

## 분자량별 분류에 따른 휴믹산의 구조적 특성 및 Eu(III)과의 착물 반응 특성 비교에 대한 연구

신현상\*, 이동석\*, 강기훈\*\*

서울산업대학교 환경공학과, \*강원대학교 공과대학 환경·생물공학부,

\*\*한국과학기술원 토목공학과

(2001. 1. 9 접수)

## Differences in Structural Characteristics and Eu(III) Complexation for Molecular Size Fractionated Humic Acid

Hyun-Sang Shin\*, Dong-Seok Rhee\* and Kihoon Kang\*\*

Department of Environmental Engineering, Seoul National University of Technology,

Nowon-Gu, Seoul 139-743, Korea

\*Department of Environmental Engineering, Kangwon National University,

Chunchon, Kangwondo 200-701, Korea

\*\*Department of Civil Engineering, Korea Advanced Institute

Science and Technology, Taejon 305-701, Korea

(Received January 9, 2001)

**요약:** 한화여과법을 이용하여 휴믹산(Aldrich Co.)을 분자량 별로 3개의 소부분( $F_1$ : 1,000-10,000 daltons;  $F_2$ : 10,000-50,000 daltons;  $F_3$ : 100,000-300,000 daltons)으로 분리한 뒤, 적외선 분광법과 고체상태 C-13 핵자기공명 분광법을 이용하여 각 소부분의 구조적 특성을 규명하였고, pH 적정법을 이용하여 각 소부분의 카르복실산 작용기 함량을 결정하였다. 휴믹산과 금속이온과의 착물 반응 특성을 규명하기 위하여, Eu(III)과 각 소부분 휴믹산과의 착화합물( $[Eu(III)] = 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $(HA) = 470\text{-}970 \text{ mg L}^{-1}$ , at pH 5.0)을 Eu(III)의  $^7F_0\text{-}^5D_0$  전이를 이용한 여기스펙트럼으로 관찰하였다. 적외선 스펙트럼과 C-13 핵자기공명 스펙트럼 분석 결과, 100,000 dalton 이상의 고분자량의 휴믹산 분자는( $F_3$ ) 높은 지방족 탄소함량을 가지며, 50,000 daltons 이하의 저 분자량의 휴믹산( $F_1, F_2$ ) 분자는 상대적으로 높은 방향족 탄소 함량을 가짐을 확인하였다. pH 적정 결과 휴믹산은 분자의 크기가 커질수록 더 낮은 카르복실기 함량을 가짐을 확인하였다. Eu(III)-휴믹산 착물의 여기스펙트럼을 Lorenzian-Gaussian 식을 이용하여 분석한 결과, 휴믹산 분자의 크기가 커질수록 최대피크의 파장 위치가 더 낮은 에너지 방향으로 이동하였다. 이러한 피크 이동의 결과는 휴믹산 분자의 크기가 커질수록 Eu(III)과 결합하는 분자내 카르복실산의 배위수가 증가함을 나타내는 것으로서, C-13 NMR 스펙트럼 분석에서 밝혀진 휴믹산 분자의 구조적인 요인과의 관련성을 밝혔다.

**Abstract:** A humic acid (HA, Aldrich Co) sample was subjected to ultrafiltration for molecular size fractionation and three fractions of different nominal size ( $F_1$ : 1,000-10,000 daltons;  $F_2$ : 10,000-50,000 daltons;  $F_3$ : 100,000-300,000 daltons) were obtained. The structural characteristics of the size-fractionated HA were analyzed using their IR and solid state C-13 NMR spectral data, and the carboxylate group contents of the humic acids were determined using their pH titration data. The  $^7F_0\text{-}^5D_0$  excitation spectra of

\* Corresponding author

Phone : +82-(0)2-970-6625 Fax : +82-(0)2-971-5776

E-mail : hyuns@duck.snut.ac.kr

**Eu (III) complexes of the size-fractionated HA in aqueous solution were acquired ([Eu (III)] =  $1.0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>, (HA) = 470-970 mg L<sup>-1</sup>) at pH 5.0 using a pulsed tunable laser system, in which metal binding properties of the size-fractionated HA were elucidated and compared one another. Characterization of the IR and C-13 NMR spectral data indicated that the fraction (F<sub>3</sub>) with molecules of larger size were primarily aliphatic, while the fractions (F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>) with smaller molecules of less than 50,000 daltons were predominantly aromatic. Titration data were consistent with an increase in the number of carboxylate groups per unit mass as molecular size became smaller. The <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> excitation spectral data of Eu (III)-humate complexes showed that the peak maxima on these spectra were shifted toward lower energies with increasing molecular size of HA, indicating the higher degree of bindings of the Eu in the molecules of larger size. We also discussed the relationship of the lower energy shifts of the maximum peaks with increasing the molecular size of HA with the structural differences of the size-fractionated HA.**

**Key words:** humic Acid, solid state C-13 NMR, Eu (III) luminescence spectroscopy

## 1. 서 론

휴믹산은 유사한 성질을 가진 많은 자연산 화합물들의 불균질 혼합물로서 -COOH, -OH, -SH 등의 산성 작용기를 가진 다전해질성(polyelectrolytes) 고분자 물질이다.<sup>1</sup> 따라서 휴믹산은 자연계에 존재하는 금속이온( $\geq 2+$ )과 높은 치화합 친화도를 가지며, 이들의 자연계에서의 거동에 중요한 영향을 끼친다.<sup>2,3</sup> 또한, 휴믹산은 분자량이 수백에서 수십만에 이르는 다분산성(polydisperse) 물질이며, 분자량 크기에 따라 분자의 구조 및 금속이온과의 반응성 등에 다소의 차이가 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>4,5</sup>

최근 들어, 중금속의 거동에 대한 휴믹산의 영향을 보다 정확하게 평가하기 위하여 휴믹산의 분자량별 분류에 따른 화학적, 분광학적 특성을 규명 및 금속이온과의 반응성 규명에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.<sup>5-7</sup> Rao와 Choppin<sup>7</sup>은 서로 다른 분자량을 가진 휴믹산과 Np(V)과의 결합 특성을 분광학적으로 연구하였고, 동일한 결합자리 함량(meq g<sup>-1</sup>)을 가진 휴믹산 분자임에도 불구하고 분자량이 클수록 금속이온과 더 강한 결합을 형성함을 보고한 바 있다. 이러한 결과는 분자크기에 따른 휴믹산 분자의 구조적 특성과 관련되며, 분자의 크기에 따라 금속이온과의 결합자리 특성이 다르기 때문으로 사려된다. 따라서, 분자량 크기에 따른 휴믹산의 구조적 특성과 금속이온과의 치화합 반응 특성과의 비교 연구는 환경 화학적 측면에

서 중요한 의미를 가진다.

본 연구에서는 휴믹산과 금속이온과의 치화합반응 특성을 규명하기 위하여 Eu (III)이온의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 전이를 사용한 Eu (III) 발광분광법을 이용하였다. Eu (III) 이온의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 전이는 바닥상태와 둘뜬 상태가 모두 비축퇴(nondegenerate)되어 있으며, 금속이온과 결합하는 리간드에 의한 결정장 갈라짐(crystal field splitting) 현상이 발생하지 않는다.<sup>8</sup> 따라서, Eu (III)이온의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 전이로부터 얻어진 여기 스펙트럼(excitation spectrum)에서의 피크의 수는 Eu (III) 치화합물 종(species)의 수와 같다는 것을 의미한다. 이러한 장점으로 인하여 Eu (III)이온의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 전이를 이용한 방법은 생고분자 물질의 구조 규명<sup>9</sup> 및 *Datura innoxia* 세포벽의 금속 결합자리 특성 연구<sup>10</sup> 외에도 토양에서 추출한 휴믹산과 풀비산의 금속 결합자리 연구 등에 유용하게 활용되고 있다.<sup>11,12</sup>

본 연구는 비교물질로 널리 사용되는 Aldrich 휴믹산을 한의여과법을 사용하여 분자량별로 분리한 뒤, 적외선(IR)과 C-13 핵자기공명(NMR) 분광법을 이용 각 소부분의 구조적인 특성을 규명하고, 상호 비교하였다. 또한, Eu (III)이온의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 전이로부터 얻어진 여기 스펙트럼을 이용하여 분자량 크기별로 분리한 휴믹산과 금속이온과의 치화합 반응 특성을 규명하였다. 이상에서 얻어진 결과를 토대로 휴믹산 분자의 구조적 특성과 금속이온과의 치화합 반응 특성 사이의 관련성을 규명하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 휴믹산 시료

휴믹산 시료는 Aldrich Chemical Co. (H1, Lot-No 675-2)로부터 구입하여 사용하였다. 분자량별 분리를 위한 휴믹산 모액(stock solution)은 고운 분말 상태의 Aldrich 휴믹산( $\text{Na}^+$ ) 1.0 g을 1.0 M NaOH 5.0 mL에 완전히 녹이고,  $1 \times 10^{-3}$  M tris 완충제[tris(hydroxymethyl)amino methane, Aldrich Co.]를 포함하는 0.1 M  $\text{NaClO}_4$  용액을 이용하여 5 L로 끓임으로서 200 mg  $\text{L}^{-1}$  농도로 제조하였다. 이 과정에서 0.1 M  $\text{HClO}_4$ 를 사용 모액의 pH는 8.5로 맞추었다. 이상에서 준비한 휴믹산 모액(5 L)을 일정량씩 나누어 한외여과장치와 연결된 저장용기(Amicon)에 넣은 뒤, 일정 크기의 cut-off 막 필터가 장착된 200 mL 용량의 한외여과장치(ultrafiltration cell, Amicon model 8010)를 통과시켰다.<sup>7,13</sup> 실험은 일정크기를 가진 일련의 cut-off 막 필터(300, 100, 50, 10 및 1 kDa)를 교환해가면서 수행하였고, 분자량 크기 순서대로 다음과 같은 휴믹산 용액을 얻었다:  $F_1$  (1-10 kDa),  $F_2$  (10-50 kDa),  $F_3$  (100-300 kDa). 분리된 각 용액은 동결 건조(freeze-dry)하여 고운 분말 상태로 얻은 후, 칭량하여 각 소부분의 무게를 결정하였다.

### 2.2. 기기 및 실험 방법

휴믹산의 IR 스펙트럼은 Nicolet 520 FT-IR 분광기를 사용하여 얻었다. 분석 시료는 충분히 건조된 KBr (FT-IR grade, Aldrich Co.)과 휴믹산을 약 100 : 1의 무게 비율로 섞은 뒤 pellets으로 만들어 사용하였다. 휴믹산의 C-13 NMR 스펙트럼은 CP/MAS (cross-polarization with magic angle spinning)기법을 사용한 고체상태 핵자기 공명분광기(IBM/Brucker WP 200SY, at 50.325 MHz)를 사용하여 얻었다.<sup>14</sup> 측정은  $90^\circ$  (4.5  $\mu\text{s}$ )의 펄스폭과 1 ms의 접촉시간(contact time)에서 수행하였으며, 4.0 kHz의 스피드도와 3.0 s의 펄스 지연시간(relaxation delay time)을 두었다. 양호한 신호 대 잡음비(S/N)를 가진 스펙트럼을 얻기 위하여 약  $1.0 \times 10^4$ 번의 주사신호(FID's: free induction decays)가 더하여졌다.

휴믹산의 카르복실산 작용기의 함량( $\text{meq g}^{-1}$ )은 pH 적정법을 이용하여 결정하였다. 적정 시료는 휴믹

산 40-50 mg을 자켓 형태의 적정 용기에서 직접 0.1 M NaOH ( $\text{CO}_2$  free) 2.0 mL에 완전히 녹여 준비하였다. 적정은 디지털 pH-미터(Accumet Fisher, model 950)와 뷰렛(Metrom, model 665) 및 유리전극(Corning)으로 구성된 자동 적정 장치를 사용하였으며, 0.04 M  $\text{HClO}_4$ 를 사용하여 pH 11.5에서 2.3까지 수행하였다. 모든 실험은 질소 분위기 하에서 이루어졌으며, 온도는 일정( $25^\circ\text{C}$ )하게 유지하였다.

### 2.3. Eu(III) 발광 분광기

금속이온에 대한 휴믹산의 결합특성 조사는 Eu(III)의  ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_0$  전이를 이용한 여기 스펙트럼을 이용하였다. 본 실험에서 사용한 레이저 분광기기 장치에 대한 자세한 설명은 문헌에 보고되어 있다.<sup>15</sup> 광원은 Nd: YAG 레이저(Quanta Ray PDS2)의 두 번째 조화파인 532 nm에서 펌핑시킨 색소레이저(Quanta Ray DCR 2A)를 사용하였다. 이 때 580 nm에서 측정된 펄스 에너지는 약 30 mJ이었다. 색소는 573-593 nm의 스펙트럼 범위의 Rhodamine 590과 Rhodamine 610(Exciton Chemicals)을 메탄을 용액내에서 50 : 50 (v/v)으로 혼합하여 조제하였다. 색소 레이저의 띠나비는 1.0  $\text{cm}^{-1}$ 로 조정하였고, 레이저 펄스의 나비는 10 ns이었다. 여기스페트럼은 색소레이저의 가변 파장( $\lambda_{\text{ex}}$ )을 577.70 nm에서 580.70 nm 범위까지 일정간격(0.01 nm)으로 변화시키면서 Eu(III)의  ${}^5\text{D}_0 - {}^7\text{F}_0$  전이로부터 발광되는 신호를 616 nm( $\lambda_{\text{em}}$ )에서 측정함으로서 얻어졌다. 관측 파장범위에서 얻어진  ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_0$  여기 스펙트럼의 전체 측정 데이터 수는 약 300개 정도이었다. 일반적으로, 휴믹산 용액내에서의 Eu(III)의 발광 신호는 휴믹산에 의한 자체 흡수효과(self-absorption effect)로 인하여 매우 작다.<sup>16</sup> 따라서  ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_0$  여기 스펙트럼상의 각 측정 파장에서는 200번 이상의 레이저 펄스를 평균화하여 사용함으로서 분석에 충분한 S/N를 가진 스펙트럼을 얻었다. 모든 여기 스펙트럼은 신호처리기(GPIB)를 IBM-PC와 공유시켜 얻었다. 얻어진 데이터는 Sigma Plot(version 5.0, Jandel Co.)을 이용하여 분석하였다. 여기스페트럼은 Lorentzian-Gaussian 식인  $I = \exp\{-0.5[(x-W)/L]^2\}/\{(x-W)/L\}^2 + 1\}$ 을 Marquardt 비선형(non-linear regression)식과 Simplex 프로그램을 사용하여 풀었다.<sup>17</sup> 여기서,  $I$ 는 피크세기,  $W$ 는 피크위치 그리고  $L$ 은 선폭을 나타낸다.<sup>18</sup>

Eu(III)-휴믹산 치화합물의 여기스페트럼은 일정량

의 Eu(III) 모액과 분자량별 휴미산 용액 시료를 혼합하여 준비한 시료 용액을 1.0 cm 석영 형광용기에 넣은 후, 평형을 위하여 48시간 동안 방치한 후 얻었다. 본 실험에서 사용한 휴미산 시료는 사용에 앞서 40-100 mesh의 Dowex 50W-X12 ( $\text{Na}^+$ ) 이온교환 수지와 산·염기 침전법(acid-base precipitation method)을 이용하여 정제함으로서 금속이온 불순물을 제거하였다.<sup>19</sup> 또한, Eu(III) 모액의 농도(0.01 M)는 일정량의  $\text{Eu}_2\text{O}_3$  (99.99% Aldrich Chemical Co.)를 conc.  $\text{HClO}_4$ 에 녹인 후, 완충제인 20% hexaethyltetraamines과 지시약으로서 xylene orange를 첨가한 후 EDTA 적정을 통하여 결정하였다.<sup>20</sup> 분석 시료 용액의 최종 [Eu(III)] 농도는  $1.0 \times 10^{-4}$  M이었고, 휴미산의 농도는 분자량별로 분리된 소부분 휴미산에 따라 470에서  $970 \text{ mg L}^{-1}$  범위이었다. 용액의 pH는 0.1 M  $\text{HClO}_4$ 를 사용하여 조정하였으며, Eu(III)의 수화반응(hydrolysis)으로 인한 오차를 고려하여하여  $5.0 \pm 0.1$ 로 맞추었다. 모든 실험은 실온( $23^\circ\text{C}$ )에서 수행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 휴미산의 특성 규명

##### 3.1.1. 분자량별 분리

$200 \text{ mg L}^{-1}$  (pH 8.5, 이온강도 0.1 M  $\text{NaClO}_4$ )의 농도 조건에서 분자량 크기별 분리 결과, 분리과정에서의 pH 변화( $\pm 1$  unit) 및 이온강도의 변화에도 불구하고 재현성 있는 결과를 얻을 수 있었다.<sup>21</sup> 위의 실험조건에서 분자량 크기별로 얻어진 3개 소부분과 각각의 무게 함량 페센트는 다음과 같다. 1-10 kDa ( $F_1$ )이 10.0%, 10-50 kDa ( $F_2$ )이 42.2%, 100-300 kDa ( $F_3$ )이 8.3% 이었다.

##### 3.1.2. IR 스펙트럼

분자량별로 분리된 소부분 휴미산과 unfractionated 휴미산의 IR 스펙트럼을 Fig. 1에 나타내었다. 모든 스펙트럼에서 휴미산의 전형적인 특성 흡수띠에 해당하는  $3,400 \text{ cm}^{-1}$  (H-bonded O-H 신축),  $2,900 \text{ cm}^{-1}$  (지방족 C-H 신축),  $1,600$ - $1,650 \text{ cm}^{-1}$  ( $\text{COO}^-$ 의  $\text{C}=\text{O}$  신축 또는 ketonic  $\text{C}=\text{O}$  신축 및  $\text{COO}^-$ 와 짹지은 방향족  $\text{C}=\text{C}$ ),  $1,400 \text{ cm}^{-1}$  (지방족 C-H 굽힘 및  $\text{COO}^-$ 의 비대칭 신축) 등이 관찰되었다.<sup>22</sup> 따라서 3개의 소부분 휴미산과 unfractionated 휴미산 분자의 작용기 기본 특

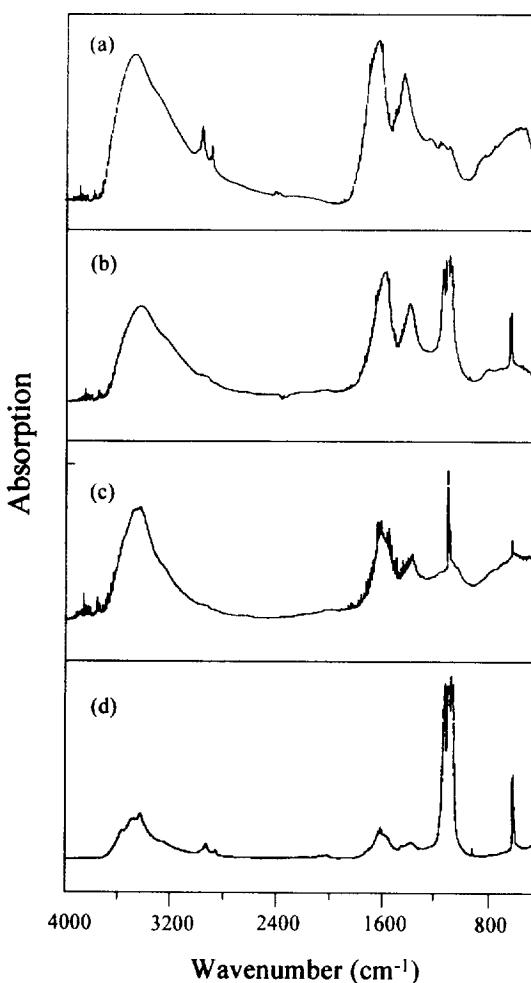


Fig. 1. Infrared spectra of humic acids of different molecular size ranges. (a) unfractionated, (b)  $F_1$  (1-10 kDa), (c)  $F_2$  (10-50 kDa), (d)  $F_3$  (100-300 kDa).

성이 서로 유사함을 알 수 있었다. 그러나 각 작용기 함량의 상대적인 분포 차를 제시해주는 띠의 세기는 다소 간의 차이점이 발견되었다. 100,000 daltons 이상의 고 분자량 성분인  $F_3$  스펙트럼은 다른 소부분 휴미산의 스펙트럼에 비하여 지방족 C-H 결합 신축 영역인  $2,900 \text{ cm}^{-1}$ 에서 비교적 강한 흡수띠가 나타났으며, 카르복실기 및 벤젠고리의 탄소 이중결합에 의한 영역인  $1,620 \text{ cm}^{-1}$ 과  $3,400 \text{ cm}^{-1}$ 의 흡수띠 세기는 상대적으로 낮게 나타났다. 반면, 50,000 daltons 이하의 분자량 성분인  $F_1$ 과  $F_2$  스펙트럼은  $1,620 \text{ cm}^{-1}$ 에서 강한 흡수띠를 보였으며,  $2,900 \text{ cm}^{-1}$ 에서는 매우 약한 흡수

띠를 보였다. 이러한 결과는 분자량이 큰 휴미산 분자가 높은 지방족 특성을 보이며, 상대적으로 방향족과 카르복실산 작용기 함량은 작은 분자량의 휴미산 분자에서 더 높다는 것을 의미한다. 한편, *unfractionated* 휴미산의 스펙트럼 (Fig. 1a)에서는 관찰되지 않은 1,050-1,150 cm<sup>-1</sup>에서의 강한 흡수띠가 소부분 휴미산의 스펙트럼에서 관찰되었다. 이 흡수띠는 Si-O 결합을 가진 불순물의 존재를 나타내는 것으로서, 한의여과 분리과정에서 휴미산 용액을 담아 놓는데 사용한 섬유유리 (fiberglass) 재질의 저장용기 (reservoir) 내벽에서 녹아 나온 것으로 판단된다.

### 3.1.3. C-13 NMR 스펙트럼

분자량별 3개의 소부분 휴미산과 *unfractionated* 휴미산 분자의 기본 구조에 대한 보다 직접적인 정보를 주는 CP/MAS C-13 NMR 스펙트럼을 Fig. 2에 나타내었다. 모든 스펙트럼은 0-90 ppm (지방족 탄소)에서의 강한 피크, 110-160 ppm (방향족 탄소)과 160-190 ppm (카르복실 탄소)에서의 넓은 피크들로 이루어진 휴미산의 전형적인 C-13 NMR 피크 특성을 나타내었다.<sup>14</sup> 이러한 결과는 분자량별 분리에도 불구하고 소부분 휴미산 분자의 기본 구조는 상호간에 유사하며, *unfractionated* 휴미산과도 유사함을 나타낸다. 각 탄소 형태의 분포에 대한 정량적인 정보를 얻기 위하여 문헌에 보고된 방법에 따라 분석하였고,<sup>14</sup> 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 정량분석 결과 휴미산 분자내 탄소 형태의 상대적인 함량 분포는 분자 크기에 따라 다르게 나타났다. 100,000 daltons 이상의 높은 분자량을 가진 휴미산 ( $F_3$ ) 분자는 매우 높은 지방족 탄소 (71%)와 상대적으로 낮은 방향족 탄소 (20%) 및 카르복실산 탄소 (9%)를 가진 분자 구조를 가지는 반면, 50,000 daltons 이하로 분자량이 작은 휴미산 ( $F_1$ ,  $F_2$ ) 분자는 상대적으로 높은 함량의 방향족 탄소 (40-41%)와 카르복실기 탄소 (16-17%)로 이루어진 분자 구조를 가지고 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 앞서 IR 스펙트럼의 분석에서 얻어진 결과와도 일치한다. 이와 같은 휴미산의 분자 구조에서의 차이점은 자연계에서의 금속이온과의 반응 및 거동 (migrational behaviour)에 영향을 끼칠 수 있다.<sup>7</sup>

### 3.1.4. pH 적정 데이터

Fig. 3은 소부분 휴미산 시료 중  $F_3$  (100-300 kDa)에 대하여 얻어진 pH 적정곡선 (Fig. 3a) 및 1차 미분 곡

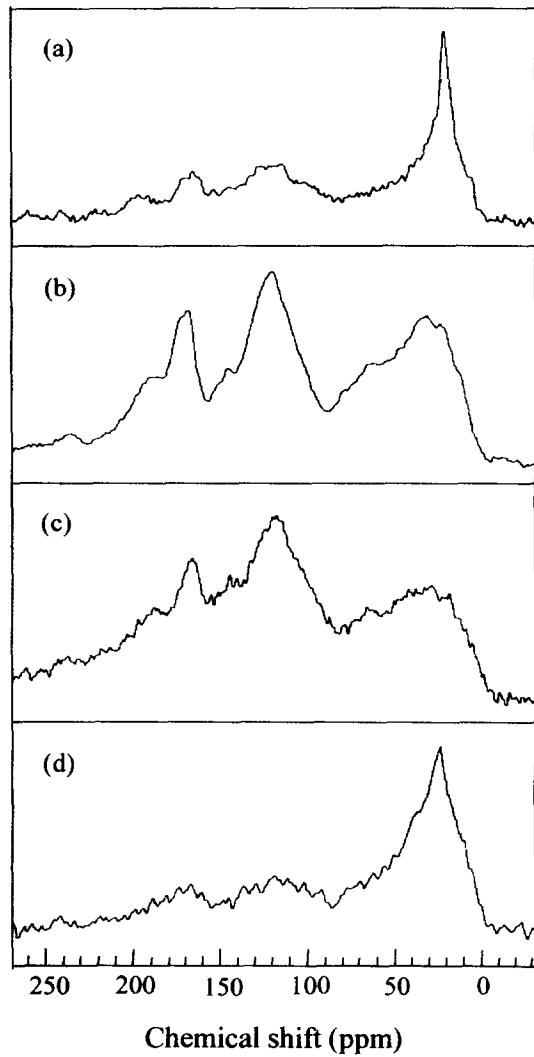


Fig. 2. Solid-state C-13 NMR spectra of humic acids of different molecular size ranges. (a) *unfractionated*, (b)  $F_1$  (1-10 kDa), (c)  $F_2$  (10-50 kDa), (d)  $F_3$  (100-300 kDa).

Table 1. The relative intensities of different type of carbons in humic acids determined by solid state C-13 NMR spectroscopy

Size Fraction (kDa)	C <sub>aliphatic</sub> (ppm)	C <sub>aromatic</sub> (ppm)	C <sub>carboxyl</sub> (ppm)	C <sub>arom/</sub> C <sub>aliph</sub>
<i>Unfractionated</i>	55±2	31±2	14±2	0.56
$F_1$ (1-10 kDa)	42±2	41±2	16±2	0.95
$F_2$ (10-50 kDa)	43±2	40±2	17±2	0.93
$F_3$ (100-300 kDa)	71±2	20±2	9±2	0.28

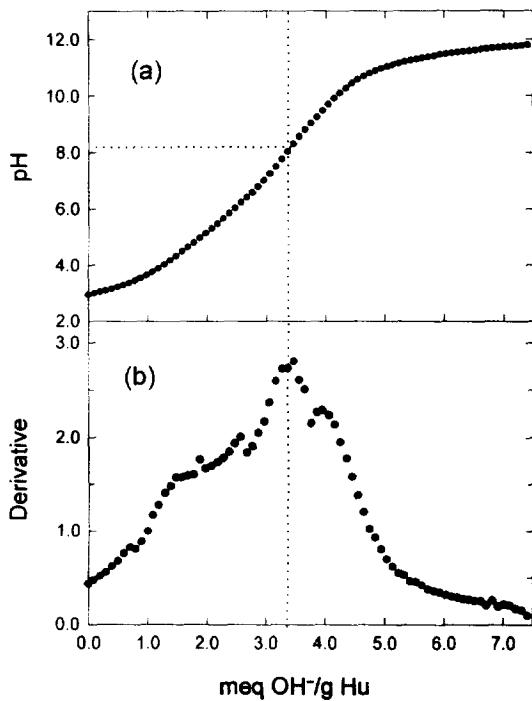


Fig. 3. (a) pH titration curve of F<sub>3</sub> fraction ( $I=0.1\text{ M NaClO}_4$ ) and (b) Its first derivative curve.

Table 2. Carboxyl group concentrations and  $pK_{a(\text{avg})}$  ( $\alpha=0.5$ ) values for humic acid fractions

Size fraction (kDa)	$-\text{COOH}$ ( $\text{meq g}^{-1}$ HA)	Average $pK_{a(\text{avg})}$ ( $\alpha=0.5$ )
<i>Unfractionated</i>	$4.38 \pm 0.05$	$4.26 \pm 0.03$
F <sub>1</sub> (1-10 kDa)	$5.75 \pm 0.05$	$3.67 \pm 0.03$
F <sub>2</sub> (10-50 kDa)	$4.77 \pm 0.02$	$4.40 \pm 0.01$
F <sub>3</sub> (100-300 kDa)	$3.31 \pm 0.05$	$4.67 \pm 0.03$

선 (Fig. 3b)을 나타낸다. Fig. 3b의 최대 피크위치로부터 F<sub>3</sub> 휴믹산 분자의 카르복실기 함량은 3.31 meq g<sup>-1</sup>임을 알 수 있었고, 이 때의 pH 값은 8.2이었다. 휴믹산의  $pK_a$  값은 카르복실산 작용기의 이온화도 ( $\alpha$ )가 증가함에 따라 산도의 세기가 커지는 다전해질 (poly-electrolyte) 특성을 보였다. 따라서  $\alpha=0.5$ 에서의  $pK_a$  값을 얻었고, 휴믹산 분자의 카르복실산의 평균 산도 ( $pK_{a(\text{avg})}$ )로 나타내었다. 다른 휴믹산 시료에 대하여도 위와 같은 방식으로 pH 적정 실험 결과를 분석하여 카르복실기 함량 (meq g<sup>-1</sup>)과  $pK_{a(\text{avg})}$ 을 구하였고, 얻

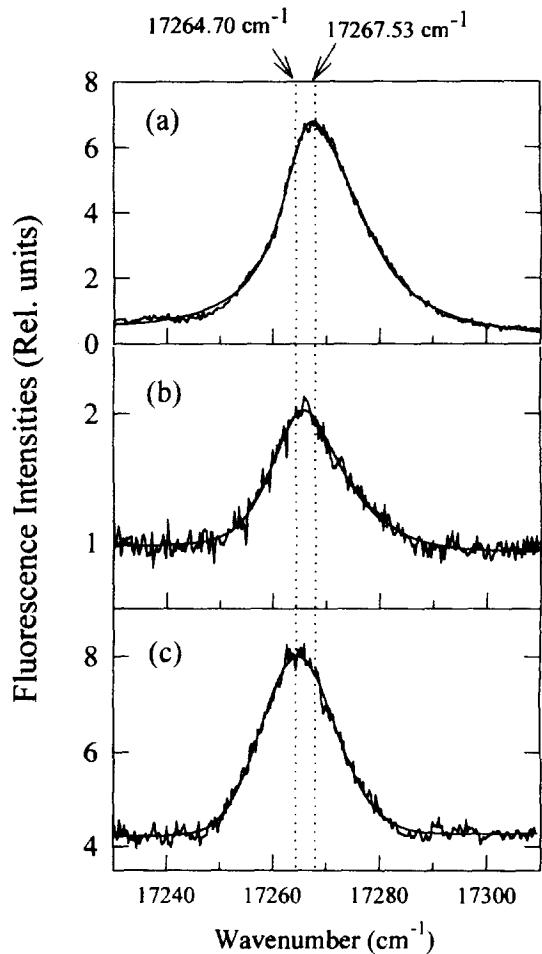


Fig. 4. The 7F<sub>0</sub>-5D<sub>0</sub> selective excitation spectra of Eu (III) complexes with fractionated HA into different molecular sizes that have been deconvoluted by Lorenzian + Gaussian shaped curve. [Eu (III)] : [-COO-] = 1 : 20; [Eu (III)] =  $1.0 \times 10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$ ; pH =  $5.0 \pm 0.1$ ; (a) F<sub>1</sub> (1-10 kDa), (b) F<sub>2</sub> (10-50 kDa), (c) F<sub>3</sub> (100-300 kDa);  $\lambda_{\text{em}} = 616\text{ nm}$ .

어진 결과를 Table 2에 나타내었다. 그 결과 휴믹산의 분자량이 감소함에 따라 카르복실산의 함량이 증가하였으며, 산의 세기를 나타내는  $pK_a$  값은 감소하였다. 이러한 결과는 분자 크기가 작은 휴믹산 분자일수록 높은 함량의 카르복실산을 포함하며 더 강한 산도를 가짐을 나타낸다.

### 3.2. Eu (III)-휴믹산 쌍물의 $^7\text{F}_0-^5\text{D}_0$ 여기스펙트럼 분자량별로 분리된 소부분 휴믹산의 금속이온에 대

Table 3. Parameters used in deconvolution of excitation spectra of EuHA complexes in Fig. 4

	[Eu (III)] : [-COO <sup>-</sup> ]* = 1 : 20	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>
		1-10 (kDa)	10-50 (kDa)	100-300 (kDa)
Intensity**	149.0814	21.04622	73.03247	
Wave number (cm <sup>-1</sup> )	17267.53	17266.02	17264.87	
Line width (cm <sup>-1</sup> )	18.00074	16.29454	16.85556	
Height**	6.446507	1.066038	3.868263	
Base line intensity**	0.197624	0.932415	4.202103	

\*\*arbitrary units; \*[-COOH<sup>-</sup>] = (HA) (mg L<sup>-1</sup>) × total carboxylic contents (meq g<sup>-1</sup>) × degree of ionization at pH 5.0 (%)

한 결합 특성의 차이점을 비교하기 위하여 Eu(III)-휴믹산 착물의 여기스펙트럼을 얻었고, 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 모든 스펙트럼은 동일한 Eu(III): 휴믹산 농도 비(20:1) 및 pH 5.0의 조건에서 얻었다. 휴믹산의 농도(eq L<sup>-1</sup>)는 앞서 pH 적정법으로 결정한 각 휴믹산의 카르복실산 농도(meq g<sup>-1</sup>)를 사용하여 결정하였다(see Table 2). 얻어진 여기스펙트럼은 Lorenzian-Gaussian 식을 이용하여 해석하였고, 그 결과를 Table 3에 나타내었다. <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 여기스펙트럼의 형광세기는 F<sub>1</sub>에 비하여 F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>와의 착물에서 상대적으로 더 낮게 나타났다. 또한 바탕신호 세기도 F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> 시료에서 높게 나타났다. 이러한 결과는 카르복실산 함량이 낮은 F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> 시료에 있어서 동일한 Eu: 휴믹산 농도비(1:20)를 맞추기 위하여 상대적으로 더 높은 농도(g L<sup>-1</sup>)의 휴믹산 시료를 첨가했기 때문으로 사료된다. 휴믹산은 가시광선 영역의 빛에 대하여 높은 흡수율을 가질 뿐만 아니라 휴믹산과 결합된 금속으로의 에너지 이동(energy-transfer) 등을 통한 소광(quenching) 현상을 유발하는 것으로 알려져 있다.<sup>17</sup>

Eu(III)-휴믹산 착물의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 여기스펙트럼의 최대 피크 위치는 17,267.53 cm<sup>-1</sup>과 17,264.70 cm<sup>-1</sup>의 범위에 있었으며, 분자량이 커질수록 낮은 에너지 쪽으로 이동(red shift)하였다. 착물 형성에 따른 더 낮은 에너지로의 Eu(III)의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 여기스펙트럼의 최대 피크 위치의 이동은 금속-리간드 결합의 공유 결합성의 증가<sup>23</sup> 및 리간드 배위에 따른 금속이온의 유효 핵 전하 감소 등에 기인한 것으로 보고되고 있다.<sup>24</sup> 한편, Choppin *et al.*<sup>23</sup>은 카르복실산 작용기를 가진 다양한 형태의 유기산과 Eu(III)이온과의 착물에 대한 배위

수와 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 여기스펙트럼의 최대 피크 위치와의 관련성을 연구하였고, 최대피크위치는 총 리간드 배위수(total ligand coordination number, N<sub>CN</sub>)와 N<sub>CN</sub> = 0.237Δν + 0.628의 관계를 가짐을 보였다. 여기서, Δν는 순수하게 H<sub>2</sub>O만 배위된 상태의 Eu(III)의 <sup>7</sup>F<sub>0</sub>-<sup>5</sup>D<sub>0</sub> 여기스펙트럼의 최대 피크위치와 리간드가 배위된 상태의 최대 피크위치와의 차이를 의미한다. 본 실험에서 H<sub>2</sub>O만 존재하는 상태의 Eu(III)-용액 ([Eu(III)] = 1 × 10<sup>-4</sup>, 0.1 M NaClO<sub>4</sub>, pH 5.0)에 대하여 얻어진 최대 피크 위치는 17,275.82 cm<sup>-1</sup>이었다. Eu(III)-휴믹산 착물에 대하여 얻어진 최대 피크위치를 위 식을 이용하여 해석한 결과, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>의 N<sub>CN</sub>값은 각각 2.58, 2.95, 3.26으로서 휴믹산 분자의 분자량이 커짐에 따라 금속이온과의 배위수가 증가하는 경향을 볼 수 있었다.

이러한 결과는 분자량에 따른 휴믹산 분자의 구조적 특성의 차이와 관련되어 해석할 수 있다. 휴믹산의 분자 구조를 제안한 다수의 문헌에 따르면, 일반적으로 높은 방향족 성분을 가진 휴믹산 분자일수록 지방족 성분을 높게 함유한 휴믹산 분자에 비하여 좀 더 복잡하고, 유연성이 낮은(e.g., rigid) 구조적 특성을 가진 것으로 알려져 있다.<sup>25, 26</sup> 본 연구에서 얻어진 휴믹산의 C-13 NMR 스펙트럼 분석 결과(Table 1), 100,000 daltons 이상의 큰 분자량을 가진 휴믹산(F<sub>3</sub>) 분자는 매우 높은 지방족 탄소 함량(71%)을 가지며, 50,000 daltons 이하의 분자량을 가진 휴믹산(F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>) 분자는 상대적으로 높은 함량의 방향족 탄소(-40% vs 20%)를 가짐을 확인하였다. 분자의 방향족성(aromaticity)을 나타내는 값(C<sub>arom</sub>/C<sub>aliph</sub>)은 F<sub>3</sub>에 대하여 0.28인 반면, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>는 각각 0.95, 0.93으로 매우 높게 나타났다. 이상의 결과로 볼 때, 큰 분자량을 가진 휴믹산 분자와의 Eu(III) 착물의 여기스펙트럼에서 관찰된 배위수 결합자리의 증가는 높은 함량의 방향족 탄소로 이루어진 분자의 유연성(flexibility)에 기인한 것으로서, 분자 크기가 클수록 휴믹산은 좀 더 용이한 형태변환(conformational changes)을 통하여 Eu(III) 이온과의 결합성이 높아지기 때문에 사료된다.<sup>27</sup>

#### 4. 결 론

본 연구에서는 한외여과법을 이용하여 분자량별로 분리된 휴믹산 분자의 구조적 차이점을 규명하였고, 각 휴믹산과 Eu(III) 이온과의 결합특성을 Eu(III) 발

광분광법을 이용하여 조사하였다. 그 결과 분자량에 따른 휴믹산 분자의 구조적 특성의 차이점 및 부식산과 금속이온과의 결합 특성의 차이점을 밝힐 수 있었다. CPMAS C-13 NMR 스펙트럼 분석 결과 휴믹산의 분자 크기가 클수록 지방족 탄소의 함량이 높았으며, 분자크기가 작을 수록 방향족 탄소의 함량과 카르복실기 탄소의 함량이 높았다. pH 적정 테이터의 분석 결과로부터 휴믹산의 분자 크기가 작을수록 높은 함량의 카르복실산을 포함하며 더 강한 산도를 가짐을 확인하였다. 분자량 크기에 따른 이러한 기본 구조 및 산성 작용기 함량의 차이점은 수용액에서의 휴믹산의 용해도 및 금속이온과의 결합 능력에 영향을 미칠 수 있다. 특히, 분자 크기가 큰 휴믹산 일수록 높은 지방족 특성으로 인하여 분자의 유연성이 더 커지며, 금속이온과의 결합에 있어서 더 많은 결합자리를 가진 차물을 형성할 수 있음을 제시하였다. Eu(III)-휴믹산 차물의  ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_0$  여기스펙트럼 분석 결과, 분자량이 큰 휴믹산 분자일수록 금속이온과 반응하는 결합자리의 수가 증가함을 확인하였다.

### 감사의 글

이 논문은 서울산업대학교 교내 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음에 감사드립니다.

### 참고문헌

1. F. J. Stevenson, "Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions", Wiley, New York, 1994.
2. J. Buffle, "Complexation reactions in aquatic systems", Ellis Horwood Limited, New York, 1988.
3. J. I Kim, "Chemical behaviour of transuranic elements in natural aquatic systems", In Handbook on the physics and chemistry of the actinides, eds. Freeman, A. J. and Keller, C., Elsevier Science Publishers B. V., 1986.
4. S. A. Green, F. M. M. Morel and N. V. Blogh, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 294-301 (1992).
5. M. Fukushima, S. Tanaka, H. Nakamura and S. Ito, *Talanta*, **43**, 383-390 (1996)
6. H. S. Shin, H. Moon, H. B. Yang and S. S. Yun, *J Korean Chem. Soc.*, **39**, 66-70 (1995).
7. L. Rao and G. R. Choppin, *Radiochim. Acta*, **69**, 87-95 (1995).
8. F. S. Richardson, *Chem. Rev.*, **82**, 541-552 (1982).
9. W. D. Jr. Horrock and D. R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 334-340 (1979).
10. H. Y. Ke, E. R. Birnbaum, D. W. Darnall, G. D. Rayson and P. J. Jackson, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 782-788 (1992).
11. Y. T. Yoon, H. Moon, Y. J. Park and K. K. Park, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 2139-2147 (1994).
12. H. S. Shin, S. W. Rhee, B. H. Lee and H. C. Moon, *Org. Geochem.*, **24**, 523-529 (1996).
13. J. Buffle, P. Deladdy and W. Haerdi, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **35**, 4255-4259 (1973).
14. R. L. Wershaw and M. A. Mikita, "NMR of Humic Substances and Coal", Lewis Publisher, Michigan, 1987.
15. S. Lis and G. R. Choppin, *Mat. Chem. Phys.*, **31**, 159-165 (1992).
16. J. I. Kim, H. Wimmer and R. Klenze, *Radiochim. Acta*, **54**, 35-41 (1991).
17. G. F. De Sa, L. H. A. Nunes, Z. M. Wang and G. R. Choppin, *J. Alloys Comp.*, **196**, 17-23 (1993).
18. W. MaNemar and Jr. W. D. Horrocks, *Appl. Spectrosc.*, **43**, 816-822 (1989).
19. K. L. Nash and G. R. Choppin, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **42**, 1045-1050 (1978).
20. J. Korbl and R. Pribil, *Chemist Analyst*, **45**, 102-107 (1956).
21. J. H. Reuter and E. M. Perdue, *Geochim. Cosmochim. Acta* **45**, 2017-2022 (1981).
22. F. J. Stevenson and K. M. Goh, *Geochim. Cosmochim. Acta* **35**, 471-482 (1971).
23. G. R. Choppin and Z. W. Wang, *Inorg. Chem.*, **36**, 249-254 (1997).
24. M. Albin and D. Jr. Horrocks, *Inorg. Chem.*, **24**, 895-900 (1985).
25. H. S. Shin and H. C. Moon, *Soil Sci.*, **161**, 250-256 (1996).
26. K. Murray and P. W. Linder, *Soil Sci.*, **34**, 511-520 (1983).
27. J. A. Marinsky and W. M. Anspach, *J. Phys. Chem.*, **79**, 439-444 (1975).