

물 중의 Humic Acid 분리

육근성[†] · 김용화*

국립기술품질원 공업용수시험과

*한국화학연구소 환경독성연구실

(1995. 10. 9. 접수)

Isolation of Humic Acid from Water

Keun-Sung Yook[†] and Yong-Hwa Kim*

Industrial Water Testing Division, NITQ, Kwachun 427-010, Korea

*Environmental Toxicology Lab., KRICT, Taejon 305-600, Korea

(Received Oct. 9, 1995)

1. 서 론

수계에 녹아 있는 Humic acid(HA)는 화합물질과 결합하여 화합물질의 독성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 연구의 대부분은 실제 환경에서 HA를 분리, 정제하여 실험에 필요한 양을 확보하는 어려움 등으로 인하여 상업용 HA를 사용하고 있다. 그러나 실제 자연환경 중의 HA는 Aldrich HA 등과 같은 상업용 HA와는 조성이나 반응성이 다른 것으로 보고되었다.¹⁻⁴ 따라서 본 연구에서는 실제 자연상태의 HA 종류에 따른 화합물의 결합 크기와 독성의 차이를 규명하기 위한 준비단계로 자연수 중에서 HA를 분리, 정제하는 방법을 확립하고 그 가능성을 조사하며, 이제까지 보고된 바가 없는 실제 우리나라 수계 중의 HA 농도를 측정하고자 하였다.

한편, 연구에 널리 사용되고 있는 Aldrich HA는 약 60% 정도의 ash를 함유하고 있는 것으로 보고되었다.⁵ 이와 같이 높은 비율의 ash는 HA 중의 dissolved organic carbon이 화합물질과 결합하는 데 방해가 될 것으로 예상된다. 따라서 HA와 화합물질간의 결합을 정확히 측정하기 위하여 ash를 제거하는 일이 필요하며, 이를 위하여 일반적인 원심분리법과 원심분리와 dialysis를 병행한 두 가지 방법을 비교하였다.

2. 실험

2. 1. 시약

Humic acid(sodium salt)는 Aldrich사의 technical grade를, dialysis tubing은 미국 Spectrum사의 Spectra/Por 6(MWCO 1000 daltons)를 사용하였다. XAD-8 resin(pore size, 0.3~1.2mm)은 Serva사의 practical grade를, microporous cation resin인 AGMP-50(100~200 mesh, hydrogen form)은 Bio-Rad사의 analytical grade 제품을 사용하였으며, 이외에 실험에 필요한 시약은 모두 특급을 사용하였다.

2. 2. 실험 방법

HA 분리는 Thurman 등⁶의 방법(Fig. 1)을 사용하였으며 먼저 Aldrich HA를 사용하여 다음과 같이 회수율을 조사하였다. 50mg의 Aldrich HA를 탈이온수에 녹여 10l 용액(5mg/l)을 만든 후, 35% HCl을 첨가하여 용액의 pH를 2로 조정하였다. 내경이 2.2cm인 유리관에 50g의 XAD-8 수지를 채운 후, MasterFlex 펌프(Cole-Parmer)를 사용하여 5mg/l HA 용액을 13.5~14ml/min 속도로 통과시켰다. 0.1 N-NaOH 250ml를 사용하여 XAD-8 걸름을 역방향으로 용리시켰다. 용리액의 pH를 2로 조절한 후, 10g의 XAD-8 수

지가 채워진 유리관(내경 1.0cm)에 흡착시킨 후, 0.1N-NaOH 100ml/를 사용하여 용리시켰다. NaOH 용액에 35% HCl을 첨가하여 pH 1로 만든 후, 냉장 고에 24시간 동안 방치하였다. 상온, 2,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 pore size가 0.2 μ m인 membrane filter(Whatman, WCN type)를 통과시켰다. Membrane filter에 있는 HA를 0.1N-NaOH 30ml에 용해시킨 후, 10ml의 AGMP-50이 채워진 유리관(내경 1.5cm)에 통과시켰다. HA 용액을 플라스크에 모아 freeze-dry(Labcon사 Freeze dry/Shell freeze system)시킨 후, vial에 옮겨 103~105 $^{\circ}$ C의 오븐에서 2시간 동안 건조한 후 무게를 측정하였다.

실제 야외에서 수집한 시료의 경우는, 먼저 10 μ m prefilter가 들어 있는 cartridge와 pore size가 0.45 μ m인 Groundwater Sampling Capsule filter(Gelman)를 통과시켜 입자를 제거한 후, 위 과정을 되풀이하였다.

Aldrich HA로부터 ash를 제거하기 위하여 다음 두 가지 방법을 비교하였다. 300mg의 Aldrich HA를 탈이온수에 녹여 300ml 용액을 만들었다(1,000mg/l). HA 용액을 25 $^{\circ}$ C, 9,000rpm에서 30분간 원심분리한 후, 0.45 μ m filter를 통과시켰다. 여과액 중 50ml를 취하여 freeze-dry시킨 후 오븐에서 2시간 동안 건조하여 무게를 측정하였다. 또 다른 방법으로는 filter를 통과한 여과액 중 30ml를 취하여 dialysis tubing에 넣는다. 탈이온수 1l가 담긴 비커에 dialysis tubing을 넣은 후 상온에서 24시간 동안 저어 주었다. Dialysis 후, tubing 안에 있는 시료를 freeze-dry한 다음 건조시켜 무게를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. 회수율

Aldrich HA를 사용하여 실험한 회수율 결과는

Table 1. Results of Aldrich HA Recovery Test

Input HA (mg/l)	Vol. of Sample (l)	Wt. of XAD-8 (g)	Recovered HA (mg)	%Recovery*
5	10	50	12.63	57.4
5	10	100	12.08	54.9

*56% of ash content was considered.

Mean = 56.2%

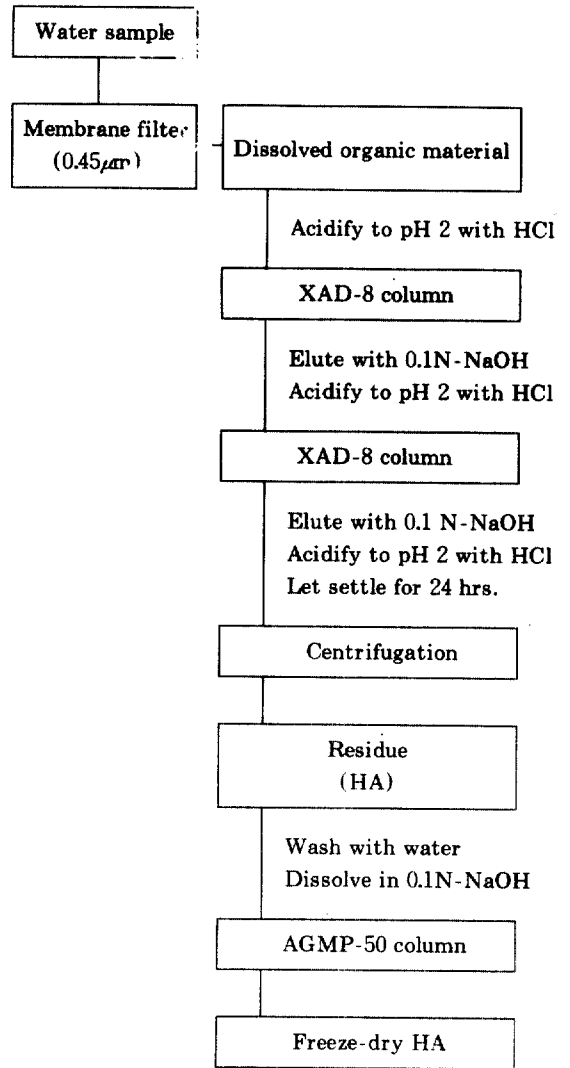


Fig. 1. Isolation procedures of HA from water.

Table 1과 같다. Table 1에서 5mg/l의 HA 용액을 통과할 경우, 사용한 XAD-8의 양은 50g과 100g간에 별 차이를 보이지 않았다. Aldrich HA의 ash량이 56%인 점을 고려하여 계산한 2회 반복실험의 평균 회수율은

56.2%였다. 대덕연구단지 근교의 야외에서 농업용수로 사용하기 위하여 모아 놓은 물 중 16l를 채취하여 100g의 XAD-8을 사용하여 위의 실험방법을 반복한 결과, 4.51mg의 HA를 얻었으며 56.2%의 회수율을 고려하여 계산한 실제 시료의 HA의 농도는 0.58mg/l를 나타내었다.

3. 2. Aldrich HA에서 ash 제거

Aldrich HA에서 ash를 제거하기 위하여 원심분리 방법과 원심분리와 dialysis를 병행한 방법을 비교하였으며 그 결과는 Table 2 및 Table 3과 같다. Table 2에서 원심분리에 의한 평균 ash 제거율은 28.1%이며, Table 3에서 원심분리와 dialysis를 병행한 경우의 평

균 ash 제거율은 42.4%를 보였다. Table 4의 성분분석 결과에서는 ash량이 Aldrich HA에 비해 각각 29%와 38%가 감소되어 Table 2, 3의 습식분석 결과와 거의 일치하였다. 이들 결과로부터 원심분리법이 24시간이 소요되는 dialysis와 비교할 때 간단하면서도 dialysis 못지 않게 효과적임을 알 수 있었다.

Table 4에서 sodium salt form인 Aldrich HA의 Na과 ash의 함유량은 각각 9.6%와 56%를 보였으며 ash량은 Carter 등의⁵ 결과와 거의 일치하였다. Ash를 줄이는 방법으로 많이 쓰이는 산-염기 처리법을 사용한 다른 연구결과⁵와 원심분리를 이용한 이 연구의 결과를 비교하면, 실험 후 남은 ash량이 각각 35.5%와 27%로 원심분리법이 간단하면서도 산-염기 처리법보다 ash 제거에 효과적임을 알 수 있었다. Na은 원심분리나 dialysis에 의해 거의 제거되지 않으며 XAD-8과 AGMP-50 등을 사용한 Thurman 등의 분리, 정제 방법을 통해서만 Na과 ash가 완전히 제거됨을 알 수 있었다.

Table 2. Ash Removal by Centrifugation

Amount of HA added(mg)	After centrifugation(mg)	Ash removal (%)
50	35.5	29.0
50	36.7	26.6
50	35.6	28.8

Mean ± S.D = 28.1 ± 0.9%

Table 3. Ash Removal by Centrifugation and Dialysis

Amount of HA added(mg)	After centrifugation and Dialysis(mg)	Ash removal (%)
30	18.03	39.9
30	17.05	43.2
30	16.80	44.0

Mean ± S.D = 42.4 ± 1.5%

4. 결론

물에서 HA의 회수율은 56.2%로 XAD-8 단계에서 많은 손실이 발생하며 이를 개선할 필요가 있다. 이 연구에서 측정된 0.58mg/l의 HA 농도는 학계에 보고된 자연수계 중의 세계 평균 HA 농도의 1/10~1/20에 해당된다. 따라서 우리나라의 경우 산림이 울창한 강원도의 수계에서나 세계 평균농도에 근접한 HA가 측정될 것으로 예상되며 HA 연구에 필요한 자연수 중의 HA를 분리, 정제하여 확보하는 일이 용이하지 않음을 뜻한다.

Aldrich HA에서의 ash 제거 방법으로는 원심분리

Table 4. Results of HA Composition Analysis(%)

Sample	C	H	N	Na	Ash*
Aldrich HA	51.74	2.80	<1	9.6	56
After centrifugation	43.80	2.60	<1	9.6	27
After centrifugation and dialysis	41.80	2.56	<1	7.1	18
After purification by XAD-8 and AGMP-50	51.74	2.80	<1	0.1	0

*Percent not volatile at 600°C

법이 간단하고 효과적이거나 XAD-8과 AGMP-50을 이용한 방법이 ash 및 Na를 완전히 제거함을 알 수 있다.

참고문헌

1. R. L. Malcolm and P. MacCarthy, *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 904-911(1986).
2. N. Sensi, T. M. Miano, M. R. Provenzano and G. Brunetti, *Sci, Total Environ.*, **81-82**, 143-156(1988).
3. C. T. Chiou, D. E. Kile, T. I. Brinton, R. L. Malcolm, J. A. Leenher and P. MacCarthy, *Environ. Sci. Technol.*, **21**, 1231-1234(1987).
4. D. Grasso, Y. Chin and W. J. Weber, Jr., *Chemosphere*, **21**, 1181-1197(1990).
5. C. W. Carter and I. H. Suffet, *Environ. Sci. Technol.*, **16**, 735-740(1982).
6. E. M. Thurman and R. L. Malcolm, *Environ. Sci. Technol.*, **15**, 463-466(1981).

Abstract : 56.2% of Aldrich HA was recovered from water by XAD-8 and AGMP-50 procedure. With this method, 0.58mg/l of HA was determined in the water collected from irrigation reservoir near Tae Dok Science Town. For the removal of ash from Aldrich HA, centrifugation was simple, but as effective as dialysis. Neither centrifugation nor dialysis removed Na at all. Only with XAD-8 and AGMP-50 procedure, Na and ash were completely removed.
