2)</sup> 본 연구에서는 미생물 배양에 따른 각 시료의 synchronous 형광스펙트럼 특징을 비교하였다(Fig. 2). 미생물 배양 후 순수 휴믹물질(PL A, SR A)의 PLF특성은 감소하거나 관찰되지 않았으며 FLF와 HLF 형광특성세기는 일부 증가함을 보였다. PL A의 경우 전체 형광특성 중 단백질계 형광특성이 차지하는 %PLF가 감소하고 펄빅계, 휴믹계(%FLF, %HLF) 특성의 증가를 보였지만 원 시료에서 PLF부분이 관찰되지 않았던 SR A에

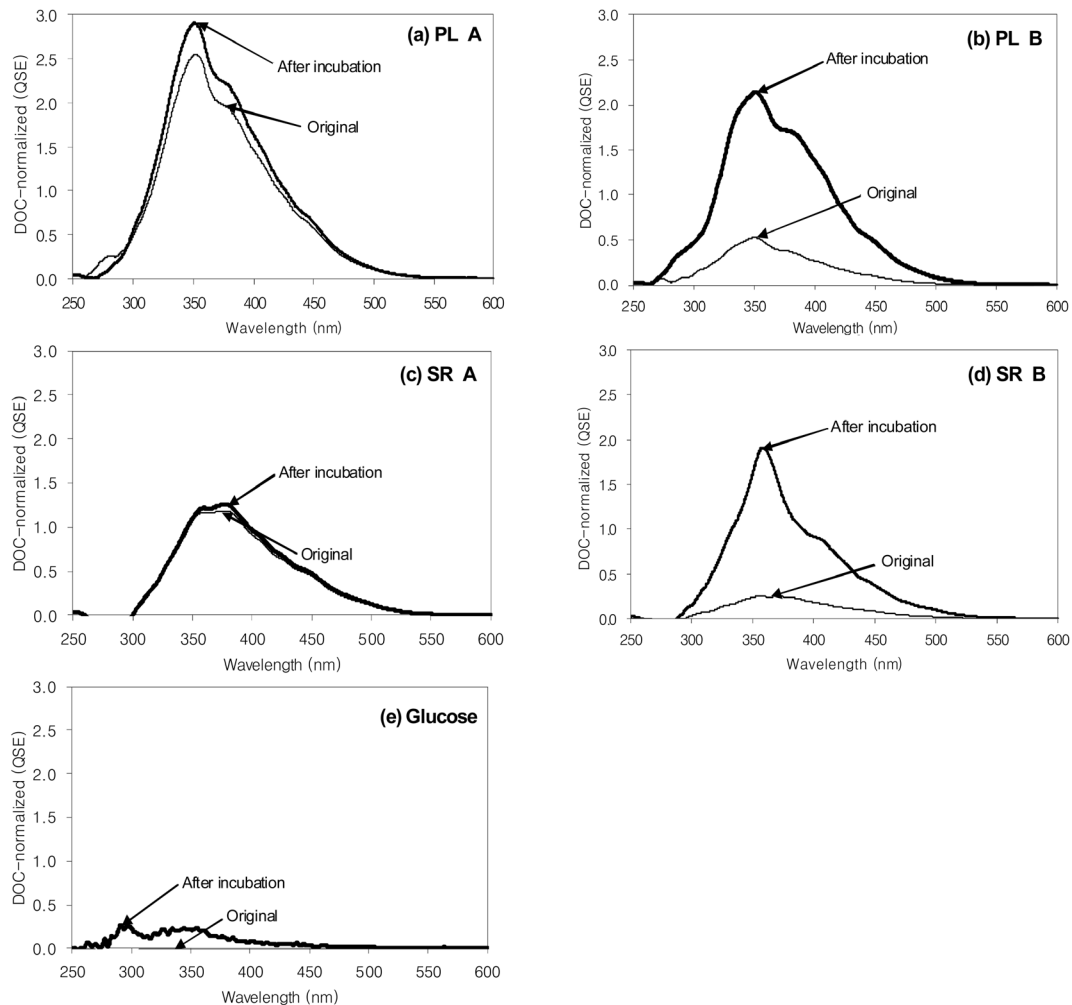


Fig. 2. Comparison of synchronous fluorescence spectra of humic substances (a) PL A, (c) SR A, humic-glucose mixture (b) PL B, (d) SR B, (e) glucose samples before and after 14day-microbial incubation.

**Table 1.** Relative changes (%) in the characteristics of PLFA, SRFA after microbial incubation

	PL A	SR A	PL B	SR B	Glucose
%PLF	-38,6	0	-18,3	-	-
%FLF	2,48	-1,44	-5,90	21,8	-
%HLF	0,16	1,26	12,6	-20,8	-

서는 %FLF특성이 감소하고 %HLF특성이 증가함을 보였다. 일반적으로 단파장에서의 형광세기는 느슨한 저분자 탄소구조와 연관성이 있으며 장파장으로 갈수록 방향족과 같은 단단한 고분자 탄소구조와 관련이 있다.<sup>18)</sup> 따라서 본 연구의 synchronous 형광스펙트럼 결과는 미생물 분해가 진행될수록 비교적 약한 탄소구조 성분이 우선적으로 감소하며 방향족과 같은 단단한 탄소구조가 많은 휴믹물질로 변화함을 시사한다. 또한 이 결과는 배양 후 높아지는 SUVA 값 변화와도 잘 일치한다.

포도당과 휴믹물질 혼합액인 PL B, SR B는 모두 배양 전 시료에 비해 형광특성이 크게 증가하였다. PL B의 경우 전체 형광특성 중 HLF특성의 증가폭이 상대적으로 가장 높았으며, SR B는 펠빅계 특성인 %FLF의 증가폭이 가장 크게 나타났다(Table 1). 한편 포도당의 경우 배양 전에는 관찰되지 않았던 PLF와 FLF의 성상이 배양 후에 나타났다. 이것은 미생물 분해 과정을 거치면서 포도당이 형광특성을 가진 다른 구조의 유기물로 전환될 수 있음을 보여준다. 또한 포도당과 휴믹물질이 혼재되어 있을 경우에도 휴믹물질 자체의 구조변화 뿐 아니라 포도당 자체의 휴믹화가 전체 유기물 변화에 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

### 3.3. 생분해 과정에 의한 중금속 구리 결합능 특성변화

생분해 전과 후의 중금속 구리결합계수(log K)를 비교하였다. 중금속 결합능(log K)은 중금속 구리의 농도를 점진적으로 증가시켜 소광되는 형광세기 정도를 비선형식에 적용시켜 산출하였으며 최대 형광피크를 보이는 파장에서 구리 결합계수를 비교하였다. 그 결과 배양 전인 PL A와 SR A의 log K는 각각 5.34 (±0.05), 5.00 (±0.06)로서 이전 연구결과들과 유사한 범위의 값을 나타냈다.<sup>19,20,21)</sup> SR A에 비해 상대적으로 지방족 구조와 질소성분을 많이 포함한 PL A에서 더 높은 결합계수가 나타났다(Tables 2, 3). 휴믹시료(PL A, SR A)의 미생물 분해 전후 log K 값은 오차범위 안에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이것은 휴믹물질의 미생물 배양 후 FLF, HLF 형광특성의 부분적인 변화가 중금속 구리결합계수 변화로 이어지지 않음을 보여 준다. 한편 PL B에서는 미생물 분해에 의한 log K의 값의 변화가 거의 관찰되지 않은 반면 SR B에서는 14일 배양 후 통계적으로 유의한 감소를 보였다

**Table 2.** <sup>13</sup>C NMR and elemental compositions of PLFA, SRFA

Sample	Carboxyl 190-165 ppm	Aromatic 165-110 ppm	Acetal 110-90 ppm	Hetero aliphatic 90-60 ppm	Aliphatic 60-0 ppm	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	S (%)
SRFA	20	24	5.0	11	33	52,4	4,31	42,2	0,72	0,44
PLFA	17	12	0,2	8,4	61	52,4	5,39	31,4	6,51	3,03

**Table 3.** Value of conditional stability constant (log K) in a titration of Cu<sup>2+</sup> on Pony lake fulvic acid (PL A), Suwannee river fulvic acid (SR A), humic-glucose mixture (PL B, SR B) samples by bio-transformation

	Incubation time	PL A	SR A	PL B	SR B	Glucose
log K	Before	5,34 (0,05)*	5,00 (0,06)	5,34 (0,12)	5,19 (0,13)	-
	After 14days	5,33 (0,11)	5,03 (0,09)	5,49 (0,06)	4,67 (0,15)	-

(p=0.013). 이러한 결과는 미생물 변환에 의한 펠빅산 및 휴믹산계 형광특성의 증가가 중금속 결합력 강화로 직접 유도되지 않고 오히려 일부 시료에서는 감소할 수 있다는 것을 시사한다. 산성작용기, 탄소구조, 유기질소 성분량 저분자 유기산 등 휴믹물질의 성분 및 특성에 따른 중금속 결합 계수의 변화에 관한 일부 이전 연구가 있으나 상관관계에서 서로 일치된 경향성을 보여주지 않고 있다.<sup>22-24)</sup> 본 연구결과는 유기물의 기원 및 구조적 특성에 따라 생분해에 따른 중금속 결합 특성 변화 양상이 다르게 나타남을 강하게 시사하고 있다. 중금속 결합특성은 형광특성을 가지는 성분뿐만 아니라 형광특성과 관련이 없는 탄소구조를 포함하는 다양한 유기물 특성의 복합적 영향을 받는 것으로 알려져 있기 때문에 추후 중금속 결합특성과 관련된 다양한 유기물 분석방법과 많은 수의 유기물 시료를 사용하여 생분해에 따른 중금속결합 특성 변화에 대해 더 연구할 가치가 있을 것으로 판단한다.

## 4. 결론

수계 휴믹물질이 가지고 있는 산성 작용기는 중금속과 결합하여 수중 총 중금속 농도와 그 이동성을 증가시키는 역할을 하며 이러한 휴믹물질의 특성은 수 환경 내에서 중금속의 거동 및 독성을 평가하는데 매우 중요하다. 본 연구에서는 수 환경 내에서 일어나는 주요 자연분획변환 과정 중 생분해 시 변화하는 용존 유기물질의 특성이 중금속 결합특성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 2주간의 배양기간 동안 조사한 모든 유기물 시료의 DOC 농도는 감소하였고 SUVA값은 증가하였다. 특히 휴믹물질에 비해 포도당 비율이 높을수록 미생물 배양에 따른 DOC 농도 감소율 및 SUVA값 증가율이 높게 나타났다. 이러한 결과는 미생물이 분해가 어려운 휴믹물질 보다 쉽게 분해되는 포도당을 먼저 섭취하여 에너지원으로 사용하며 생분해 물질 내 비방향족 탄소구조를 점차 휴믹화시켜 단단한 방향족 탄소구조로 변화됨을 시사한다. Synchronous 형광스펙트럼 결과 미생물 분해에 의해 비교적 약한 탄소구조 성분이 우선적으로 감소하며

방향족과 같은 단단한 탄소구조가 많은 휴믹물질로 변화함을 보였다. 휴믹물질과 포도당 혼합시료의 경우 단일 휴믹물질에 비해 모든 형광세기는 증가하였으나 전체 특성 중 PLF와 FLF 등 약한 탄소구조 비율은 감소하고 점차 휴믹화되는 경향이 관찰되었다. 포도당 시료에서는 미생물 배양 전 관찰되지 않았던 PLF와 FLF 성상이 나타났다. 증금속 구리와 결합정도를 나타내는 log K 값은 미생물 배양 전과 후 휴믹물질 종류에 따라 변화가 없거나 혹은 감소하는 경향을 나타냈다. 따라서 미생물에 의한 유기물 내 펄빅 및 휴믹계 형광특성 증가가 증금속 결합력에 영향을 주지 않거나 오히려 감소시키는 것으로 보인다.

## 사 사

본 연구는 한국연구재단을 통해 교육과학기술부의 일반연구자 지원사업으로부터 지원받아 수행되었음(2011-0026553).

**KSEE**

## 참고문헌

- Thurman, E. M., "Organic Geochemistry of Natural Waters," Kluwer Academic, Boston, USA, pp. 497-498(1985).
- 허진, 신재기, 박성원, "하천 및 호소 수질관리를 위한 용존 자연유기물질 형광특성 분석," 대한환경공학회지, **28**(9), 940-948(2006).
- Olsson, S., van Schaik, J. W. J., Gustafsson, J. P., Kleja, D. B., van Hees, and P. A. W., "Copper(II) binding to dissolved organic matter fractions in municipal solid waste incinerator bottom ash leachate," *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 4286-4291(2007).
- 박민혜, 이보미, 이태환, 허진, 양희정, "생분해 과정 중 용존 유기물 특성 변화에 미치는 휴믹물질의 영향," 한국물환경학회지, **25**(3), 419-424(2009).
- Hur, J., Park, M., and Schlautman, M. A., "Microbial transformation of dissolved leaf litter organic matter and its effects on selected organic matter operational descriptors," *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 2743-2749(2009).
- Amery, F., Degryse F., Degeling W., Smolders E. and Merckx R., "The copper-mobilizing-potential of dissolved organic matter in soils varies 10-fold depending on soil incubation and extraction procedures," *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 2277-2281(2007).
- McKnight, D. M., Boyer, E. W., Westerhoff, P. K., Doran, P. T., Kulbe, T. and Andersen, D. T., "Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity," *Limnol. Oceanogr.*, **46**, 38-48(2001).
- Sara B. Schwede-Thomas, Yu-Oing Chin, Karl J. Dria, Patrick Hatcher, Edith Kaiser and Barbara Sulzberger, "Characterizing the properties of dissolved organic matter isolated by XAD and C-18 solid phase extraction and ultrafiltration," *Aquat. Sci.*, **67**, 61-71(2005).
- Chen, Z. Q., Hu, C. M., Comny, R. N., Muller-Karger, F. and Swarzenski, P., "Colored dissolved organic matter in Tampa Bay, Florida," *Mar. Chem.*, **104**(1-2), 98-109(2007).
- Baker, A., "Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers," *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 948-953(2001).
- Hur, J. and Schlautman, M. A., "Influence of Humic Substance Adsorptive Fractionation on Pyrene Partitioning to Dissolved and Mineral-Associated Humic Substances," *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 5871-5877(2004).
- Ryan, D. K., and Weber, J. H., "Fluorescence quenching titration for determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid," *Anal. Chim. Acta.*, **54**, 986-990(1982).
- Plaza, C., Brunetti, G., Senesi, N. and Polo, A., "Molecular and quantitative analysis of metal ion binding to humic acids from sewage sludge and sludge-amended soils by fluorescence spectroscopy," *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 917-923(2006).
- Rosenstock, B, Zwisler, W, and Simon, M., "Bacterial consumption of humic and non-humic low and high molecular weight DOM and the effect of solar irradiation on the turnover of labile DOM in the Southern Ocean," *Microbiol. Ecol.*, **50**, 90-101(2005).
- Kalbitz, K., Schmerwitz, J., Schwesig, D. and Matzner, E., "Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties," *Geoderma*, **113**, 273-291(2003).
- Saadi, I., Borisov, M., Armon, R., and Laor, Y., "Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV, and DOC measurements," *Chemosphere*, **63**, 530-539(2006).
- Hertkom, N., Claus, H., Schmitt-Kopplin, PH., Perdue, E. M. and Filip, Z., "Utilization and transformation of aquatic humic substances by autochthonous microorganism," *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 4334-4345(2002).
- Chen, J., LeBoeuf, E. J., Dai, S. and Gu, B., "Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions," *Chemosphere*, **5**, 639-647(2003).
- D. Scott Smith, James R. Kramer, "Multisite metal binding to fulvic acid determined using multiresponse fluorescence," *Anal. Chim. Acta.*, **416**, 211-220(2000).
- Cheng-Fang Lin, Dar-Yuan Lee, Won-Tsai Chen, and Kevin S. Lo, "Fractionation of fulvic acids: characteristics and complexation with copper," *Environ. Pollut.*, **87**, 181-187(1995).
- G. K. Brown, S. E. Cabaniss, P. Maccarthy, and J. A. Leenheer, "Cu(II) binding by a pH-fractionated fulvic acid," *Anal. Chim. Acta.*, **402**, 183-193(1999).
- Merritt, J. A. and Erich, M. S., "Influence of organic matter decomposition on soluble carbon and its copper-binding capacity," *J. Environ. Qual.*, **32**, 2122-2131(2003).
- Brooks, M. J., Meyer, J. S. and Mcknight, D. M., "Photo-oxidation of wetland and riverine dissolved organic matter: altered copper complexation and organic composition," *Hydrobiol.*, **579**, 95-113(2007).
- Knoth de Zarruk K., Scholer G., Dudal Y., "Fluorescence fingerprints and Cu<sup>2+</sup>-complexing ability of individual molecular size fractions in soil- and waste-borne DOM," *Chemosphere*, **69**, 540-548(2007).