



증적외선분광분석법을 이용한 토양 유기 탄소 분획 분석

홍승길[†], 신중두, 박광래, 이상범, 김진호, 김석철, 헤닝 쉬둥*, 볼프 아멜룽*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업환경부, 독일 본대학교*

(2015년 9월 7일 접수, 2015년 9월 14일 수정, 2015년 9월 17일 채택)

Feasibility of Analyzing Soil Organic Carbon Fractions using Mid-Infrared Spectroscopy

Seung-Gil Hong[†], JungDu Shin, Kwang-Lai Park, Sang-Beom Lee, Jinho Kim, Seok-Cheol Kim, Henning Shiedung*, Wulf Amelung*

Department of Agricultural Environment, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Republic of Korea, Soil Science Division, INRES, University of Bonn, 53115 Bonn, Germany*

ABSTRACT

For concerning the climate change issues, the carbon sequestration and importance of soil organic matter are receiving high attention. To evaluate carbon sequestration in soil is important to determine the soil organic carbon (SOC) fractions such as WESOC (Water extractable soil organic carbon), and CO₂ emission by soil microbial respiration. However, the analyses for those contents are time-consuming procedure. There were studied the feasibility of MIRS (Mid-Infrared Spectroscopy), which has short analysis time for determining the WESOC and an incubated carbon in this study. Oven-dried soils at 100 °C and 350 °C were scanned with MIRS and compared with the chemically analyzed WESOC and cumulative carbon dioxide generated during 30, 60, 90, and 120 days of incubation periods, respectively. It was observed that an optimized determination coefficient was 0.6937 between WESOC and untreated soil processed by spectrum vector normalization (SNV) and 0.8933 between cumulative CO₂ from 30 days incubation and soil dried at 350 °C after subtracting air-dried soil processed by 1st derivatives. Therefore, it was shown that Quantification of soil organic carbon fractions was possibility to be analyzed by using MIRS.

Keywords : soil, soil organic carbon, water extractable soil organic carbon, soil respiration, mid-infrared spectroscopy

[†]Corresponding author(dewyhong@korea.kr)

초 록

기후변화 문제와 관련하여 탄소 격리와 토양 유기물의 중요성에 대한 관심이 증가하고 있다. 토양 탄소 격리를 산정하기 위해서는 물 추출 토양 유기탄소(WESOC)와 토양 호흡에 의해 이산화탄소로 배출되는 탄소량과 같은 토양 유기탄소를 분석하는 것이 중요하다. 이러한 성분의 분석에는 시간이 많이 소요된다. 따라서 본 연구에서는 분석시간이 짧게 소요되는 중적외선분광분석법으로 물 추출 유기탄소와 토양 호흡에 의한 이산화탄소량을 분석할 수 있는 가능성을 알아보았다. 토양을 100 °C와 350 °C 건조오븐에서 처리하고 중적외선분광계로 분석하여 WESOC와 30일, 60일, 90일, 120일 간 토양호흡에 의해 발생하는 이산화탄소량과의 상관을 분석하였다. 물 추출 토양 유기탄소에 대한 예측 모델에서는 표준 일반 변수화(SNV) 전처리를 통해 0.6937의 결정 계수를 보였고 30일간의 토양 호흡 발생 이산화탄소 예측 모델에서는 350 °C 건조 토양에 대해 1차 도함수 전처리를 통해 0.8933의 결정 계수를 보여 중적외선분광분석법을 사용하여 토양 중 유기탄소의 분획별 정량에 사용할 수 있는 가능성을 보였다.

주제어 : 토양, 토양 유기 탄소, 물 추출 유기탄소, 토양 호흡, 중적외선분광분석법

1. 서론

토양 유기 탄소 (soil organic carbon; SOC)는 기후변화 상황에서 전지구적 탄소 순환과 토지 이용 개발에 있어 중요한 요소이다. 하지만 생물학적 전환 과정의 복잡함은 아직 완전히 밝혀지지 않았다. 적절한 데이터의 유효도는 토양 생성 인자(모양, 기후, 식생, 생물상 등)와 토양 생물학간 상호작용의 복잡한 네트워크로 인해 방해받고 있다. 하지만 이러한 기본 데이터는 토양 순환을 모델링하고 생물권에서의 장기적 변화를 이해하는데 있어 필요하다¹⁻²⁾.

열분석 기법은 토양의 물리 화학적 특성을 조사하는 간단한 방법으로 토양학과 환경분야에 많이 적용되어 왔다³⁻⁸⁾. 최근에는 열 질량측정법 (thermo gravimetry; TG) 분석을 사용하여 기본적인 토양 특성을 빠르게 분석할 수 있는 가능성을 보여주었는데, Siewert⁷⁾는 토양을 950 °C 까지 5 °C min⁻¹로 가열하여 질량 손실을 측정하는 연구에서 100 °C에서 수분 손실이, 340-350 °C에서 유기탄소의 손실이 일어났다고 보고하였다.

토양 배양 실험은 생물학적 과정을 평가하는

일반적인 기법으로, 생물학적 활성도는 보통 CO₂ 생성, O₂ 소모, 효소활성도, 기타 다른 인자 등을 측정하여 평가된다. 토양 특성의 물리적/화학적 성질과 관련하여 이러한 실험은 토양 제어 과정과 메커니즘을 연구하는데 매우 유용하다^{1, 9-10)}. 반면, 배양 실험은 대개 시간이 많이 소모되고, 때로는 실험조건과 시료 종류에 따라 민감하며, 전환 과정에 포함된 물질의 quality에 대한 정보는 제공하지 않는다. Siewert⁶⁾는 여러 온도 범위에서 SOM(soil organic matter) pool의 열 안정도와 기존의 토양 배양법에 의한 CO₂ 발생에 대한 상관관계를 구명하였는데, 낮은 온도에서 분해가능한 SOM pool은 높은 온도에서 분해되는 유기물에 비해 접근성과 이용성이 용이하다.

공유결합을 가지는 화합물이 중적외선 영역에서 전자파를 흡수하게 되면 분자의 종류와 결합 상태에 따라 배음(overtone) 패턴이 달라지고 배음의 진동수에 따라 특정 적외선 파장만을 흡수하여 다양한 흡수스펙트럼을 생성한다. 중적외선 분광분석법(mid-infrared spectroscopy; MIRS)은 이러한 스펙트럼을 이용하여 정량분석하는 방법으로 토양에 적용하여 여러 특성을 동시에 분석하게 되면 분석의 재현성은 높이면서 시간 단

축, 비용 저감, 전처리 폐용액 미발생 등 긍정적 효과를 기대할 수 있다.

본 실험에서는 온도에 따른 토양 탄소 함량 변화를 MIRS 결과와 비교하여 토양 탄소 분획을 증적외선 분광분석법으로 분석할 수 있는지의 가능성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 토양

토양 시료는 독일 노르트라인베스트팔렌주에 있는 롤레스브로이히에서 2012년에 표토를 각각 채취하였다. 토양은 Stagnosol(32%)과 Cambisol(68%)이 분포되어 있는데, FAO 토양 분류에 따르면 Stagnosol은 표면수의 정체로 유발되는 산화환원 과정에 의해 토양 단면에 강한 반점을 가진 토양이며, Cambisol은 토양 형성의 초기 단계의 토양이다. 채취한 토양은 풍건한 후 2 mm 체를 통과한 후 일반 화학성분을 분석하였고, 이후 분석 특성에 맞게 처리를 수행하였다.

2.2 화학적 분석

SOC는 토양 시료를 도가니에 넣고 질량을 재고 과량의 4M-HCl을 가하여 혼합하고, 4시간 정치한 후 60-70 °C에서 16시간 건조한 후에 원소분석기(Forno EA, Fisons Instruments, Italy)로 분석을 하였다. 물추출 토양 유기탄소(water extractable soil organic carbon; WESOC)는 Haynes and Francis의 방법을 미세

토양 10 g을 Millipore water 50 mL와 혼합한 후 2시간 동안 진탕하였고, 3000 × g에서 20분간 원심분리하였다¹¹⁾. 0.45 μm Nylon membrane filter를 사용하여 여과한 후 500 mbar에서 aspiration하고 NPOC-TN(non-purgeable organic carbon and total nitrogen) 분석법¹²⁾에 따라 TOC-VCPH-Analyser(Shimadzu, Japan)를 사용하여 분석하였다.

토양 호흡량을 측정하기 위해 RESPICOND(Nordgren Innovations AB, Sweden) 시스템의 용기에 토양 시료 25 g을 넣고 수분 함량을 최대 수분 용량의 60%로 조정한 후 용기 상단에 전극이 들어있는 작은 용기에 0.6 M Potassium hydroxide 10 mL을 채운 후 시간에 따른 전기 전도도를 측정하여 토양에서 발생하는 CO₂의 양을 일정 시간 간격으로 컴퓨터에 저장하였다. [Table 1]은 시험에 사용한 토양의 이화학적성을 나타낸 것으로서, 토양의 유기물 함량이 높을수록 토양미생물에 의한 CO₂ 발생량이 증가하는 것으로 나타났다.

2.3 증적외선분광 분석

막자사발에서 마쇄한 토양 시료를 튜브형 furnace oven(HZS 900, CARBOLITE, UK)에 넣고 EUROTHERM 3508(CARBOLITE, UK)로 온도를 질량 손실이 일어났던 100 °C와 350 °C로 설정하여⁶⁾, 가열하고 방랭한 후에 마이크로플레이트에 가열된 토양시료를 5반복씩 일정량 넣고 HTS-XT가 장착된 증적외선분광분석기

[Table 1] Characteristics of Soil Used in This Study (n=435)

| | SOC | WESOC | Soil respiration | Clay | Sand | Silt |
|---------|-----------------------------------|-------|------------------|-----------------|-------|-------|
| | ----- (g kg ⁻¹) ----- | | ----- | ----- (%) ----- | | |
| MIN | 1.69 | 0.17 | 0.45 | 9.85 | 10.98 | 44.81 |
| MAX | 149.50 | 1.36 | 13.98 | 26.82 | 43.84 | 72.49 |
| MEAN | 31.04 | 0.35 | 2.80 | 17.87 | 20.32 | 61.38 |
| AVERAGE | 33.49 | 0.38 | 3.96 | 17.82 | 21.00 | 61.17 |

SOC : Soil organic carbon, WESOC: water extractable soil organic carbon

(TENSOR 27, BRUKER, Germany)로 8000~600 cm^{-1} 범위에서 4cm^{-1} 간격으로 분당 120회 스캔하여 스펙트럼을 측정하였다. 이 장치에 있는 MCT(mercury cadmium telluride; HgCdTe)¹³⁾ detector는 열로 인하여 노이즈가 증가하기 때문에 사용잔 액체 질소로 냉각시킨 후 보정을 하였고, 분석 중에도 detector 온도가 올라가지 않도록 자주 액체질소로 냉각시켜주었다.

2.4 통계 분석

스펙트럼은 OPUS QUANT 소프트웨어(BRUKER, Germany)를 통해 원 스펙트럼, 1차 및 2차 도함수 등의 최적화 모드를 선택하고 부분최소제곱회귀분석법(PLSR; partial least square regression)을 통해 정량하였다. 모델에 대한 평가는 RMSECV(root mean square error of cross validation)와 RMSEP(root mean square error of prediction)으로 추정하였다¹⁴⁾.

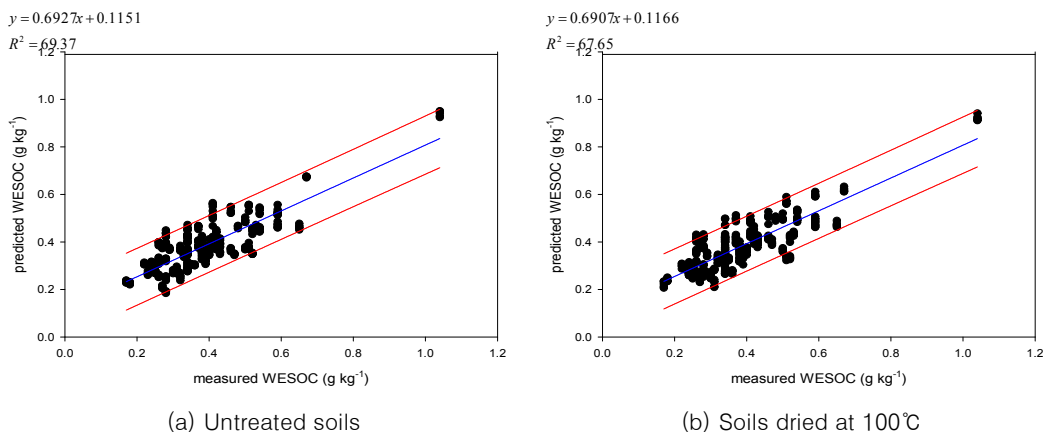
3. 결과 및 고찰

3.1 물 추출 토양 유기탄소 예측

물 추출 토양 유기탄소를 예측하기 위해 원 토양 시료와 100 °C에서 건조한 토양을 각각 중적

외선분광분석기를 사용하여 스캔하고, 생성된 스펙트럼을 PLSR 방법으로 분석하였다. [Fig. 1]에는 원 토양과 100 °C에서 건조한 토양에 대해 물 추출 토양 유기탄소와의 상관관계를 보여주고 있다. 그림에서 보면 중적외선 분광 분석으로 예측된 물 추출 토양 유기탄소는 전처리를 하지 않은 원 토양 시료와 100 °C에서 건조한 토양 시료에서 큰 차이를 보이지 않았다. 온도 증가에 따른 토양의 질량 손실에서 100 °C에서는 주로 토양 유기물에 결합된 수분의 증발에 의한 질량 손실이 일어나는 온도이며 유기물 분해가 시작되기 때문에⁶⁻⁷⁾ 유기탄소의 손실이 거의 일어나지 않은 것으로 판단되었다.

두 상관관계에 대해 OPUS 소프트웨어로 표준 일반 변수화(SNV; Standard normal variate)와 1차 및 2차 도함수 등의 스펙트럼 전처리 방법을 사용하여 최적 모델을 선정하였다. [Table 2]에서 보듯이 원 토양에 대해 표준 일반 변수화로 스펙트럼을 전 처리하였을 때 2,989-2,842 cm^{-1} 의 영역에서 보정에서는 RPD(ratio of performance deviation)가 1.81을, 100 °C에서 건조한 토양에 대해 2차 도함수로 스펙트럼을 전처리 하였을 때 3,014-2,842 cm^{-1} 의 영역에서 1.76을 나타내었지만 검증에서는 2.05와



[Fig. 1] Prediction of WESOC (measured) from mid-infrared spectroscopy and partial least square regression for untreated soils (a) and soils dried at 100 °C (b) compared with the WESOC determined from chemical analysis. Regressions are significant at $p < 0.005$.

[Table 2] Model Parameters and Statistical Indices for Prediction of WESOC Using MIR Spectroscopy

| | | N | R ² | RMSEE/ RMSECV | RPD | Regions (cm ⁻¹) | Preprocessing |
|-------------|----------------------|-----|----------------|------------------|------|--------------------------------|---------------|
| Calibration | Untreated soil | 315 | 0.6937 | 0.0727 | 1.81 | 2,989–2,842 | SNV |
| | Soils dried at 100°C | 315 | 0.6765 | 0.0747 | 1.76 | 3,014–2,842 | 2nd Deriv. |
| Validation | Untreated soil | 90 | 0.7623 | 0.0647 | 2.05 | – | – |
| | Soils dried at 100°C | 90 | 0.7527 | 0.0659 | 2.01 | – | – |

N : Number of samples; R²: Coefficient of determination; RMSEE: Root mean square error of estimation; RMSECV: Root mean square error of cross validation; RPD: Ratio of performance to deviation; SNV: Standard normal variate; 2nd Deriv.: 2nd Derivatives

2.01을 나타냈다. 모델의 적합성을 나타내는 RPD 값은 클수록 적합성이 더 높지만, 토양과 같이 여러 인자를 설명할 때는 2보다 큰 값이면 충분하다는 연구 결과¹⁵⁾에 따르면 모두 모델에 적합할 수 있다. 하지만 결정계수와 RPD가 모두 약간 높게 나타난 원 토양에서 2,989–2,842 cm⁻¹의 영역이 모델에 더 적합한 것으로 판단되었다.

3.2 토양 호흡에 의한 CO₂ 발생량 예측

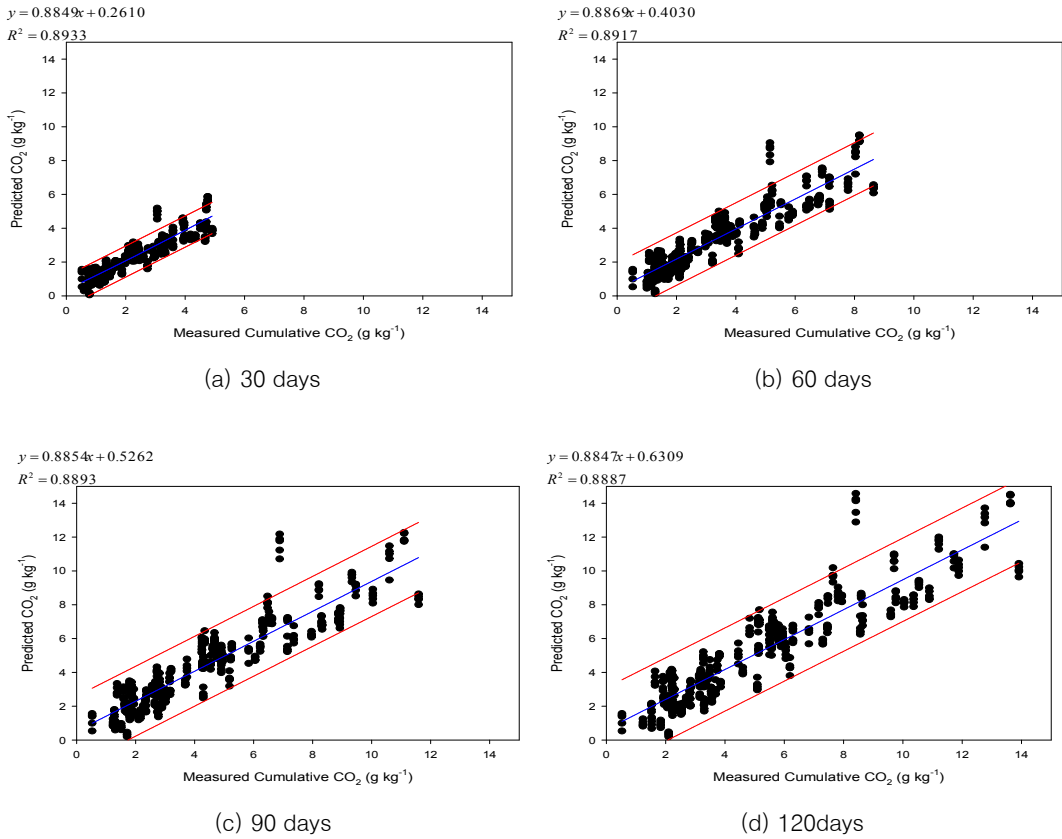
토양 호흡에서 발생하는 CO₂ 발생량을 예측하기 위해 350 °C에서 건조한 토양을 증적외선분광분석기로 스캔하고, OPUS 소프트웨어에서 원 토양 시료 스펙트럼에서 생성된 스펙트럼을 빼는 기법으로 처리하고 PLSR 방법으로 분석하였다. [Fig. 2]에는 배양 기간에 따른 토양 호흡을 통한 CO₂ 누적 발생량과 스펙트럼 처리를 통해 예측된 CO₂ 발생량과의 상관관계를 보여주고 있다. 토양 호흡을 통해 토양 유기 탄소가 미생물에 분해되면서 발생하는 CO₂의 양은 점점 감소하는 지수형 붕괴 곡선의 형태를 나타내며, 따라서 누적 CO₂ 발생량은 초기 상승 후 평형에 도달하는 형태를 보인다¹⁶⁾. 본 연구에서는 30일, 60일, 90일, 120일 간 배양하여 발생한 누적 CO₂ 발생량 자료를 사용하였다. 또한 유기물 분해에 따른 토양의 질량 손실이 일어나는 340~350 °C에서 측정된 이분해성 유기물⁶⁻⁷⁾ 감소분을 구하기 위해 원 토양의 스펙트럼과 350 °C 건조 토양의

스펙트럼의 차이를 빼 부분에 대해 통계 분석을 하였다. 통계 분석에서 30일, 60일, 90일, 120일 간의 누적 CO₂ 발생량과 모두 높은 상관관계를 보였다[Fig. 2]. 여기에는 특히 이분해성 구조인 지방족 탄화수소인 CH₂ (~2850 cm⁻¹)와 CH₃ (~2925 cm⁻¹)의 기여도가 높게 나타났음을 알 수 있었다¹⁷⁻¹⁹⁾.

OPUS 소프트웨어로 표준 일반 변수화(SNV; Standard normal variate)와 1차 및 2차 도함수 등의 스펙트럼 전처리 방법을 사용하여 최적 모델을 선정하였다. [Table 3]에서 보듯이 350 °C에서 건조한 토양에 대해 1차 도함수로 스펙트럼을 전 처리하였을 때 3,000–2,750 cm⁻¹의 영역에서 보정에서는 RPD가 모두 3.00~3.06을 나타내었고 검증에서는 2.39~2.50을 나타내 모두 모델에 적합할 수 있다. 하지만 3,000–2,750 cm⁻¹의 영역에서 결정계수와 RPD가 모두 약간 높게 나타난 30일 간의 누적 CO₂ 발생량에 대한 모델로 적합한 것으로 판단되었다¹⁵⁾.

4. 결론

기후변화 시대에 토양 유기물의 중요성은 매우 크다. 분석 시간이 짧은 증적외선분광분석법을 사용하여 토양 중 물 추출 토양 유기탄소(WESOC)와 토양 호흡에 의해 이산화탄소로 배출되는 탄소량과 같은 토양 유기탄소를 분석하였다. 토양을 100 °C와 350 °C 건조오븐에서 처리



[Fig. 2] Prediction of CO₂ generation (measured) from mid-infrared spectroscopy and partial least square regression for soil dried at 350 °C compared with the cumulative CO₂ generation from 30 (a), 60 (b), 90 (c), 120 days (d) soil respiration. Regressions are significant at $p < 0.005$.

[Table 3] Model Parameters and Statistical Indices for Prediction of Cumulative CO₂ Generation from Soil Respiration Using MIR Spectroscopy

| | Incubation time | N | R ² | RMSEE/ RMSECV | RPD | Regions (cm ⁻¹) | Preprocessing |
|-------------|-----------------|-----|----------------|------------------|------|--------------------------------|---------------|
| Calibration | 30 d | 337 | 0.8933 | 0.399 | 3.06 | 3,000–2,750 | 1st Deriv. |
| | 60 d | 337 | 0.8917 | 0.665 | 3.04 | 3,000–2,750 | 1st Deriv. |
| | 90 d | 337 | 0.8893 | 0.881 | 3.01 | 3,000–2,750 | 1st Deriv. |
| | 120 d | 337 | 0.8887 | 1.06 | 3.00 | 3,000–2,750 | 1st Deriv. |
| Validation | 30 d | 98 | 0.8397 | 0.485 | 2.50 | — | — |
| | 60 d | 98 | 0.8303 | 0.824 | 2.43 | — | — |
| | 90 d | 98 | 0.8246 | 1.1 | 2.39 | — | — |
| | 120 d | 98 | 0.8259 | 1.31 | 2.40 | — | — |

N : Number of samples; R²: Coefficient of determination; RMSE: Root mean square error; RPD: Ratio of performance to deviation; 1st Deriv.: 1st Deravatives

하고 중적외선분광계로 분석하여 WESOC와 토양 호흡에 의한 이산화탄소량과의 상관관계를 분석하여, 결정계수가 0.6937과 0.8933로 나타나 높은 상관관계를 보였다. 따라서 중적외선분광분석법을 사용하여 토양 중 유기탄소의 분획별 정량을 할 수 있는 가능성을 보여, 향후 토양 유기 탄소 분획의 신속한 분석으로 비용과 시간절약 측면에서 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

사사

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호 : PJ01010901)의 연구비 지원으로 수행되었음.

References

- Bastida, F., Zsolnay, A., Hernández, T. and García, C., "Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective", *Geoderma*, 147, pp. 159~171. (2008).
- Minasny, B., McBratney, A.B. and Salvador-Blanes, S., "Quantitative models for pedogenesis - review", *Geoderma*, 144, pp. 140~157. (2008).
- Barros, N., Gallego, M. and Feijoo, S., "Calorimetry and soil", *Thermochim. Acta.*, 458, pp. 11~17. (2007a).
- Barros, N., Gallego, M. and Feijoo, S., "Sensitivity of calorimetric indicators of soil microbial activity", *Thermochim Acta.*, 458, pp. 18~22. (2007b).
- Plante, A.F., Fernandez, J.M. and Leifeld, J., "Application of thermal analysis techniques in soil science", *Geoderma*, 153, pp. 1~10. (2009).
- Siewert, C., Investigation of the Thermal and Biological Stability of Soil Organic Matter, Habilitation at Technical University of Berlin, Institute of Ecology, Shaker Verlag GmbH, Aachen. (2001).
- Siewert, C., "Rapid screening of soil properties using thermogravimetry", *Soil Science Society of America Journal*, 68, pp. 1656~1661. (2004).
- Zhang, L., LeBoeuf, E. and Xing, B., "Thermal analytical investigation of biopolymers and humic- and carbonaceous-based soil and sediment organic matter", *Environ Sci Technol.*, 41, pp. 4888~4894. (2007).
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S. and Trumbore, S.E., "Persistence of soil organic matter as an ecosystem property", *Nature*, 478, pp. 49~56. (2011).
- White, R.E., Introduction to the principles and practice of soil science, 2nd ed. Oxford: Blackwell, (1987).
- Ghani A., Dexter M. and Perrott K.W., "Hot-water extractable carbon in soils; a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation, *Soil Biology and Biochemistry*, 35(9), pp. 1231 - 1243. (2003).
- Smith, T.E., Kolka, R.K., Zhou, X., Halmers, M.J., Cruse, R.M. and Tomer, M.D., "Effects of native perennial vegetation buffer strips on dissolved organic carbon in surface runoff from an agricultural landscape", *Biogeochemistry*, 120, pp. 121 - 132. (2014).
- http://en.wikipedia.org/wiki/Mercury_cadmium_telluride
- Geladi, P. and Kowalski, B.R., "Partial Least-Squares Regression - a Tutorial", *Analytica Chimica Acta*, 185, pp. 1 - 7. (1986).
- Chang, C.-W., Laird, D.A., Mausbach, M.J.

- and Hurburgh, C.R.J., "Near infrared reflectance spectroscopy - Principal components regression analysis of soil samples", Soil Science Society of America Journal, 65, pp. 480 - 90. (2001).
16. Yuste, J.C., Ma, S. and Baldocchi, D.D., "Plant-soil interactions and acclimation to temperature of microbial-mediated soil respiration may affect predictions of soil CO₂ efflux", Biogeochemistry, 98, pp. 127-138. (2010).
17. Haberhauer, G., Rafferty, B., Strebl, F. and Gerzabek, M.H., "Comparison of the composition of forest soil litter derived from three different sites at various decompositional stages using FTIR spectroscopy", Geoderma, 83, pp. 331 - 42. (1998).
18. Leifeld, J., "Application of diffuse reflectance FT-IR spectroscopy and partial least squares regression to predict NMR properties of soil organic matter", European Journal of Soil Science, 57, pp. 846 - 57. (2006).
19. Tatzber, M., Stemmer, M., Spiegel, H., Katzlberger, C., Haberhauer, G., Mentler, A. and Gerzabek, M.H., "FTIR-spectroscopic characterization of humic acids and humin fractions obtained by advanced NaOH, Na₄P₂O₇, and Na₂CO₃ extraction procedures", Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 6, pp. 522 - 29. (2007). 