

Original article

수환경 내 용존성 유기물질의 총 유기탄소 및 총 질소 안정동위원소 신규 분석법 소개

박시영[†] · 최희주^{1,†} · 홍서연 · 임보라 · 최서영² · 김은미 · 허유정 · 이수형³ · 김민섭*

국립환경과학원 환경기반연구부 환경측정분석센터, ¹한국산업기술시험원 디지털산업본부 글로벌 시험인증센터
²공주대학교 환경과학부, ³국립환경과학원 환경기반연구부

Introduction of a New Method for Total Organic Carbon and Total Nitrogen Stable Isotope Analysis of Dissolved Organic Matter in Aquatic Environments. Si-yeong Park[†] (0000-0002-1638-6433), Heeju Choi^{1,†}, Seoyeon Hong (0009-0008-7237-530X), Bo Ra Lim (0000-0002-1188-2112), Seoyeong Choi², Eun-Mi Kim, Yujeong Huh, Soohyung Lee³ and Min-Seob Kim* (0000-0002-0365-7468) (Environmental Measurement and Analysis Center, National Institute of Environmental Research, Incheon 22689, Republic of Korea; ¹Global Testing and Certification Center, Testing Laboratory, Seoul 08389, Republic of Korea; ²Department of Environmental Science, Kongju National University, Kongju 32588, Republic of Korea; ³Fundamental Environmental Research Department, National Institute of Environmental Research, Incheon 22689, Republic of Korea)

Abstract Dissolved organic matter (DOM) is a key component in the biogeochemical cycling in freshwater ecosystem. However, it has been rarely explored, particularly complex river watershed dominated by natural and anthropogenic sources, such as various effluent facility and livestock. The current research developed a new analytical method for TOC/TN (Total Organic Carbon/Total Nitrogen) stable isotope ratio, and distinguish DOM source using stable isotope value ($\delta^{13}\text{C-DOC}$) and spectroscopic indices (fluorescence index [FI] and biological index [BIX]). The TOC/TN-IR/MS analytical system was optimized and precision and accuracy were secured using two international standards (IAEA-600 Caffeine, IAEA-CH-6 Sucrose). As a result of controlling the instrumental conditions to enable TOC stable isotope analysis even in low-concentration environmental samples ($<1 \text{ mgC L}^{-1}$), the minimum detection limit was improved. The 12 potential DOM source were collected from watershed, which includes top-soils, groundwater, plant group (fallen leaves, riparian plants, suspended algae) and effluent group (pig and cow livestock, agricultural land, urban, industry facility, swine facility and wastewater treatment facilities). As a result of comparing characteristics between 12 sources using spectroscopic indices and $\delta^{13}\text{C-DOC}$ values, it were divided into four groups according to their characteristics as a respective DOM sources. The current study established the TOC/TN stable isotope analyses system for the first time in Korea, and found that spectroscopic indices and $\delta^{13}\text{C-DOC}$ are very useful tool to trace the origin of organic matter in the aquatic environments through library database.

Key words: TOC/TN-IRMS method, DOC stable isotope, spectroscopic indices, tracing organic carbon source

Manuscript received 23 October 2023, revised 26 October 2023,
revision accepted 26 October 2023

[†] Equal contributors to this work as co-first authors

* Corresponding author: Tel: +82-32-560-8384, Fax: +82-32-560-7905
E-mail: candyfrog77@gmail.com

© The Korean Society of Limnology. All rights reserved.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

서론

해양 또는 강과 하천 등 수계 내 존재하는 유기물은 수생태계에서 일차생산력을 결정짓고, 생물군집의 영양단계에 영향을 주며 생물학적 순환과 수생태계 전반적인 시스템에서 중요한 역할을 한다. 수계 내 유기물은 주로 부유하거나 침전된 상태이며, 성상에 따라 용존성 유기물(Dissolved Organic Matter, DOM)과 입자성 유기물(Particulate Organic Matter, POM)로 구분할 수 있다(Thorp and DeLong, 1994). 이들은 식물플랑크톤 또는 수생 식물이나 부착조류와 같이 수층의 기초생산자로부터 기원하는 해양생물에 의해 생산되는 자생기원(autochthonous)과 낙엽 또는 토양유기물과, 농경지와 같이 주변 육역으로부터 유입되어 들어오는 외부기원(allochthonous)의 2가지 유입 경로를 통해 영향을 받는다(Fry, 1984; Owens, 1987). 고농도의 유기물은 오랫동안 수질 오염의 원인으로 지목되어 왔으며, 용존성 유기탄소(Dissolved Organic Carbon, DOC)의 경우, 다양한 생물학적 광분해과정으로 다량 용출되며 용존산소량을 낮추 수질 악화의 원인으로 제기된 바 있다(Aiken *et al.*, 2002). 그러나 최근에는 육상 식물 또는 비료 사용, 공장폐수 등의 영향으로 더 이상 분해되지 않는 물질인 난분해성 물질(Refractory matter)이 강이나 하천을 통해 유입되어 유기물 농도를 증가시키는 주요 원인으로 지목되고 있다(Del Castillo *et al.*, 2000; Vignudelli *et al.*, 2004). 수질 오염은 낙엽, 토양, 유기체설물 등의 자연 기원과 조류, 생물 사체 등 생물기원 또는 비료, 퇴비, 분뇨 등 농경지 기원 그리고 방류되는 하수처리수, 산업용 폐수까지 그 주변지역의 다양한 경로와 단순 파악이 어려운 복합적인 영향을 받고 있다. 수생태의 지속적인 관리와 건강도 파악을 위해서는 유기물 유입 경로에 대한 조사가 함께 이뤄져야 하는데, 총 유기탄소(Total Organic Carbon, TOC)는 수계 내 유기탄소의 전반을 파악하는 것으로써, 기존의 화학적산소요구량(Chemical Oxygen Demand, COD)만으로는 분석이 어려웠던 난분해성 물질(Refractory matter)까지 포함한 유기물 전반을 파악할 수 있는 장점이 있다. 이에 따라, 지난 2013년 환경부에서는 난분해성 물질을 포함한 전체 유기물 농도를 파악하고 관리할 수 있도록 하천·호소 환경분석기준 항목 상의 유기물 지표에 대해 COD에서 TOC로 확대, 전환하였으며, 2020년부터는 수생태 유기물 관리 방안으로 배출허용기준 역시 COD에서 TOC로 전환하는 등 유기물 전반에 대한 기원 파악이 가능하도록 물환경보전법의 시행규칙을 개정하였다. 이처럼 하천 호수 내의 수질 오염성에 대한 관심이 확대된 만큼 유기물 기원과 관련한 연구사례는 다양한 방법을 통해 지속

적으로 수행되고 있다. 최근 국외에서는 수소성 및 분자량 구조에 따라 TOC 물질에 대한 기원을 파악하고자 분광정보 데이터베이스(DB)를 구축한 사례가 있었다(Murphy *et al.*, 2014). 국내에서의 유기탄소 기원 추적에 대한 연구는 많이 진행되어 왔으나, 주로 TOC 시료의 일부 주요 구성원인 입자성 유기탄소(Particulate Organic Carbon, POC)에 대한 기원 관련 연구가 대부분이었다(Lee *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2014). 최근, 형광지표, DOC/DON 그리고 $\delta^{13}\text{C}$ 등, 용존유기물 기원별 고유 특성을 반영할 수 있는 환경지표를 이용하여 DOC 오염원을 추적하는 연구가 진행된 바가 있다(Lee *et al.*, 2018, 2020). 유기물 기원 판별에 있어 검증된 분석법 중 하나인 안정동위원소는 가장 효율적인 기법이라 할 수 있다. 안정동위원소 기법은 주로 탄소와 질소의 안정동위원소비를 이용하는데, 탄소 안정동위원소비($\delta^{13}\text{C}$)는 유기물의 기원을 파악하는 연구에 많이 이용된다. 육상식물은 대기중의 CO_2 를 이용하여 광합성을 하며, 담수생물의 경우에는 수층에 녹아 있는 용존 무기탄소를 이용하기 때문에 담수 식물플랑크톤은 $-40\sim-30\%$ 의 가벼운 값을 가지고 있고(Rau *et al.*, 1982; Meters, 1994), C_3 계열 식물은 $-35\sim-22\%$, C_4 계열 식물은 $-15\sim-6\%$ 의 범위를 나타낸다(Smith and Epstein, 1971; O'Leary, 1988). 질소 안정동위원소비($\delta^{15}\text{N}$)는 수생태계에서 질소 비점 오염원 유입원의 기원을 밝히는 연구에 많이 활용되었다(Meyers, 1997; Tesdal *et al.*, 2013). 대기 중 질소의 $\delta^{15}\text{N}$ 값은 0% 이며, 질소 고정박테리아 혹은 대기중의 질소를 이용하는 식물의 $\delta^{15}\text{N}$ 값은 0% 에 가깝다(Fry, 1988). 농가에서 많이 이용하는 화학비료는 $-5\sim5\%$ 의 $\delta^{15}\text{N}$ 값을 나타내며, 가축 분뇨는 $10\sim20\%$, 가축 분뇨에서 발생한 암모니아 화합물로 만들어진 합성 비료는 $20\sim30\%$ 의 무거운 $\delta^{15}\text{N}$ 를 나타내고 있어서 질소의 기원을 추적하는 연구에 활용되고 있다(Costanzo *et al.*, 2001). 본 연구에서 활용한 TOC/TN-IR/MS (Total Organic Carbon/Nitrogen - Isotope Ratio Mass Spectrometry, 총 유기탄소/질소 안정동위원소 질량분석기는 총 유기탄소 분석기와 안정동위원소 질량분석기가 결합된 최초의 수환경 내 총 유기탄소 및 총 질소 안정동위원소 분석 시스템으로서(Feferherr *et al.*, 2014), 여과지 및 동결건조 등의 전처리 과정 없이 수용성 상태에서 TOC 농도와 $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ 안정동위원소비를 동시에 빠르게 측정할 수 있는 장점이 있다. 그러나, 아직까지 국내에서는 TOC/TN-IR/MS 분석기의 도입이 흔하지 않고, TOC의 안정동위원소비를 중점적으로 활용한 강과 호수의 오염원 추적 기법 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 수계 내 유기물 기원을 추적하기 위하여 농도와 동위원소 분석이 동시에 가능한 TOC/TN-IR/MS

의 정도관리를 소개하고자 한다. 뿐만 아니라, 국내 하천으로 유입되는 자연기원 및 인위적 기원의 유기물 시료를 채집 후 유기물 기원 특성 조사(형광지표, 총 유기탄소 안정동위원소비)를 통해 각각의 차이점을 살펴보고 라이브러리 구축을 통해 환경시료에의 적용 가능 여부를 기술하고자 한다.

분석 원리 및 정도관리

1. TOC/TN-IR/MS (Total Organic Carbon/Nitrogen - Isotope Ratio Mass Spectrometry, 총 유기탄소/질소 안정동위원소 질량분석기) 소개

TOC/TN-IR/MS 시스템은 TOC/TN 원소분석기, 인터페이스 및 동위원소 질량분석기의 세 부분으로 구성된다 (Fig. 1). TOC/TN 분석기 (Vario-isoTOC cube, Elementar) 는 고온 연소 시료 분석에 적합한 모델로서 (HTC-TOC, High Temperature Combustion), 안정동위원소 질량분석기에 (Isoprime vision plus; Manchester, UK) 연결이 용이하도록 시스템 감도를 개선시키고 바탕값을 최소화하였으며 분석과정에서 동위원소 분별작용이 없도록 최적화되었다. 시료를 40 mL borosilicate 유리 바이알에 담은 후 32개의 시료를 취할 수 있는 자동시료 주입기 (autosampler)에 올린다. 이후 바이알에 산소가 주입되고 동시에 자동 교반되어 휘발성 유기화합물을 제거한다. 이후 5 mL 주사기를 통해 다방향 밸브 (multiway valve)를 통해 NPOC (Non-purgeable organic carbon) 모드로 연소 시스템에 주입된다. 연소시 850°C 고온에서 산소 및 촉매 (세라믹 캐리어 재료의 Pt)에 결합하여 가스상 (CO₂, N₂O, NO_x)으로 기화되며 650°C에서 구리 원소와 반응하여 환원과정을 거쳐 질소 산화물을 N₂로 전환시킨다. 이 과정에서 제거되지 않은 수분은 공랭식 응축기 (air-cooled condenser), 역류 막 건조기 (counter-flow membrane dryer) 및 수분 트랩 등에서 제거된다. 염, 할로젠화 수소 등은 실버울 (silver wool)로 제거된다. 이후 유기탄소 분석기 내 검출기인 비분산 적외선 (NDIR, nondispersive infrared)을 통해 TOC, TN 농도를 측정하며, CO₂, N₂ 가스를 포집·분리하여 불순물 제거 및 분해능을 높여주는 인터페이스를 거쳐 안정동위원소 질량분석기로 (Isoprime vision 100, Ltd. Manchester, UK) 이동되면 최종적으로 δ¹³C, δ¹⁵N 안정동위원소비가 계산된다.

2. 표준물질을 이용한 TOC/TN-IR/MS 분석기기의 정밀/정확도 연구

국제 원자력기구 (IAEA)에서 제공하는 국제표준물질 2

Table 1. The TOC/TN-IR/MS instrumental conditions for analysis of δ¹³C-DOC, δ¹⁵N-DTN stable isotope ratio in aqueous water samples.

Program	CO ₂	N ₂
Combustion tube temperature	850°C	850°C
Reduction tube temperature	550°C	550°C
Sample concentration	1 mgC L ⁻¹	5 mgN L ⁻¹
Sample Injection volume	1 mL	2 mL
Trap current	600	600
Analytical time	3 hr	4 hr
Number of repeated analyzes	10	12
Distilled water wash	3	3

종 (IAEA-600 Caffein (δ¹⁵N = 1.0‰), IAEA-CH-6 Sucrose δ¹³C = -10.449‰)을 다양한 농도로 (0.1, 0.2, 0.3, ..., 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20 mgC L⁻¹ 혹은 mgN L⁻¹) 제조한 후 각각 10회 분석하여 총 유기탄소 및 총 질소 안정동위원소비의 분석한계를 조사하였다. 또한 국제표준물질 (IAEA-600, Caffein)을 1 mgC L⁻¹, 10 mgN L⁻¹로 농도로 만든 후 100회 반복 분석하여 총 유기탄소 및 질소 안정동위원소비 분석값의 정밀/정확도를 확인하였다.

결과 및 고찰: 환경시료에의 적용

1. 시료 농도 변화에 따른 안정동위원소비의 정밀·정확도 연구

수질 시료 내 총 유기탄소 및 총 질소 안정동위원소 분석을 위하여 국제표준물질 2종 (IAEA-600 Caffein δ¹³C = -27.7‰, IAEA-CH-6 Sucrose δ¹³C = -10.4‰)을 이용하여 다양한 농도 범위로 제조하여 각각 10회 반복 분석하였다. 표준물질 농도가 각각 4~150 mgC L⁻¹ 범위에서 표준편차 0.2‰로 분석값의 정밀·정확도를 확보하였으나, 4 ppm 이하의 저농도에서는 분석이 어려운 것을 확인하였다 (Fig. 2). 또한, 시료 주입량 (0.1 mL~4.8 mL), 분석 조건 (Trap current 200, 400, 600), 베이스라인 (blank area), 증류수 종류 (국제표준 LCW), 분석 가능한 농도 (0.1~150 mgC L⁻¹), 적정 분석 횟수 (1회~10회) 등을 고려하여 테스트 한 결과, 시료 5 mgC L⁻¹ 기준으로 1개 시료의 총 탄소 안정동위원소비 결과를 얻기 위해서는 시료량 1 mL, 분석조건 (trap 400), 반복 10회 분석, 3회 증류수 클리닝의 조건이 필요하며 분석 소요시간은 3시간이었다. 수질 시료 내 총 질소 5~50 mgN L⁻¹ 표준편차 0.5‰로 분석값의

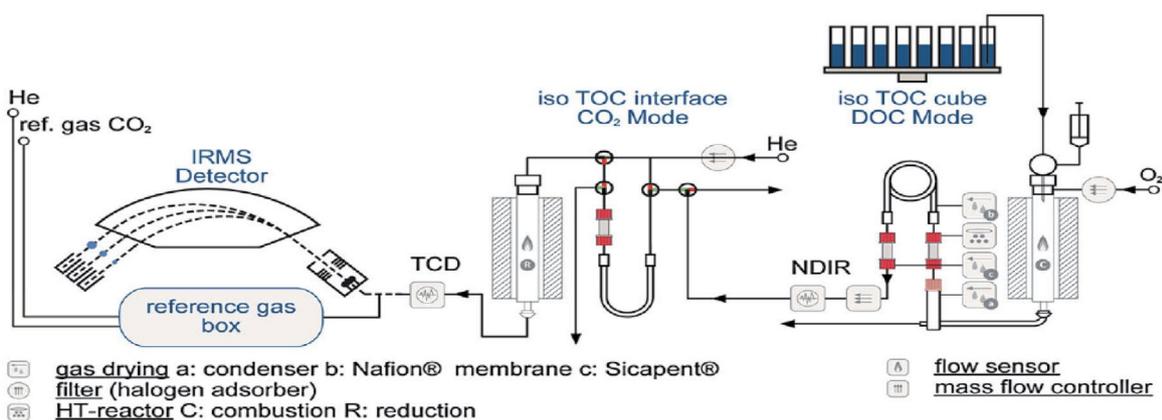


Fig. 1. Schematic diagram of the TC/TN-IR/MS (from Kirkels *et al.*, 2014).

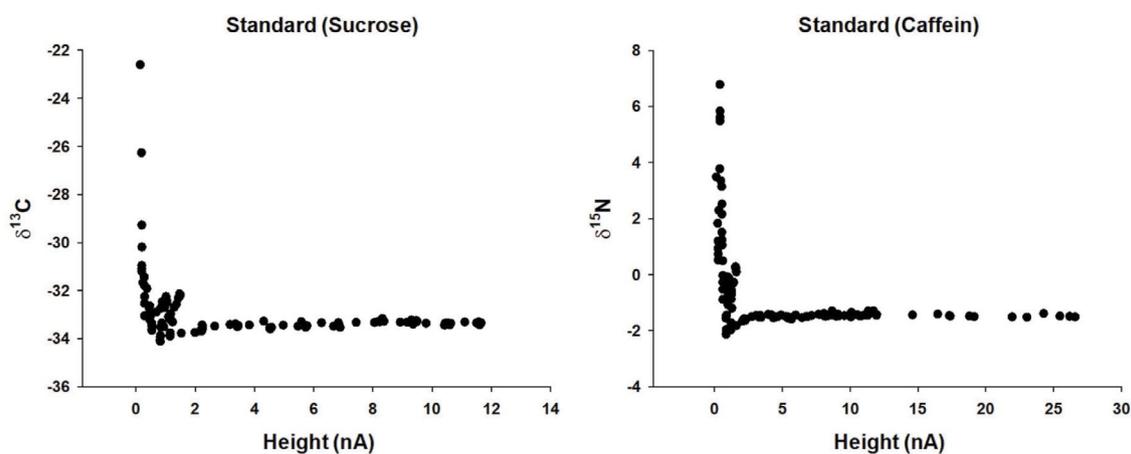


Fig. 2. Correlation between Isotope Ratio Mass Spectrometer signals and Total organic carbon isotope ratio according to concentration of each IAEA standard substance.

정밀·정확도를 확보하였으나, 5 ppm 이하의 저농도 혹은 50 ppm 이상의 고농도에서는 분석이 어려운 것을 확인하였다. 또한, 시료 투입량(0.1 mL~4.8 mL), 분석조건(Trap 200, 400, 600), 베이스라인(blank area), 증류수 종류(국제표준 LCW), 분석 가능한 농도(0.1~150 mgN L⁻¹), 적정 분석 횟수(1회~10회) 등을 고려하여 테스트 한 결과, 시료 5 mgN L⁻¹ 기준으로 1개 시료의 총 질소 안정동위원소비 결과를 얻기 위해서는 시료량 2 mL, 분석조건(trap 600), 반복 12회 분석, 3회 증류수 클리닝의 조건이 필요하며 분석 소요 시간은 4시간이었다(Table 1).

저농도 환경 시료에서의 용존성 유기탄소의 탄소 안정동위원소비 분석이 가능하기 위해서는 TOC 분석기에서 시료의 산화로 생성된 CO₂ 가스가 인터페이스 및 안정동위원소 분석기기로 이동하는 과정에서의 손실을 최소화 시켜야 한다. 본 연구에서 시도한 방법은 1) TOC 분석기

와 인터페이스 간 경로 최소화, 2) 인터페이스와 IRMS 사이의 Capillary fused silica 컬럼의 길이 및 내경 조절, 3) TOC 기기에서 인터페이스를 거쳐 IRMS로 CO₂ 가스를 운반시키는 이동상 가스(He)의 유량 조절이다. 저농도 수질 시료 분석을 위하여 분석기기를 개선한 후 수질 시료 내 총 탄소 안정동위원소 분석을 위하여 국제표준물질 2종 (IAEA-600 Caffeine δ¹³C = -27.7‰, IAEA-CH-6 Sucrose δ¹³C = -10.4‰)을 다양한 농도(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, 15, 20 mgC L⁻¹) 범위로 제조하여 각각 10회 반복 분석하였다. 표준물질 농도가 각각 1 mgC L⁻¹ 범위에서 표준편차 0.1‰로 분석값의 정밀·정확도를 확보하였으며, 분석한계를 보이는 저농도는 5 mgC L⁻¹에서 0.5 mgC L⁻¹으로 감소하였다. 또한 분석조건 중 trap를 200에서 600으로 상향하면 분석이 가능하며, 시료 주입량을 기존 1 mL에서 3 mL까지 높여준다면

0.1 ppm보다 더 낮은 농도에서도 분석이 가능한 것으로 확인되었다. 그러나, 이와 같은 분석조건은 연소관내 충전물의 수명을 줄이고 최대 분석 시료 개수가 현저히 낮아질 수 있어 주의가 필요하다. 저농도 환경시료에서도 안정동위원소 분석이 가능하도록 분석기기의 조건을 변경한 결과, 최소분석한계가 5 mgC L^{-1} 에서 0.5 mgC L^{-1} 으로 개선되었으며, 국외 연구 사례 (Panetta *et al.*, 2008) 결과와 비교하면 대등한 결과값 도출되었음을 확인할 수 있었다(국제 표준물질 IAEA-CH-6, Sucrose, 10 ppm 분석시 Germany: peak intensity 19 nA, NIER: peak intensity 20 nA) (Fig. 3).

기존에는 용존 유기물의 안정동위원소비를 분석하기 위하여 2 L 이상의 담수 및 20 L 이상의 해수 시료를 수 주 동안 동결 건조시킨 후 얻은 분말을 원소분석기/안정동위원소 질량분석기(EA-IRMS)를 사용하여 분석하였다 (Ghandi *et al.*, 2004; Lambert *et al.*, 2013). 이 방법은 비용이 저렴하지만 시간이 많이 걸리는 단점이 있다. 또한, 동결건조 공정은 오븐건조 공정에 비해 회수율은 높지만, 휘발성 화합물 및 일부 유기화합물(낮은 산소화 작용기)의 손실을 초래하여 동위원소 분별작용을 야기한다(Moody, 2020). 그러나 TOC/TN-IRMS는 시료 전처리 과정(동결건조) 없이 소량(μL 단위)의 시료만 이용하여 수질시료내 총 유기탄소 및 총 질소의 안정동위원소비를 직접 분석이 가능하므로 이러한 단점을 극복하고, 수환경 내 오염원을 판별할 수 있는 유익한 분석기법이라 할 수 있다(Federherr *et al.*, 2014).

2. 기원조사 연구 및 형광 기법과의 비교 검토

1) 환경시료 채취

수환경 내 유기물질의 기원을 자연 및 인위적 기원으로 나누고 이를 대표할 수 있는 시료를 금강권역의 미호천에서 채집하였다. 자연기원은 낙엽 ($n=5$), 표층 토양($0\sim 1 \text{ cm}$, $n=3$), 부유 조류 ($n=2$), 지하수 ($n=2$), 수변식물 ($n=5$)이며, 인위적 기원은 돼지 축사($n=3$), 소 축사($n=4$), 농경지 ($n=3$), 산업단지 ($n=8$), 생활하수 ($n=2$), 양돈처리시설 ($n=2$) 및 하수종말처리장 ($n=5$)에서 나오는 배출수 시료를 수집하였다.

표층 토양 시료는 휴대용 삽을 사용하여 표면에서 1 cm 깊이까지 3회 채집하여 동결건조 후 $500 \mu\text{m}$ 나일론 체로 고형물을 제거하였다. 부유 조류는 플랑크톤 네트를 이용하여 수집하고 동결건조하였다. 수변 식물은 탈이온수로 부드럽게 세척하여 이물질을 제거한 후 동결 건조하여 지르콘 막자사발과 막자를 사용하여 분쇄하였다. 모든 유기물질에 대한 DOC 추출은 토양의 경우 증류수와 1:10, 그

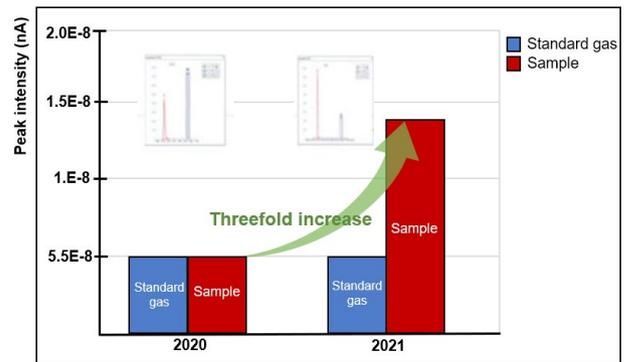


Fig. 3. Intensity comparison of carbon stable isotope ratio in CRM (IAEA-CH-6, Sucrose, 10 mgC L^{-1}).

의는 1:20의 비율로 혼합한 후 150 rpm에서 24시간 동안 초음파 처리하였으며, 원심분리 후 상등액을 사전에 연소된(6시간 동안 450°C) $0.45 \mu\text{m}$ GF-F 필터(Whatman)를 통해 여과하고 냉장보관 후 형광지표 및 안정동위원소를 분석하였다.

2) 형광지표 분석

GF/F (47 mm , Whatman) 필터로 여과한 수질 시료를 석영 셀에 첨가한 후 형광분광계를(Carry Eclipse Fluorescence Spectrophotometer, Agilent) 이용하여 분석하였다. 여기 ($200\sim 500 \text{ nm}$) 및 방출 ($280\sim 550 \text{ nm}$) 파장의 형광광도 조절은 슬릿을 10 nm 로 고정하였으며, 3차 증류수의 라만(Raman) 스펙트럼 중 350 nm 의 방출파장에서 $375\sim 420 \text{ nm}$ 의 값을 나누어 표준화된 형광세기를 사용하였다. 형광지표인 FI(Fluorescence Index)는 생물학적 기원을 나타내는 지표로서 수치가 낮으면 더 이상 분해가 어려운 휴믹 물질이 많음을 시사한다. FI 값은 370 nm 의 여기 파장에서 $450\sim 500 \text{ nm}$ 에서의 방출 강도의 비율로 계산되었다(McKnight *et al.*, 2001). BIX(Biological Index)는 내부생성기원 유기물질의 비를 나타내는 값으로서 수치가 높을수록 최근에 생성된 생물 혹은 미생물 기원의 용존유기물질이 우세하다는 것을 나타내며, 여기파장이 310 nm 일 때, 방출파장 380 nm 와 430 nm 의 비율로 계산되었다(Huguet *et al.*, 2009).

3) 총 유기탄소 안정동위원소 분석

용출된 DOC 시료는 미리 태운 투명한 유리 앰플 바이알 40 mL 에 담아 H_3PO_4 용액 2 mL 를 첨가하여 pH 2의 산성화 상태에서 무기탄소(DIC)를 완전히 제거한 후 분석직 전까지 냉장 상태로 보관하였다. 안정동위원소비는 ‰로 표현되며 δ 계산식은 아래와 같다.

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

$$R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}, {}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}$$

$\delta^{13}\text{C}$ 분석을 위한 표준물질은 IAEA-CH-6 (Sucrose), $\delta^{15}\text{N}$ 분석을 위한 표준물질은 IAEA-600 (Caffeine)을 사용하였다. 각각의 분석 표준편차는 0.1‰, 0.3‰이다.

4) 수환경 내 유기물 기원 조사 연구

수환경 내 총 유기탄소의 기원을 추적하기 위하여 자연 기원 유기물 및 인위적 기원 유기물의 형광지표 및 총 유기탄소 안정동위원소 라이브러리를 구축하고자 하였다.

12개의 유기물은 특성에 따라 식물, 토양, 하천수 및 배출수로 구성된 4개 그룹으로 분류되었다. 식물 그룹에서 수변 식물, 잎, 부유 조류의 $\delta^{13}\text{C}$ 동위원소 값은 유의한 차이를 보였다($p < 0.01$) (Fig. 4). 용존 유기탄소는 수환경 내 미생물, 부유 조류, 수변식물 등 자생기원 및 외부기원 유기물에서 기인된 분해 산물이며 다양한 탄소 동화 절차 및 유기물의 기원에 따라서 그 탄소 동위원소비는 다르게 나타난다(Lee *et al.*, 2017; Godfrey *et al.*, 2021). 광합성 기작의 차이에 따라서 C_3 식물의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC는 $-33\text{‰} \sim -24\text{‰}$, C_4 식물의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC는 $-16\text{‰} \sim -10\text{‰}$ 범위의 값을 갖는다(Yoon *et al.*, 2016; Derrien *et al.*, 2018). 연구지역내 식물 그룹의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값은 과거 연구에서 제시하고 있는 C_3 식물의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값과 유사한 범위 내에 있다. 표층 토양의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값은 (-25.3‰) C_3 식물 서식처에서 기인된 토양기원 유기물과 유사한 값을 나타내고 있다(Lebreton *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2017) (Fig. 4). 특히, 본 연구지역의 갈대 서식처에서 기인된 유기물의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값은 (-24.5‰) 선행 연구에서 보고된 값과 유사하다(Lambert *et al.*, 2011). 지하수의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값은 식물, 토양 및 하천수 그룹에 비해 상대적으로 무거웠으며, 배

출수의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값과 유사한 경향을 보여 지하수가 배출수의 영향을 받았을 가능성을 나타낸다. 축사, 농경지, 하수종말처리장 등 배출수의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC 값은 $-25.1\text{‰} \sim -20.4\text{‰}$ 의 넓은 범위로 나타났으며, 이는 배출수 간 기원이 다르기 때문이다($p < 0.05$) (Fig. 4). 선행 연구에서는 배출수의 $\delta^{13}\text{C}$ -DOC를 직접 측정할 수 없었기 때문에 $\delta^{13}\text{C}$ -POC를 분석하여 DOM의 기원을 추정하는 데 국한되었지만(Derrien *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2021), 본 연구에서는 DOC의 탄소 동위원소비를 직접 분석할 수 있기 때문에 유형별 배출수의 동위원소비 특성 연구가 가능하게 되었다.

배출수 그룹 중 하수종말처리장 배출수는 가장 높은 BIX (1.21)를 나타냈으며(Fig. 4), 이는 생물학적 처리 공정에서 유래한 다량의 미생물 공급원이 포함되어 있음을 시사한다(Parlanti *et al.*, 2000). 산업 단지, 생활하수 및 농경지에서 기인된 배출수는 높은 FI (1.49~1.68) 값을 보였으며, 이는 방향족 화합물이 많이 포함되어 있는 유기물의 휴믹화 특성을 반영한다(McKnight *et al.*, 2001). 돼지 축사, 소 축사 및 돈분처리시설에서 기인된 배출수의 일반적인 형광 특성은 상대적으로 낮은 FI (1.65~1.82) 값을 나타냈으며 이는 생물학적 유기물이 상당히 존재하고 있음을 나타낸다(Fig. 4). 식물 그룹 내에서 잎은 가장 낮은 BIX (0.51) 및 FI (1.28) 값을 나타냈는데, 이는 휴믹화된 DOM의 함량이 높다는 것을 나타낸다(Chen and Jaffe, 2014). 대조적으로, 수변 식물은 분해 가능한 DOM과 휴믹화된 DOM이 섞여 있어 잎과 산업 단지, 생활하수 및 농경지에서 기인된 배출수 그룹의 중간값을 나타내었다(Leenheer *et al.*, 2003). 부유 조류는 생물기원이 대부분이기 때문에 가장 높은 FI 값 (2.01)을 보였고(Lee *et al.*, 2019), 표층 토양은 BIX (0.67)와 FI (1.34)의 낮은 값을 보여 생물 기원 DOM 함량이 낮은 육상 기원을 나타내었다(Fig. 4). 지하수는 (BIX = 0.87, FI = 1.88) Lee *et al.* (2019)가 제시한

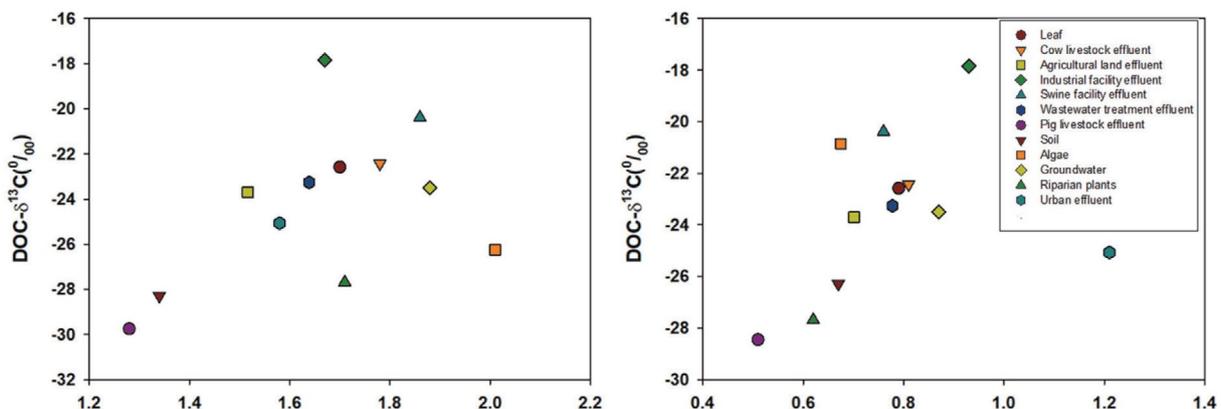


Fig. 4. The plot of BIX, FI and $\delta^{13}\text{C}$ -DOC of 12 end-members.

연구 결과에서 우리 연구와 유사한 지하수(BIX (0.8), FI (2.02)) 값을 보고했지만 Yang *et al.* (2015)은 우리 연구와 다른 값을(BIX (0.89), FI (1.74)) 값을 제시하였다. 이는 아마도 식물 유래 또는 산업단지 배출수 기원 DOM의 지역적 특성의 차이 때문일 것이다. 최종적으로 산업단지, 생활하수 및 농경지의 배출수, 나뭇잎, 토양 및 수변 식물 기원 DOM은 상대적으로 높은 수준의 휴믹화가 진행된 것으로 보이며, 돼지 축사, 소 축사 및 돈분 처리 시설의 배출수 기원 DOM에는 생물학적 기원이 대부분인 것으로 여겨진다.

12개 DOM 기원들 간의 형광지표(BI, FIX) 값이 겹치지 않는 않지만 일부 그룹들이 유사한 값을 보이고 있다. 특히 농경지에서 기인된 배출수는 작물과 토양에서 기인되기 때문에 토양의 형광지표 값과 비슷한 경향을 보인다. 그러나 FI와 $\delta^{13}\text{C-DOC}$ 값을 같이 비교하였을 때는 완전하게 구분되는 것을 확인할 수 있었다. 선행 연구에서는 분광지수와 입자상 유기물의 $\delta^{13}\text{C}$ 값을 이용하여 유기물 기원별 기여율을 보고하였다(Derrien *et al.*, 2018, 2019). 이는 형광지표가 광분해, 생분해, 흡착 등 생지화학적 반응에 매우 민감하고 체류 시간이 길수록 분광지수가 변할 가능성이 있기 때문이다(Lust *et al.*, 2016; Begum *et al.*, 2019). 그러므로 생지화학적 반응에 좀 더 덜 민감한 지수를 $\delta^{13}\text{C-DOC}$, $\delta^{13}\text{C-POC}$ 등) 같이 사용한다면 신뢰할 수 있는 라이브러리 데이터를 제공하게 될 것이다.

5) 수환경 보존을 위한 정책반영

폐수배출시설과 공공폐수처리시설 방류수의 유기물질 관리지표로 적용하던 화학적 산소요구량(COD)을 총유기탄소(TOC)로 전환하였다. COD에서 TOC로의 전환은 유기 오염물질로부터 수역을 보호하는 점진적인 변화이다. 따라서 유기 오염물질을 추적하고 그 기여율을 평가하여 TOC 부하를 관리하는 기술을 개발하는 것이 필수적이다. 다양한 유기물 기원(자연기원, 인위적 기원)이 존재하는 복잡한 도시 유역 지역은 농업, 산업, 축산 및 하수종말처리장 같은 다양한 점/비점오염원을 효과적으로 조절하기 어렵기 때문에 유역 관리가 매우 중요하다. 분광지수(FI, BIX)와 안정동위원소($\delta^{13}\text{C-DOC}$)를 기준으로 라이브러리 데이터베이스 구축은 다양한 배출원의 기여율을 추정할 수 있는 중요한 도구이며, 예방적 오염원 관리 시스템의 기준으로 사용될 수 자료를 제공할 수 있을 것이다.

적 요

본 연구는 TOC/TN-IRMS를 이용하여 총 유기탄소 및

총 질소 안정동위원소 분석법을 연구하였으며, 수환경 중 저농도 시료에서도 분석이 가능하게 시스템을 구축하였다. 수생태계로 유입되는 다양한 유기탄소 기원을 파악하기 위하여 형광지표와 $\delta^{13}\text{C-DOC}$ 안정동위원소비를 활용한다면 효율적인 수질 관리를 위한 해석기능을 제공할 것이며, 추후 유역 오염원의 대표값(end member)의 지속적인 조사를 통하여 자료구축이 이루어져야 할 것이다.

저자정보 박시영, 홍서연, 임보라(국립환경과학원 환경측정분석센터 전문위원), 김은미(국립환경과학원 환경측정분석센터 환경연구원), 김민섭(국립환경과학원 환경측정분석센터 환경연구원), 허유정(국립환경과학원 환경측정분석센터 센터장), 이수형(국립환경과학원 환경기반연구부장), 최서영(공주대학교 환경과학부 석사), 최희주(국립환경과학원 환경측정분석센터 인턴)

저자기여도 원고 초안 작성 및 분석: 박시영, 최희주, 최서영, 예산 및 원고 검토: 김은미, 허유정, 이수형, 연구설계, 분석, 원고 작성 및 검토: 김민섭

이해관계 이 논문에는 이해관계 충돌의 여지가 없습니다.

연구비 본 연구는 2023년 환경부 국립환경과학원 “제2단계(’19~’23) 환경다매체 오염원 추적자 탐색 및 현장 적용 기법 연구(2023-01-01-117)”에서 수행되었습니다.

REFERENCES

- Aiken, G., L.A. Kaplan and J. Weishaar. 2002. Assessment of relative accuracy in the determination of organic matter concentrations in aquatic systems. *Journal of Environmental Monitoring* **4**(1): 70-74.
- Begum, M.S., I. Jang, J.M. Lee, H.B. Oh, H. Jin and J.H. Park. 2019. Synergistic effects of urban tributary mixing on dissolved organic matter biodegradation in an impounded river system. *Science of The Total Environment* **676**: 105-119.
- Chen, M. and R. Jaffe. 2014. Photo- and bio-reactivity patterns of dissolved organic matter from biomass and soil leachates and surface waters in a subtropical wetland. *Water Research* **61**: 181-190.
- Costanzo, S.D., M.J. O'Donohue, W.C. Dennison, N.R. Loneragan and M. Thoma. 2001. A new approach for detecting and mapping sewage impacts. *Marine Pollution Bulletin* **42**: 149-156.
- Del Castillo, C.E., F. Gilbes, P.G. Coble and F.E. Müller-Karger. 2000. On the dispersal of riverine colored dissolved organic matter over the West Florida Shelf. *Limnology and*

- Oceanography* **45**: 1425-1432.
- Derrien, M., M.S. Kim, G. Ock, S. Hong, J. Cho, K.H. Shin, J. Hur. 2018. Estimation of different source contributions to sediment organic matter in an agricultural-forested watershed using end member mixing analyses based on stable isotope ratios and fluorescence spectroscopy. *Science of The Total Environment* **618**: 569-578.
- Derrien, M., K.H. Shin and J. Hur. 2019. Assessment on applicability of common source tracking tools for particulate organic matter in controlled end member mixing experiments. *Science of The Total Environment* **666**: 187-196.
- Federherr, E., C. Cerli, F.M.S.A. Kirkels, K. Kalbitz, H.J. Kupka, R. Dumsbach, L. Lange and T.C. Schmidt. 2014. A novel high-temperature combustion based system for stable isotope analysis of dissolved organic carbon in aqueous samples. I: development and validation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **28**: 2559-2573.
- Fry, B. 1984. $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios and the trophic importance of algae in Florida *Syringodium* filiforme seagrass meadows. *Marine Biology* **79**: 11-19.
- Fry, B. 1988. Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic compositions. *Limnology Oceanography* **33**: 1182-1190.
- Ghandi, H., T.N. Wiegner, P.H. Ostrom, L.A. Kaplan and N.E. Ostrom. 2004. Isotopic (^{13}C) analysis of dissolved organic carbon in stream water using an elemental analyzer coupled to a stable isotope ratio mass spectrometer. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **18**: 903-906.
- Godfrey, L.V., C. Herrera, G.S. Burr, J. Houston, I. Aguirre and T.E. Jordan. 2021. $\delta^{13}\text{C}$ and ^{14}C activity of groundwater DOC and DIC in the volcanically active and arid Loa Basin of northern Chile. *Journal of Hydrology* **595**: 125987.
- Huguet, A., L. Vacher, S. Relexans, S. Saubusse, J.M. Froidefond and E. Parlanti. 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem.* **40**(6): 706-719.
- Kim, M.S., J.Y. Hwang, B.K. Kim, H.S. Cho, S.J. Youn, S.Y. Hong, W.S. Lee, O.S. Kwon and J.M. Kim. 2014. Determination of the Origin of Particulate Organic Matter at the Lake Paldang using Stable Isotope Ratios ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$). *Korean Journal of Ecology and Environment* **47**(2): 127-134. (in Korean with English abstract)
- Kirkels, F.M.S.A., C. Cerli, E. Federherr, J. Gao and K. Kalbitz. 2014. A novel high-temperature combustion based system for stable isotope analysis of dissolved organic carbon in aqueous samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **28**: 2574-2586.
- Lambert, T., A.C. Pierson-Wickmann, G. Gruau, A. Jaffezic, P. Petitjean, J.N. Thibault and L. Jeanneau. 2013. New insights from the use of carbon isotopes as tracers of DOC sources and DOC transport processes in headwater catchments. *Biogeosciences* **10**: 17965-18007.
- Lambert, T., A.C. Pierson-Wickmann, G. Gruau, J.N. Thibault and A.L. Jaffezic. 2011. Carbon isotopes as tracers of dissolved organic carbon sources and water pathways in headwater catchments. *Journal of Hydrology* **402**(3-4): 228-238.
- Lebreton, B., J. Beseres Pollack, B. Blomberg, T.A. Palmer, L. Adams, G. Guillou and P.A. Montagna. 2016. Origin, composition and quality of suspended particulate organic matter in relation to freshwater inflow in a South Texas estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **170**: 70-82.
- Lee, Y.J., B.K. Jeong, Y.S. Shin, S.H. Kim and K.H. Shin. 2013. Determination of the Origin of Particulate Organic Matter at the Estuary of Youngsan River using Stable Isotope Ratios. *Korean Journal of Ecology and Environment* **46**(2): 175-184. (in Korean with English abstract)
- Lee, D.H., S.H. Kim, E.J. Won, M.S. Kim, J. Hur and K.H. Shin. 2021. Integrated approach for quantitative estimation of particular organic carbon sources in a complex river system. *Water Research* **199**: 117194.
- Lee, S.-A. and G. Kim. 2018. Sources, fluxes, and behaviors of fluorescent dissolved organic matter (FDOM) in the Nakdong River Estuary, Korea. *Biogeosciences* **15**: 1115-1122.
- Lee, S.-A., T.-H. Kim and G. Kim. 2020. Tracing terrestrial versus marine sources of dissolved organic carbon in a coastal bay using stable carbon isotopes. *Biogeosciences* **17**: 135-144.
- Lee, Y., S. Hong, M.S. Kim, D. Kim, B.H. Choi, J. Hur, J.S. Khim and K.H. Shin. 2017. Identification of sources and seasonal variability of organic matter in Lake Sihwa and surrounding inland creeks, South Korea. *Chemosphere* **177**: 109-119.
- Leenheer, J.A. and J.P. Croue. 2003. Peer reviewed: Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* **37**: 18-26.
- Mcknight, D.M., E.W. Boyer, P.K. Westerhoff, P.T. Doran, T. Kulbe and D.T. Andersen. 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnology and Oceanography* **46**(1): 38-48.
- Murphy, K.R., C.A. Stedmon, P. Wenig and R.J.A.M. Bro. 2014. OpenFluor-an online spectral library of auto-fluorescence by organic compounds in the environment. *Analytical Methods* **6**: 658-661.
- Meyers, P.A. 1997. Organic geochemical proxies of paleoceanographic, plaeolimnologic, and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry* **27**: 213-250.
- Moody, C.S. 2020. A comparison of methods for the extraction of dissolved organic matter from freshwaters. *Water Research* **184**: 116114.
- Owens, J.F. 1987. Large-momentum-transfer production of direct photons, jets, and particles. *Rev. Mod. Phys.* **59**: 465.
- Panetta, R.J., M. Ibrahim and Y. Gelinas. 2008. Coupling a high temperature catalytic oxidation total organic carbon

- analyzer to an isotope ratio mass spectrometer to measure natural abundance $\delta^{13}\text{C}$ -dissolved organic carbon in marine and freshwater samples. *Analytical Chemistry* **80**: 5232-5239.
- Parlanti, E., K. Worz, L. Geoffroy and M. Lamotte. 2000. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry* **31**: 1765-1781.
- Rau, G.H., R.E. Sweeney and I.R. Kaplan. 1982. Plankton ^{13}C : ^{12}C ratio changes with latitude: differences between northern and southern oceans. *Deep-Sea Research* **29**: 1035-1039.
- Smith, B.N. and S. Epstein. 1971. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants. *Plant Physiology* **47**: 380-384.
- Tesdal, J.E., E.D. Gallbraith and M. Kienast. 2013. Nitrogen isotopes in bulk marine sediment - linking seafloor observations with subseafloor records. *Biogeosciences* **10**: 101-118.
- Thorp, J.H. and M.D. Delong. 1994. The Riverine Productivity Model: An Heuristic View of Carbon Sources and Organic Processing in Large River Ecosystems. *Oikos* **70**: 305-308.
- Vignudelli, S., C. Santinelli, E. Murru, L. Nannicini and A. Seritti. 2004. Distributions of dissolved organic carbon (DOC) and chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in coastal waters of the northern Tyrrhenian Sea (Italy). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **60**: 133-149.
- Yang, L., S.W. Chang, H.S. Shin and J. Hur. 2015. Tracking the evolution of stream DOM source during storm events using end member mixing analysis based on DOM quality. *Journal of Hydrology* **523**: 333-341.
- Yoon, S.-H., J.-H. Kim, H.-I. Yi, M. Yamamoto, J.-K. Gal, S. Kang and K.-H. Shin. 2016. Source, composition and reactivity of sedimentary organic carbon in the river-dominated marginal seas: a study of the eastern Yellow Sea (the northwestern Pacific). *Continental Shelf Research* **125**: 114-126.