

토양 공극수 내 Cu의 존재형태가 terrestrial biotic ligand model을 이용한 보리의 급성독성 예측에 미치는 영향

안진성¹ · 정부윤¹ · 이병준² · 남경필^{1*}

¹서울대학교 건설환경공학부

²서울대학교 화학생명공학부

Effect of Cu Species Distribution in Soil Pore Water on Prediction of Acute Cu Toxicity to *Hordeum vulgare* using Terrestrial Biotic Ligand Model

Jinsung An¹ · Buyun Jeong¹ · Byungjun Lee² · Kyoungphile Nam^{1*}

¹Dept. of Civil & Environmental Engineering, Seoul National University

²School of Chemical and Biological Engineering, Seoul National University

ABSTRACT

In this study, the predictive toxicity of barley *Hordeum vulgare* was estimated using a modified terrestrial biotic ligand model (TBLM) to account for the toxic effects of CuOH^+ and $\text{CuCO}_3(\text{aq})$ generated at pH 7 or higher, and this was compared to that from the original TBLM. At pH values higher than 7, the difference in $EA_{50}\{\text{Cu}^{2+}\}$ (half maximal effective activity of Cu^{2+}) between the two models increased with increasing pH. As Mg concentration increased from 8.24 to 148 mg/L in the pH range of 5.5 to 8.5, the difference in $EA_{50}\{\text{Cu}^{2+}\}$ increased, and it reached its maximum at pH 8. The difference in $EC_{50}[\text{Cu}]_T$ (half maximal effective concentration of Cu) between the two models increased as dissolved organic carbon (DOC) concentration increased when pH was above 7. Thus, for soils with alkaline pH, the toxic effect of CuOH^+ and $\text{CuCO}_3(\text{aq})$ are greater at higher salt and DOC concentrations. The acceptable Cu concentration in soil porewater can be estimated by the modified TBLM through deterministic method at pH levels higher than 7, while combination of TBLM and species sensitivity distribution through the probabilistic method could be utilized at pH levels lower than 7.

Key words : Copper, CuOH^+ , $\text{CuCO}_3(\text{aq})$, Terrestrial biotic ligand model, Acceptable Cu concentration

1. 서 론

토양 내 존재하는 중금속의 생태독성을 비용효율적으로 예측 및 평가하기 위해 terrestrial biotic ligand model (TBLM)이 제안된 바 있다(Thakali et al., 2006a; Thakali et al., 2006b; Lock et al., 2007; Antunes and Kreager, 2009). TBLM은 토양 공극수로 분배된 자유 중금속 이온 (free metal ion)이 생물체 표면의 활성결합부위(active binding site)에 결합함으로써 독성을 발현한다고 가정한다. Ca^{2+} , Mg^{2+} 및 H^+ 와 같은 주요 양이온들은 자유 중금속 이온과 활성결합부위를 두고 경쟁함으로써 중금속의 독성

을 저감시킬 수 있다(Di toro et al., 2001; Santore et al., 2001; Luo et al., 2008; An et al., 2012). 뿐만 아니라 용존유기탄소(dissolved organic carbon; DOC)는 자유 중금속 이온과 반응하여 착물을 형성함으로써 공극수 내 자유 중금속 이온의 수를 감소시키고, 그에 따라 중금속의 독성을 저감시킬 수 있다(An et al., 2015). Thakali et al.(2006a) 및 Thakali et al.(2006b)은 TBLM 개념을 활용하여 비석회질 토양(noncalcareous soil) 내 Cu와 Ni 이 보리(*Hordeum vulgare*), 토마토(*Lycopersicon esculentum*), 톡토기(*Folsomia candida*), 지렁이(*Eisenia fetida*), 미생물 활성도(i.e., glucose induced respiration, potential

*Corresponding author : kpnam@snu.ac.kr

Received : 2017. 7. 10 Reviewed : 2017. 7. 31 Accepted : 2017. 8. 17

Discussion until : 2017. 12. 31

nitrification rate)와 같은 다양한 토양 생물군집 및 그 기능에 미치는 독성영향을 효과적으로 예측하였다.

한편, Wang et al.(2009) 및 Wang et al.(2012)은 수경재배(hydroponic culture)를 통해 Cu가 *H. vulgare*에 미치는 급성독성을 pH 4.5부터 8에 이르는 범위에서 평가하였는데, pH 7 이상에서 pH 증가에 따라 Cu의 반수 영향농도(50% effective concentration; EC50)가 감소하는 현상을 관찰하였다. pH를 하나의 조건으로 고정시킨 상태에서 Cu의 농도를 변화시키며 수행한 실험을 통해 용량 반응 곡선(dose response curve)을 도출하고 이로부터 EC50이 결정되는데, pH 7 이상에서 pH 증가에 따라 EC50이 감소하는 현상은, Cu²⁺ 뿐만 아니라 pH 7 이상에서 형성되는 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)와 같은 무기착물(inorganic complexes) 형태의 Cu 또한 *H. vulgare*에 독성을 발현하였음을 의미한다. 유사한 실험결과가 물벼룩(*Daphnia magna*)에 대한 Cu의 독성평가 및 *H. vulgare*에 대한 Ni 및 Cr(III)의 독성평가 결과에서도 확인된 바 있다(De Schamphere and Janssen, 2002; Li et al., 2009; Song et al., 2014).

Yu et al.(2017)은 TBLM과 종 민감도 분포(species sensitivity distribution; SSD) 개념을 결합하여 현장 특이적으로 변화하는 Cu의 EC50과 Cu에 대한 토양 생물종별 독성 민감도를 반영한 공극수 허용농도 도출 방법을 제안하였다. 그러나 염기성 pH 영역에서의 Cu의 존재형태 변화가 고려되지 않은 TBLM을 사용한 한계가 있다. 실제로 Yu et al.(2017)의 연구에서는 *H. vulgare*의 Cu 독성을 예측하기 위해 Thakali et al.(2006a)이 제안한 TBLM을 사용하였는데, 이는 pH 7 이하의 비석회질 토양을 사용하여 개발되었기 때문에 염기성 토양(alkaline soil) 공극수 내 Cu의 독성 예측에 한계점이 있을 것으로 판단된다.

본 연구는 토양 공극수 내 Cu의 생태독성학적 허용농도 산정 절차를 개선하기 위해 수행되었다. Thakali et al.(2006a)이 제안한 TBLM(기존 TBLM)을 근간으로 Wang et al.(2012)이 제안한 파라미터를 활용하여 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)의 독성을 고려할 수 있도록 기존 TBLM을 수정하였다(수정 TBLM). 기존 TBLM과 수정 TBLM을 사용하여 *H. vulgare*에 대한 토양 공극수 내 Cu의 급성독성값을 pH 3~9의 범위에서 각각 계산하고, 그 차이를 비교하였다. 또한 경쟁 양이온 중 하나인 Mg²⁺과 DOC 농도의 변화가 pH 3~9의 범위에서 두 모형이 예측하는 급성독성값에 미치는 영향을 확인하였다. 염기성 pH 영역에서의 Cu의 존재형태 변화가 TBLM을 통한 Cu의 독성 예측 결과에 미치는 영향을 확인하고, 이

러한 영향을 토양 공극수 내 Cu의 생태독성학적 허용농도 산정 절차에 포함시킬 수 있는 방법론을 제안하고자 한다.

2. 연구방법

2.1. Cu²⁺, CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)의 독성을 고려한 TBLM 모형

TBLM의 가정 하에서, 생물체에 대한 중금속 독성 발현에 중요한 역할을 담당하는 활성결합부위는 biotic ligand(BL)로 명명된다. 전체 BL 대비 자유 중금속 이온에 의해 점유된 BL의 비율(식 (1))에 따라 독성이 발현된다. BL에는 자유 중금속 이온 뿐만 아니라 주요 양이온(i.e., H⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺)도 결합할 수 있기 때문에, 주요 양이온의 농도가 증가함에 따라 중금속의 독성이 저감되는 현상을 양이온 경쟁효과로써 설명할 수 있다(An et al., 2012; Chen et al., 2013). 대조군 대비 50%의 독성을 발현하는 토양 공극수 내 Cu²⁺의 활성도(50% effective activity; EA₅₀{Cu²⁺})는 식 (2)를 통해 예측할 수 있다. 즉, 식 (2)를 사용하여 주요 양이온의 활성도에 의존적으로 변화하는(i.e., 양이온 경쟁효과를 반영한) EA₅₀{Cu²⁺}을 계산할 수 있다.

기존 TBLM(식 (2)) 개념에 따르면, pH의 증가는 양이온 경쟁효과를 감소시킬 뿐만 아니라, 무기착물 형성으로 인해 공극수 내 Cu²⁺의 농도가 감소하면서 Cu의 독성을 저감(i.e., EA₅₀{Cu²⁺} 증가)시켜야 한다. 그러나 Wang et al.(2009) 및 Wang et al.(2012)은 약 염기성 pH 조건에서 pH 증가에 따른 Cu의 독성 증가(i.e., EA₅₀{Cu²⁺} 감소) 현상을 관찰하였다. 그에 따라, 무기착물인 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq) 또한 독성을 발현한다는 전제로 실험을 수행하여, 식 (3) 및 식 (4)와 같은 수정 TBLM에 적용할 수 있는 파라미터를 제시하였다(Wang et al., 2012). 식 (3)과 식 (4)의 K_{CuOHBL} 및 K_{CuCO₃BL}은 각각 *H. vulgare*의 뿌리 내 BL과 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)의 반응에 대한 조건평형 상수를 의미하며, 그 값은 K_{CuBL}과의 비율로 제시된 바 있는데 각각 1.15 및 0.23이다(Table 1).

$$f = \frac{[CuBL^*]}{[TBL]} = \frac{K_{CuBL} \{Cu^{2+}\}}{1 + K_{HBL} \{H^+\} + K_{CaBL} \{Ca^{2+}\} + K_{MgBL} \{Mg^{2+}\} + K_{CuBL} \{Cu^{2+}\}} \quad (1)$$

$$EA_{50} \{Cu^{2+}\} = \frac{f_{CuBL}^{50\%} (1 + K_{HBL} \{H^+\} + K_{CaBL} \{Ca^{2+}\} + K_{MgBL} \{Mg^{2+}\})}{(1 - f_{CuBL}^{50\%}) K_{CuBL}} \quad (2)$$

$$f = \frac{K_{CuBL} \{Cu^{2+}\} + K_{CuOHBL} \{CuOH^+\} + K_{CuCO_3BL} \{CuCO_3(aq)\}}{1 + K_{HBL} \{H^+\} + K_{CaBL} \{Ca^{2+}\} + K_{MgBL} \{Mg^{2+}\} + K_{CuBL} \{Cu^{2+}\} + K_{CuOHBL} \{CuOH^+\} + K_{CuCO_3BL} \{CuCO_3(aq)\}} \quad (3)$$

$$EA_{50}\{Cu^{2+}\} = \frac{f_{CuBL}^{50\%} (1 + K_{HBL}\{H^+\} + K_{CaBL}\{Ca^{2+}\} + K_{MgBL}\{Mg^{2+}\})}{(1 - f_{CuBL}^{50\%})(K_{CuBL} + K_{CuOHBL}K_{CuOH}\{OH^-\} + K_{CuCO_3BL}K_{CuCO_3}\{CO_3^{2-}\})} \quad (4)$$

여기서, $\{X^{n+}\}$ 은 토양 공극수 내 해당 이온의 활성도 (mol/L), K_{XBL} 은 *H. vulgare*의 BL과 해당 이온과의 조건 평형상수(L/mol), f 는 전체 BL의 농도와 Cu와 결합한 BL의 농도의 비율(unitless), $f_{CuBL}^{50\%}$ 는 대조군 대비 50%의 뿌리길이저해가 발생한 경우의 f 값을 의미한다. 각 조건평형상수 및 $f_{CuBL}^{50\%}$ 은 Table 1에 제시하였다. K_{CuOH} 와 K_{CuCO_3} 는 무기착물의 형성상수(formation constant)로 각각 $10^{6.5}$ L/mol 및 $10^{6.8}$ L/mol의 값을 갖는다(Santore et al., 2001; Gustafsson, 2013).

본 연구에서는 식 (2)를 기존 TBLM으로, 식 (4)를 수정 TBLM으로 명명하고, 각 모형으로부터 도출되는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 비교하여 환경인자의 변화에 따른 모형의 적합성을 판단하였다.

2.2. 토양 공극수 특성 자료의 수집 및 처리

Kwon et al.(2015)은 경북 구미의 논과 임야에서 채취한 16개 토양으로부터 원심분리 방법(Edmunds and Bath, 1976)을 이용하여 공극수를 추출하고, Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- 및 F의 농도분석 결과를 제시한 바 있다. 본 연구에서는 Kwon et al.(2015)의 토양 공극수 분석결과와의 95% 하한값(Table 2)을

Visual MINTEQ 3.1(Gustafsson, 2013)의 입력값으로 사용하여 H^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , OH^- 및 CO_3^{2-} 의 활성도를 계산하였다. 각 활성도를 식 (2) 및 식 (4)에 대입하여 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 도출하였다. 한편, $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 과 같은 Cu^{2+} 활성도를 갖도록 하는 공극수 내 Cu의 총 농도를 $EC_{50}[Cu]_T$ 로 표현하였다. Visual MINTEQ 3.1 구동 시, 모든 입력값(Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- 및 F 농도와 pH)은 그대로 유지하고, Cu의 입력 농도를 0.1 µg/L에서 1 mg/L의 범위 안에서 다양하게 변화시키면서, 도출되는 Cu^{2+} 의 활성도가 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 와 같아질 때의 Cu의 농도를 찾는다. 이와 같이 용액 내 정해진 활성도로부터 농도를 결정하기 위해서, 시행착오법(try and error method)을 통해 오차를 줄여나가는 방식을 취하였으며, Microsoft Excel의 visual basic for application (VBA)를 활용하여 실험실에서 엑셀 매크로를 제작하여 사용하였다. VBA 기반 엑셀 매크로는 Cu의 입력 농도 범위와 증가 비율을 지정할 수 있도록 제작하였으며, 구동 시 Visual MINTEQ 3.1을 자동으로 실행하고, 하나의 Cu 농도 및 일정한 환경인자 값(Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- 및 F 농도와 pH)을 입력한 후, 자동 실행되도록 하였다. 계산된 Cu^{2+} 의 활성도가 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 와 5% 이내의 차이를 보일 때까지 Cu의 입력 농도 범위와 증가 비율에 따라 Cu의 농도를 변화시키며 시행을 반복한다.

Table 1. Terrestrial biotic ligand model parameters (i.e., conditional equilibrium constants, f_{CuBL} value) to predict acute Cu toxicity to barley *Hordeum vulgare*

Species	Endpoint	Log K_{XBL} (L/mol) ^a							f_{CuBL}	Reference	
		Toxic species			Major cation						
		Cu^{2+}	$CuOH^+$	$CuCO_3(aq)$	H^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+			Na^+
<i>Hordeum vulgare</i>	4 d root elongation EC50	7.41	7.47 ^b	6.77 ^b	6.48	1.96 ^b	2.92 ^b	NA ^c	NA ^c	0.05	Thakali et al. (2006a)

^a Conditional equilibrium constant between Cu species or major cations and biotic ligands in the cell membrane surface
^b Conditional equilibrium constants of Ca^{2+} and Mg^{2+} were obtained from Wang et al. (2012), and those of $CuOH^+$ and $CuCO_3(aq)$ were calculated from the relationships (i.e., $K_{CuOHBL}/K_{CuBL}=1.15$, $K_{CuCO_3BL}/K_{CuBL}=0.23$) reported in Wang et al. (2012). The toxicological endpoint of Wang et al. (2012) was 5 d root elongation EC50 in the hydroponic test.
^c NA=not affected.

Table 2. Concentrations of major cations/anions in soil porewater (n=16) from Gumi, Korea, obtained from Kwon et al. (2015). Concentrations were expressed in three ways: 95% lower limit, average, and maximum values

Category	Concentration (mg/L)								
	Al^{3+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	SO_4^{2-}	Cl^-	NO_3^-	F ⁻
95% lower limit	0.156	26.7	8.24	1.61	3.18	12.8	13.1	12.1	0.769
Average	0.635	188	47.9	26.6	17.7	111	109	409	3.78
Maximum	1.20	543	148	63.3	59.1	515	402	1370	9.79

Visual MINTEQ 3.1의 구동을 위해 토양 공극수와 대기 중의 CO₂가 평형을 이룬다고 가정하였고, 대기 CO₂ 분압(P_{CO2})은 0.00038 atm으로 설정하였다.

2.3. pH에 따른 Cu의 존재형태 변화와 그에 따른 EA50 변화

토양 공극수 내 pH의 변화에 따른 Cu 존재형태의 변화가 TBLM 모형으로 예측한 EA₅₀{Cu²⁺}에 미치는 영향을 확인하고자, pH를 3부터 9까지 0.5 단위로 변화시키며 Visual MINTEQ 3.1의 입력값으로 사용하였다. 다른 환경인자들의 경우 그 영향을 최소화하고자, Table 2에 제시한 95% 하한값을 입력값으로 사용하였다.

2.4. Mg 농도 변화가 EA50에 미치는 영향

경쟁효과를 발휘하는 주요 양이온 중 하나인 Mg²⁺의 농도를 8.24 mg/L(95% 하한값), 47.9 mg/L(산술평균값) 및 148 mg/L(최대값)로 변화시키면서, pH에 따른 EA₅₀{Cu²⁺}을 비교하였다. Mg²⁺ 농도를 제외한 다른 환경인자들의 경우, Table 2의 95% 하한값을 사용하였다.

2.5. DOC 농도 변화가 EC50에 미치는 영향

Cu와 착물을 형성하여 공극수 내 Cu²⁺의 농도를 저감시킬 수 있는 DOC가 두 모형으로부터 예측되는 EC₅₀[Cu]_T에 미치는 영향을 확인하기 위해, DOC 농도를 1, 5 및 20 mg-C/L로 변화시키며, pH에 따른 EC₅₀[Cu]_T을 비교하였다. 다른 환경인자들의 경우, Table 2의 95% 하한값을 사용하였다. DOC의 농도는 Sauve et al.(2000)의 연구를 참고하여 토양 공극수에서 주로 발견되는 범위인 0~20 mg-C/L의 범위로 설정하였다. Cu와 DOC의 착물형성량을 평가하기 위해서 Visual MINTEQ 3.1에 내장되어 있는 non-ideal competitive adsorption(NICA)-donnan model을 사용하였다. NICA-Donnan model은 용존유기물질(dissolved organic matter; DOM)과 중금속과의 반응을 정량화하므로, DOM의 농도는 DOC 농도의 2배로 가정하였고, 펠릭산과 휴믹산이 5:5의 비율로 DOM을 구성하고 있다고 가정하였다(Cancès et al., 2003; Yu et al., 2017).

3. 결과 및 고찰

3.1. pH에 따른 EA50의 변화

pH에 따른 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)의 형성이, 두 모형으로부터 예측되는 EA₅₀{Cu²⁺}에 미치는 영향을 확인하였

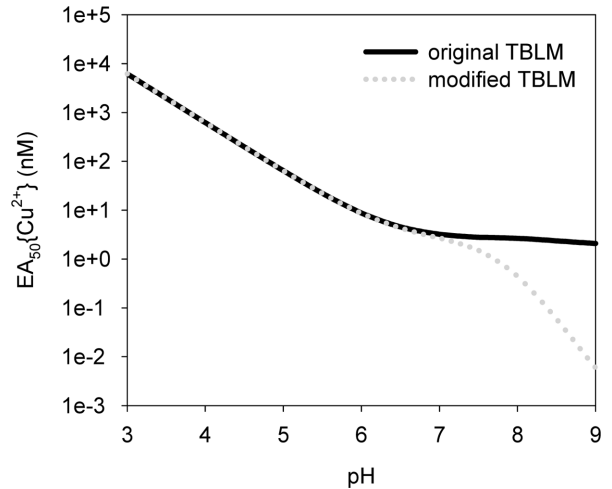


Fig. 1. Half maximal effective activity of Cu²⁺ in soil porewater (EA₅₀{Cu²⁺}) plotted against pH 3 to 9. Solid and dotted lines indicate EA₅₀{Cu²⁺} values obtained from the original (Eq. (2)) and modified TBLM (Eq. (4)), respectively.

다. 기존 TBLM(식 (2)) 및 수정 TBLM(식 (4))을 통해 예측된 EA₅₀{Cu²⁺}은 pH 3에서 7까지는 동일한 값을 나타내며 선형적으로 감소하다가, pH 7을 기점으로 서로 다른 경향을 나타냈다(Fig. 1). pH 6.5에서 기존 TBLM으로부터 예측된 EA₅₀{Cu²⁺}은 4.56 nM의 값을 나타냈고, 수정 TBLM으로부터 예측된 EA₅₀{Cu²⁺}은 4.31 nM의 값을 나타내어 1.05배 차이에 불과하였으나, pH가 7, 7.5, 8, 8.5 및 9로 증가함에 따라 그 차이가 각각 1.20, 1.86, 6.01, 39.5 및 350배로 증가하였다. 이는, pH가 7 보다 낮은 영역에서는 식 (1) 및 식 (3)에서 K_{HBL}{H⁺}에 비해 K_{CuBL}{Cu²⁺}가 현저히 작기 때문에 f 값이 K_{HBL}{H⁺}에 의존적으로 거동하는 반면, pH가 7보다 높은 영역에서는 f 값에 미치는 K_{HBL}{H⁺}의 영향이 줄어들고, K_{CuBL}{Cu²⁺} 또는 K_{CuOHBL}{CuOH⁺} 및 K_{CuCO3BL}{CuCO₃(aq)}의 영향이 증가하기 때문이다. 즉, 수정 TBLM을 통해 예측한 EA₅₀{Cu²⁺}의 경우, pH가 증가할수록 {CuOH⁺}/{Cu²⁺} 및 {CuCO₃(aq)}/{Cu²⁺}이 지속적으로 증가하기 때문에, 큰 감소 추세를 보였다.

종합적으로, pH 7 이상의 토양 공극수에서는 OH⁻ 및 CO₃²⁻와의 무기착물형성이 Cu의 존재형태에 큰 영향을 끼치고, 그에 따라 예측되는 EA₅₀{Cu²⁺}가 큰 폭으로 변화하기 때문에(Fig. 1), 보다 정확한 Cu의 급성독성예측과 이를 이용한 생태독성학적 허용농도 산정에 있어서, 수정 TBLM을 통하여 무기착물형태의 Cu에 의한 독성을 고려할 필요가 있다.

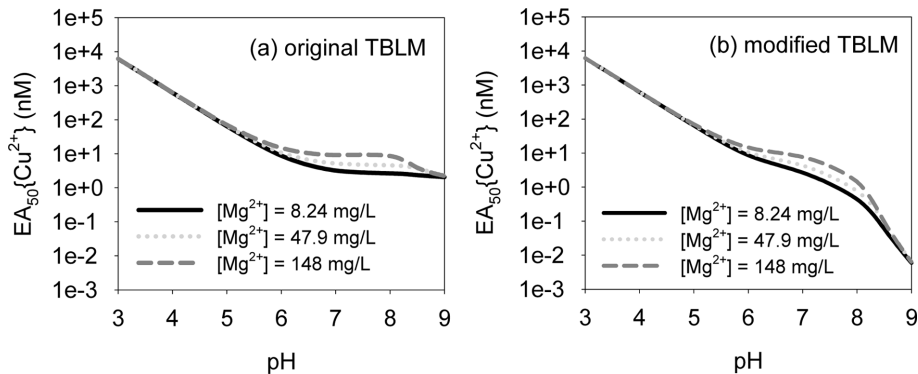


Fig. 2. Half maximal effective activity of Cu²⁺ in soil porewater ($EA_{50}\{Cu^{2+}\}$) acquired from the (a) original (Eq. (2)) and (b) modified TBLM (Eq. (4)) plotted against pH 3 to 9, with varying Mg concentrations (8.24, 47.9, and 148 mg/L).

3.2. Mg²⁺ 농도에 따른 EA50의 변화

Mg²⁺은 Cd, Co, Cu, Pb 등 다양한 중금속에 대해 경쟁효과를 발휘하여 독성을 저감시키는 것으로 알려져 있다(De Schampelaere and Janssen, 2002; Lock et al., 2007; Luo et al., 2008; An et al., 2012). 공극수 내 Mg²⁺ 농도를 각각 8.24, 47.9 및 148 mg/L로 가정하여, Mg²⁺ 농도에 따라 두 모형으로부터 예측되는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 이 어떻게 달라지는지 관찰하였다.

pH 3부터 5.5까지는 기존 TBLM 및 수정 TBLM으로부터 예측되는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 이 서로 동일한 값을 가지며 선형적으로 감소하였고, Mg²⁺ 농도에 상관없이 동일한 값을 나타냈다(Fig. 2). 이는 3.1절에서 살펴본 바와 같이, pH가 낮은 영역에서는 높은 H⁺ 활성도로 인해, $K_{HBL}\{H^+\}$ 이 식 (1) 및 식 (3)의 f 값을 좌우하기 때문이다. pH 5.5부터 8.5까지는 Mg²⁺ 농도가 증가함에 따라 두 모형에서 예측되는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 가 각각 증가하였다(Fig. 2). 식 (1) 및 식 (3)의 f 값에 미치는 $K_{HBL}\{H^+\}$ 의 영향이 감소함에 따라, $K_{MgBL}\{Mg^{2+}\}$ 의 영향이 상대적으로 증가하기 때문이다. pH 8.5 이상에서는, 입력한 Mg²⁺ 농도의 변화에도 불구하고 두 모형으로부터 예측되는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 가 각각 일정한 값을 나타냈다(Fig. 2). pH 8.5 이상에서 토양 공극수 내 Mg²⁺은 용해도가 낮은 백운석(dolomite; CaMg(CO₃)₂)을 형성하고, 그에 따라 존재할 수 있는 Mg²⁺의 농도가 제한됨으로써, Mg²⁺의 활성도가 일정하게 유지되기 때문이다. 백운석의 용해도는 25°C와 1 atm 환경에서 10⁻²⁰에서 10⁻¹⁷로 알려져 있다(Hsu, 1963). 8.24 mg/L의 Mg²⁺ 입력농도 조건에서 pH 3~8 사이의 Mg²⁺ 활성도는 0.26~0.27 mM로 일정하게 유지된 반면, pH 9에서는 백운석의 형성으로 인해 0.02 mM로 감소하였다.

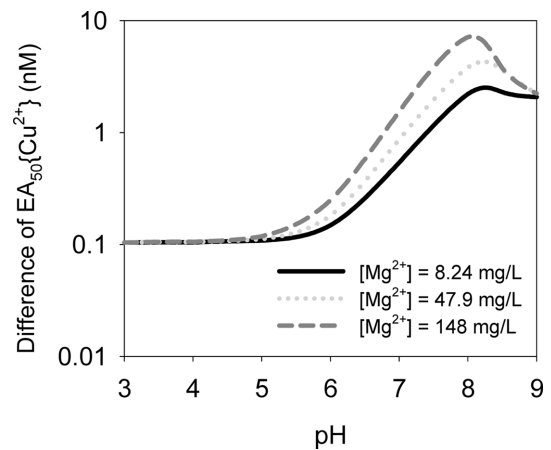


Fig. 3. Difference between the half maximal effective activities of Cu²⁺ in soil porewater ($EA_{50}\{Cu^{2+}\}$), predicted using the original and modified TBLM plotted against pH according to Mg concentrations.

pH와 Mg²⁺ 농도에 따라 기존 TBLM 및 수정 TBLM 으로부터 예측한 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 의 차를 Fig. 3에 나타냈다. pH 5.5부터 8 사이에서 Mg²⁺ 농도가 증가할수록 두 모형으로부터 예측되는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 의 차가 증가하였다. 이는 pH 증가에 따라 식 (3)보다 식 (1)의 f 값에 대한 $K_{MgBL}\{Mg^{2+}\}$ 의 영향이 더 커지기 때문으로 보인다. 즉, 염기성을 띄며 염류 함유량이 높은 토양(saline soil)일수록 수정 TBLM을 사용하는 것이 보다 정확한 Cu 급성 독성의 예측을 가능하게 함을 의미한다.

3.3. pH에 따른 EC50의 변화

pH 증가에 따라 $EC_{50}\{Cu\}_T$ 이 어떻게 변화하는지 확인하였다. 기존 TBLM 및 수정 TBLM 으로부터 도출된 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 실험실 제작 엑셀 매크로를 활용하여 토양 공극수 내 Cu의 총 농도로 표현된 $EC_{50}\{Cu\}_T$ 로 재산정하였으며, 그 결과를 Fig. 4(a)에 표시하였다.

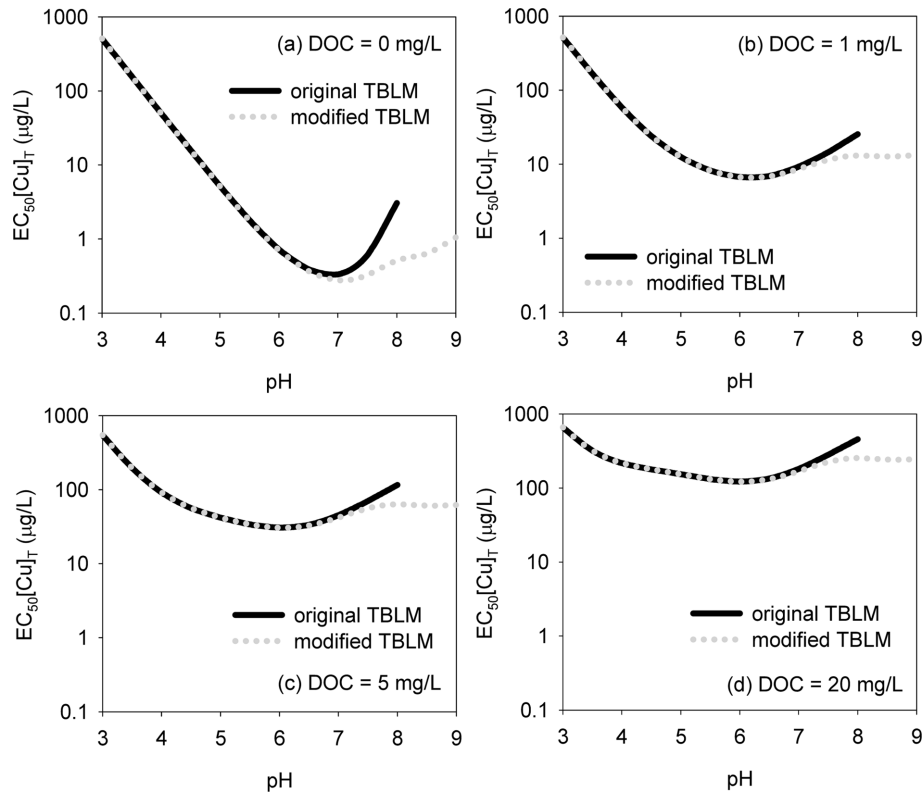


Fig. 4. Half maximal effective concentrations of Cu in soil porewater ($EC_{50}[Cu]_T$) as a function of pH with varying DOC concentrations (i.e., 0, 1, 5, and 20 mg-C/L). Solid and dotted lines indicate $EC_{50}[Cu]_T$ values obtained from the original (Eq. (2)) and modified TBLM (Eq. (4)), respectively.

pH가 7 보다 낮은 영역에서는 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 와 마찬가지로 pH 증가에 따라 기존 TBLM 및 수정 TBLM으로부터 도출된 $EC_{50}[Cu]_T$ 이 서로 같은 값을 가지며 선형적으로 감소하였다. 반면, pH가 7 보다 높은 영역에서는 pH 증가에 따라 기존 TBLM으로부터 도출된 $EC_{50}[Cu]_T$ 이 다시 증가하는 경향을 나타냈다. 이는 pH 7 이상의 영역에서 $CuOH^+$ 및 $CuCO_3(aq)$ 뿐만 아니라 $Cu(CO_3)_2^{2-}$ 와 같은 무기착물의 형성이 증가하여 동일한 Cu^{2+} 활성도를 나타내기 위한 공극수 내 Cu의 총 농도가 증가하기 때문이다. 한편, 수정 TBLM은 $CuOH^+$ 와 $CuCO_3(aq)$ 의 독성을 고려하기 때문에, 기존 TBLM으로부터 예측한 $EC_{50}[Cu]_T$ 보다는 증가폭이 작은 것으로 보인다. 일례로, pH 8에서 기존 TBLM의 경우 3.06 $\mu g/L$ 의 $EC_{50}[Cu]_T$ 값을 나타낸 반면, 수정 TBLM의 경우 0.509 $\mu g/L$ 을 나타내어 6배의 차이가 발생하였다.

한편, pH 8을 초과한 영역에서는 흑동광(tenorite; CuO)의 형성으로 인한 Cu의 침전으로 인해 기존 TBLM을 이용해 예측한 Cu의 독성을 $EC_{50}[Cu]_T$ 로 표현할 수 없었다(Fig. 4(a)). 다시 말하면, $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 에 해당하는

Cu^{2+} 의 활성도를 나타낼 수 있는 Cu의 총 농도가 해당 pH의 공극수 내에서 존재할 수 없다는 의미이다. Baltpurvins et al.(1996)은 흑동광의 용해도 곱을 $10^{-20.4}$ 로 보고한 바 있다. 염기성 pH 영역에서, 용해도가 낮은 흑동광이 형성됨으로써, 공극수 내 존재할 수 있는 Cu의 농도가 제한되고, 그에 따라 Cu^{2+} 의 활성도가 특정 값 이상으로는 상승할 수 없다. 반면, 수정 TBLM을 이용해 예측한 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 는 Cu의 용해도 한계 이하의 값을 갖기 때문에 $EC_{50}[Cu]_T$ 를 산출할 수 있었다. 이러한 사실은, pH 8 이상의 염기성 토양에 대해 기존 TBLM을 이용해서 Cu의 독성을 예측할 경우, 독성이 과소하게 판단될 우려가 있으므로, $CuOH^+$ 및 $CuCO_3(aq)$ 의 독성을 반드시 고려해야 함을 보여준다.

3.4. DOC 농도에 따른 EC50의 변화

토양 공극수 내 다양한 DOC 농도 범위를 감안하여 1, 5 및 20 mg-C/L의 DOC가 존재한다고 가정하고, $EC_{50}[Cu]_T$ 를 재산정하였다. 기존 TBLM 및 수정 TBLM은 주요 양이온의 활성도를 바탕으로 현장 특이적

$EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 를 계산하는데, 주요 양이온의 경우 DOC와의 반응에 의해 유의한 수준의 농도 저감이 발생하지는 않기 때문에, DOC의 농도에 관계없이 같은 값의 $EA_{50}\{Cu^{2+}\}$ 를 나타냈다. 반면 $EC_{50}[Cu]_T$ 의 경우, 공극수 내 존재하는 Cu가 DOC와 착물을 형성하여 유의한 수준의 농도 저감이 발생하기 때문에, DOC의 농도가 증가함에 따라 큰 폭으로 증가하였다(Fig. 4). DOC의 농도가 0, 1, 5 및 20 mg-C/L로 증가함에 따라, pH 7에서 기존 TBLM에 의해 산정된 $EC_{50}[Cu]_T$ 은 각각 0.333, 9.26, 45.1 및 181 $\mu\text{g/L}$ 를 나타냈고, 수정 TBLM에 의해 산정된 $EC_{50}[Cu]_T$ 은 각각 0.277, 8.58, 41.9 및 168 $\mu\text{g/L}$ 를 나타냈다(Fig. 4). pH 8에서는 기존 TBLM에 의해 3.06, 25.4, 115 및 455 $\mu\text{g/L}$ 를, 수정 TBLM에 의해 0.509, 13.1, 63.4 및 253 $\mu\text{g/L}$ 를 나타냈다(Fig. 4). Kim et al.(1999)과 De Schampelaere and Janssen(2004)은 Cu와 DOC의 착물형성과 그에 따른 독성저감 현상을 물벼룩(*Ceriodaphnia dubia* 및 *D. magna*)에 대해 관찰한 바 있고, 이는 Cu-TBLM의 가정 및 본 연구에서 제시한 DOC 농도 증가에 따른 $EC_{50}[Cu]_T$ 예측치 증가 추세와 일맥상통한다. DOC의 농도에 따라 산정되는 $EC_{50}[Cu]_T$ 의 값이 큰 폭으로 증가하기 때문에, 토양 공극수 내 Cu의 독성평가 및 허용농도 산정을 위해서는 DOC의 농도를 반드시 고려해야 한다.

한편, pH 6.5~7을 기점으로 pH가 증가할수록 기존 TBLM과 수정 TBLM에 의해 예측된 $EC_{50}[Cu]_T$ 의 차이가 증가했다(Fig. 5). DOC와 Cu의 착물형성량을 평가하기 위해 적용한 NICA-donnan model은 양이온 중금속이 DOC 표면에 연속적으로 분포하고 있는 탈수소화(deprotonation)된 carboxylic group($pK_a=3.26$) 및 phenolic group($pK_a=9.64$)과 반응한다고 가정하는데(Ge et al., 2005), pH가 증가할수록 전체 Cu 중 $CuOH^+$ 및 $CuCO_3(aq)$ 가 차지하는 비율이 커지지만, 이러한 무기착물들은 Cu^{2+} 에 비해 DOC와 잘 결합하지 못하기 때문으로 보인다. 따라서, 염기성을 띄며 DOC의 농도가 높은 토양일수록 수정 TBLM을 사용하는 것이 보다 정확한 Cu 급성독성의 예측을 가능하게 할 것으로 판단된다.

3.5. 토양 공극수 내 Cu의 생태독성학적 허용농도 산정 절차

Yu et al.(2017)은 TBLM과 SSD 개념을 병용하여 토양 생물군집의 생태학적 안정성을 확보하기 위한 Cu의 현장 특이적 공극수 허용농도 및 그 산출방법을 제안한 바 있다. TBLM이 환경인자에 따른 독성의 변화를 반영할

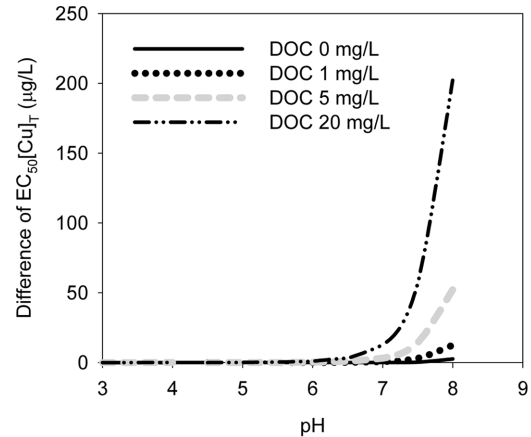


Fig. 5. Difference between the half maximal effective concentrations of Cu in soil porewater ($EC_{50}[Cu]_T$) predicted using the original and modified TBLM as a function of pH with varying DOC concentrations.

수 있지만, 생물종에 따라 달라지는 오염물질에 대한 민감도를 반영하지는 못하기 때문에, SSD를 사용하여 생물종 민감도를 함께 반영하고자 했다. Fig. 6의 확률론적 생태위해성평가(probabilistic ecological risk assessment) 과정은 Yu et al.(2017)이 제안한 절차를 도식화한 것이다.

한편, Yu et al.(2017)의 방법에서는 본 연구에서 살펴본 염기성 pH에 대한 Cu의 존재형태 변화가 고려되어 있지 않은 TBLM 모형들을 사용하였다. 따라서 pH 7 이상의 토양 공극수에 대한 Cu 허용농도 산정을 위해서 Fig. 6의 결정론적 생태위해성평가(deterministic ecological risk assessment) 과정을 제안하였다. *H. vulgare* 이외의 토양 생물에 대해 염기성 pH 영역에서의 Cu 존재형태 변화에 따른 Cu 독성 변화가 보고되어 있지 않으므로, *H. vulgare*에 대한 독성 종말점(endpoint) 자료만을 사용하되, 국립환경과학원(national institute of environmental research; NIER)이 발행한 화학물질 위해성평가의 구체적 방법 등에 관한 규정(NIER, 2014)에 따라 평가계수(assessment factor)를 나누어 허용농도를 산출한다. 평가계수는 화학물질의 독성에 대한 실험결과를 민감한 대상까지 적용하기 위한 임의적 보정 값을 말하며(NIER, 2014), 급성독성 기반 단일 생물종 자료만 존재할 경우, 1000을 적용한다.

대상부지에서 토양 공극수 채취 후 pH 측정 결과에 따라 확률론적 또는 결정론적 생태위해성평가 절차에 기반한 Cu 허용농도 산정이 가능하며, 이를 공극수 내 Cu의 총 농도와 비교함으로써, 생태독성학적 위해오염도의 판단이 가능하다(Fig. 6).

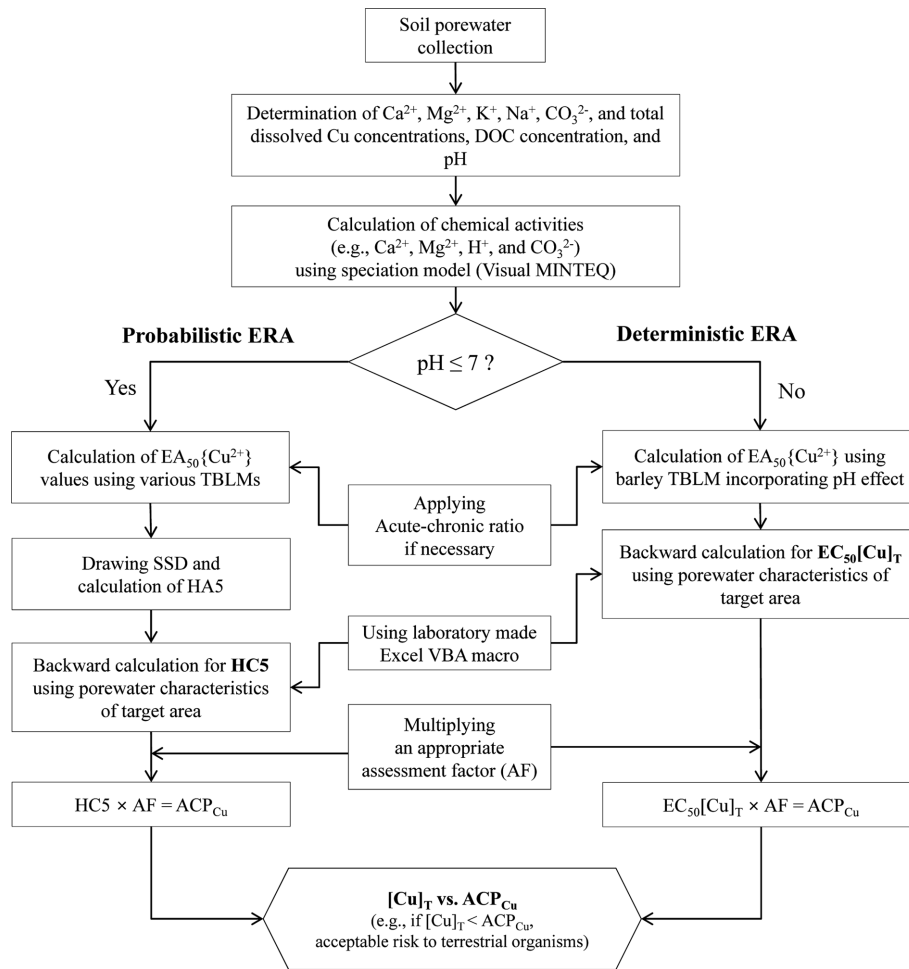


Fig. 6. Procedure for ecotoxicological risk characterization. If the pH does not exceed 7, a combination of BLM and SSD, presented by Yu et al. (2017), can be applied. If the pH exceeds 7, SSD is not applicable due to the lack of BLM accounting for the change of Cu species (pH effect), thus acceptable Cu concentrations should be calculated using the deterministic method. Abbreviations: ERA=ecological risk assessment, SSD=species sensitivity distribution, HA5=5% hazardous activity, HC5=5% hazardous concentration, ACP_{Cu}=acceptable Cu concentration in soil porewater, [Cu]_T=total dissolved Cu concentration in soil porewater.

4. 결 론

본 연구에서는 pH 7 이상에서 생성되는 Cu의 무기착물의 일종인 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)의 독성영향을 고려할 수 있도록 수정된 TBLM을 사용하여 *H. vulgare*에 대한 예측 독성값을 산출하고, 기존 TBLM의 예측값과 비교하였다. pH 7 이상에서, pH 증가에 따라 두 모형으로부터 예측된 EA₅₀{Cu²⁺}의 차이가 큰 폭으로 증가하였다. pH 5.5~8.5의 영역에서 Mg의 농도가 증가할수록 두 모형으로부터 예측된 EA₅₀{Cu²⁺}의 차이가 증가하였으며, pH 8에서 그 차이가 최대로 나타났다. 또한 pH 7 이상에서 DOC 농도가 증가함에 따라 예측된 EC₅₀[Cu]_T의 차이가 증가하였으며, pH가 증가할수록 그 차이가 증가하였다. 따

라서 염기성을 띄며 염류 함유량과 DOC 함유량이 높은 토양일수록 CuOH⁺ 및 CuCO₃(aq)의 독성 영향을 필수적으로 고려해야 한다. 향후, 다양한 토양 생물종에 대해 염기성 pH 영역에서의 독성 평가가 수반될 경우, pH 7 이상의 토양에서도 각 생물종에 대한 수정 TBLM과 SSD를 병합하여 확률론적 생태위해성평가를 기반으로 한 토양 공극수 내 Cu 허용농도 산정이 가능할 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 2016년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구(No.2016R1A2B2015399)입니다. 또한 환경부의 토양·지하수 오염

방지기술개발사업인 GAIA(Geo-Advanced Innovative Action) project의 지원을 받아 수행되었습니다. 서울대학교 공학연구원의 지원에도 감사드립니다.

References

- An, J., Jeong, S., Moon, H.S., Jho, E.H., and Nam, K., 2012, Prediction of Cd and Pb toxicity to *Vibrio fischeri* using biotic ligand-based models in soil, *J. Hazard. Mater.*, **203-204**, 69-76.
- An, J., Jho, E.H., and Nam, K., 2015, Effect of dissolved humic acid on the Pb bioavailability in soil solution and its consequence on ecological risk, *J. Hazard. Mater.*, **286**, 236-241.
- Antunes, P.M.C. and Kreager, N.J., 2009, Development of the terrestrial biotic ligand model for predicting nickel toxicity to barley (*Hordeum vulgare*): Ion effects at low pH, *Environ. Toxicol. Chem.*, **28**, 1704-1710.
- Baltpurvins, K.A., Burns, R.C., and Lawrance, G.A., 1996, Heavy metals in wastewater: Modelling the hydroxide precipitation of copper(II) from wastewater using lime as the precipitant, *Waste Manag.*, **16**, 717-725.
- Cances, B., Ponthieu, M., Castrec-Rouelle, M., Aubry, E., and Benedetti, M.F., 2003, Metal ions speciation in a soil and its solution: experimental data and model results, *Geoderma*, **113**, 341-355.
- Chen, B.-C., Ho, P.-C., and Juang, K.-W., 2013, Alleviation effects of magnesium on copper toxicity and accumulation in grapevine roots evaluated with biotic ligand models, *Ecotoxicology*, **22**, 174-183.
- De Schamphelaere, K.A.C., Heijerick, D.G., and Janssen, C.R., 2002, Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna*, *Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol.*, **133**, 243-258.
- De Schamphelaere, K.A.C. and Janssen, C.R., 2004, Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH, and water hardness on chronic toxicity of copper to *Daphnia magna*, *Environ. Toxicol. Chem.*, **23**, 1115-1122.
- Di toro, D.M., Allen, H.E., Bergman, H.L., Meyer, J.S., Paquin, P.R., and Santore, R.C., 2001, Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis, *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 2383-2396.
- Edmunds, W.M. and Bath, A.H., 1976, Centrifuge extraction and chemical analysis of interstitial waters, *J. Environ. Sci. Technol.*, **10**, 467-472.
- Ge, Y., MacDonald, D., Sauve, S., and Hendershot, W., 2005, Modeling of Cd and Pb speciation in soil solutions by WinHumiv V and NICA-Donnan model, *Environ. Modell. Softw.*, **20**, 353-359.
- Gustafsson, J.P., 2014, Visual MINTEQ, Ver 3.1, available from <http://vminteq.lwr.kth.se/> [accessed December, 2016]
- Hsu, K.J., 1963, Solubility of dolomite and composition of florida ground waters, *J. Hydrol.*, **1**, 288-310.
- Kim, S.D., Ma, H., Allen, H.E., and Cha, D.K., 1999, Influence of dissolved organic matter on the toxicity of copper to *Ceriodaphnia dubia*: Effect of complexation kinetics, *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 2433-2437.
- Kwon, E., Lee, H.A., Kim, D., Lee, J., Lee, S., and Yoon, H.-O., 2015, Geochemical investigation of fluoride migration in the soil affected by an accidental hydrofluoric acid leakage, *J. Soil Groundw. Environ.*, **20**(3), 65-73.
- Li, B., Zhang, X., Wang, X., and Ma, Y., 2009, Refining a biotic ligand model for nickel toxicity to barley root elongation in solution culture, *Ecotox. Environ. Safe.*, **72**, 1760-1766.
- Lock, K., De Schamphelaere, K.A.C., Becaus, S., Criel, P., Van Eeckhout, H., and Janssen, C.R., 2007, Development and validation of a terrestrial biotic ligand model predicting the effect of cobalt on root growth of barley (*Hordeum vulgare*), *Environ. Pollut.*, **147**, 626-633.
- Luo, X.-S., Li, L.-Z., and Zhou, D.-M., 2008, Effect of cations on copper toxicity to wheat root: Implications for the biotic ligand model, *Chemosphere*, **73**, 401-406.
- NIER, 2014, Regulation of specific method for risk assessment of chemicals, NIER notification 2014-48.
- Santore, R.C., Di toro, D.M., Pauin P.R., Allen, H.E., and Meyer, J.S., 2001, Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*, *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 2397-2402.
- Sauve, S., Norvell, W.A., Mcbride, M., and Hendershot, W., 2000, Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 291-296.
- Song, N., Zhong, Xu, Li, B., Li, J., Wei, D., and Ma, Y., 2014, Development of a multi-species biotic ligand model predicting the toxicity of trivalent chromium to barley root elongation in solution culture, *Plos one* **9**(8): e105174. doi:10.1371/journal.pone.0105174.
- Thakali, S., Allen, H.E., Di Toro, D.M., Ponizovsky, A.A., Rodney, C.P., Zhao, F.J., and McGrath, S.P., 2006a, A terrestrial biotic ligand model. 1. Development and application to Cu and Ni toxicities to barley root elongation in soils, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 7085-7093.
- Thakali, S., Allen, H.E., Di Toro, D.M., Ponizovsky, A.A., Rodney, C.P., Zhao, F.J., McGrath, S.P., Criel, P., Eeckout, H.V., Janssen, C.R., Oorts, K., and Smolders, E., 2006b, Terrestrial biotic ligand model. 2. Application to Ni and Cu toxicities to plants, invertebrates, and microbes in soil, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 7094-7100.

Wang, X., Ma, Y., Hua, L., and McLaughlin, M.J., 2009, Identification of hydroxyl copper toxicity to barley (*Hordeum vulgare*) root elongation in solution culture, *Environ. Toxicol. Chem.*, **28**, 662-667.

Wang, X., Hua, L., and Ma, Y., 2012, A biotic ligand model predicting acute copper toxicity for barley (*Hordeum vulgare*): Influence of calcium, magnesium, sodium, potassium and pH,

Chemosphere, **89**, 89-95.

Yu, G., An, J., Jeong, B., and Nam, K., 2017, Effect of environmental factors on the determination of the ecotoxicological threshold concentration of Cu in soil porewater through biotic ligand model and species sensitivity distribution, *J. Soil Groundw. Environ.*, **22**(1), 49-58.