

## Humic acid의 毒性學的 研究

羅 圭 煥

延世大學校 環境科學科

### Toxicological Studies on the Humic acid

Kyu Hwan Ra

Dept. of Environmental Science, Yonsei University

#### ABSTRACT

The author obtained three kinds of humic acid from the soil of suburbs in the Wonju city, sediments of Wonju stream and Maeji reservoir in 29 April 1986. The yield of each humic acid was 7.23 g, 3.35 g and 4.61 g per sample 200 g. In the physicochemical characters, the COD varied from 65.9 ppm to 54.9 ppm and BOD showed 6.7~15.9 ppm, but the standard humic acid was COD 58.9 ppm and BOD 6.5 ppm in 0.01% solution.

Doses of the humic acids for 20% methemoglobin formation are as follows; 0.303 mg/ml in St. A humic acid, 0.602 mg/ml in St. B humic acid, 0.84 mg/ml in St. C humic acid and 0.105 mg/ml in standard humic acid.

#### 序 論

Humine質은 음료수의 염소소독등의 처리과정에서 생성되는 低沸點鹽素化合物의 일종인 trihalomethane의 중요한 前驅物質이다. 이 有機物은 河川등의 着色成分의 일종으로서 일반적으로 河川水의 總有機物중의 약 40~50%를 차지하고 있다. 이 물질은 植物의 死體 또는 動物의 배설물 등이 미생물의 분해작용에 의하여 형성<sup>1),2),3)</sup>되기도 하며 有機土壤, 河川水 및 海洋 이외에 분뇨 및 하수처리수에도 존

재한다<sup>4),5)</sup>.

한편 이 humine質을 구성하고 있는 humic acid는 일종의 유기산으로서 酸에는 녹지 않으나 알칼리에 녹으며 분자량이 큰 無定形의 분자구조를 가지고 있다. 근래에 humic acid를 비롯한 水中 유기물질이 염소처리과정에서 생성되는 trihalomethane이 건강상에 문제시 되고 있어 이에 대한 연구가 진행되고 있다. 이에 著者는 우리나라 수질환경중의 trihalomethane 生成能의 기초적인 자료를 구하고자 자연환경중에서의 humic acid 함유농도와 성질을 밝히고 humic acid 자체의 methemoglobin 형성능에 의한 독성을 조사하였기에 報告하는 바이다.

\*本 研究는 1986년도 원주의과대학 학술연구비의 일부지원에 의하여 이루어진 것임.

## 實驗方法

### 1. Humic acid의 抽出

1986년 4월 29일에 原州市 一山洞의 野山土壤(St. A)과 원주천 상류 금대리지역 底質(St. B) 및 원성군 흥업면 소재 매지저수지의 底質(St. C)을 채취하고 이중 200g씩을 정확히 취하여 風乾하였다. 풍건한 토양 및 底質에 각각 1N NaOH 1ℓ씩 가하고 가끔 교반하면서 3일간 방치하였다. 上澄液을 여과하여 취한 후 다시 HCl을 가하여 pH를 약 1로 조정 한 후 하룻밤 방치하여 생성된 침전물을 여과하였다. 이 침전물에 대하여 다시 alkali 및 酸처리를 반복하여 생성된 침전물을 증류수로 3~4회 세척한 다음 데시케타에서 건조하였다<sup>6)</sup>. 비교 표준품으로는 Fluka AG. CH-9470 Buchs의 humic acid를 사용하여 실험하였다.

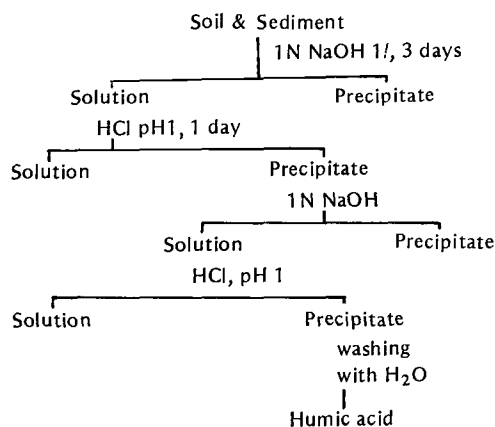


Fig. 1. Flow diagram of obtaining method for humic acid.

### 2. Methemoglobin 生成能 측정

비교표준품 humic acid 및 3種의 제조한 humic acid를 최소량의 약 alkali 용액에 용해하여 각각 일정농도 계열로 만들어 시료용액으로 사용하였다.

한편 Sprague-Dawley系 흰쥐 동맥혈을 채취하여 hemoglobin을 용출하여 정제한 다음 증류수를 가하여 다음의 조건에 맞도록 일정농도로 희석하였다. 즉 희석 hemoglobin 용액 5mℓ에 10%  $K_3Fe(CN)_6$  용

액 0.1mℓ를 넣어 methemoglobin이 될 때 630nm에서의 흡광도치와 hemoglobin용액 자체의 같은 파장에서의 흡광도치와의 차이가 0.20이 되도록 희석 조정하였다. methemoglobin 생성시험은 일정농도로 만든 hemoglobin 용액 5mℓ에 시료용액 0.5mℓ씩을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 0.2μ membrane filter로 여과한 다음 630nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조용액으로는 약 alkali용액에 대하여 동일하게 시험하여 계산하고 methemoglobin 생성율을 구하였다<sup>7,8)</sup>.

### 結果 및 考察

토양 및 저질중의 수분함량은 St. A가 10.5%이었고 St. B는 21.3%이었으며 St. C는 22.2%로서 역시 河川 및 저수지 底質중의 수분함량이 높았다. 각 지역에서 채취한 시료 200g으로 부터 유래된 humic acid양은 St. A가 7.23g, St. B가 3.35g 및 St. C가 4.61g으로서 St. A가 St. B보다 약 2배 이상 높았음은 St. A는 식물의 부엽토인데 원인이 있다고 생각된다. St. C에서도 St. B보다 높았음은 St. B가 비교적 하천의 상류로서 저질이 모래로 구성된 반면 St. C는 호소로서 정체수역인 관계로 퇴적층에서 유래된 것으로 사료된다. 또한 佐谷戶 등<sup>6)</sup>이 日本 北海道の 풍건한 토양 1kg으로 부터 28.29g을 정제한 것과 비교할 때 St. A는 약 1.4배 정도 높았으나 St. B는 다소 낮았으며 St. C는 거의 유사한 양이 유래되었다.

각 humic acid의 理化學的 성상은 0.1N NaOH를 사용하여 0.01% humic acid용액으로 하여 시료

Table 1. Physicochemical properties of humic acids

Humic acid	St. A	St. B.	St. C	Fluka standard
Yield (g/200g)	7.23	3.35	4.61	—
COD (ppm) (0.01% sol.)	65.9	56.9	54.9	58.9
BOD (ppm) (0.01% sol.)	8.9	15.9	6.7	6.5

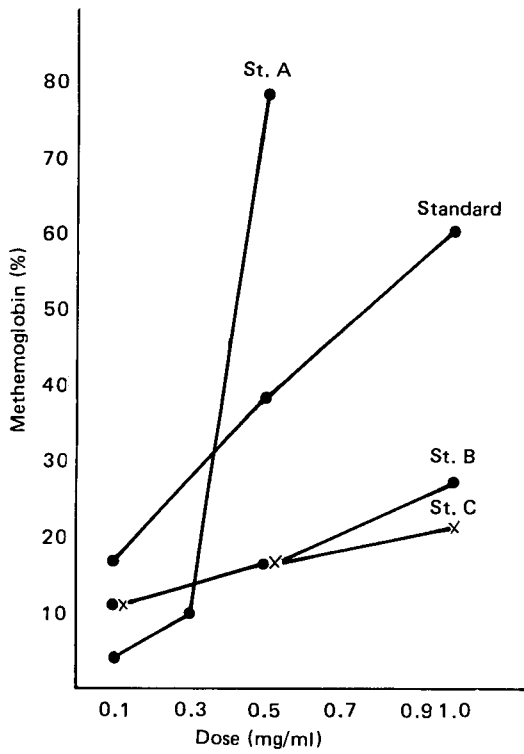


Fig. 2. Dose response curve in formation of methemoglobin by humic acids.

용액으로 사용하였다. COD値는 다소 차이가 있어 Sluka 표준 humic acid의 58.9 ppm에 비하여 St. A의 humic acid는 65.9 ppm 이었으며 St. B는 56.9 ppm으로 비슷하였으나 St. C는 54.9 ppm으로 약간 낮았다. 한편 BOD値는 표준품의 경우 6.5 ppm에 비하여 St. B가 높아 15.9 ppm이었으며 다음이 St. A의 8.9 ppm이었으나 St. C는 6.7 ppm으로서 대조표준품 humic acid와 비슷하였다. 이는 佐谷戸<sup>6)</sup> 등이 보고한 몇몇 humic acid를 비교실험한 결과 TOC, KMnO<sub>4</sub> 소비량과 250 nm OD 및 410 nm

Table 2. Dose of methemoglobin formation by humic acids

Humic acid	St. A	St. B	St. C	Fluka standard
Dose				
CD <sub>20</sub> (mg/ml)	0.34	0.65	0.88	0.16

OD가 다소 차이가 있다는 것과 비교할 때 分子構造 중의 관능기의 차이에 의해서 기인되는 것으로 해석된다.

대조표준품과 3종의 humic acid에 의한 methemoglobin 생성율의 用量作用曲線은 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 즉 humic acid의 투여량과 methemoglobin 생성율과의 사이에는 어느정도 비례하는 경향을 나타내고 있으며 이는 日本의 각 河川<sup>7)</sup> 및 원주천 저질 유기물질의 것<sup>8)</sup>과 비교할 때 유사한 경향성을 나타내었다. Fig. 2로부터 각 humic acid의 20% methemoglobin을 생성시키는데 필요로 하는 humic acid의 농도(CD<sub>20</sub>)를 구한 결과는 Table 2와 같다. 비교표준 humic acid는 0.16 mg/ml로서 가장 methemoglobin 생성율이 높았으며 그 다음이 St. A의 0.34 mg/ml 이었는데 St. B 및 St. C는 더욱 낮아 각각 0.65 mg/ml 및 0.88 mg/ml이었다. 대조표준 humic acid가 CD<sub>20</sub>의 생성율이 높았음은 humic acid의 추출토양 및 추출방법의 차이에 의한 것으로 생각된다. 한편 동일방법으로 추출한 3종류의 humic acid의 CD<sub>20</sub>을 비교할 때 0.34~0.88 mg/ml 범위 이었다. 이는 원주천 저질의 n-Hexane 추출유기물질의 CD<sub>20</sub> 0.095~0.28 mg/ml 보다는 독성이 작은 편이었으나 ethylacetate 및 methanol 추출유기물질의 CD<sub>20</sub> 1.95~2.80 및 0.85~1.3 mg/ml에 비하여는 methemoglobin 생성에 의한 독성이 강하였다. 그러나 대체적으로 日本河川저질의 ethylacetate 추출유기물 CD<sub>20</sub>과 비교할 때 비슷한 경향성을 나타내었다<sup>7)</sup>. 한편 St. A의 CD<sub>20</sub>이 높았음은 토양의 인위적 오염에 의한 humic acid의 구조상의 차이와 이화적성상의 차이에 의한 현상이라고 생각된다. St. C는 저수지의 폐쇄성수역의 저질로부터 추출한 humic acid이므로 구성환경인자가 단순한 관계로 CD<sub>20</sub>도 다른 humic acid보다 낮다고 사료된다.

摘 要

1986년 4월 29일 원주시 野山の 토양과 原州川상류저질 및 매지저수지저질 200 g로부터 humic acid

를 각각 7.23 g, 3.35 g 및 4.61 g씩을 얻었다.

대조표준 humic acid와 St. A, St. B 및 St. C의 humic acid의 이화학적성상은 0.01% alkali 용액에서 COD가 각각 58.9 ppm, 65.9 ppm, 56.9 ppm 및 54.9 ppm 이었으며 BOD는 각각 6.5 ppm, 8.9 ppm, 15.9 ppm 및 6.7 ppm이었다.

Humic의 methemoglobin 20% 생성(CD<sub>20</sub>)하는 농도는 대조표준품은 0.16 mg/ml, St. A는 0.34 mg/ml, St. B는 0.65 mg/ml 및 St. C는 0.88 mg/ml이었다.

#### 參 考 文 獻

- 1) 浦野紘平, 和田洋, 水中의 트리ハロソタン(II) 生成反應, 水處理技術, 22(9), 757(1981)
- 2) Trussell R.R., & Umphres M.D., An Overview of the analysis of trace organics in water, *Journal AWWA*, 7 : 595 (1978)
- 3) Josephson J., Humic substances, *Envir. Sci. Technol.*, 16(1), 20A (1982)
- 4) Rebhum M., & Manka J., Classification of organics in secondary effluents, *Environ. Sci. Technol.*, 5, 605 (1971)
- 5) 石川哲也, 小瀬洋喜 外, し尿 處理放流水의 鹽素 處理による有機鹽素化合物의 生成, 衛生化學 24, 235 (1978)
- 6) 佐谷戸 安好 外, 低沸點 有機鹽素化合物의 生成 機構に 關する 研究 (I), 水質汚染研究 Vol. 5, No. 1, 27~34 (1982)
- 7) Suzuki, S., Kirikosh, T., Evaluation of the toxicity of organic matters in river sediments on the basis of their methemoglobin formation ability, *Japan Jour. of Water Pollution Research.*, Vol. 6, No. 2, 87~91 (1983)
- 8) 羅圭煥, 河川底質중의 有機物質에 關한 研究, 韓國環境毒性學會誌, Vol. 1, No. 1, 55~60 (1986)