

중질소 추적자법에 의한 감귤의 질소 시비량 결정

송성준(제주대학교 방사능이용연구소)

강영길(제주대학교 농학과)

유장걸(제주대학교 농화학과)

1. 서 론

비료의 3 요소중 질소는 작물의 성장과 결실에 제일 중요한 인자로 작용하는 데 감귤에서도 질소의 과다는 당도를 낮추고 과일의 숙기를 지연시키는 등 과일의 품질에 매우 큰 영향을 준다.

70년대의 감귤원 개원 초기 비옥도가 낮았을 때의 시비량에 대한 감귤재배농가의 관념이 오늘까지 이어져와 그동안 질소질 비료의 토양 축적량이 많아졌음에도 불구하고 격년결과를 방지하고 수량을 증가시키기 위하여 권장시비량의 2- 5배에 해당하는 질소비료를 감귤원에 시비하고 있다. 제주 감귤원의 질소시비량은 전국 평균의 2.5배에 이르고 있어 질소 시비량에 대한 제고는 토양성질의 악화 뿐만 아니라 지하수층의 질산성 질소 오염 방지측면에서도 간과해서는 안 될 일이므로 합리적인 질소 시비량을 산정하기 위한 전반적인 재검토가 요청되고 있다. 작물에 공급되는 질소비료량은 작물의 종류, 토양의 비옥도, 기후 등에 의해서 달라진다. 일반적으로 질소시비량을 결정하는 시비적량 시험 또는 화학분석을 통한 작물의 소요성분 계산법은 일년생 초본류 작물에서는 매우 합리적이다. 그러나, 영년생작물인 감귤에서는 무비구와 시비구 그리고 시비수준간에 비료반응이 잘 관찰되고 있지 않기 때문에 질소 시비량결정을 정확하게 할 수 없었다. 따라서, 다년간 재배경험이 풍부한 농민들은 외관적인 수세관찰과 생산량의 증감을 참고로 하여 자신의 감귤원에 시비할 비료량을 결정하고 있는 데, 이는 다소 합리적인 방법일수도 있으나 대부분의 농민들은 감귤원토양의 비옥도와는 무관하게 주변 농민의 관행을 따라 시비할 비료의 양을 결정하고 있어 필요 이상의 비료를 많이 사용하는 결과를 초래하고 있다.

더우기, 작년말 IMF여파는 비료 값의 상승을 부채질하여 가뜩이나 어려운 감귤농사를 더욱 어렵게 하고 있어 합리적인 질소시비량의 산정은 농가소득을 향상시키기 위해서도 절실히 요청되고 있다.

최근들어 BB비료 보급이 시작되면서 토양검정에 의한 시비처방법이 농업과학기술원에서 개발되어 사용되므로써 농민들의 시비관행을 어느 정도 수정할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

동위원소 추적자법은 Hevesy와 Paneth(1913년)가 납염의 용해도를 조사하는 데 동위원소인 ^{212}Pb 를 이용한 것을 시작으로 하여 농학, 생물학, 화학, 의학, 물리학분야의 정밀한 실험방법의 하나로 발전되어 왔다. 특히, 농학분야에서 동위원소 회석법에 근거한 안정 또는 방사선 동위원소 추적자 이용기술은 작물의 비료 흡수율, 토양중 양분의 유효함량 측정 및 행동등을 알아보는 데 매우 예민한 실험방법으로 사용하고 있다.

특히, 본 연구진은 방사능 동위원소(^{32}P)를 이용하여 감귤나무의 인산염양진단법을 개발하였고 감귤원 토양중의 적정인산함량을 제시한 바와 같이 동위원소 추적자법을 사용하면 그동안 풀지 못했던 감귤나무의 질소시비문제에 대한 좀더 정확한 답을 얻을 수 있리라 기대하고 있다.

따라서, 본 발표에서는 중질소(^{15}N) 추적자를 이용한 감귤의 질소시비량을 결정하는 방법을 소개하고 일부 얻어진 실험결과를 논의하고자 한다.

2. 질소 동위원소

질소는 모두 6개의 동위원소(^{12}N , ^{13}N , ^{14}N , ^{15}N , ^{16}N , ^{17}N)를 가지고 있다(표 1). ^{12}N , ^{13}N , ^{16}N , ^{17}N 는 방사능 동위원소이며 이들의 반감기는 수초-수분에 불과하여 질소비료의 흡수율 및 토양에서의 질소행동, 질소고정 등 장기간의 실험이 요구되는 질소관련 연구에는 사용하기가 부적합하다. ^{14}N 와 ^{15}N 는 안정동위원소이며, ^{15}N 는 자연 존재비(0.366 ^{15}N atom%)가 낮고 일정하여 인위적인 ^{15}N 첨가에 의해 시료중의 질소동위원소 존재비를 변화시킬 수 있기 때문에 추적자로서의 사용이 가능하다. 일반적으로 이러한 안정동위원소의 사용은 방사능 동위원소보다 감도가 낮고 측정이 복잡하여 시간이 많이 걸리는 단점이 있으나 인체에 대한

방사선 장애, 처리된 세포 또는 생물의 방사선 손상 우려, 그리고 실험기간의 제한성을 배제할 수 있다는 장점이 있다.

표 1. 질소동위원소

Mass number	Natural abundance(%)	Half-life
12	-	0.0126 s
13	-	10.05 min
14	99.634	-
15	0.366	-
16	-	7.36 s
17	-	4.14 s

3. 질소 동위원소 존재비 표현

가. Atom %(% abundance)

시료중에 존재하는 어떤 원소의 총원자수에 대한 특정 동위원소 원자수의 백분율을 나타낸 것이다.

질소(¹⁴N, ¹⁵N)의 경우 두 개의 안정동위원소가 있으므로

$$^{15}\text{N atom\%} = \frac{^{15}\text{N 원자수}}{^{14}\text{N 원자수} + ^{15}\text{N 원자수}} \times 100$$

식으로 표현될 수 있다.

공기의 ¹⁵N atom%(자연존재비)는 0.3663±0.0004로 그 조성이 일정하다.

나. Atom % excess

시료중의 atom %가 reference 시료의 atom % 보다 얼마나 더 많이 있는냐를 나타내는 단위이다. 중질소의 경우 ¹⁵N atom % excess는 공기중의 ¹⁵N atom%보다 얼마나 더 많이 있는냐를 나타내는 단위이다.

즉 ¹⁵N atom % excess = 시료중의 ¹⁵N atom% - 공기중의 ¹⁵N atom%(0.366) 이다.

4. 중질소(¹⁵N)의 측정

가. 시료의 전처리

1) 분말시료의 조제

식물이나 토양시료의 입자크기는 200 μm 이하로 조제하여야 시료를 균일하게 취할 수 있어 분석의 신뢰성을 높일 수 있다. 특히, 식물체 시료는 액체질소로 시료를 얼린 후 막자사발에서 갈거나 분쇄기등을 이용하여 미세분말로 만들 수 있다. 그러나, 막자사발로 조제할 경우는 노력이 많이 들기 때문에 분쇄기를 많이 사용하는데 일반분쇄기로는 미세입자를 만드는 효율이 좋지 않다. 그러므로, 우리 실험실에서는 자체제작한 roller mill를 사용하여 쉽게 미세분말을 조제하는데 작은 금속봉을 시료유리병에 넣고 계속적으로 회전시키는 것이다.

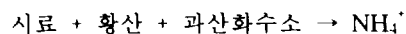
2) 질소가스의 발생

중질소의 존재비를 측정하기 위해 시료를 질소(N₂)가스로 변형시키는 대표적인 방법으로는 Kjeldahl-Rittenberg법과 Dumas법이 있다. 질소가스가 질소 동위원소 분석에 유리한 점은 질소가스가 다른 형태의 가스(NO, NO₂, NH₃)보다 유기 또는 무기시료로부터의 발생이 쉽고 분리가 잘 된다는 것이고, 질량분석에 사용되는 모든 물질과 반응하지 않는 비활성가스라는 점이다. 또한, 분자량이 작고 단순한 구조(분자와 동위원소 조성)이므로 다른 물질의 피크와의 분광간섭이 일어나지 않는 장점도 있다.

가) Kjeldahl-Rittenberg법

Rittenberg등(1948)에 의해서 처음 개발된 Kjeldahl-Rittenberg법은 Kjeldahl 질소분석법으로 시료를 분해하여 유기태-N을 NH₄⁺-N으로 바꾼 뒤 hypobromide를 가하여 질소가스를 발생시키는 방법이다.

① 시료분해(유기태-N → NH₄⁺-N으로 전환)
가열(400℃)



② 증류



③ 질소정량(역적정, 비색법)

NaOH로 역적정을 실시하거나 인돌페놀청색법으로 총질소를 정량

④ 시료농축

적정용액에 묶은황산을 가하여 85~90 °C에서 소량 부피로 농축

⑤ HBrO에 의한 질소가스발생(NH₄⁺-N → N₂)

농축된 시료용액과 알칼리성 hypobromide을 Rittenberg Y-tube에서 혼합하여 N₂ 를 발생시킨다(그림 1).

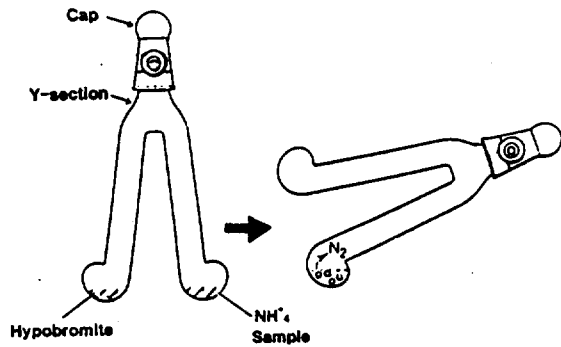
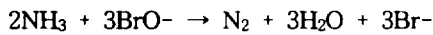


그림1. Rittenberg Y-Tube

이러한 실험과정은 수동으로 이루어지기 때문에 시간이 많이 소비되며 질소량이 1mg 정도는 되어야 정상적인 질소 정량과 ¹⁵N 분석이 가능하다. 따라서 McInteer와 Montoya(1981)는 Rittenberg분석법을 자동화하여 수동조작의 번거로움을 줄였고 하루의 분석 처리량을 늘려 주었고 질소량이 다소 적을 때(25 μg N)에도 분석을 가능케 했다. 이와 같은 automated Rittenberg apparatus(ARA)는 최근 더욱 수정보완(Mulvaney 등, 1990; Mulvaney와 Riu, 1991)되어 과거보다 많은 양의 시료분석이 가능하게 되었지만, 식물이나 토양시료를 황산분해하여 NH₄⁺-N으로 전환시키고 이를 증류 농축하는데 여전히 많은 시간과 노력이 소요된다. 또한, 분석의 재현성을 높이기 위해서는 질소 가스 시료중의 불순물(아민, 산소, 질소산화물)과 공기의 혼입을 방지하는 등의 전처리 과정에 대한 숙련된 기술이 요청되고 있다.

나) Modified Dumas법

원래의 Dumas법(Dumas, 1934)은 CO₂ 존재하에서 CuO를 첨가하여 유기물을 산화시켜 발생한 가스를 KOH용액에 통과시키면 질소가스를 제외한 다른 원소(C, H, Cl, S, O, P 등)는 CuO와의 반응산물로 바뀌거나 알칼리용액에 녹아 흡수되기 때문에 질소의 부피를 측정할 수 있는데 이 방법은 유기물에 결합된 질소의 함량을 측정하는 데 사용되어 왔다.

Dumas법은 꾸준히 개선되어 가스흡착제를 KOH대신에 CaO로 사용하였고 nitrate와 nitrite를 질소가스로 환원시키기 위하여 첨가한 CuO의 일부를 Cu로 대체하였다. 특히, CuO, Cuprox, potassium perchlorate 혼합하여 첨가하므로써 질소의 회수효율은 97% 까지 향상되었다. 이러한 Dumas법은 570°C에서 유기물을 연소시켜 직접 가스를 발생하기 때문에 Rittenberg법보다 실험조작이 쉬운 장점이 있다.

특히, 자동원소분석기가 개발되어 질량분석기와 연결하여 사용할 수 있게 됨에 따라 시료중의 질소함량과 ¹⁵N 동위원소 존재비의 분석을 자동적으로 하게 되어 식물체나 토양시료의 분석을 신속하게 할 수 있을 뿐만 아니라 Rittenberg법에서와 같은 숙련된 기술이 크게 요구되지 않는다.

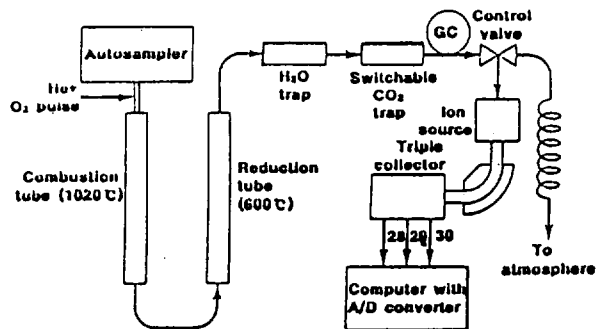


그림2. 원소분석기(elemental analyzer)의 구성

원소분석기의 작동원리(그림 2)는 tin capsule에 시료를 평량하여 자동시료주입기에 넣으면 산소가 공급되어 Cr₂O₃, CuO, Ag wool이 충전된 산소관의 온도(1020°C)가 1800°C까지 상승되면서 완전 연소가 일어나고 N₂ + N_xO_y, CO₂, H₂O, SO₂+SO₃가스가 발생하게 된다. 발생된 가스는 carrier 가스에 의해 매우 순수한

Cu wire가 있는 환원관으로 운반되어 환원반응이 일어나 N_2+NO_x 는 N_2 , SO_2+SO_3 는 SO_2 로 전환되어 H_2O 와 CO_2 트랩을 거쳐 gas chromatography로 전달된다. 분리된 순수한 N_2 가스가 질량분석기로 삽입된다. 이와 같이 시료를 평량하여 자동시료주입기에 넣는 조작 외에는 수작업이 필요하지 않기 때문에 오염의 염려가 거의 없고 실험실의 청결상태에 따라서는 μg 이하 수준의 질소량도 분석이 가능하다는 장점(Owens과 Rees, 1989)이 있다.

나. 동위원소 질량분석기에 의한 ^{15}N 측정

질소동위원소를 측정하는 방법으로는 질량분석법(magnetic reflection mass spectrometry)과 발광분석법(emission spectrometry)이 있다.

질량분석법(magnetic reflection mass spectrometry)은 강한 전기장과 자기장하에서 질량과 전하의 비 차이에 의해서 분리하는 것이고 발광분석법(emission spectrometry)은 질소분자에 라디오파를 가하면 분리하고자 하는 분자($^{14}N_2$, $^{14}N^{15}N$, $^{15}N_2$)내의 전자 천이의 특성이 달라 지게 되어 발광된 파장(Vis-UV)이 약간씩 달라지게 되는 데 이들의 강도를 측정하는 것이므로 감도가 질량분석법에 비해 나은 편은 아니다.

질량분석기(mass analyzer)는 사용하는 용도에 따라 종류가 다양한데(표 2) 여기에서는 현재 제주대학교에서 운영중인 single focusing mass spectrometer를 중심으로 설명하기로 한다.

표 2. 질량분석기의 종류

Magnetic reflection mass spetctrometer
Single focusing mass spectrometer
Double focusing mass spectrometer
Gas chromatography/Mass spectrometer
Liquid chromatography/Mass spectrometer
Quadropole mass spectrometer
Inductively coupled mass spectrometer 등

1) 질량분석기의 구성과 원리

질량분석기의 주요구성은 그림 3과 같다. 즉, 시료 도입부(inlet system), 이온원부(ion source chamber),

질량분석기(mass analyzer), 검출부(detector), 신호가공부(signal processor), 출력부(readout), 진공계(vacuum system)로 구성되어 있다.

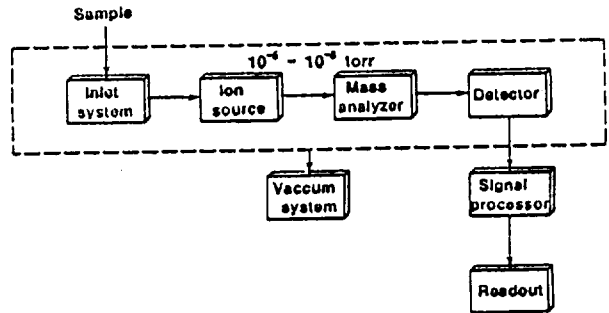


그림3. 질량분석기(mass spectrometer)의 구성

① 시료도입부(Inlet system)

시료도입부의 기능은 매우 낮은 유량을 유지하여 시료 분자를 계속적으로 이온원부로 보내는 역할을 하는 것이다. 시료 용기중의 가스시료는 가변볼륨 즉, 주름진 벽을 가진 reservoir에 보내져 채워진 뒤 일정 유량으로 이온원부로 보내지는 데 leak에 의해 가스유량이 항상 조절된다. 또한, reservoir의 가변볼륨은 처음부터 끝까지 시료가스의 유량을 일정하게 유지시켜 주는 역할을 한다.

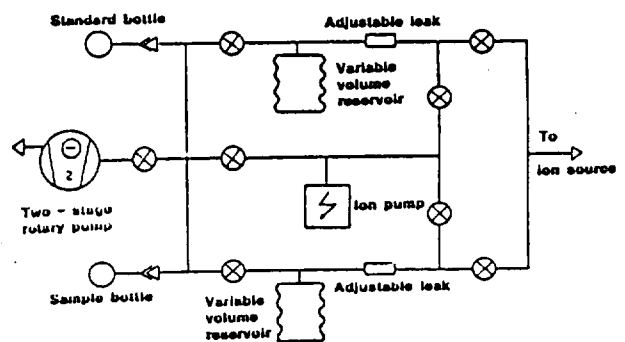


그림4. 시료 도입부 구성(inlet system)

그림 4에서 보는 바와 같이 이중 시료 도입부(dual inlet system)에서는 표준가스와 시료가스를 이온원부로 교대로 공급되어 측정되기 때문에 그때 그때의 자연 존재비의 변이를 감지할 수 있어 시료 중의 동위원소 존재비의 측정을 정확하게 하여 준다. 그러므로, 낮은 동위원소 존재비의 측정에 유리하다.

② 이온원부(Ion source chamber)

이온원부에는 repeller, 필라멘트(carbonized tungsten, rhenium 또는 thoriated irridium 재질을 주로 사용), 양전하를 띤 전자 trap과 가속슬릿 (accelerating slit) 으로 구성되어 있다(그림 5).

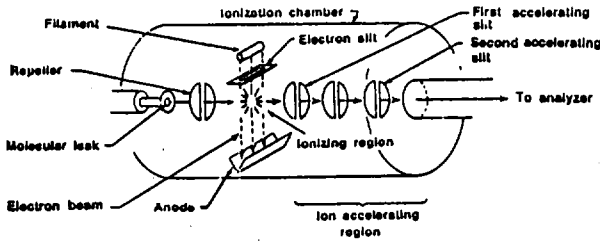
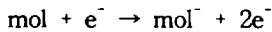


그림5. 분자 이온의 발생과 가속

이온원부로 들어온 시료가스는 필라멘트에서 발생되어 양극으로 끌리는 전자빔(70 V 전위차)과 충돌하면서 분자이온을 생성하게 된다.



질소가스의 경우 $^{28}\text{N}_2^+$, $^{29}\text{N}_2^+$, $^{30}\text{N}_2^+$ 분자이온이 형성된다.

생성된 분자이온은 + 50V로 대전된 repeller에 의해 trap으로 추출되며 (-)로 대전된 가속슬릿(3000 - 5000 V)에 의해 가속되어 질량분석기로 들어 간다.

③ 질량분석기(Mass sector analyzer)

질량분석기는 분자이온이 통과하는 튜브(metal analyzer tube)에 강한 자기장을 주기 위해 영구자석 또는 전자석이 설치되어 있다(그림 6).

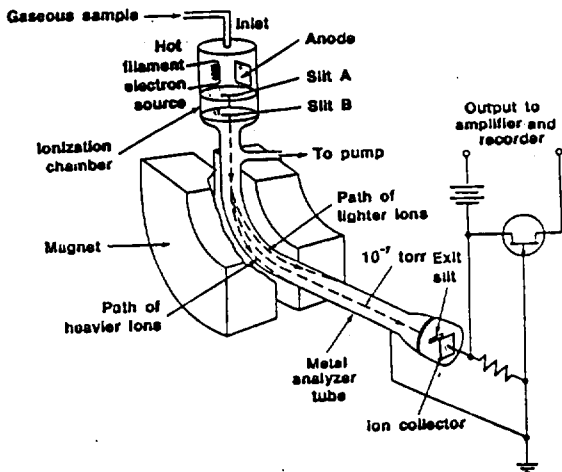


그림6. 질량분석기의 구조(magnetic sector spectrometer)

질량분석의 원리에 대해 살펴보면 다음과 같다.

가속슬릿의 전위차(전기장)하에서 분자이온이 최종 슬릿을 떠날 때의 얻은 운동에너지는

$$KE = \frac{1}{2} mv^2 = eV \text{가 된다.}$$

m: 이온질량

e: 이온전하

v: 이온의 속도

V: 가속슬릿의 전위차

$$v = \sqrt{\frac{2eV}{m}} \text{ ---->(1)}$$

이때 가속된 모든 분자이온은 같은 전하와 전위차 (eV)를 가지고 있기 때문에

질량이 다른 입자의 운동에너지는 모두 같게 된다.

$$eV = \frac{1}{2} m_1 v_1^2 \text{ (입자 1)}$$

$$eV = \frac{1}{2} m_2 v_2^2 \text{ (입자 2)}$$

$$\frac{1}{2} m_1 v_1^2 = \frac{1}{2} m_2 v_2^2$$

m_1 = 입자 1의 질량

v_1 = 이온의 속도

m_2 = 입자 2의 질량

v_2 = 이온의 속도

그러므로 입자의 속도는 질량에 따라 달라진다는 것을 알 수 있다.

따라서, 질량분석기에 진입할 때 분자이온의 속도는 질량이 무거운 것은 느리고 가벼운 것은 빠르게 된다.

자기장이 있는 구부러진 통로를 여행하는 분자이온은 원심력과 구심력의 작용을 받는데 이 두 힘이 균형을 이룰 때 일정 반경을 유지하여 통과한다.

$$\frac{mv^2}{r} \text{ (원심력)} = Hev \text{ (구심력)}$$

H: 자기장

m: 이온질량

e: 이온전하

v: 이온의 속도

r: 이온의 운동반경

$$r = \frac{mv}{He} \text{ ----> (2)}$$

(1)식을 (2)식에 대입하면

$$r = \frac{1}{H} \sqrt{2v \frac{m}{e}}$$

이를 $\frac{m}{e}$ 에 대해 정리하면

$$\frac{m}{e} = \frac{H^2 r^2}{2V} \text{ 가 된다}$$

따라서, 분자이온의 운동반경(r)은 자기장(H), m/e 비, 전압(V)에 의해서 영향을 받게 된다. 그러나 질량 분석에서는 H와 V가 일정하게 유지하므로 분자이온이 운동반경 즉, 자기장에서 휘 정도는 질량에 의해서 좌우된다. 그러므로 질량이 큰 분자이온일수록 회전반경이 커지게 된다.

질소 분자이온의 경우 $^{28}\text{N}_2^+$ (m/e 28) < $^{29}\text{N}_2^+$ (m/e 29) < $^{30}\text{N}_2^+$ (m/e 30) 순으로 반경이 커진다.

④ 검출부(Collector)

질량의 크기별로 분리된 분자이온 예를들면 질소동위원소($^{28}\text{N}_2^+$ (m/e 28), $^{29}\text{N}_2^+$ (m/e 29), $^{30}\text{N}_2^+$ (m/e 30))는 3개의 Faraday cup으로 구성된 universal collector에 도달하여 전기신호를 발생케 된다(그림 7).

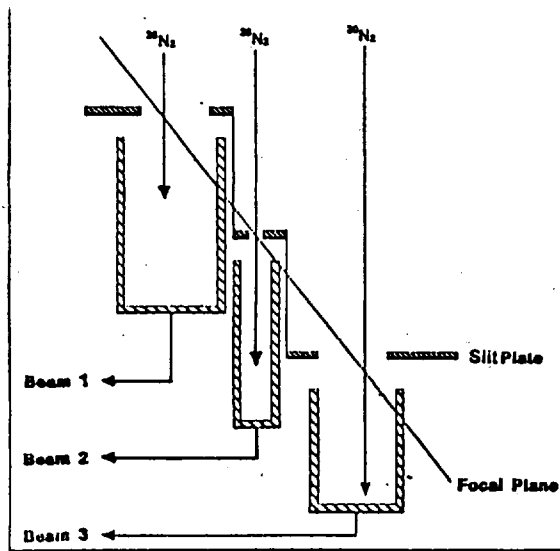


그림7. 파라데이 컵 검출기 구조(universal collector)

Faraday cup은 이온 검출기인데 그림 8과 같은 구조로 되어 있다. collector 전극에 부딪친 양이온은 저항기를 거쳐 접지로 부터 공급된 전자에 의해서 중성화되므로써 저항기의 양단에 미세한 전압강하가 일어

나게 되며 이 전압이 증폭되어 신호화되는 것이다.

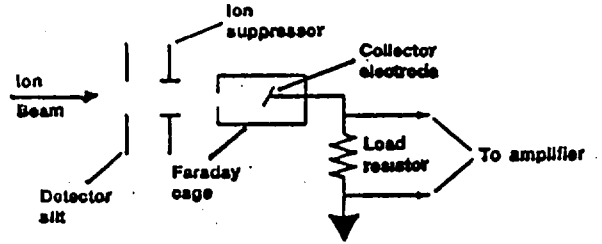


그림8. 파라데이 컵 검출기 원리(principle of Faraday cup detection)

⑤ 진공계(Vacuum system)

질량분석기에서 높은 진공도를 유지하는 것은 시료 도입부 또는 질량분석부에 이온화되지 않은 잔류 가스분자를 제거하여 잔류가스와의 충돌(운동에너지를 잃음)로 부터 생기는 분자이온의 scattering을 방지하고 이온화부에서 시료와 같이 이온화되어 기기의 background가 높아지는 것을 막기 위함이다.

시료도입부의 진공도는 10^{-3} mBar, 질량분석부의 진공도는 2×10^{-9} mBar를 유지한다.

질량분석기에서는 높은 진공도를 얻기 위하여 로타리 펌프(rotary vane pump)와 확산펌프(diffusion pump)를 같이 사용한다(그림 9).

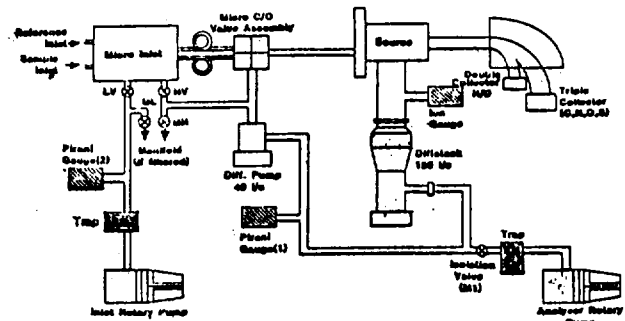


그림9. 진공 체계도

▷로타리펌프(Rotary vane pump)

로타리펌프는 그림10에서 보는 바와 같이 바람개비와 같은 날개가 달린 rotor가 회전하면서 진공을 얻는

것이다. 펌프는 냉각과 윤활 그리고 대기와 차단하기 위하여 오일 bath 속에서 작동한다.

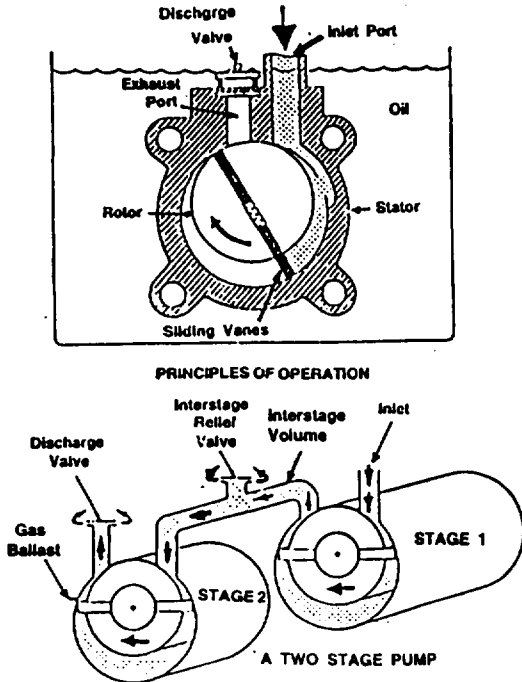


그림10. 로터리 펌프(rotary pump)

▷ 확산펌프(Diffusion pump)

펌프 밑바닥에 채워진 액체(polyphenyl ether, 실온에서는 휘발성이 매우 낮음)가 히터에 의해 가열이 되면 증기는 여러단계의 아래로 향하는 작은 구멍(jet nozzle)을 가진 굴뚝으로 상승하고 증기 stream은 구멍을 통해 초음속의 속도로 굴뚝밖으로 방출하게 되어 진공을 얻게 되는 것(그림 11)으로 water jet pump의 원리를 생각하면 이해가 쉬우리라 생각된다.

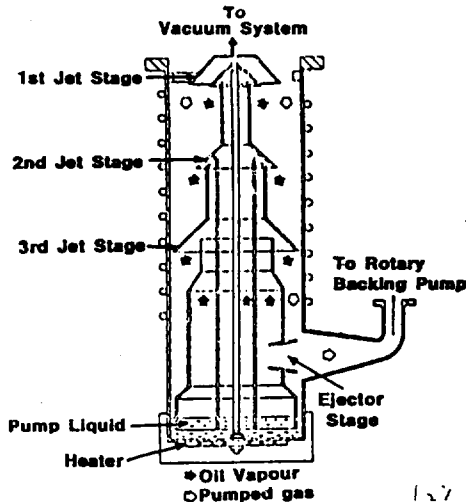


그림11. 3단계 확산 펌프(three stage diffusion pump)구조

확산펌프는 보통 대기압 조건에서 작동에서 시키는 것이 아니고 로타리펌프에 의해 10^{-3} mBar 정도의 진공도를 얻은 후 작동시키는 것이다.

▷ 압력 gauge

질량분석기에는 진공도에 따라 두 종류의 압력계치를 사용한다.

· Pirani gauge(그림 12) : $10^3 - 10^{-3}$ mBar범위에서 사용한다.

· Ionisation gauge(그림 13) : $10^{-2} - 10^{-14}$ mBar범위에서 사용한다.

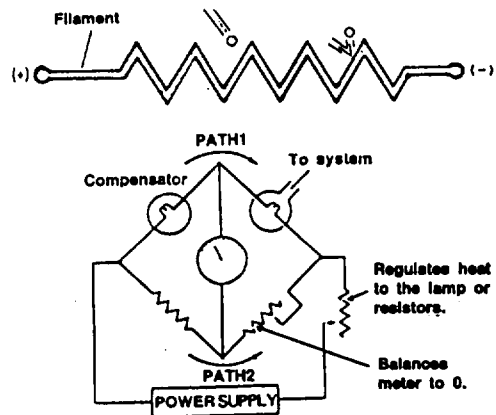


그림12. 피라니 게이지(pirani gauge)

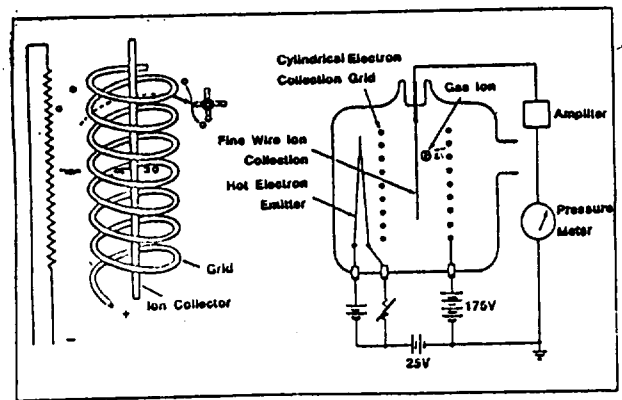


그림13. 이온 게이지(ionisation gauge)

⑥ 분해능(Resolution)

질량분석기의 분석 수행능력은 분해능(Resolution)으로 평가하며 기기의 가격도 결정된다. 분해능은 두 개의 다른 질량(m/e)을 가진 이온 빔(beam)을 분리하는 능력을 의미하며 $R = m/\Delta m$ 으로 정의한다(그림 14).

m: 특정 이온의 질량(m/e)

Δm : 특정 이온 피크 높이의 10 또는 50%에 해당 지점에서의 폭

일반적인 질량분석기(single focusing mass spectrometer)의 분해능은 <500보다는 적지만 질소, 탄소, 산소, 수소가스등 낮은 분자량을 가진 분자들의 동위원소 분석에는 매우 적당하다.

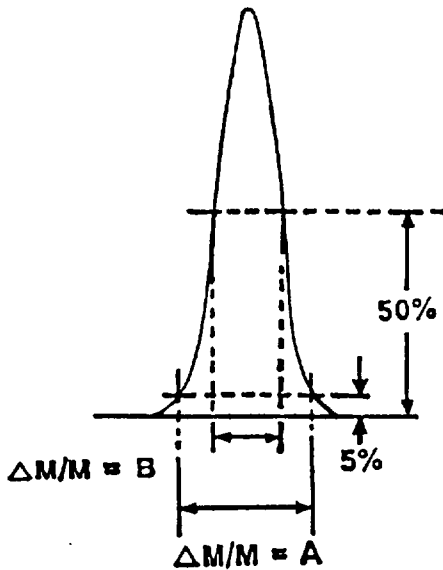


그림14. 질량분석기의 분해능(resolution of mass spectrometer)

2) 중질소(¹⁵N)의 측정원리

질량분석기로 중질소(¹⁵N) atom % 을 측정하기 위해서 시료를 N₂ 가스로 변형시키면 ¹⁵N로 표지된 가스시료에는 ¹⁴N¹⁴N(²⁸N₂), ¹⁴N¹⁵N(²⁹N₂), ¹⁵N¹⁵N(³⁰N₂)분자가 존재하게 된다.

$$^{15}\text{N atom\%} = \frac{^{15}\text{N 원자수}}{^{14}\text{N 원자수} + ^{15}\text{N 원자수}} \times 100$$

이므로

$$^{15}\text{N atom\%} = \frac{[^{14}\text{N}^{15}\text{N}] + 2[^{15}\text{N}^{15}\text{N}]}{2[^{14}\text{N}^{14}\text{N}] + 2[^{14}\text{N}^{15}\text{N}] + 2[^{15}\text{N}^{15}\text{N}]} \times 100 \quad (1)$$

그런데 ¹⁵N¹⁵N(³⁰N₂)의 피크는 작기 때문에 측정치의 오차가 클 우려가 있으므로

(1)의 식을 변형(¹⁵N¹⁵N(³⁰N₂) 제거)하면 ¹⁴N¹⁴N(²⁸N₂)와 ¹⁴N¹⁵N(²⁹N₂)피크만을 측정하여도 ¹⁵N atom % 결정이 가능하다.

N₂ 반응식은 평형상태를 유지하며 평형상수=4이므로 다음과 같이 된다.

$$^{14}\text{N}^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}^{15}\text{N} = ^{14}\text{N}^{15}\text{N} + ^{14}\text{N}^{15}\text{N}$$

$$\frac{2[^{14}\text{N}^{15}\text{N}]^2}{[^{14}\text{N}^{14}\text{N}][^{15}\text{N}^{15}\text{N}]} = 4$$

이를 ¹⁵N¹⁵N에 관해 정리하면

$$^{15}\text{N}^{15}\text{N}(^{30}\text{N}_2) = \frac{2[^{14}\text{N}^{15}\text{N}]^2}{4[^{14}\text{N}^{14}\text{N}][^{14}\text{N}^{14}\text{N}]} \quad (2) \text{가 된다.}$$

(2)식을 (1)식에 대입하면

$$\text{중질소}(^{15}\text{N}) \text{ atom\%} = \frac{100}{\frac{[^{14}\text{N}^{14}\text{N}]}{2\frac{[^{14}\text{N}^{15}\text{N}]}{[^{14}\text{N}^{14}\text{N}]} + 1}} \quad (3)$$

한편, $R = \frac{[^{14}\text{N}^{14}\text{N}]}{[^{14}\text{N}^{15}\text{N}]} = \frac{^{28}\text{N}_2}{^{29}\text{N}_2}$ 이라고 하면

$$^{15}\text{N atom\%} = \frac{100}{2R + 1} \text{가 되며}$$

이는 질량분석기에서 측정된 피크 비($R = \frac{^{28}\text{N}_2}{^{29}\text{N}_2}$)로부터 ¹⁵N atom% 결정하는 원리가 되는 것이다.

5. 중질소를 이용한 감귤의 질소 시비량 결정

동위원소 추적자법을 이용한 질소의 시비량 결정은 동위원소 회석법의 원리를 이용한 것이다. 즉, ¹⁵N로 표지된 비료를 토양에 처리하게 되면 비료중의 질소(¹⁵N)는 토양 중에 있는 질소(¹⁴N)와 유사한 행동을 하게 되며, 감귤은 ¹⁴N와 ¹⁵N 두 원소를 구분하지 않고 흡수하게 된다. 그러므로 감귤 수체중에는 비료에서 유래된 질소성분(¹⁵N), 토양에서 온 질소 성분 및 수체 내에 존재하고 있던 질소 성분(¹⁴N)을 함유하게 된다.

질량분석법에 의해서 비료로부터 온 질소성분(¹⁵N)만을 선택적으로 측정이 가능하므로 비료로 공급된 양이 얼마나 흡수되었는지 그리고 그 이용율이 얼마나 되는지를 알게 되어 시비량을 결정할 수 있게 되는 것이다.

가. 질소시비량 계산방법

1) 비료로부터 온 식물체중의 질소함량(%Ndff, nitrogen derived from fertilizer)

비료로부터 온 식물체중의 질소함량(%Ndff)의 계산식은 다음과 같다.

$$\% \text{ Ndff} = \frac{^{15}\text{N atom \% excess in sample}}{^{15}\text{N atom \% excess in fertilizer}} \times 100$$

따라서, 토양에서 온 식물체중의 질소함량(%Ndfs, nitrogen derived from fertilizer)은 100 - %Ndff으로 계산된다.

표 3. 일년생 초본류의 %Ndff와 이용율을 계산하기 위한 자료

식물체중의 ¹⁵ N atom %	1.6
비료중의 ¹⁵ N atom %	0.8
시비량	100 mg/kg
건물량	15g
식물체 N 함량	2%
포트중의 토양중량	2kg

비료중의 ¹⁵N atom % excess = 1.6 - 0.37 = 1.23

식물체중의 ¹⁵N atom % excess = 0.8 - 0.37 = 0.43

%Ndff = $\frac{0.43}{1.23} \times 100 = 35\%$

%Ndfs = 100 - 35 = 65%

2) 비료 이용율계산

일반적인 화학 분석법으로는 식물체중의 질소가 비료에서 온 것인지 또는 토양에서 온 것을 구분하는 것이 불가능하므로 대조구(무비구)를 두어 토양유래의 N 함량을 구할 수밖에 없지만 ¹⁵N 추적자법을 이용하면 무비구를 두지 않아도 식물의 비료 이용율을 표3으로부터 직접 계산할 수 있다.

식물체 주당 함유된 N량 = $15g \times \frac{2}{100} = 0.3g \text{ N}$

비료로부터 온 N함량 = $0.3g \times \frac{35}{100} (\%Ndff) = 0.105g$

포트에 첨가된 질소(N)비료양 = $100mgN/kg \times 2 \text{ kg} = 200 \text{ mg N or } 0.2g$

비료의 이용율 = $\frac{0.105g}{0.2 \text{ g}} \times 100 = 52.5\%$

나. 감귤나무에서 춘비비료의 이용율

“가”에서 보여 주었던 계산법으로 시비량과 시비방법에 따른 감귤나무의 춘비비료의 이용율을 계산하는 요령은 표 4에 그리고 그 결과는 표 5에 실었다.

표 4. 감귤나무의 비료의 이용율을 계산하는 요령

기관	건물량 (g/주)	질소 함량 (%)	총질소 량(g/주)	¹⁵ N atom %	¹⁵ N atom % excess	%Ndff	비료 유래 질소량 (g)	비료 이용율 (%)
수간	1050	0.085	0.89	0.491	0.125	2.442**	0.022	
대지	2800	0.13	3.70	0.521	0.155	3.020	0.112	
소지	447	0.24	1.05	0.582	0.220	4.285	0.045	
녹지	508	0.13	0.67	0.671	0.305	5.940	0.040	
잎	1148	2.68	30.8	0.917	0.551	10.70	3.296	
근간	852	0.15	1.24	0.528	0.162	3.155	0.039	
대근	1166	0.15	1.75	0.618	0.252	4.910	0.086	
세근	184	0.60	1.10	0.805	0.439	8.550	0.094	
과육	2039	0.72	14.6	0.934	0.568	11.06	1.614	
과피	1115	0.84	9.33	0.916	0.550	10.70	0.998	
합계	22617		65.1				6.346	9.75

*시비된 비료량은 65g이고 ¹⁵N함량은 5.5% 였음.

** $\frac{0.125}{5.5-0.366} \times 100 = 2.442$

표 5에서 보는 바와 같이 수용액 상태로 시비하면 표충시비에 비해서 비료의 흡수율이 크다는 사실을 알 수 있다.

표 5. 시비량과 시비방법에 따른 감귤나무의 춘비비료의 흡수율과 이용율 산정

시비방법	시비량		비료유래 질소량(g/주)	질소 이용율(%)
	kg/10a	g/주		
표 충	18	56.7	9.8	17.3
표 충	27	84.4	11.3	13.4
수용액	9	28.2	8.5	30.3
수용액	18	56.7	10.4	18.4

*시비추천량: 18 kg/10a

*95년 4월 - 95년 11월

다. 감귤의 시비량 결정

감귤나무는 시비수준에 따른 반응이 잘 나타나지 않고 재래식방법에 의한 이용율을 산정하기 어려웠다. 그러나 동위원소 추적자법은 비료의 이용율을 구할 수 있기 때문에 시비량을 표준법으로 하여 감귤나무의 시비량을 결정할 수 있게 되는 데 그 계산식은 다음과 같다.

$$\text{시비할 성분량} = \frac{(\text{목표수량을 위해 필요한 성분량} - \text{천연공급량})}{\text{이용율}} \times 100$$

위식을 가지고 질소질 비료의 시비할 성분량을 계산하여 보겠다.

목표수량을 위해 필요한 질소성분량은 당해년도에 예상되는 감귤생산 목표수량을 설정(여기에 연간 수체증가분을 더하여야 함)하고 감귤생산량과 연간 수체증가량에 각각의 질소 성분 함량을 곱한 뒤 이를 합하면 얻어질 수 있다.

10년생 감귤나무의 준비 소요량

목표수량(3700 kg/10a)중의 질소량
 $3700 \times 0.001728 \times 0.412 = 2.634 \text{ kg/10a}$

감귤과일중의 평균질소함량 : 0.178%

준비의 과일 기여율(%) =

$$\frac{1.614 + 0.998(\text{과육과 과피의 비료유래 질소량})}{6.346} \times 100 = 41.2 \%$$

년간 건물중 증가량(154 kg/10a)

$154 \times 0.0028 \times 0.588 = 0.254 \text{ kg/10a}$

감귤수체의 평균질소량(과일제외) = 0.28%

준비의 수체기여율(%) =

$$\frac{3.734(\text{비료 유래 수체에 함유된 질소량})}{6.346} \times 100 = 58.8\%$$

목표수량을 위해 필요한 준비 질소성분량 =

$2.634 + 0.507 = 3.141 \text{ kg /10a}$

표 6. 준비 시비량과 시비방법에 따른 수확기 토심별 토양중 질소함량과 비료로 부터 유래된 질소의 비율

시비방법	시비량		질소함량 (g/6.25m ²)				비료 유래질소의 비율(g)		
	kg/10a	g/주	0-10	10-20	20-30	계	0-10	10-20	20-30
표층	18	56.7	2087	1615	2396	6098	0.55	0.72	0.35
표층	27	84.4	2018	2180	2764	6962	0.75	0.65	0.75
수용액	9	28.2	2254	2138	2413	6805	0.27	0.21	0.24
수용액	18	56.7	2012	2263	2270	6545	0.67	0.52	0.56

*시비추천량 : 18 kg/10a

*실험기간 : 95년 4월 - 95년 11월

표 7. 준비 시비량과 시비방법에 따른 수확기 토심별 비료에서 유래된 질소와 질소 잔류율

시비방법	시비량		비료에서 유래된 질소 (g/6.25m ²)				질소잔류율(%)		
	kg/10a	g/주	0-10	10-20	20-30	계	0-10	10-20	20-30
표층	18	56.7	11.5	11.6	8.5	31.6	20.3	20.5	15.0
표층	27	84.4	15.2	14.2	5.9	50.2	18.0	16.8	24.7
수용액	9	28.2	6.1	4.5	12.7	16.5	21.6	16.0	21.0
수용액	18	56.7	13.6	14.2	20.8	38.0	24.0	16.8	22.4

*시비추천량 : 18 kg/10a

*실험기간 : 95년 4월 - 95년 11월

준비 이용율 : 13% → $3.141/0.13 = 24.2 \text{ kg N}/10\text{a}$

준비 이용율 : 30% → $3.141/0.3 = 10.5 \text{ kg N}/10\text{a}$

라. 시비된 질소비료의 잔존량과 손실량

감귤원에 사용된 질소비료는 감귤뿌리에 의해서 흡수되거나 토양중에 잔존하기도 하지만, 일부분은 물에 의해서 용탈 또는 탈질작용에 의해 손실된다. 감귤에 의해 이용되는 양은 앞서 설명한대로 이며 잔존량도 중질소를 이용하면 정확히 측정될 수 있다.

손실량은 시비량에서 감귤이 흡수한 양과 토양잔존량을 빼어 주면 된다.

즉 손실량 = 시비량 - (잔존량 + 이용량)이다.

표 5, 6, 7으로 부터 준비시비량과 시비방법에 따른 잔존량과 손실량을 계산하면 표 8과 같다.

비료의 손실량과 손실율은 표충시비한 것보다 수용액으로 공급한 것이 훨씬 적었다.

6. 결 론

^{15}N 로 표지된 비료를 사용하며 식물에 흡수되는 질소량을 질량분석법으로 측정하는 전반적인 원리를 설명했고 이를 활용하여 감귤나무의 질소질 비료 이용율, 토양 잔존율 및 손실율을 계산해 보았으며 한편으로 목표 수량을 설정하여 질소 시비량 결정방법을 제시하였다.

지금까지 관행으로 행하여 오는 표충시비는 수용액을 만들어 공급하는 것 보다 비료의 이용율이 낮았고 손실율도 2~3 배 높은 경향이였다.

따라서, 비료의 효율을 극대화시킬 수 있는 시비방법과 기술에 대한 재검토가 요청되고 있는 바, 표충시비에 따른 질소 비료의 손실을 최소화 시키고 노동력을 절약하기 위해서는 관주시비법이나 엽면시비방법의 도입이 필요하다고 생각된다.

표 8. 준비시비량과 시비방법에 따른 손실량

시비방법	시비량		손실량 계산 (시비량-(이용량+잔류량)) (g/6.25m ²)			손실율(손실량/시비량) (%)
	kg/10a	g/주	이용량	잔류량	손실량	
표충	18	56.7	9.8	31.6	15.3	26.9
표충	27	84.4	11.3	50.2	22.9	27.1
수용액	9	28.2	8.5	16.5	3.2	11.3
수용액	18	56.7	10.4	38.0	8.3	14.7

*시비추천량 : 18 kg/10a

*실험기간 : 95년 4월 - 95년 11월