

Biotic ligand model과 종 민감도 분포를 이용한 토양 공극수 내 Cu의 생태독성학적 허용농도 결정에 미치는 환경인자의 영향

유기현 · 안진성 · 정부윤 · 남경필*

서울대학교 건설환경공학부

Effect of Environmental Factors on the Determination of the Ecotoxicological Threshold Concentration of Cu in Soil Pore Water through Biotic Ligand Model and Species Sensitivity Distribution

Gihyeon Yu · Jinsung An · Buyun Jeong · Kyoungphile Nam*

Department of Civil & Environmental Engineering, Seoul National University

ABSTRACT

Biotic ligand model (BLM) and species sensitivity distribution (SSD) were used to determine the site-specific Cu threshold concentration (5% hazardous concentration; HC5) in soil pore water. Model parameters for Cu-BLM were collected for six plants, one collembola, and two earthworms from published literatures. Half maximal effective concentration ($EC_{50}\{Cu^{2+}\}$), expressed as Cu^{2+} activity, was calculated based on activities of major cations and the collected Cu-BLM parameters. The $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ varied from 2 nM to 251 μ M according to the variation in environmental factors of soil pore water (pH, major cation/anion concentrations) and the type of species. Hazardous activity for 5% (HA5) and HC5 calculated from SSD varied from 0.076 to 0.4 μ g/L and 0.4 to 83.4 μ g/L, respectively. HA5 and HC5 significantly decreased with the increase in pH in the region with pH less than 7 due to the decrease in competition with H^+ and Cu^{2+} . In the region with pH more than 7, HC5 increased with the increase in pH due to the formation of complexes of Cu with inorganic ligands. In the presence of dissolved organic carbon (DOC), Cu and DOC form a complex, which decreases Cu^{2+} activity in soil pore water, resulting in up to 292-fold increase in HC5 from 0.48 to 140 μ g/L.

Key words : Copper, Threshold concentration, Soil pore water, Biotic ligand model, Species sensitivity distribution

1. 서 론

특정 생물체에 동일한 독성 영향(toxic effect)을 나타내는 중금속의 농도(e.g., 50% effective concentration; EC50)는 환경매질의 특성에 따라 큰 폭으로 변화한다(Alloway, 1990; Naidu et al., 1997). 토양의 경우, pH, 양이온교환능, Fe/Al 산화물 함량 및 유기물 함량 등과 같은 물리화학적 특성과 오염이력의 영향으로 인해 토양 내 존재하는 중금속의 일부가 생물체에 독성 영향을 끼치지 않는 형태(non-bioavailable fraction)로 존재하게 되기 때문이다(Peijnenburg and Jager, 2003; Vig et al., 2003).

Biotic ligand model(BLM)은 자유이온활성도 모형(free ion activity model; FIAM)과 양이온 경쟁효과를 결합하여 수계 내 중금속의 생물학적이용성(bioavailability)을 정량적으로 예측하기 위해 활용되고 있다(Di toro et al., 2001; Santore et al., 2001). BLM은 생물체 표면의 biotic ligand(BL)라 불리는 활성결합부위(active binding site)에 중금속이 결합함으로써 필수원소의 세포 내 유입을 차단해 독성을 발현한다고 가정한다(Di toro et al., 2001; Jho et al., 2011). 활성결합부위가 중금속에 의해 점유된 비율을 실험적으로 결정하고, 이를 BLM의 파라미터로 활용한다. Thakali et al.(2006a) 및 Thakali et al.(2006b)

*Corresponding author : kpnam@snu.ac.kr

Received : 2017. 1. 31 Reviewed : 2017. 2. 14 Accepted : 2017. 2. 26

Discussion until : 2017. 4. 30

은 Cu 및 Ni을 함유한 토양의 독성이 공극수(pore water)의 독성으로 대표될 수 있다는 전제 하에 terrestrial biotic ligand model(TBLM)을 제안하였고 다양한 토양 생물에 적용 가능함을 확인하였다. 이는 토양의 물리화학적 특성 및 오염이력의 영향을 받아 토양 입자로부터 공극수로 용해되어 나온 중금속 이온이 생물체에 직접적으로 독성 영향을 발현하는 형태이며, pH, 주요 양이온 농도 및 용존 유기탄소(dissolved organic carbon; DOC) 농도와 같은 공극수 내 환경인자가 중금속의 생물 독성에 큰 영향을 끼칠 수 있음을 의미한다(Lock and Janssen, 2003; An et al., 2012; An et al., 2015). 이와 같이, BLM은 수계 뿐만 아니라 토양(공극수) 환경인자의 영향을 고려하여 현장 특이적인 독성값(EC50)을 효과적으로 예측할 수 있으나, 단일 생물종에 대한 실험값을 바탕으로 모형의 파라미터를 결정하여 EC50을 산정하기 때문에, 생물종에 따라 달라지는 오염물질에 대한 민감도를 반영하지 못하는 단점이 존재한다.

종 민감도 분포(species sensitivity distribution; SSD) 분석은 다양한 생물종의 독성학적 종말점(toxicological endpoint)을 이용하여 누적확률분포곡선을 도시함으로써 전체 생물종의 95%가 안전한 수준의 농도(i.e., 5% hazardous concentration; HC5)를 산정한다(Wheeler et al., 2002). 즉, 오염물질이 다양한 생물종에 미치는 영향을 민감도에 따라 배열하여 허용농도(threshold concentration)를 결정함으로써 생물군집의 생태학적 안정성을 확보하고자 하는 방법이다.

본 연구에서는 BLM과 SSD를 결합하여 현장 특이적으로 변화하는 Cu의 독성값(EC50)과 Cu에 대한 토양 생물종별 민감도를 반영한 공극수 허용농도(HC5)를 도출하였다. SSD 도시를 위해서는 다수의 생물종에 대한 독성자료가 필요하기 때문에, 다양한 토양 생물종에 대해 BLM 파라미터가 가장 많이 보고되어 있는 Cu를 대상오염물질로 선정하였다(Steenbergen et al., 2005; Thakali et al., 2006a; Thakali et al., 2006b; Luo et al., 2008; Nakanishi et al., 2010; Le et al., 2012; Ardestani and van Gestel., 2013; Chen et al., 2013). 단일 생물종에 대한 독성값(EC50)만을 제공하는 BLM의 단점을 SSD를 통하여 보완함으로써, 토양 공극수 내 환경인자(i.e., pH, 주요 양이온의 농도, DOC 농도)가 Cu의 생태 독성에 미치는 영향을 확인하였다. 뿐만 아니라, 공극수 환경인자 중 HC5에 유의한 영향을 끼치는 인자를 상관관계 분석을 통해 파악하고, 그 이유에 대해 고찰하였다.

2. 연구방법

2.1. Cu 급성독성 예측을 위한 BLM 수집

BLM은 식 (1)과 같이 전체 BL에서 Cu와 결합한 BL이 차지하는 비율(f)이 생물체에 미치는 독성과 가장 직접적인 상관관계를 갖는 지시인자(indicator)라고 가정한다(Di toro et al., 2001; Santore et al., 2001). BL에는 Cu 뿐만 아니라 H^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 및 Na^+ 와 같은 양이온도 결합할 수 있기 때문에 Cu와 경쟁하여 Cu의 독성을 저감할 수 있다. 또한 Cu와 유기/무기리간드가 형성한 착물(complexes)은 BL과 결합할 수 없으므로, Cu^{2+} (free Cu ions)가 주요한 독성발현형태이다. 한편, Cu^{2+} 의 활성도(activity)로 표현되는 $EC50(EC_{50}\{Cu^{2+}\})$ 은 식 (2)를 통해 예측할 수 있다.

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

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

여기서, $\{X^{n+}\}$ 은 토양 공극수 내 해당 이온의 활성도(mol/L), K_{XBL} 은 생물체의 BL과 해당 이온과의 평형상수(conditional binding constant, unit: L/mol)를 의미한다. f 는 전체 BL의 농도([TBL])와 Cu와 결합한 BL의 농도([CuBL⁺])의 비율, $f_{CuBL}^{50\%}$ 는 해당 생물이 50%의 독성 영향을 받을 때의 f 값을 의미한다.

즉, K_{XBL} 과 $f_{CuBL}^{50\%}$ 을 독성실험을 통해 결정하면, 식 (2)에 현장 독성영향인자들(i.e., 주요 양이온)의 활성도를 대입함으로써 변화하는 $EC50(EC_{50}\{Cu^{2+}\})$ 을 예측할 수 있다(Jho et al., 2011; An et al., 2012). 본 연구에서는 다양한 토양 생물종에 대해 환경인자의 영향이 반영된 Cu의 급성독성 예측을 위해, 문헌조사를 통해 식물 6종(*Vitis vinifera*(포도), *Triticum aestivum*(밀), *Lycopersicon esculentum*(토마토), *Lactuca sativa*(상추), *Hordeum vulgare*(보리), *Funaria hygrometrica*(이끼)), 톡토기 1종(*Folsomia candida*) 및 지렁이 2종(*Eisenia fetida*(줄지렁이), *Aporrectodea caliginosa*(회색지렁이))에 대한 BLM 파라미터(K_{XBL} , $f_{CuBL}^{50\%}$)를 수집하였다(Table 1).

Table 1. Biotic ligand model parameters for the prediction of acute Cu toxicity in several terrestrial organisms

Test species	Log K_{XBL} (L/mol) ^a					$f_{50\%}$	References
	Cu ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	H ⁺		
<i>Vitis vinifera</i>	3.56	- ^b	2.58	-	-	0.0046	Chen et al., 2013
<i>Triticum aestivum</i>	6.28	2.43	3.34	NA ^c	NA	0.436	Luo et al., 2008
<i>Lycopersicon esculentum</i>	5.65	NA	NA	-	4.38	0.05	Thakali et al., 2006b
<i>Lactuca sativa</i>	7.4	NA	NA	NA	6.27	0.36	Le et al., 2012
<i>Hordeum vulgare</i>	7.41	NA	NA	-	6.48	0.05	Thakali et al., 2006a
<i>Folsomia candida</i>	5.19	2.12	-	-	5.04	0.14	Ardestani and van Gestel., 2013
<i>Funaria hygrometrica</i>	2.98	3.38	-	-	4.17	0.01	Nakanishi et al., 2010
<i>Eisenia fetida</i>	6.5	NA	NA	-	5.9	0.05	Thakali et al., 2006b
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	5.9	-	-	2.97	4.61	0.2	Steenbergen et al., 2005

^a Conditional equilibrium constant between copper or major cations and biotic ligand in the cell membrane of organisms

^b The symbol ‘-’ represents that the competition effect of major cations was not investigated.

^c NA = not affected

2.2. 토양 공극수 특성 자료 수집 및 speciation model을 이용한 활성도 계산

토양 공극수 특성 자료를 Kwon et al.(2015)의 연구 결과로부터 차용하였다(Table S1). Kwon et al.(2015)은 구미 불산누출사고 인근 지역의 논과 임야에서 채취한 16 개 토양(지점: A-P)으로부터 원심분리 방법(Edmunds and Bath, 1976)을 이용하여 공극수를 추출하고 Al³⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Cu²⁺, SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻와 F⁻의 농도 및 pH 분석 결과를 제시한 바 있다. 한편, Kwon et al.(2015)의 연구에서는 공극수 내 DOC 농도를 측정하지 않았기 때문에, 본 연구에서는 DOC의 농도가 EC50 예측값 및 SSD로부터 계산되는 HA5 및 HC5에 미치는 영향을 파악하기 위해, 4개 지점(A, C, E 및 L)의 공극수 각각에 대해 DOC 농도가 1.5, 5.4 및 12 mg-C/L로 변화하는 상황을 가정하였다. DOC 농도의 범위는 Sauv  et al.(2000)의 연구를 참고하여 결정하였다.

공극수 특성 자료를 Cu-BLM에 적용하여 해당 토양시료 채취지점 공극수에 대한 Cu의 EC50($EC_{50}\{Cu^{2+}\}$)을 산정하고자, Visual MINTEQ 3.1(Gustafsson, 2014)을 사용하여 공극수 내 주요 양이온(i.e., Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, H⁺)의 활성도를 계산하였다(Table S2). 대기 CO₂ 분압 (P_{CO2})을 0.00038 atm으로 가정하였고, 입력한 이온들의 전하균형(charge balance)이 맞지 않는 경우, Cl⁻와 SO₄²⁻를 3 : 1(mol_c : mol_c)의 비율로 추가하였다(Thakali et al., 2006a). 용존유기물질(dissolved organic matter; DOM)의 농도는 DOC 농도의 2배로 가정하였고, DOM은 휴믹산(humic acid; HA)과 펄빅산(fulvic acid; FA)이 5 : 5의 구성비를 이루고 있다고 가정하였다(Cances et al., 2003).

2.3. SSD 도시를 통한 HA5 및 HC5 산정

SSD는 생물 중 집단이 오염물질에 의해 독성영향을 받는 정도를 각 생물의 독성학적 종말점(i.e., no observed effective concentration(NOEC), x% effective concentration (ECx))의 누적확률분포 함수로 표현한 것이다. 일반적으로 SSD의 왼쪽 꼬리부분을 5%의 기준으로 절단하여 95%의 생물 중 집단이 보호받을 수 있는 농도(HC5)를 결정하기 위해 사용한다(Wheeler et al., 2002). 이렇게 도출된 HC5는 생태위해성평가를 위한 예측무영향농도(predicted no effective concentration; PNEC)로써 활용된다. 국립환경과학원(national institute of environmental research; NIER)은 SSD 또는 결정론적 방법으로 도출된 HC5 자체를 PNEC로 정의한다(NIER, 2014).

본 연구에서는 문헌조사를 통해 수집한 Cu-BLM 파라미터를 이용하여 공극수 특성에 따라 지점별 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 예측하고, 이를 ETX 2.0(Van Vlaardingen et al., 2004)에 대입하여 SSD를 도시하였다. 즉, 현장 공극수 샘플링을 통해 얻은(본 연구에서는 문헌을 통해 얻은) pH, 양/음이온 농도 및 DOC 농도를 Visual MINTEQ 3.1에 적용하여 양이온의 활성도를 도출하고, 이를 식 (2)에 대입하여 생물별 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 얻고, 누적확률분포로 나열한 것이다. 국내 화학물질 위해성평가의 구체적 방법 등에 관한 규정(NIER, 2014)은 4개 이상의 토양생물 분류군(e.g., 미생물, 식물류, 톡토기류, 지렁이류)에서 최소 5종 이상의 독성자료를 확보한 경우에 SSD를 도시할 수 있다고 명시하고 있다. 본 연구에서 조사한 Cu-BLM은 3개 분류군에 속하는 9종에 대한 독성자료만을 제공하므로, 확률론적 생태위해성평가(probabilistic ecological risk assessment)를 위한 국내 SSD 도시 규정을 만족하지 못하지만,

본 연구에서는 환경인자의 영향이 SSD로부터 도출되는 HC5에 미치는 영향을 정량화하고자 SSD를 도시하여 분석하였다.

한편, Cu-BLM을 통해 예측된 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 은 공극수 내 Cu의 활성도로 표현되기 때문에, SSD 도시를 통해 도출한 HC5 또한 농도 단위가 아닌 활성도 단위로 표현된다. 따라서 명확한 구분을 위해 본 연구에서는 Cu-BLM으로부터 예측된 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 통해 도출된 HC5는 5% hazardous activity(HA5)로 정의하였다. 해당 HA5가 도출된 공극수 특성을 speciation model의 입력 값으로 두고, Cu의 입력 농도를 다양하게 변화시키면서 계산한 Cu의 활성도가 HA5와 같아지는 Cu의 농도(i.e., 공극수 내 Cu의 총 농도를 의미함)를 HC5로 정의하였다. 전술한 농도단위로의 환산 과정을 통해 HA5를 HC5로 재계산하였고, 이를 공극수 내 Cu 허용농도로 활용하고자 한다.

공극수 특성에 따른 지점별 HC5를 공극수 내 Cu의 총 농도($[Cu]_{pw}$)와 비교하여 유해지수(hazard quotient, HQ)를 산정함으로써, 토양 공극수 내 Cu의 생태독성학적 영향을 정량화할 수 있다(식 (3)).

$$HQ = \frac{MEC}{PNEC} = \frac{[Cu]_{pw}}{HC5} \quad (3)$$

여기서, MEC는 측정노출농도(measured exposure concentration)이다. HQ가 1을 넘는 것은 공극수 내 Cu가 토양 생물종에 독성영향을 끼쳐, 생물종의 95%가 안전한 수준으로 보호되지 못함을 의미한다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Cu-BLM과 공극수 특성 자료를 이용한 EC50 예측

토양 공극수 특성(Table S1)으로부터 계산된 주요 양이온의 활성도(Table S2)를 Cu-BLM의 입력 값으로 활용하여 각 토양 생물종에 따른 지점별(공극수 특성별) $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 도출하였다(Table 2). $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 은 7개 지점에 대해서는 보리(*H. vulgare*)가, 8개 지점에 대해서는 토마토(*L. esculentum*)가, 1개 지점에 대해서는 포도(*V. vinifera*)가 9개 토양 생물종 중 가장 낮은(가장 민감한) 값을 나타냈다. 이는 공극수 특성의 변화에 따라 생물종의 Cu에 대한 독성 민감도가 달라질 수 있음을 의미한다. 한편, 하나의 생물종에 대해 16개 지점의 공극수 특성을 사용하여 예측한 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 의 최대값과 최소값의 비를 계산한 결과(Table 2), 1.76~2755의 값을 나타냈다. 이는 환경인자(공극수 특성)의 영향이 한 생물종의 독성값($EC_{50}\{Cu^{2+}\}$)을 최대 2755배 변화시킬 수 있음을 의

Table 2. Half maximal effective concentration ($EC_{50}\{Cu^{2+}\}$) values predicted using Cu-BLM

Test species	$EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ (μM) ^a																MDR ^b
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	
<i>Vitis vinifera</i>	1.47	1.56	2.40	1.45	<u>1.91</u> ^c	1.98	1.62	2.25	1.55	1.50	1.53	1.62	2.06	1.36	1.58	2.03	1.76
<i>Triticum aestivum</i>	1.13	1.09	3.03	0.763	2.00	2.09	1.16	2.55	1.04	0.926	1.12	1.13	2.15	0.699	1.19	2.17	4.33
<i>Lycopersicon esculentum</i>	<u>0.407</u>	0.194	0.118	<u>0.370</u>	2.64	<u>0.682</u>	0.146	<u>0.669</u>	<u>0.490</u>	<u>0.230</u>	<u>0.318</u>	<u>0.292</u>	0.120	0.118	0.118	0.145	22.4
<i>Lactuca sativa</i>	4.29	1.14	0.024	3.74	37.2	8.34	0.439	8.15	5.52	1.68	2.97	2.59	0.051	0.023	0.023	0.430	1617
<i>Hordeum vulgare</i>	0.635	<u>0.168</u>	<u>0.002</u>	0.553	5.51	1.24	<u>0.064</u>	1.21	0.817	0.248	0.440	0.383	<u>0.006</u>	<u>0.002</u>	<u>0.002</u>	<u>0.062</u>	2755
<i>Folsomia candida</i>	13.3	4.36	1.75	11.4	104	24.5	2.34	24.0	16.4	5.77	9.50	8.26	1.51	1.21	1.34	2.66	86.0
<i>Funaria hygrometrica</i>	111	51.9	137	31.6	251	130	37.9	122	59.2	41.4	75.1	38.2	80.6	39.5	63.4	101	7.94
<i>Eisenia fetida</i>	1.37	0.372	0.017	1.19	11.8	2.65	0.149	2.59	1.76	0.543	0.953	0.832	0.026	0.017	0.017	0.146	694
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	1.71	0.700	0.567	1.60	12.0	3.50	0.503	3.09	2.07	0.906	1.56	1.19	0.491	0.518	0.457	0.834	26.3

^a Expressed as free Cu ion activity

^b MDR = maximum difference ratio (i.e., the highest EC50 value divided by the lowest EC50 value in a single test species)

^c Underline indicates the most sensitive species with the lowest EC50 value in a single sampling point.

미한다. 종합적으로, 토양 공극수 특성과 같은 환경인자의 영향에 의해 한 생물종의 독성값이 큰 폭으로 변화하게 될 뿐만 아니라 생물종의 민감도 순서가 변화하기 때문에, 생태독성을 활용한 환경허용농도 산정 시 환경인자의 영향을 필수적으로 고려해야 함을 알 수 있다.

3.2. HA5 및 HC5 산정 및 pH의 영향

3.1절의 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 을 바탕으로 각 지점별로 SSD를 도시하여 HA5 및 HC5를 도출하였다(Table 3). HA5 및 HC5 값은 지점에 따라 각각 0.076~39.4 $\mu\text{g/L}$ 및 0.4~83.4 $\mu\text{g/L}$ 의 분포를 보였다. 전반적으로 공극수 내 Cu의 활성도로 표현된 HA5에 비해 총 농도로 표현된 HC5가 1.31~2.26배 더 컸으나, 지점 C, N 및 O에 대해서는 HC5가 HA5에 비해 각각 6.32, 18.0 및 29.8배 더 큰 것으로 나타났다. 지점 C, N 및 O는 pH가 각각 7.57, 7.96 및 8.08로 CuOH^+ , $\text{CuCO}_3(\text{aq})$ 및 $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2^{2-}$ 가 형성되어 Cu^{2+} 의 활성도가 낮아졌기 때문으로 판단된다(Fig. 1).

토양 공극수 특성과 도출된 HA5 및 HC5와의 상관관

계분석(correlation analysis) 결과(Table 4), speciation model의 입력 값으로 사용한 공극수 특성자료(i.e., pH와 Cu , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , Al^{3+} , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- 및 F^- 의 농도) 중 pH가 HA5 및 HC5와 통계적으로 유의한 ($p < 0.01$) 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 상관계수(correlation coefficient)는 HA5와 HC5에 대해 각각 -0.689와 -0.626로 나타났다(Table 4). Cu-BLM은 H^+ 과 Cu^{2+} 이 생물체의 활성결합부위를 두고 경쟁함으로써, Cu의 독성이 저감된다고 가정하고 이를 식 (1)과 (2)를 통해 반영하고 있다(Steenbergen et al., 2005; Thakali et al., 2006a; Thakali et al., 2006b; Nakanishi et al., 2010; Le et al., 2012; Ardestani and van Gestel, 2013). 따라서 pH가 7보다 낮은 영역에서 pH의 증가는(i.e., H^+ 활성도의 감소) 독성저감 현상을 약화시키고 그에 따라 $EC_{50}\{Cu^{2+}\}$ 예측값도 작아지게 된다. 결과적으로 pH 증가는 HA5와 HC5의 감소로 이어지므로(Fig. 2), 강한 음의 상관관계가 나타남은 타당하다. 한편, HA5와 pH의 상관계수가 HC5와 pH의 상관계수보다 절대값이 다소 높은 이유는 pH가 7보다 높은 영역에서 pH의 증가에 따라

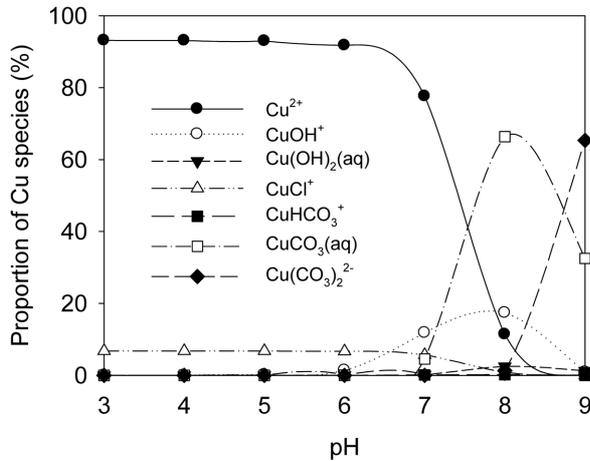


Fig. 1. Proportion of Cu species depending on the different pH levels from 3 to 9, derived by Visual MINTEQ 3.1 ($\Sigma\text{Cu} = 0.01 \text{ mg/L}$, $\Sigma\text{Na}^+ = 0.1 \text{ M}$, $\Sigma\text{Cl}^- = 0.1 \text{ M}$, Temperature = 25°C , $P_{\text{CO}_2} = 0.00038 \text{ atm}$).

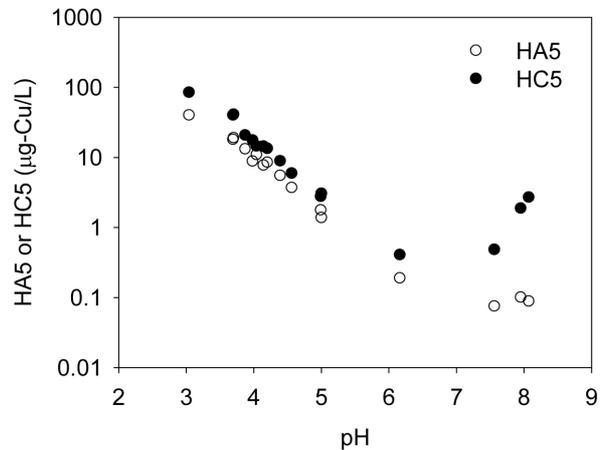


Fig. 2. 5% hazardous activity (HA5) calculated from species sensitivity distribution (SSD) using Half maximal effective concentration ($EC_{50}\{Cu^{2+}\}$) predicted using Cu-BLM and the corresponding 5% hazardous concentration (HC5) as a function of pH.

Table 3. HA5 calculated from SSD and the corresponding HC5, and HQ, for assessing site-specific ecotoxicological risks

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
HA5 ($\mu\text{g/L}$)	8.90	3.62	0.076	10.8	39.4	17.8	1.72	18.4	12.7	5.72	7.63	8.26	0.184	0.102	0.089	1.33
HC5 ($\mu\text{g/L}$)	17.3	5.83	0.480	14.2	83.4	39.5	2.73	40.3	20.4	8.75	14.1	13.2	0.400	1.84	2.65	3.00
HC5/HA5	1.94	1.61	6.32	1.31	2.12	2.22	1.59	2.19	1.61	1.53	1.85	1.60	2.17	18.0	29.8	2.26
HQ ^a	0.973	1.01	37.6	0.242	0.293	0.818	6.42	0.472	0.754	2.14	2.10	1.71	29.5	8.62	10.2	8.36

^a HQ (hazard quotient) = Total dissolved Cu concentration in pore water divided by Cu threshold concentration in pore water (i.e., $\text{PNEC} = \text{HC5}$)

HA5는 변화가 없는 반면, HC5는 증가하기 때문이다(Fig. 2). 이는 pH가 7 이상인 경우, H⁺에 의한 경쟁효과는 무시할 수 있을 만큼 작아진 반면, CuOH⁺, CuCO₃(aq) 및 Cu(CO₃)₂²⁻와 같은 착물의 형성이 증가하여 동일한 Cu 활성도를 나타내기 위한 공극수 내 Cu의 총 농도가 증가하기 때문이다.

도출한 HC5를 공극수 내 Cu의 허용농도로 이용하여 식 (3)의 HQ를 도출한 결과, 총 10개 지점의 HQ가 1을 초과하는 것으로 나타났다(Table 3). 특히 C와 M 지점의 HC5가 다른 지점들에 비해 낮아(C: 0.48 µg/L, M: 0.4 µg/L), HQ가 37.6 및 29.5로 높게 계산되었다. C와 M 지점의 공극수 내 Cu의 총 농도는 각각 17.9 및 11.8 µg/L로 16개 지점 중 최고농도를 나타낸 F(32.3 µg/L)의 55.4% 및 36.5%에 불과하지만(Table S1), F의 HQ(0.818)에 비해 각각 46배 및 36배 큰 HQ를 나타냈다(Table 3). 즉, 토양 생물종에 미치는 Cu의 생태독성학적 영향을 평가함에 있어서, 공극수 내 Cu의 총 농도도 중요하지만, 현장 특이적으로 변화하는 Cu 허용농도(또는 PNEC)를 합리적으로 결정하는 일 또한 매우 중요하다.

3.3. DOC가 HC5 산정 결과에 미치는 영향

토양 공극수 내 DOC의 농도가 HA5 및 HC5에 미치

Table 4. Results of the correlation analysis between HA5 or HC5 and the characteristics of soil pore water (n = 16) (for units, refer to Table S1)

	HA5	HC5
pH	-0.689 ^a	-0.626 ^a
Cu ²⁺	-0.025	0.017
Ca ²⁺	-0.023	0.012
Mg ²⁺	0.439	0.430
K ⁺	0.004	0.049
Na ⁺	0.006	0.052
Al ³⁺	-0.292	0.052
SO ₄ ²⁻	0.155	-0.285
Cl ⁻	-0.070	0.170

^a indicates strong correlations (i.e., $p < 0.01$).

는 영향을 파악하기 위해, 4개 지점(A, C, E 및 L)에 대해 DOC 농도를 1.5, 5.4 및 12 mg-C/L로 변화시키며 HA5 및 HC5를 도출하였다(Table 5). DOC 농도가 0 mg-C/L로 가정된 상황에서 C와 E는 HA5가 각각 최소와 최대로 산정된 지점이며 A와 L은 공극수 특성이 다름에도 불구하고 HA5가 유사하게 산정된 지점이다. DOC의 농도를 증가시킴에 따라 HA5는 모든 지점에서 변화가 없는 반면 HC5는 지점에 따라 3.94~292배 증가하였다(Table 5). EC₅₀{Cu²⁺}을 산정하기 위한 Cu-BLM의 입력 값으로 활용되는 주요 양이온(i.e., Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, H⁺)의 활성도가 DOC의 농도 변화에 유의한 영향을 받지 않기 때문에 HA5의 변화가 없는 것으로 판단된다. 한편, HC5는 해당지점에서 HA5로 계산되는 공극수 내 Cu의 총 농도를 의미하기 때문에 DOC 농도의 증가에 따라 증가하였다. 즉, 동일한 Cu 활성도를 나타내는 공극수 내 Cu의 총 농도가 DOC의 농도에 따라 또 지점에 따라 변화하였음을 의미하고, 이는 공극수 내 Cu가 DOC와 착물을 형성하기 때문이다(Table 6). 특히, 지점 C의 DOC 농도가 1.5, 5.4 및 12 mg-C/L일 때 HC5는 19, 65 및 140 µg/L의 값을 가지며 큰 폭으로 증가하였고(Table 5), 이에 따라 HQ는 0.94, 0.28 및 0.13으로 감소하였다. 반면 A, E 및 L 지점은 DOC 농도 증가에 따라 HC5가 최대 1.33~5.92배 증가하였다. 3.2절에서 DOC의 영향을 고려하지 않은 경우 C 지점의 HQ는 37.6으로 16개 지점 중 가장 높았던 반면, DOC의 영향을 고려할 경우 HQ가 1 보다 낮아짐을 확인하였다. Table 6에 제시된 공극수 내 Cu의 존재형태 분포를 살펴보면, pH가 상대적으로 높은 C 지점(7.57)에서 Cu와 HA 및 FA의 착물 형성이 가장 잘 일어남을 알 수 있다. 공극수에 1.5 mg-C/L의 DOC만이 존재한다고 가정된 경우에도, 97.6%의 Cu가 HA 및 FA와 착물을 형성하고, 단 0.85%의 Cu만이 Cu²⁺ 상태로 존재하게 된다. 반면 pH가 3.05인 E 지점의 경우, 12 mg-C/L의 DOC가 존재한다고 가정할 때, 47.1%의 Cu가 HA 및 FA와 착물을 형성하고, 49.9%의 Cu가 Cu²⁺ 상태로 존재한다. 본 연구에서는 DOC와 중금

Table 5. HA5 and HC5 values with the addition of varying DOC concentrations

DOC addition (mg-C/L)	HA5 (µg/L)				HC5 (µg/L)			
	A	C	E	L	A	C	E	L
0	8.9	0.076	39.4	8.26	17.0	0.480	83.0	13.0
1.5	8.9	0.076	39.4	8.26	24.0	19.0	87.0	21.0
5.4	8.9	0.076	39.4	8.26	40.0	65.0	97.0	42.0
12	8.9	0.076	39.4	8.26	67.0	140	110	77.0

Table 6. Proportion of free Cu ion, Cu complex with inorganic ligands, Cu-HA complex, and Cu-FA complex, calculated using Visual MINTEQ 3.1 in the absence of and in the presence of DOC

DOC (mg-C/L)	Sample ID	Proportion of Cu species (%)			
		Cu ²⁺	Cu-iL ^a	Cu-HA ^b	Cu-FA ^c
0	A	90.1	9.87	0	0
	C	35.2	64.8	0	0
	E	94.5	5.52	0	0
	L	93.9	6.09	0	0
1.5	A	62.9	6.89	20.8	9.44
	C	0.854	1.55	55.8	41.8
	E	87.0	5.08	4.92	2.98
	L	59.6	3.86	24.8	11.7
5.4	A	27.0	2.96	28.1	21.9
	C	0.022	0.035	59.0	40.9
	E	70.4	4.12	15.8	9.61
	L	21.3	1.37	52.5	24.8
12	A	9.36	1.03	61.5	48.1
	C	0	0	60.2	39.8
	E	49.9	2.92	29.3	17.8
	L	6.5	0.4	63.1	29.9

^a Cu-iL indicates the Cu complex with inorganic ligands (e.g., HCO₃⁻, CO₃²⁻, SO₄²⁻, and OH⁻).
^b Cu-HA is the sum of Cu complex with HA and Cu accumulated on HA surface electrostatically.
^c Cu-FA is the sum of Cu complex with FA and Cu accumulated on FA surface electrostatically.

속의 반응을 정량화하기 위해 Visual MINTEQ 3.1에 내장되어 있는 non-ideal competitive adsorption(NICA)-Donnan model을 활용하였다. 이 모형은 HA 및 FA 표면에 존재하는 carboxylic group(pK_a=3.26)과 phenolic group(pK_a=9.64)을 DOC와 양이온 중금속이 결합하는 주요 반응기로 여긴다. 따라서 공극수 내 pH가 증가할수록 순차적으로 carboxylic group과 phenolic group이 H⁺ 이온을 잃으며 음전하를 띄게 되고(i.e., 탈양성자화(deprotonation)) 그에 따라 Cu와의 착물 형성량이 증가하는 것으로 보인다(Ge et al., 2005).

4. 결 론

본 연구에서는 BLM과 SSD 개념을 병용하여 현장 특이적 환경인자의 영향을 반영한 Cu의 토양 공극수 허용농도(HC5)를 도출하였다. 공극수 내 환경인자의 변화에 따라 Cu-BLM으로부터 예측한 EC₅₀{Cu²⁺}이 큰 폭으로 변화하였고, 이에 따라 SSD로부터 도출되는 HA5 및 HC5 또한 변화하였다. 다양한 공극수 환경인자 중 pH가 HA5 및 HC5와 유의한 수준의 음의 상관관계를 나타냈다. pH가 7보다 낮은 영역에서는 pH의 증가에 따라 H⁺

경쟁효과의 감소에 의해 HC5가 감소하였으며, pH가 7보다 높은 영역에서는 pH의 증가에 따라 Cu와 무기리간드 간의 착물형성으로 인해 HC5가 증가하였다. DOC의 존재 하에서, HA 및 FA와 Cu가 착물을 형성함으로써 공극수 내 Cu²⁺의 활성도를 낮추고, 이는 HC5의 증가로 이어졌다. 특히 중성영역의 pH에서 HA 및 FA의 탈양성자화에 의해 Cu와의 착물이 많이 형성되어 HC5를 크게 증가시켰다. 본 연구는 확률론적 생태위해성평가를 위한 국내 SSD 도시 규정을 충족시키지 못한 상태에서 급성독성 예측값을 활용하여 SSD를 도시한 한계를 지닌다. 그러나 생태독성학적 관점에서 토양 생물중에 대한 Cu의 위해성을 평가할 때 공극수 내 Cu의 총 농도 뿐만 아니라, pH 및 DOC와 같이 HC5에 큰 영향을 미치는 인자들에 대한 고려가 중요함을 정량적으로 확인한데에 그 의의가 있다. 향후, SSD 도시 규정을 만족시키기 위해 토양 미생물 또는 조류와 같은 추가적인 토양생물 분류군에 해당하는 생물에 대한 Cu-BLM 파라미터를 결정하고, 본 연구에서 제안한 생태독성학적 토양 공극수 내 허용농도 결정 기술을 적용함으로써, Cu 오염지역에 대한 합리적인 정화기준 설정 및 관리가 가능할 것으로 기대된다.

사 사

This work was financially supported by Mid-career Researcher Program through National Research Foundation (NRF) grant funded by the Ministry of Science, ICT and Future Planning (MSIP) (No. 2016R1A2B2015399) and Geo-Advanced Innovative Action (GAIA) Project of the Korea Environmental Industry & Technology Institute (KEITI). The authors thank the Institute of Engineering Research at Seoul National University for technical assistance.

References

- Alloway, B.J., 1990, Heavy Metals in Soil: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability, 3rd ed, 22, Springer Netherlands, Environmental Pollution, Netherlands, 100-124 p.
- 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.
- Ardestani, M.M. and van Gestel, C.A.M., 2013, Using a toxicokinetics approach to explain the effect of soil pH on cadmium bioavailability to *Folsomia candida*, *Environ. Pollut.*, **180**, 122-130.
- 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.
- 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).
- Jho, E.H., An, J., and Nam, K., 2011, Extended biotic ligand model for predicting of mixture toxicity of Cd and Pb using single metal toxicity data, *Environ. Toxicol. Chem.*, **30**, 1697-1703.
- 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**, 65-73.
- Le, T.T.Y., Peijnenburg, W.J.G.M., Hendriks, A.J., and Vijver, M.G., 2012, Predicting effects of cations on copper toxicity to lettuce (*Lactuca sativa*) by the biotic ligand model, *Environ. Toxicol. Chem.*, **31**, 355-359.
- Lock, K. and Janssen, C.R., 2003, Influence of aging on metal availability in soils, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **178**, 1-21.
- 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.
- Naidu, R., Kookana, R.S., Sumner, M.E., Harter, R.D., and Tiller, K.G., 1997, Cadmium sorption and transport in variable charge soils: a review, *J. Environ. Qual.*, **26**, 602-617.
- Nakanishi, H., Shoji, R., Itouga, M., and Sakakibara, H., 2010, Application and comparison of tow biotic ligand models predicting copper toxicity and accumulation in heavy metal tolerant moss, *J. Water Environ. Technol.*, **8**, 339-345.
- NIER, 2014, Regulation of specific method for risk assessment of chemicals, National Institute of Environmental Research, Seogu, Incheon, Republic of Korea, NIER notification 2014-48.
- Peijnenburg, W.J.G.M. and Jager, T., 2003, Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: matrix issues, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **56**, 63-77.
- Santore, R.C., Di toro, D.M., Paquin, P.R., Allen, H.E., 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.
- Steenbergen, N.T.T.M., Iaccino, F., Winkel, M., Reijnders, L., and Peijnenburg, W.J.G.M., 2005, Development of a biotic ligand model and a regression model predicting acute copper toxicity to the earthworm *Aporrectodea caliginosa*, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 5694-5702.
- 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.

Vig, K., Megharaj, M., Sethunathan, N., and Naidu, R., 2003, Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review, *Adv. Environ. Res.*, **8**, 121-135.

Van Vlaardingen, P.L.A., Traas, T.P., Wintersen, A.M., and Aldenberg, T., 2004, ETX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, The Netherlands.

Wheeler, J.R., Grist, E.P.M., Leung, K.M.Y., Morrill, D., and Crane, M., 2002, Species sensitivity distributions: data and model choice, *Marine Pollution Bulletin*, **45**, 192-202.

Table S1. Cu concentration, composition of major ions, and pH of soil pore water in Gumi, Korea, obtained from Kwon et al. (2015)

Sample ID	pH	Cu ($\mu\text{g/L}$)	Composition of major ions (mg/L)								
			Al^{3+}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	SO_4^{2-}	Cl^-	NO_3^-	F^-
A	3.99	16.8	0.467	266	19.5	26.9	7.83	49.3	51.9	141	3.89
B	4.57	5.87	ND ^a	93.8	22.6	20.6	3.51	25.1	6.85	290	0.815
C	7.57	17.9	ND	543	148	14.7	24.6	515	122	1370	9.79
D	4.05	3.44	ND	14.8	11.8	0.216	12.3	5.19	25.6	14.0	0.728
E	3.05	24.4	1.20	335	65.1	25.9	23.9	62.5	134	1139	5.00
F	3.70	32.3	0.943	312	79.1	59.1	59.1	120	402	272	8.69
G	5.00	17.5	0.213	63.5	27.0	19.0	5.18	49.4	23.8	264	1.34
H	3.71	19.0	0.975	275	104	10.3	25.4	128	219	797	5.93
I	3.88	15.4	0.295	69.6	22.0	19.9	5.88	54.4	68.5	146	1.98
J	4.4	18.7	0.173	62.7	18.0	5.38	6.93	116	23.8	109	3.09
K	4.15	29.7	0.671	157	24.1	17.7	30.6	159	201	142	2.84
L	4.21	22.5	0.775	44.9	27.7	61.5	7.32	26.0	86.2	13.7	ND
M	6.17	11.8	ND	230	80.3	33.2	15.5	142	96.0	647	2.72
N	7.96	15.9	ND	71.6	7.18	5.23	5.28	74.1	118	7.31	1.43
O	8.08	27.1	ND	158	28.6	63.3	12.8	74.1	59.3	157	3.07
P	5.01	25.1	ND	310	81.1	43.1	36.9	177	105	1034	5.45

^a ND = not detected**Table S2.** Activity of major cations as BLM input data calculated using Visual MINTEQ 3.1, with soil pore water characteristics

Sample ID	Activity of major cation (M)				
	$\{\text{Ca}^{2+}\}$	$\{\text{Mg}^{2+}\}$	$\{\text{K}^+\}$	$\{\text{Na}^+\}$	$\{\text{H}^+\}$
A	3.34E-03	4.07E-04	5.89E-04	2.92E-04	1.02E-04
B	1.46E-03	5.89E-04	4.72E-04	1.37E-04	2.69E-05
C	5.00E-03	2.34E-03	3.00E-04	8.59E-04	2.69E-08
D	0.28E-03	3.68E-04	5.18E-06	5.02E-04	8.91E-05
E	3.97E-03	1.31E-03	5.52E-04	8.70E-04	8.91E-04
F	3.49E-03	1.46E-03	1.25E-03	2.14E-03	2.00E-04
G	1.01E-03	7.21E-04	4.38E-04	2.04E-04	1.00E-05
H	3.19E-03	2.03E-03	2.19E-04	9.24E-04	1.95E-04
I	1.10E-03	5.81E-04	4.59E-04	2.31E-04	1.32E-04
J	0.97E-03	4.67E-04	1.25E-04	2.74E-04	3.98E-05
K	2.11E-03	5.41E-04	3.95E-04	1.16E-03	7.08E-05
L	0.71E-03	7.25E-04	1.42E-03	2.87E-04	6.17E-05
M	2.75E-03	1.62E-03	7.17E-04	5.71E-04	6.76E-07
N	1.14E-03	1.90E-04	1.21E-04	6.90E-04	1.10E-08
O	2.08E-03	6.30E-04	1.41E-03	4.85E-04	8.32E-09
P	3.51E-03	1.56E-03	9.16E-04	1.34E-03	9.77E-06