

pH에 따른 부식유기산의 메틸수은 결합 리간드 변화: X-선 흡수분석

윤소정^{1*} · William F. Bleam²

¹한국지질자원연구원 광물자원연구실

² 위스콘신대학교 토양학과

pH Dependence of CH₃Hg⁺-binding Sites in Humic Acid: An X-ray Absorption Study

Soh-joung Yoon^{1*} · William F. Bleam²

¹Mineral Resources Research Department, Korea Institute of Geoscience and Mineral Resources

²Department of Soil Science, University of Wisconsin

ABSTRACT

Mercury accumulates in biota mainly as methylmercury. In nature, methylmercury shows high affinity to organic matter and CH₃Hg⁺-organic matter complexation affects the mobility and bioavailability of methylmercury. In this study, we examined the methylmercury binding sites in an aquatic humic acid as affected by the pH condition using Hg L_{III}-edge extended X-ray absorption fine structure (EXAFS). We evaluated methylmercury binding humic ligands using methylmercury-thiol, methylmercury-carboxyl, and methylmercury-amine complexation models. When CH₃Hg⁺-to-humic reduced sulfur ratio is 0.3, we found that most of CH₃Hg⁺ binds to thiol ligands at pH 5 and 7. At pH 7, however, some carboxyl or amine ligand contribution is observed, unlike at pH 5 where CH₃Hg⁺ almost exclusively binds to thiol ligands. The carboxyl or amine ligand contribution may indicate that some types of thiol ligands in the natural organic matter have relatively low complexation constants or acid dissociation constants compared to those of some carboxyl or amine ligands. Analysis results indicate that ~0.2 fraction of methylmercury binds to amine or carboxyl ligands and ~0.8 to thiol ligands at pH 7.

Key words: Methylmercury, EXAFS, Complexation Ligands, Humic acid, 1R105H

1. 서 론

수은은 담수에서 주로 2가 이온(Hg²⁺)으로 존재하나 생물에 축적되는 수은은 주로 메틸수은(CH₃Hg⁺)이다. 무기수은의 메틸화는 pH, 온도, 산화환원전위 및 미생물군의 활동과 구조 이외에도 유기 또는 무기 착화제의 유무에 의해 크게 영향받는다(Ravichandran, 2004). 부식유기물의 양이 많은 토양에서는 무기수은의 메틸화 가능성이 높은 것으로 알려져 있는데(Porvari and Verta, 1995), 이는 유기물이 무기수은에 메틸기를 원활히 공급하기 때문으로 생각된다(Weber, 1993). 반면, 물속에 용해된 유기물은 오히려 수은의 메틸화를 저해하는데(Miskimmin et al., 1992; Matilainen and Verta, 1995), 이는 무기수은이 유

기물과 결합하여 착물을 형성하면서 메틸화 가능성이 낮아지기 때문으로 추정된다(Miskimmin et al., 1992). 수은의 메틸화 반응은 주로 미생물에 의해 이루어지고 미생물은 0가 또는 2가의 무기수은을 메틸화시키므로 무기수은의 유기물 결합은 미생물에 의한 수은의 메틸화를 저해할 것이다 (Ravichandran, 2004).

대체로 유기물이 존재할 경우 미생물의 수은 이용가능성이 줄어들며(Barkay et al., 1997; Al-Rease et al., 2011), 수은의 생물이용가능성은 유기물의 종류에 따라서도 달라진다(Yao et al., 2011). 이는 유기물마다 수은 결합 능력이 다르기 때문일 것이며, 따라서 수은의 유기물 결합에 대한 이해는 생물체 및 인간의 수은 노출을 최소화시키는데 도움이 될 것이다. 무기수은뿐 아니라 유기수

*Corresponding author : syoon@kigam.re.kr

원고접수일 : 2011. 12. 16 심사일 : 2011. 12. 22 게재승인일 : 2011. 12. 22

질의 및 토의 : 2012. 2. 29 까지

은의 자연 유기물과의 결합에 대한 이해 또한 수은과 관련된 생지화학적 과정을 이해하는데 필수적이다. 생성된 메틸수은은 유기물과 결합하면 더 쉽게 이동하기도 하고 생물로의 유입이 억제되기도 한다(Ravichandran, 2004).

무기수은(Hg^{2+})과 메틸수은은 부식물질과 강하게 결합하는데, 보고된 유기물의 무기수은과 메틸수은의 결합반응 $\log K$ 값은 각각 >30 (Skylberg et al., 2000)과 >10 (Hintelmann et al., 1995 & 1997)으로 무기수은이 메틸수은보다 더 강한 결합을 이루는 것으로 보인다(Tipping, 2007). 부식유기산은 그 분자량이 매우 크고 구조가 복잡하고 규칙성이 없어 부식산 내의 반응기에 대해서는 구체적으로 알려진 바 없으며 산소 함량이 비교적 높아서 카르복실기 등의 산소함유 작용기가 주 작용기일 것으로 생각되고 있다. 그러나 유기물 내 황의 양은 산소보다 적어도 환원황 함유 작용기는 수은을 더 강하게 선택적으로 결합하는 것으로 알려져 있다. 무기수은은 유기물의 황함유 작용기(티올기 -SH 등)에 먼저 강하게 결합되며 1개 또는 2개의 황 원자와 결합된다(Xia et al., 1999; Hesterberg et al., 2001; Skylberg et al., 2000; Nagy et al., 2011). 메틸수은 또한 유기물의 황함유 작용기와 먼저 선택적으로 결합하며(Yoon et al., 2005; Qian et al., 2002) pH 5의 환경에서 황함유 작용기(티올기)가 포화되면 산소함유 작용기에 결합한다(Yoon et al., 2005).

중성 pH에서는 유기물이 존재하면 미생물의 수은 흡수가 급격히 감소하며 이는 아마도 거대분자인 유기물의 반응기(특히 티올기)에 수은이 결합하면서 미생물 세포를 통과하지 못하기 때문일 것이다(Kelly et al., 2003). 그런데, pH가 중성에서 조금만 낮아져도 미생물의 수은흡수가 크게 증가하며 유기물이 존재하여도 흡수감소 정도가 현격히 줄어든다(Kelly et al., 2003). 수은의 메틸화 또한 수중 pH가 7에서 4까지 낮아지면 더 활발히 일어난다(Gilmour and Henry, 1991). 또 퇴적물에서는 pH 5 미만에서는 메틸화가 감소하며, pH가 낮아지면 퇴적물과 유기물에 붙어있던 메틸수은이 물속으로 방출된다(Gilmour and Henry, 1991; Hintelmann et al., 1995; Amirbahman, et al., 2002). 본 연구에서는 물속의 부식산과 메틸 수은의 반응을 통해 pH 변화에 따른 메틸수은 결합 유기물 반응기의 변화를 X-선 흡수 미세구조(extended X-ray absorption fine structure, EXAFS) 분석을 이용하여 관찰하였다. Yoon et al.(2005)의 연구에서 pH 5에서 수중 부식산의 환원황 함유량과 메틸 수은의 비율이 1:0.3 일 때 거의 모든 메틸수은은 환원황 반응기와 결합하였다. 이번 연구에서는 같은 실험조건에서 중성 pH에서도 모든

메틸수은이 황함유 작용기에 결합할 것인지 알아보았다.

2. 재료 및 방법

2.1. 유기물

본 연구에 사용된 부식유기물은 국제부식물협회(International Humic Substance Society, IHSS) 표준 수중 부식산 1R105H로서 노르웨이 북부 수중 부식산이다. 이 부식물의 화학성분은 각각 탄소 53.33, 산소 43.09, 질소 1.16, 황 0.58, 인 0.01, 재(ash) 0.31%(w/w)이다. 부식산 전체 황함유량의 34.7%가 티올 등 가장 높은 환원상태를 보이는 환원황이다(Yoon et al., 2005).

2.2. 유기물-메틸수은 착화반응

CH_3HgOH 수용액(1 M, Alfa Aesar)을 1.2% 부식산 용액에 첨가하여 KOH를 이용하여 pH를 7로 조절하고 CH_3Hg^+ 와 부식산 환원황과의 몰비가 0.3이 되도록 하였다. 최종 농도 2.3×10^{-4} M인 메틸수은 용액을 유기물과 24시간동안 평형을 이루도록 하여 냉동건조하였다. 냉동건조는 시료내 메틸수은의 함량을 변화시키지 않는다(Qian et al., 2000). 모든 메틸수은 용액 및 시료는 가스배출장치(fume hood)안에 보관하였고, 실험은 가스배출장치의 안전창을 손이 들어갈 정도로 열고 두겹의 니트릴 장갑을 낀 손을 넣어 실시하였다.

2.3. EXAFS 분석을 위한 실험적 참고 물질

티올기-메틸수은 착화 반응은 티올기 함유 이온교환 수지(Duolite GT73, Rohm and Hass)를 CH_3HgOH 수용액(1 M, Alfa Aesar)과 함께 메틸수은이 이온교환 수지의 1%(w/w)가 되도록 반응시켰다. 24시간 동안 평형을 이루도록 한 뒤 이온교환 수지를 증류수로 씻어 현탁액 상태로 보관하여 EXAFS 스펙트럼을 얻었다. 수은 티오시안산염($Hg(SCN)_2$, Alfa Aesar)을 질화붕소에 $Hg(SCN)_2$ 가 2%(w/w) 되도록 섞어서 얻은 EXAFS 분석은 Beauchamp and Goutier(1971)에 보고된 수은 티오시안산염 구조를 참고로 하였고, 분석결과에 의해 얻은 진폭감소인자(amplitude reduction factor)는 1.0이다(Yoon et al., 2005).

2.4. X-선 흡수 미세구조(Extended X-ray Absorption Fine Structure)

Hg L_{III} -흡수단 X-선 흡수 미세구조(extended X-ray absorption fine structure, EXAFS) 스펙트럼은 브룩헤이븐 미 국립연구소 국립입자가속기(NSLS, Brookhaven

National Laboratory)의 X10C와 X11A에서 얻었다. 냉동 건조된 시료를 1.5 mm 폴리카보넛 홀더에 넣어 켈톤 테이프(CHR-Furon)로 막은 창에 X-선이 쬐이게 하였다. X11A에서는 빔 강도를 10% 줄여 2차 또는 그이상의 고조파를 막았고 X10C에서는 거울을 장착하여 고조파를 막는 시스템을 갖고있어 빔 강도를 줄일 필요가 없었다. 형광 스펙트럼은 X11A에서는 Stern-Heald 형 이온챔버(Lytle et al., 1984)에 크립톤 가스를 충전하여 얻었으며 X10C에서는 다윈소 게르마늄 디텍터를 사용하였다. 모노크로메이터 에너지는 Hg L_{III} -흡수단 에너지(12,284 eV)와 근접한 셀레늄 K-흡수단 에너지(12,658 eV)에서 보정되었다. EXAFS 스펙트럼은 Hg L_{III} -흡수단 에너지를 기준으로 -150에서 700 eV까지 스캔하였다.

데이터 분석은 MacXAFS 버전 4.1(Bouldin et al., 1995)을 사용하여 각 시료마다 여러번 스캔한 데이터의 평균 스펙트럼을 얻고 다항 곡선 피팅으로 결합점들을 제거하였다. EXAFS 곡선은 흡수단 윗 부분을 3차 다항 스플라인으로 추출하였는데, 이 스플라인과 흡수단을 표준화된 스펙트럼에서 제거하여 EXAFS 곡선(k공간)을 얻었다. k^3 -가중치 EXAFS 곡선은 3-12 \AA^{-1} 범위에서 푸리에 변환시켜 반경분포함수(radial distribution function 또는 radial structure function, RSF)를 얻었다. 반경분포함수에서 각 피크는 유사한 거리의 원자군에 의한 X-선 산란을 의미하며, 주요 피크를 각기 k공간으로 재 변환하여 수은 원자로부터 유사한 거리에 있는 원자군에 의한 EXAFS를 각기 따로 분리시켰다.

메틸수은의 복합체 형성 모델 구조의 Hg L_{III} -흡수단 EXAFS는 FEFF version 6.01(Rehr et al., 1991)을 사용하여 계산하였다. 드바이월러 인자(Debye-Waller factor)의 초기값은 0.004 \AA^2 로 계산하였다. 계산된 EXAFS곡선을 참고로하여 푸리에변환으로 추출된 각각의 원자군 EXAFS곡선을 최소자승법으로 피팅하여 수은으로부터의 평균거리(R), 원자의 수(N), 드바이월러 인자(σ^2)를 구하였다. 흡수단 에너지 E_0 는 피팅과정에서 변수로 두었고 한 시료에서는 모든 주변 원자들이 같은 ΔE_0 를 갖도록 하였다. 수은 티오시안산염(mercury(II) thiocyanate)과 티올기 함유 이온교환 수지에 메틸수은을 반응시킨 시료를 실험적 참고물질로 사용하였다. 카르복실기 함유 이온교환수지와 메틸수은을 반응시킨 시료의 EXAFS는 Qian et al.(2002)에 보고되었으며 이는 다음에 설명된 메틸수은-카르복실기 구조를 FEFF로 계산한 EXAFS와 유사하다(Fig. 1). EXAFS 분석시 수은 티오시안산염 XAFS 스펙트럼의 제1거리 원자군(수은으로부터 가장 가까운 원자군,

first atomic shell)을 분석하여 얻은 진폭감소인자 1.0을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

이전 연구(Yoon et al., 2005)에서 메틸수은과 부식유기산 환원황의 몰비가 0.3인 시료의 Hg EXAFS 스펙트럼을 분석하여 pH가 5일때 거의 모든 메틸수은이 부식유기산의 황함유 작용기인 티올기와 반응하여 착물을 이루는 것을 밝혔다. 이번 연구에서는 pH 7에서 같은 부식유기산에 환원황과의 몰비가 0.3이 되도록 메틸수은을 반응시킨 시료에서도 거의 모든 메틸수은이 황함유 작용기와 착물을 형성할 것인지 알아보았다.

3.1. X-선 흡수 미세구조(EXAFS) 분석을 위한 메틸수은 착화합물 모델 구조

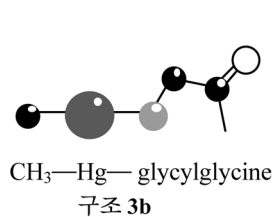
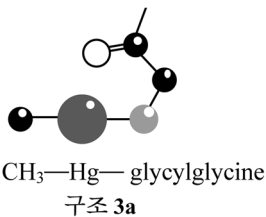
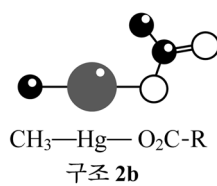
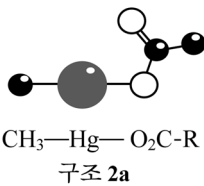
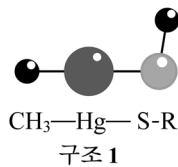
본 연구에서는 다음 부식물 리간드가 메틸수은과 결합하는 모델을 설정하여 실험 데이터를 분석하였다: 티올(-SH), 카르복실(-COOH), 아민(-NH₂). 티올기는 가장 부드러운 루이스 리간드로, HSAB 이론(Pearson, 1967)에 의하여 부드러운 산인 메틸수은과 가장 쉽게 결합할 것으로 기대된다. 카르복실기와 아민기는 딱딱한 루이스 리간드이지만 아민-메틸수은 복합체는 결합상수가 비교적 높고(log K 7.4~8.3), 카르복실기는 부식산에 가장 많이 존재하는 리간드이다.

메틸수은의 수은은 일직선상에 두개의 원자와만 결합하려는 강한 특성을 갖고 있다(Rabenstein, 1978). 이에 따라 메틸수은 이온은 유기물의 오직 한개의 리간드와만 결합한다(1:1 복합체 형성)고 가정하였는데, 이는 이전 연구에서 확인되었다(Yoon et al., 2005). 이 1:1 복합체에서는 수은 원자가 하나의 탄소(메틸수은의 메틸기)($N_C = 1$)와 하나의 리간드 원소($N_L = 1$)가 배위하는 제1거리 원자군을 갖는다. 이때 Hg-C 및 Hg-L 결합거리는 기준에 알려진 유기수은 화합물에서의 결합거리 및 결합-원자가 이론(Bond valence theory; Brown, 1981; Brese and O'Keeffe, 1991)을 통해 예측되는 결합거리와 비교하여 모델의 타당성이 검토될 것이다. 기준 결합거리의 초기값은 알려진 몇몇 티올기-메틸수은 착화합물 구조의 Hg-C와 Hg-S 결합거리의 평균값 및 다음에 기술된 구조 2와 구조 3에서의 수은과 주변원자간의 거리를 취하였다.

메틸수은과 유기물 리간드와의 결합 형태는 다음의 구조를 모델로하여 알아보았다(같은회색: 수은, 검은색: 탄소, 흰색: 산소, 큰 열은 회색: 황, 작은 열은 회색: 질소).

Table 1. Structural parameters of model structures (Yoon et al., 2005)

Binding ligand	Reference structure	Structure No.	Type of atom, [distance from Hg (Å)] and {bond distance between atoms (Å)}
Thiol	CH ₃ Hg ⁺ -thiol 1 : 1 complexes (Holloway and Melnik 1995)	1	C [2.09] S [2.38] -{1.81}- C [3.24]
Carboxyl	CH ₃ Hg ⁺ - <i>N</i> -acetyltryptophane complex (Corbeil and Beauchamp 1988)	2a	C [2.06] O [2.08] -{1.27}- C [2.78] -{1.21}- O [2.83] -{1.53}- C [4.24]
		2b	C [2.06] O [2.08] -{1.27}- C [2.78] -{1.21}- O [3.98] -{1.53}- C [2.66]
Amine	CH ₃ Hg ⁺ -glycylglycine complex (Alex et al. 1986)	3a	C [2.14] N [2.10] -{1.46}- C [3.05] -{1.53}- C [3.24] -{1.30}- O [2.69] -{1.31}- N [4.52]
		3b	C [2.14] N [2.10] -{1.46}- C [3.05] -{1.53}- C [4.29] -{1.30}- O [4.73] -{1.31}- N [5.23]



수은과 주변 원자의 거리 및 결합거리를 Table 1에 나열하였고 구조 1 및 구조 2(2a와 2b의 평균)와 구조 3(3a와 3b의 평균)에 따라 계산된 EXAFS와 반경분포함수를 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. 메틸수는 이온이 구조 1과 같은 황 함유 리간드(티올기)에 결합할 때, 수은 EXAFS의 반경분포함수(Fig. 2)에서 메틸기의 탄소와 리간드의 황에 의한 두개의 피크가 잘 구분되어 나타나는데, 이는 탄소($Z=6$)와 황($Z=16$)의 수은으로부터의 거리 차이가 충분히 크기 때문이다. 그러나, 구조 2이나 구조 3처럼 리간드의 산소($Z=8$)나 질소($Z=7$)는 메틸기의 탄소와 원자량이 유사하여 산란특성도 유사하며 수은으로부터의 거리 또한 유사하다(Table 1). 따라서 산소와 탄소 또는 질소와 탄소는 반경분포함수에서 하나의 피크로 나타나므로 반경분포함수에서 서로 구분되지 않는다.

위의 구조를 FEFF계산하여 각 구성 원소의 X-선 산란

강도를 확인한 결과, 산소, 질소, 탄소 등 가벼운 원소들은 수은으로부터 ~ 3.0 Å 이상의 거리에서는 산란강도가 매우 낮아져 중요하지 않으므로 ~ 3.0 Å 이상 거리의 원자는 무시할 수 있다. 구조 1의 경우 Hg-S-C 결합각도가 $\sim 100^\circ$ 정도로 낮아도 황에 결합한 탄소(제2거리 원자군)와 수은과의 거리는 3.0 Å 이상이다. 제2거리 원자군에 속한 탄소는 구조 1에서는 나타나지 않지만 구조 2와 구조 3에서는 3.0 Å 미만 거리의 제 2 거리 원자군에 의한 미세구조가 나타난다. 구조 2에서는 Hg-O-C 결합각도 $\sim 109^\circ$ 에서 산소에 결합한 탄소(제2거리 원자군)가 3.0 Å 미만의 거리에 존재하며, 제2거리 원자군의 탄소에 다시 결합한 탄소 또는 산소가 구조 2a와 구조 2b의 회전에 따라 3.0 Å 미만의 거리에 존재할 수 있다. 구조 3에서는 Hg-N-C 결합각도가 120° 에서 질소에 결합한 탄소가 ~ 3.0 Å 정도의 거리에 존재하며 구조 3a와 구조 3b의 회전에 따라 계속된 결합으로 이어진 산소가 3.0 Å 미만의 거리에 존재할 수 있다.

3.2. X-선 흡수 미세구조(EXAFS) 분석

pH 5 및 pH 7에서 반응한 메틸수은-부식유기산 시료의 EXAFS 곡선과 이들의 분석을 위하여 사용된 참고물질 및 모델구조에 의해 계산된 EXAFS 곡선을 Fig. 1에, 또 이들의 푸리에 변환된 반경분포함수를 Fig. 2에 나타내었다. 먼저 메틸수은과 반응한 티올기 함유 이온교환 수지의 Hg EXAFS 스펙트럼을 푸리에 변환시킨 반경분포함수(Fig. 2)에서 수은과 가장 가까운 첫번째 피크(반경분포함수의 가거리 ~ 1.5)는 메틸수은의 메틸기 탄소에 의한 산란이며 두번째 피크(반경분포함수의 가거리 ~ 2)는 티올기의 황에 의한 산란이다(Yoon et al., 2005). pH가 5일 때 메틸수은과 부식유기산 환원황과의 몰비가 0.3인 시료에서 Hg EXAFS 스펙트럼은 메틸수은과 반응한 티올기

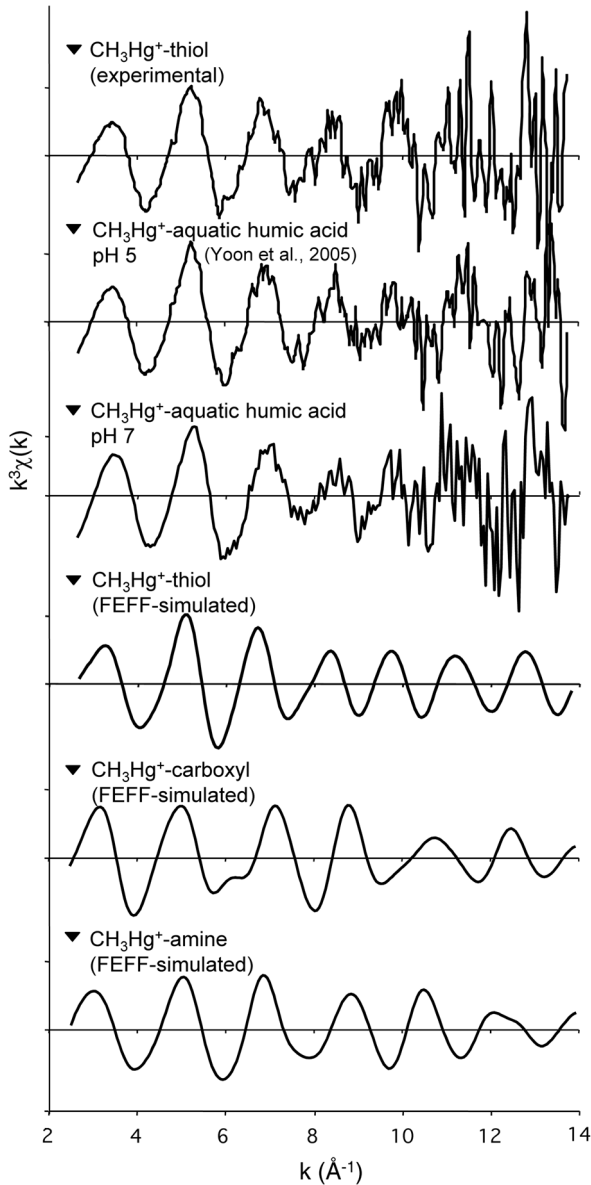


Fig. 1. Hg L₁₁₁-edge EXAFS scattering curves of CH₃Hg⁺-humic samples at the CH₃Hg⁺ to reduced sulfur ratio of 0.3 (pH 5 and 7) compared with those of experimental CH₃Hg⁺-thiol complex and of FEFF-simulated CH₃Hg⁺-ligand complexes for structures in Table 1.

함유 이온교환 수지의 Hg EXAFS 스펙트럼과 매우 유사하며 Yoon et al.(2005)의 연구에서 시료의 스펙트럼과 구조 1 기준 스펙트럼의 각 피크를 분리한 미세구조 파동 곡선들을 최소자승법으로 피팅한 결과, 수은에서 각각 2.07 Å의 거리에 탄소가, 2.37 Å의 거리에 황이 각각 ~1 개 정도 분포하는 것을 알았다. 이들 거리는 구조 1의 형태로 착물이 형성되었을 때의 원자간 거리이며 티올기(-SH) 이외에 -S-, -SS-, -SSH -SSSH 등의 작용기는 이전

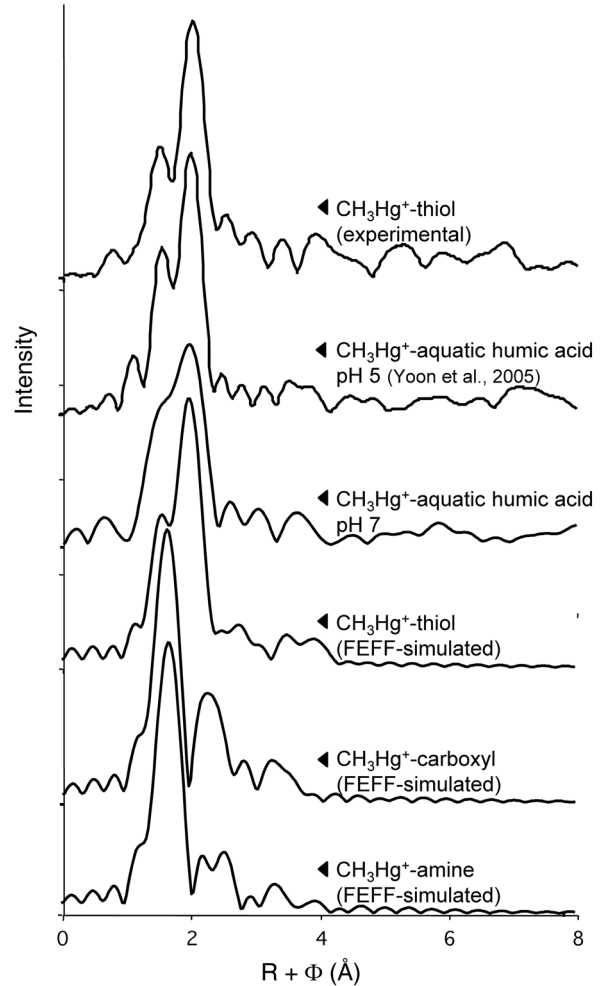


Fig. 2. Radial structure functions of Hg L₁₁₁-edge EXAFS of CH₃Hg⁺-humic samples at the CH₃Hg⁺ to reduced sulfur ratio of 0.3 (pH 5 and 7) compared with those of experimental CH₃Hg⁺-thiol complex and of FEFF-simulated CH₃Hg⁺-ligand complexes for structures in Table 1.

연구의 제2거리 원자군에 의한 EXAFS 분석에 의해 타당한 착물구조에서 제외되었다(Yoon et al., 2005). 그러나, pH 7에서 같은 반응을 시킨 시료의 EXAFS는 pH 5에서의 시료처럼 반경분포함수에서 두개의 피크가 확실히 구분되지 않는다. 메틸기의 탄소와 티올기의 황에의한 산란은 EXAFS에 여전히 나타나는 것으로 보이며 이는 티올기만이 메틸수은을 결합하고 있지 않고 다른 작용기 또한 메틸수은을 결합하기 때문일 것이다. 이에 따라 티올기 및 다른 산소함유 작용기(카르복실기) 또는 질소함유 작용기(아민기)로의 메틸수은 결합을 가정하여 이 구분되지않은 피크(Fig. 3, A영역) 를 푸리에 변환하여 k공간에서 최소자승법으로 피팅하여 이를 증명하였다.

푸리에 변환된 영역에는 (1) 메틸수은 메틸기의 탄소,

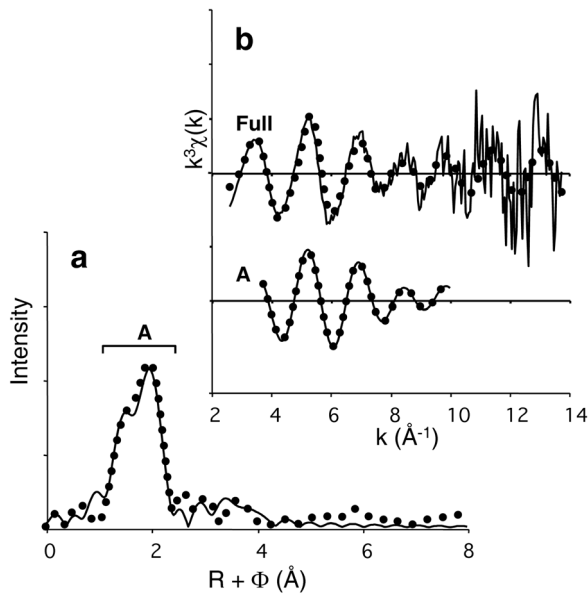


Fig. 3. Experimental (solid lines) and least-squares fitted (dotted lines) Hg L_{III}-edge EXAFS of CH₃Hg⁺-humic complex (CH₃Hg⁺ to reduced sulfur ratio of 0.3, pH 7) with the reference model of thiol- and carboxyl-complexes (a) radial structure function and (b) EXAFS scattering curves (full and Fourier-filtered (peak region A)). Fitting results appear in Table 2.

(2) 티올기의 황, (3) 카르복실기의 산소와 제 2 거리 원자군(산소 및 탄소) 또는 아민기의 질소와 제 2 거리 원자군(산소)의 산란이 포함되어 있다. 메틸수은은 유기리간드와 결합하여도 메틸기를 잃지 않으므로(Yoon et al., 2005) 피팅 시 탄소배위수 $N_{C1} = 1$ 로 고정시켰다. 티올기 황의 배위수는 카르복실기의 산소나 아민기의 질소의 배위수가 증가하면 상대적으로 감소한다. Yoon et al.(2005)에서의 결과에 따라 메틸수은은 하나의 부식산 유기 리간드와 결합하고 결합 시 메틸기를 잃지 않으므로 1:1 복합체 형성을 가정하였다. 이 때, 메틸수은의 수은원자는 하나의 메틸기 탄소와 하나의 리간드 원자와 결합하는데, EXAFS는 시료 내 모든 수은의 주변 구조를 평균하여 보여주므로 수은이 두개의 다른 리간드에 결합되어있다면 두 리간드 원자의 배위수 합이 1이 될 것이다. 그러므로, 본 EXAFS 분석에서는 $N_S + N_{O1} = 1$ (카르복실기) 또는 $N_S + N_{N1} = 1$ (아민기)로 고정시켰다. 카르복실기에 메틸수은이 결합한 경우(구조 2)에는 구조의 회전에 따라 제2거리 원자군에 산소 또는 탄소가 ~ 3.0 Å 미만의 거리에 존재하는데 이때 산소는 ~ 2.8 Å의 거리에 배위수 $N_{O2} \leq 1$ 이고 탄소는 ~ 2.7 Å의 거리에 배위수 $1 \leq N_{C2} \leq 2$ 이어야 한다. 아민기에 메틸수은이 결합한 경우(구조 3)에는 구조의 회전에 따라 제2거리 원자군에 산소가 ~ 2.7 Å의 거리에 배위

수 $N_{O2} \leq 1$ 이어야 하고 ~ 3.1 Å의 거리에 있는 제2거리 원자군의 탄소는 반경분포함수에서 A영역을 벗어난다.

3.2.1. 메틸수은-(티올기 + 카르복실기) 착물 형성 모델
카르복실기 및 티올기에 메틸수은이 결합하는 모델을 이용한 EXAFS 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. 가장 좋은 피팅결과는 (1) 모두 구조 2a, (2) 모두 구조 2b, (3) 구조2a: 구조 2b=1:1 인 세가지 경우 중 (2)구조 2b의 경우에 얻었다(Fig. 3). (1)의 피팅결과에서는 Hg...O₂ 거리가 3.0 Å 이상이 되어 모델구조에서 많이 벗어난다. (3)의 피팅결과에서는 제2거리 원자군의 산소와 탄소 모두 수은과의 거리가 3.0 Å 이상으로 크게 벗어나거나 Hg...C₂ 이 2.5 Å 미만으로 줄어드는 등 모델구조에서의 거리와 크게 벗어나므로 (1)과 (3)의 경우 모두 pH 7에서의 메틸수은-부식유기물 시료에서의 메틸수은-카르복실기의 구조를 나타낸다 할 수 없다. (2) 구조 2b의 경우, 제 1 거리 원자군에서 메틸기 탄소 이외에 티올기 황과 카르복실기 산소의 배위수가 각각 0.8과 0.2로 메틸수은의 많은 부분이 티올기 등 황 함유 작용기에 결합한다. Hg EXAFS는 시료의 모든 수은의 주변 원자구조의 평균을 나타내므로, 1:1 결합일 때 즉, 메틸수은이 한 개의 리간드와만 결합할 때 위의 배위수 피팅 결과는 메틸수은의 약 80%는 티올기에, 약 20% 정도는 카르복실기 등 산소 함유 작용기에 결합한 것으로 보인다.

제1거리 원자군의 황과 수은과의 거리는 보고된 유기수은 화합물 내의 C_{Mc}-Hg-S 구조(Holloway and Melnik, 1995)에서의 Hg-S 거리인 2.34-2.39 Å 사이에 있으며 결합-원자가 예측법(Bond valence method; Brown, 1981; Brese and O'Keeffe, 1991)에 의해 결합원자가가 1.0일 때로 계산된 Hg(II)-S 결합거리인 2.32 Å과 유사하다. 제 1거리 원자군의 산소와 수은과의 거리는 보고된 유기수은 화합물 내의 C_{Mc}-Hg-O 구조(Holloway and Melnik, 1995)에서 Hg-O 거리 $2.07 \leq R_{Hg-O} \leq 2.09$ Å보다 약간 짧고 결합-원자가 예측법(Bond valence method; Brown, 1981; Brese and O'Keeffe, 1991)에 의해 결합원자가가 1.0일 때로 계산된 Hg(II)-O 결합거리인 1.93 Å보다는 길다. 메틸수은 메틸기의 탄소와 수은과의 거리는 보고된 유기수은 화합물 내의 C_{Mc}-Hg-O 구조와 C_{Mc}-Hg-S 구조에서의 거리 $2.05 \leq R_{Hg-C} \leq 2.11$ Å보다 약간 짧다. 카르복실기 제 2 거리 원자군의 탄소와 메틸수은의 수은과의 거리(Hg...C₂)는 2.69 Å으로 카르복실기 구조 2b에 적합한 거리에 위치한다. 이 결과에 따라 티올기와 카르복실기에 메틸수은이 결합한다면 카르복실기에 결합한 구조는 구조 2b와

Table 2. Least-squares-fitting results of first (X_1) and second (X_2) atomic shell analyses: distances (R), coordination numbers (N), Debye-Waller factors (σ^2), and differences in edge energy (ΔE_0)

Sample	R (Å)			N			σ^2 (Å ²)			ΔE_0 (eV)			
	R (Å)	N	σ^2 (Å ²)	R (Å)	N	σ^2 (Å ²)	R (Å)	N	σ^2 (Å ²)	R (Å)	N	σ^2 (Å ²)	ΔE_0 (eV)
thiol resin ^a	Hg-C ₁			Hg-S ₁			Hg-X ₁			Hg···X ₂			-1.4
	2.05 ± 0.001	1.0 ± 0.03	0.004 ± 0.0003	2.37 ± 0.002	1.1 ± 0.04	0.005 ± 0.0002							
CH ₃ Hg ⁺ -humic acid, pH 5 ^a	Hg-C ₁			Hg-S ₁			Hg-X ₁			Hg···X ₂			-3.3
	2.07 ± 0.001	1.1 ± 0.05	0.003 ± 0.0003	2.37 ± 0.001	1.0 ± 0.02	0.004 ± 0.0002							
CH ₃ Hg ⁺ -humic acid, pH 7 (carboxyl-ligand model)*	Hg-C ₁			Hg-S ₁			Hg-O ₁			Hg···C ₂			-3.1
	2.03 ± 0.007	1 ^b	0.004 ^b	2.35 ± 0.004	0.8 ^c ± 0.05	0.004 ^b	2.04 ± 0.021	0.2 ^c ± 0.05	0.004 ^b	2.69 ± 0.030	0.4 ^d ± 0.05	0.005 ^e	
CH ₃ Hg ⁺ -humic acid, pH 7 (amine-ligand model)*	Hg-C ₁			Hg-S ₁			Hg-N ₁			Hg···O ₂			-2.5
	2.03 ± 0.011	1 ^b	0.004 ^b	2.34 ± 0.004	0.8 ^c ± 0.05	0.004 ^b	2.08 ± 0.065	0.2 ^c ± 0.05	0.004 ^b	2.68 ± 0.059	0.2 ^d ± 0.05	0.004 ^b	

(a) Yoon et al., 2005

(b) Number fixed during fitting

(c) Numbers constrained during fitting so that the total of coordination numbers of two atoms = 1

(d) Number fixed during fitting to be a double of $N_{\text{Hg-O}_1}$ and equal to $N_{\text{Hg-N}_1}$ according to the model structure 2b and 3a, respectively (e)Debye-Waller factor fixed to 0.004, 0.005, and 0.006 Å² with an expectation of a higher value and the best-fitting result is presented.*Maximum number of independent parameter determined by $N_{\text{idp}} \sim 2\Delta k\Delta R/\pi$ is 6.

같은 상태일 것이다.

3.2.2. 메틸수은-(티올기 + 아민기) 착물 형성 모델

메틸수은이 아민기 및 티올기에 결합하는 모델을 이용한 분석 결과, 가장 좋은 피팅결과는 (1) 모두 구조 3a, (2) 모두 구조 3b, (3) 구조 3a: 구조 3b = 1:1 인 세가지 경우 중 (1)구조 3a의 경우에 얻었다(Fig. 4). 이 때, 제1거리 원자군에서 메틸기 탄소 이외에 티올기 황과 아민기 질소의 배위수가 각각 0.8와 0.2로 나타났다(Table 2). 이는 메틸수은의 대부분이 티올기 등 황함유 작용기에 결합하고 약 20% 정도는 아민기 등 질소함유 작용기에 결합한 결과이다. 제1거리 원자군의 황과 메틸수은의 수은과의 거리는 보고된 유기수은 화합물 내의 C_{Me}-Hg-S 구조(Holloway and Melnik, 1995)에서의 Hg-S 거리인 2.34-2.39 Å 사이에 있으며 결합-원자가 예측법(Bond valence method; Brown, 1981; Brese and O'Keeffe, 1991)에 의해 결합원자가가 1.0일때로 계산된 Hg(II)-S 결합거리인 2.32 Å과 유사하다. 제1거리 원자군의 질소와 메틸수은의 수은과의 거리는 보고된 유기수은 화합물 내의 C_{Me}-Hg-N 구조 (Holloway and Melnik, 1995)에서의 Hg-N 거리인 2.05-2.16 Å 사이에 있으며 결합-원자가 예측법(Bond valence theory; Brown, 1981; Brese and O'Keeffe, 1991)에 의해 결합원자가가 1.0일때로 계산된

Hg(II)-N 결합거리인 2.02 Å과도 유사하다. 메틸수은 메틸기의 탄소와 수은과의 거리는 보고된 유기수은 화합물 내의 C_{Me}-Hg-N 구조와 C_{Me}-Hg-S 구조에서의 거리인 1.98-2.11 Å 사이에 있다. 아민기 제2거리 원자군의 산소와 메틸수은의 수은과의 거리(Hg···O₂)는 2.65 Å으로 아민기 구조에 적합한 거리에 위치한다. 이는 메틸수은이 티올기와 아민기에 결합한다면 아민기에 결합한 구조는 구조 3a와 같은 상태일 것이다.

3.3. 카르복실기 vs. 아민기

위에서 메틸수은 결합 작용기로 티올기-카르복실기 모델과 티올기-아민기 모델을 이용한 EXAFS 분석결과를 보였다. 구조 2b를 지지하는 카르복실기 모델 분석결과와 구조 3a를 지지하는 아민기 모델 분석결과 중 아민기 모델의 경우가 좀더 나은 피팅을 보여주지만, A영역에 여러 원자들의 산란이 작용하므로 피팅에 제약이 많고 제1거리 원자군의 질소와 산소 및 제2거리 원자군의 탄소와 산소는 서로 산란특성이 유사하여 EXAFS 분석만으로 카르복실기와 아민기 중 어떤 작용기가 메틸수은과 착물을 형성하였는지 구분하는 것은 어렵다. Yoon et al.(2005)에 따르면, pH가 4-5일때 티올기 등 메틸수은과 결합할 수 있는 황함유 작용기가 모두 포화되면 부식유기산의 카르복실기가 우세하게 메틸수은과 착물을 형성한다. 그러나, pH

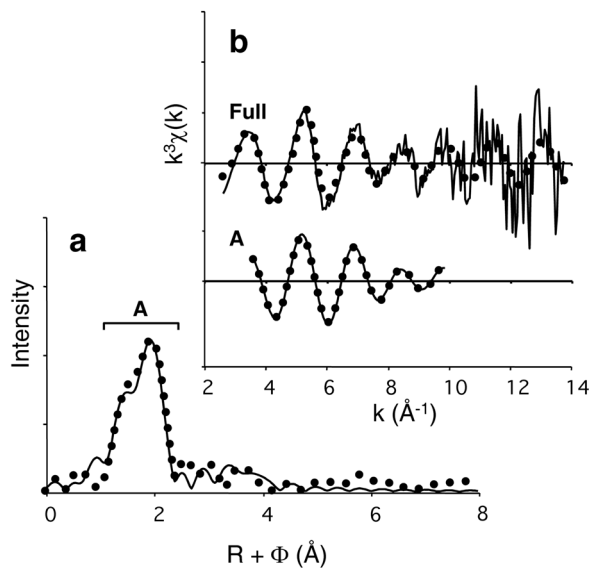


Fig. 4. Experimental (solid lines) and least-squares fitted (dotted lines) Hg L_{III}-edge EXAFS of CH₃Hg⁺-humic complex (CH₃Hg⁺ to reduced sulfur ratio of 0.3, pH 7) with the reference model of thiol- and amine-complexes (a) radial structure function and (b) EXAFS scattering curves (full and Fourier-filtered (peak region A)). Fitting results appear in Table 2.

가 7로 높아졌을 때는 메틸수와 우선적으로 착물을 이루는 작용기가 달라질 수 있다. Fairhurst and Rabenstein(1975)에 따르면 메틸수를 메타이오닌과 반응시켰을 때 pH 5 이하에서는 카르복실기가 아민기보다 메틸수와 더 안정적인 착물을 형성하지만, pH 7 이상에서는 아민기가 카르복실기보다 메틸수와 더 안정적인 착물을 형성한다. 그러나, 자연 부식유기산이 질소를 함유하고 있어도 메틸수를 결합할 수 있는 아민기가 거의 없으면 부식산에 풍부한 카르복실기가 메틸수와 결합하고 있을 수 있다.

3.4. pH에 따른 부식산의 메틸수는 결합 리간드 변화

메틸수와 글루타타이온 및 메타이오닌이 반응할 때 티올기는 모든 pH영역에서 카르복실기나 아민기보다 더 안정적인 착물을 형성한다(Fairhurst and Rabenstein, 1975; Rabenstein and Fairhurst, 1975). 글루타타이온 등의 화합물에서 측정된 메틸수와 티올기와의 결합상수 log K 값은 15.7-22.0(Rabenstein, 1978)으로, 카르복실기(log K 값 1.1-3.5, Libich and Rabenstein, 1973)나 아민기(log K 값 7.4-8.3, Rabenstein et al., 1974)의 값보다 월등히 높다. 하지만 본 연구 결과에서는 pH가 5에서 7로 증가함에 따라 메틸수와 티올기의 착물형성이 상대적으로 줄어들고 아민기 등 다른 작용기의 메틸수 결합이 두드

러지게 되는 것이 관찰되었다. Khwaja et al. (2010)은 자연 유기물의 메틸수는 결합강도에 관한 연구에서 환원 환경 작용기와 메틸수의 결합상수가 pH가 증가함에 따라 감소하는 것을 관찰하였다. 자연 유기물은 구조 및 작용기가 잘 알려진 간단한 화합물과는 달리 구조가 매우 복잡하고 그 작용기 또한 매우 다양하다. 일부 티올기를 가진 유기화합물이나 단백질 또는 효소의 티올기는 메틸수와 결합상수가 log K 값 4.5 이하로 낮게 나타나기도 한다(Khwaja et al., 2010). 이처럼, 자연유기물의 다양한 티올기가 각기 다른 메틸수 결합상수를 갖고, 여러 아민기나 카르복실기 또한 각기 다른 결합상수를 보일 수 있다.

이들 결합상수는 실제로 pH에 따라 변하는 계수(log K_c)인데, 낮은 pH에서는 수소이온이 메틸수와 경쟁하고 높은 pH에서는 수산화이온이 유기리간드와 경쟁하기 때문이다. 즉, log K_c 값은 낮은 pH와 높은 pH에서 상대적으로 낮은 값을 보이면서 중간 pH에서 최대값을 보이는데 log K_c 값이 최대가 될 때의 pH 값은 리간드의 산해리 상수(pK_a)와 유사하다. pH에 따른 log K_c 값의 곡선은 각 리간드마다 다르며 같은 종류의 유기 리간드(e.g. 모두 카르복실기 또는 모두 티올기)라도 그 산해리 상수(pK_a)에 따라 log K_c 값이 달라지므로 log K_c 값이 최대가 되는 pH(~pK_a)는 리간드마다 각기 다르다(Libich and Rabenstein, 1973). 예를 들어 같은 카르복실기라도 모노클로로 아세트산과 다이클로로 아세트산은 서로 다른 log K와 pK_a 값을 가지며, 이때 log K와 pK_a의 값은 양의 상관관계를 보인다(Libich and Rabenstein, 1973). 따라서 여러 종류의 티올기 중 일부 리간드의 pK_a나 log K 값이 상대적으로 낮아서 pH가 7로 증가하면서 일부 아민기보다 낮은 log K_c 값을 갖게 될 수 있다. 이 경우, pH가 증가하면 낮은 pH에서 그 pH 값과 유사한 pK_a 값을 갖는 티올기는 pH가 높아지면서 log K_c 값이 감소하는 반면 pK_a 값이 더 높은 아민기 등은 pH가 증가하여 중성에 가까워지면 log K_c 값이 증가하게 되고, 이에 따라 메틸수의 결합이 pK_a 나 log K 값이 상대적으로 높은 아민기 등을 선호할 것이다. 실제로, 아민기를 가진 글리실글리신과 메틸수의 결합은 중성 pH에서 최대가 된다(Alex et al., 1986). pH가 증가하면 메틸수가 pK_a나 log K의 값이 상대적으로 더 높은 아민기 등이 일부 티올기보다 더 높은 메틸수 결합력을 갖게 되면서 아민기나 카르복실기 등의 메틸수 결합이 중요해지게 된다. 그러므로 본 연구결과에서 pH가 5에서 7로 증가함에 따라 메틸수와 티올기의 착물형성이 상대적으로 줄어든 이유

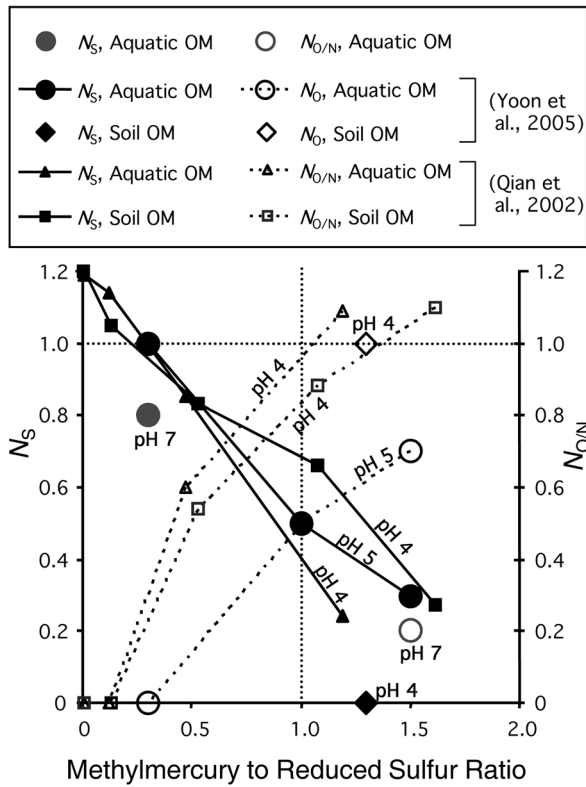


Fig. 5. Relative contributions of sulfur (CH_3Hg^+ -thiol complexation) and oxygen/nitrogen (CH_3Hg^+ -carboxyl/amine complexation) in the first atomic shell. Sulfur and oxygen/nitrogen coordination numbers N_S and $N_{O/N}$ at pH 4 and 5 are from literatures for soil and aquatic organic matter (OM).

는 유기부식물에 존재하는 티올기가 다양한 종류이며 이중 일부가 일부 아민기나 카르복실기보다 상대적으로 낮은 pKa나 log K의 값을 가지기 때문에 사료된다. 대개는 티올기 등의 환원황 작용기가 메틸수은과 높은 결합력을 가지지만 복잡한 작용기를 갖는 자연 유기물에서는 중성의 pH 에서 모든 티올기가 다른 작용기보다 항상 더 강한 메틸수은 결합력을 가지는 것은 아니다.

Fig. 5에 메틸수은의 유기물 환원황에 대한 상대적 농도 및 pH조건에 따른 메틸수은 결합 작용기의 변화에 대한 연구결과를 나타내었다. pH 4-5에서 티올기 등의 황 함유 작용기에 메틸 수은이 가장 먼저 선택적으로 결합하고 반응가능한 황함유 작용기보다 메틸수은의 양이 많아지면 초과분은 다른 산소 또는 질소 함유 작용기에 결합한다(Qian et al., 2002; Yoon et al., 2005). pH가 높아지면 더 빨리 산소 또는 질소 함유 작용기의 역할이 중요해 지는 것을 볼 수 있다. 이것으로 부식유기산 내의 모든 반응가능한 티올기 등 환원황 작용기가 모든 pH조건에서 다른 작용기보다 높은 결합력을 갖는 것은 아님을

알았고, 특히 일부는 적어도 7보다 낮은 pKa 값이나 pH의 증가에 따라 다른 리간드보다 낮은 메틸수은 결합력을 가질 것으로 예상된다. 대개 티올기가 모든 pH에서 메틸수은과 가장 높은 결합력을 가질것으로 예상하나, 중성 pH에서 아민기 등이 중성 pH에서 일부 티올기보다 더 높은 메틸수은 결합력을 가질 수 있으므로, 아민기 등이 일부 메틸수은을 결합한다고 하여 일률적으로 중성의 pH에서 낮은 pH에서보다 메틸수은이 부식유기산과 더 약한 결합을 이루어 메틸수은의 이동성 및 생물이용가능성이 증가하였다고 볼 수는 없다. 실제로 산성환경이 되면 메틸수은의 유기물 결합량이 더 줄어드는 것으로 알려져 있다(Gilmour and Henry, 1991; Amirbahman, et al., 2002). 다만, 중성 pH에서는 티올기의 메틸수은 결합 역 할이 낮은 pH에서보다 줄어들 뿐이다.

4. 결 론

메틸수은-부식유기산 착물의 Hg L_{III}-흡수단 EXAFS 분석결과, 메틸수은과 부식유기산 환원황의 비율이 0.3 : 1일 때, pH 5에서는 거의 모든 메틸수은이 대부분 티올기에 결합하는 반면(Yoon et al., 2005) pH 7에서는 0.8 분을 정도의 메틸수은만이 티올기 등 환원황 작용기에 결합한다. pH 7에서 나머지 0.2 분을 정도의 메틸수은이 아민기 또는 카르복실기에 결합할 것으로 예측되었다. 일반적으로 아민기가 카르복실기보다 높은 결합상수 값을 가지며 기존의 메타이오닌과 메틸수은의 결합 실험 결과에서도 pH 7 이상에서는 메틸수은이 카르복실기 보다는 아민기에 선호적으로 결합하는 것으로 보고되었지만(Fairhurst and Rabenstein, 1975) 본 연구의 모델 피팅 결과만으로 카르복실기보다 아민기에 메틸수은이 결합한다고 결론지을 수는 없다. 일반적으로 티올기의 메틸수은 결합상수 값은 모든 pH에서 아민기나 카르복실기의 값보다 매우 큰 것으로 알려져 있어서 pH가 증가해도 티올기가 주 결합 리간드일 것으로 예상된다. 하지만 실제로 티올기의 종류에 따라 아민기보다 더 낮은 결합상수(log K)를 보이는 티올기도 있다. 자연 유기물의 경우에는 여러 종류의 티올기를 함유하여 일부 티올기가 pKa나 log K의 값이 낮아 pH 7에서 아민기나 카르복실기보다 낮은 결합강도를 갖는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 미연방 초기 기획 사업 No. 98-00802와 한

국지질자원연구원 지식경제부 사업 10-1121 및 11-3216의 지원을 받아 수행되었습니다. 연구에 도움을 주신 브룩헤이븐 연구소(Brookhaven National Laboratory) NSLS 판다 박사님(Dr. Kaumudi Pandya, X11A)과 샌슨 박사님(Dr. Michael Sansone, X10C)께 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Alex, S., Savoie, R., Corbeil, M.-C., and Beauchamp, A.L., 1986, Complexation of glycyglycine by methylmercury cation: a vibrational spectroscopy and X-ray diffraction study, *Can. J. Chem.*, **64**, 148-157.
- Al-Reasi, H.A., Wood, C.M., and Smith, D.S., 2011, Physico-chemical and spectroscopic properties of natural organic matter (NOM) from various sources and implications for ameliorative effects on metal toxicity to aquatic biota, *Aquat. Toxicol.*, **103**, 179-190.
- Amirbahman, A., Reid, A.L. Haines, T.A., Kahl, J.S., and Arnold, C., 2002, Association of methylmercury with dissolved humic acids, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 690-695.
- Barkay, T., Gillman, M., and Turner, R.R., 1997, Effects of dissolved organic carbon and salinity on bioavailability of mercury, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 4267-4271.
- Beauchamp, A.L. and Goutier, D., 1971, Structure cristalline et moléculaire du thiocyanate mercurique, *Can. J. Chem.*, **50**, 977-981.
- Bouldin, C., Furenlid, L., and Elam, T., 1995, MacXAFS: An EXAFS analysis package for the Macintosh, *Physica B.*, **208** and **209**, 190-192.
- Brese, N.E. and O'Keefe, M., 1991, Bond-valence parameters for solids, *Acta Cryst.*, **B47**, 192-197.
- Brown, I.D., 1981, The bond-valence method: an empirical approach to chemical structure and bonding. In M. O'Keefe and A. Navrotsky (ed.), *Structure and Bonding in Crystals*, vol. 2., Academic Press, New York, pp. 1-30.
- Corbeil, M.-C. and Beauchamp, A.L., 1988, Methylmercury(II) complexes with tryptophan and its N-acetyl derivative, *Can. J. Chem.*, **66**, 2458-2464.
- Fairhurst, M.T. and Rabenstein, D.L., 1975, Nuclear magnetic resonance studies of the solution chemistry of metal complexes. XII. Binding of methylmercury by methionine, *Inorg. Chem.*, **14**, 1413-1415.
- Gilmour, C.C. and Henry, E.A., 1991, Mercury methylation in aquatic systems affected by acid deposition, *Environ. Pollut.*, **71**, 131-169.
- Hesterberg, D., Chou, J.W., Hutchison, K.J., and Sayers, D.E., 2001, Bonding of Hg(II) to reduced organic sulfur in humic acid as affected by S/Hg ratio, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 2741-2745.
- Hintelmann, H., Welbourn, P.M., and Evans, R.D., 1995, Binding of methylmercury compounds by humic and fulvic acids, *Water Air Soil Pollut.*, **80**, 1031-1034.
- Hintelmann, H., Welbourn, P.M., and Evans, R.D., 1997, Measurement of complexation of methylmercury(II) compounds by freshwater humic substances using equilibrium dialysis, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 489-495.
- Holloway, C.E. and Melnik, M., 1995, Mercury organometallic compounds. Classification and analysis of crystallographic and structural data, *J. Organometal. Chem.*, **495**, 1-31.
- Kelly, C.A., Rudd, J. W.M., and Holoka, M.H., 2003, Effect of pH on mercury uptake by an aquatic bacterium: implications for Hg cycling, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 2941-2946.
- Khawaja, A.R., Bloom, P.R., and Brezonik, P.L., 2010, Binding strength of methylmercury to aquatic NOM, *Environ. Sci. Technol.*, **44**, 6151-6156.
- Libich, S. and Rabenstein, D.L., 1973, Nuclear magnetic resonance studies of the solution chemistry of metal complexes. Determination of formation constants of methylmercury complexes of selected carboxylic acids, *Anal. Chem.*, **45**, 118-124.
- Lytle, F.W., Greeger, R.B., Sandstrom, D.R., Marques, E.C., Wong, J., Spiro, C.L., Huffman, G.P., and Huggins, F.E., 1984, Measurement of soft X-ray absorption spectra with a fluorescent ion chamber detector, *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. A.*, **226**, 542-548.
- Matilainen, T. and Verta, M., 1995, Mercury methylation and demethylation in aerobic surface waters, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**, 1597-1608.
- Miskimmin, B.M., Rudd, J.W.M., and Kelly, C.A., 1992, Influence of dissolved organic carbon, pH, and microbial respiration rates on mercury methylation and demethylation in lake water, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**, 17-22.
- Nagy, K.L., Manceau, A., Gasper, J.D., Ryan, J.N., and Aiken, G.R., 2011, Metallothionein-like multinuclear clusters of mercury(II) and sulfur in peat, *Environ. Sci. Technol.*, **45**, 7298-7306.
- Pearson, R.G., 1967, Hard and soft acids and bases. *Chem. Brit.*, **3**, 103-107.
- Porvari, P. and Verta, M., 1995, Methylmercury production in flooded soils: A laboratory study, *Water Air Soil Pollut.*, **80**, 765-773.
- Qian, J., Skyllberg, U., Tu, Q., Bleam, W.F., and Frech, W., 2000, Efficiency of solvent extraction methods for the determination of methyl mercury in forest soils, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **367**, 467-473.

- Qian, J., Skyllberg, U., Frech, W., Bleam, W.F., Bloom, P.R., and Petit, P.E., 2002, Bonding of methyl mercury to reduced sulfur groups in soil and stream organic matter as determined by X-ray absorption spectroscopy and binding affinity studies, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **66**, 3873-3885.
- Rabenstein, D.L., 1978, The aqueous solution chemistry of methylmercury and its complexes, *Account. Chem. Res.*, **11**, 100-107.
- Rabenstein, D.L. and Fairhurst, M.T., 1975, Nuclear magnetic resonance studies of the solution chemistry of metal complexes. XI. The binding of methylmercury by sulfhydryl-containing amino acids and by glutathione, *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 2086-2092.
- Rabenstein, D.L., Ozubko, R., Libich, S., Evans, C.A., Fairhurst, M.T., and Suvanprakorn, C., 1974, Nuclear magnetic resonance studies of the solution chemistry of metal complexes. X. Determination of formation constants of the methylmercury complexes of selected amines and aminocarboxylic acids, *J. Coord. Chem.*, **3**, 263-271.
- Ravichandran, M., 2004, Interactions between mercury and dissolved organic matter-a review, *Chemosphere*, **55**, 319-331.
- Rehr, J.J., Mustre de Leon, J., Zabinsky, S.I., and Albers, R.C., 1991, Theoretical X-ray absorption fine structure standards, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 5135-5140.
- Skyllberg, U., Xia, K., Bloom, P.R., Nater, E.A., and Bleam, W.F., 2000, Binding of mercury(II) to reduced sulfur in soil organic matter along upland-peat soil transects, *J. Environ. Qual.*, **29**, 855-865.
- Tipping, E., 2007, Modelling the interactions of Hg(II) and methylmercury with humic substances using WHAM/Model VI, *Appl. Geochem.*, **22**, 1624-1635.
- Weber J.H., 1993, Review of possible paths for abiotic methylation of mercury(II) in the aquatic environment, *Chemosphere*, **26**, 2063-2077.
- Yao, A., Qui, R., Qing, C., Mu, S., and Reardon, E.J., 2011, Effects of humus on the environmental activity of mineral-bound Hg: influence on Hg plant uptake, *J. Soils Sediments*, **11**, 959-967.
- Yoon, S., Diener, L.M., Bloom, P.R., Nater, E.A., and Bleam, W.F., 2005, X-ray absorption studies of CH₃Hg⁺-binding sites in humic substances, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **69**, 1111-1121.
- Xia, K., Skyllberg, U.L., Bleam, W.F., Bloom, P.R., Nater, E.A. and Helmke, P.A., 1999, X-ray absorption spectroscopic evidence for the complexation of Hg(II) by reduced sulfur in soil humic substances, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 257-261.