

HPLC-ICP-MS를 이용한 비소와 셀레늄의 분리 및 결정

김세영¹⁾ · 방선백¹⁾ · 강서영¹⁾ · 김경웅¹⁾*

1. 서 론

비소는 자연환경과 생체 물질에 존재하는 일반적인 원소로서 토양, 수계 및 대기 중에 널리 분포하고, 반도체와 염료 제조, 목재 보존제, 농약 등의 인간 활동에 의해 환경계에 유입되고 있다 (Richardson and Ternes, 2005). 이러한 비소는 -3에서 +5까지 산화수를 가지므로 다양한 화합물 형태로 존재하게 되는데, 이는 생체대사과정 중 다른 비소종의 형태로 쉽게 전환될 수 있다는 것을 의미한다. 많은 비소류 중에는 인체에 무해한 형태인 arsenobetaine, arsenocholine 등과 같은 유기비소와 arsenite [As(III)], arsenate [As(V)]와 같은 인체에 독성 및 암을 유발하는 무기비소 형태로 존재한다. 게다가 As(III)는 As(V)보다 50배정도 독성이 강한 것으로 알려져 있다.

셀레늄은 포유동물, 조류, 어류 및 많은 박테리아들의 생존과 성장에 있어 필수 미량 영양분으로 지구표면의 토양 내에는 평균 0.05 ~ 0.09 ppm의 셀레늄이 함유되어 있다. 토양에서 셀레늄의 형태는 토양의 pH와 산화-환원 상태에 따라 달라지는데, 산화상태에 따라 selenide [Se(-II)], selenium [Se(0)], selenite [Se(IV)], selenate [Se(VI)]로 나타난다 (Meng et al., 2002). 비소와 마찬가지로 셀레늄 또한 화합물 형태에 따라 그 독성이 달라지게 되는데, dimethylselenide, trimethylselenium ion, selenoethers, selenobetaine와 같은 유기셀레늄이나 Se(IV)는 Se(VI)에 비하여 비교적 독성이 낮은 것으로 알려져 있다 (Barceloux, 1999).

본 연구에서는 기존의 비소와 셀레늄의 분석법인 AA, ICP-OES와 ICP-MS를 이용한 총량 분석법으로는 다양한 종에 대한 독성 연구에 제한적인 단점을 가지고 있기 때문에 실제적인 독성을 일으키는 비소와 셀레늄의 정량을 위하여 HPLC-ICP-MS를 이용하여 각각을 분리, 동정하였다. 이러한 분석은 다양한 비소종과 셀레늄종의 독성과 대사를 연구하는 것 뿐만 아니라, 그들의 형태에 따라 달라지는 인체의 영향과 수계 및 토양에서의 이동현상 및 반응메커니즘을 측정하는데 많은 도움을 주게 될 것이다.

2. 실험방법

분석에 사용되는 모든 시약은 분석급 또는 그 이상을 사용하였고, 표준용액 제조를 위하여 4가지의 비소종[As(III), DMA, MMA, As(V)]과 2가지의 셀레늄종[Se(IV), Se(VI)]에 대하여 1,000 ppm의 stock solution을 각각 준비하였다.

ICP-MS 기기조건 설정 시 비소에 대하여 $m/z = 75$ 를 선택하였고, 셀레늄에 대하여 $m/z = 82$ 를 선택하였다. 이때, 시료 matrix나 플라즈마에서 원하지 않게 형성된 $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ 또는 $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ 과 같은 mass interference를 제거해야 할 필요성이 있는데, 헬륨(He), 수소(H₂) 등의 가스를 사용하여 운동에너지 감소, 분리, 화학반응 등의 메커니즘을 통해 mass interference들을 제거

주요어 : 비소, 셀레늄, 중분리, HPLC-ICP-MS

1) 광주과학기술원 국제환경연구소 (kwkim@gist.ac.kr)

할 수 있었다.

비소의 경우에는 헬륨가스를 이용하여 ArCl에 의한 간섭을 제거하였고, 셀레늄의 경우에는 수소가스를 미량 사용함으로써 Ar 가스에 대한 방해요인을 최소화 하였다.

또한, 비소종 분리에 있어서 플라즈마 기체 내부에서 생성된 ArCl에 대한 방해요인을 관찰하기 위해 $m/z = 35$, $m/z = 77$ 를 선택하여 $m/z = 75$ 와 함께 크로마토그램을 모니터링 하였다. 비소종 및 셀레늄종 분석을 위한 보다 자세한 HPLC-ICP-MS의 분석조건은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Optimized HPLC and ICP-MS conditions for the determination of As species and Se species

HPLC	Agilent 1100 Series
Main column	Agilent anion exchange resin G3154-60001 (4.6 * 150 mm)
Guard column	Agilent anion exchange resin G3154-60002 (4.6 * 10 mm)
Mobile phase	2.0 mM NaH ₂ PO ₄ / 0.2 mM EDTA (pH 6)
Mobile phase flow rate	1.0 ml/min
Injection volume	50 μ l
ICP-MS	Agilent 7500ce
Argon plasma gas flow rate	15 l/min
Argon carrier gas flow rate	0.86 l/min
Argon makeup gas flow rate	0.16 l/min
RF power	1400 W
Nebulizer	Micromist
Interface cones	Platinum
Reaction cell gas flow	4.0 ml/min, He for As species 4.0 ml/min, H ₂ for Se species
Monitored signals (integration time in MS)	⁷⁵ As(2.0 sec), ³⁵ Cl(0.1 sec), ⁷⁷ ArCl(0.1 sec) for As species ⁸² Se(1.0 sec) for Se species

3. 결과 및 고찰

Fig. 1은 50 ppb에 대한 4가지 종류의 비소종과 2가지 종류의 셀레늄종에 대한 각각의 종들을 음이온교환컬럼을 통해 분리한 크로마토그램으로 비소종과 셀레늄종 모두 10분 이내에 peak가 분리되는 것을 볼 수 있다.

비소종은 As(III), DMA(V), MMA(V), As(V)의 peak가 차례로 2.2, 2.9, 4.4, 7.7분에 순차적으로 발견되었다. 셀레늄종의 경우에도 비소종과 마찬가지로 Se(IV), Se(VI)의 peak이 2.9, 5.4분에 각각 나타났다. 이는 HPLC에 있는 음이온교환수지가 비소종 및 셀레늄종에 대해 각각 시간차를 가지고 효과적으로 분리가 가능함을 보여주는 것이다.

Fig. 2 (a)는 비소종에 대한 검량선을 나타낸 그래프이다. 1, 5, 10, 20, 50, 100 ppb의 표준용액을 사용한 As(III), As(V), MMA(V), DMA(V)에 대한 직선성을 나타내는 R²값은 0.997 이상으로 나타났다. Fig. 2 (b)는 셀레늄종에 대한 검량선을 나타낸 것으로 1, 5, 10, 50, 100 ppb의 표준용액을 사용하였으며, Se(IV), Se(VI)에 대한 직선성을 나타내는 R²값이 0.996 이상을 보여주고 있다.

최근 환경 수중에 음이온성 화합물에 대한 관심이 널리 퍼지고 있으며, 이들의 인체에 대한 독성 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 화합물에 대한 분석 한계를 극복하고자 HPLC와

ICP-MS가 결합된 HPLC-ICP-MS 분석법을 사용하였고, 그 결과가 매우 안정적이고 정확한 것을 볼 수 있었다.

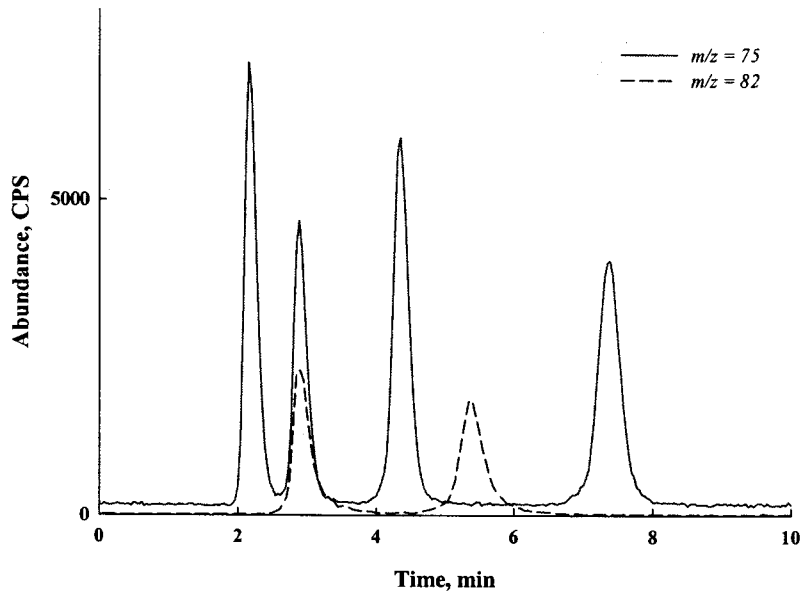


Fig. 1. Chromatograms of a 50 μl injected standard solution containing 50 $\mu\text{g/l}$ of each arsenic species and each selenium species. Peak identification: (1) As(III), (2) DMA(V), (3) MMA(V), (4) As(V), (5) Se(IV), (6) Se(VI).

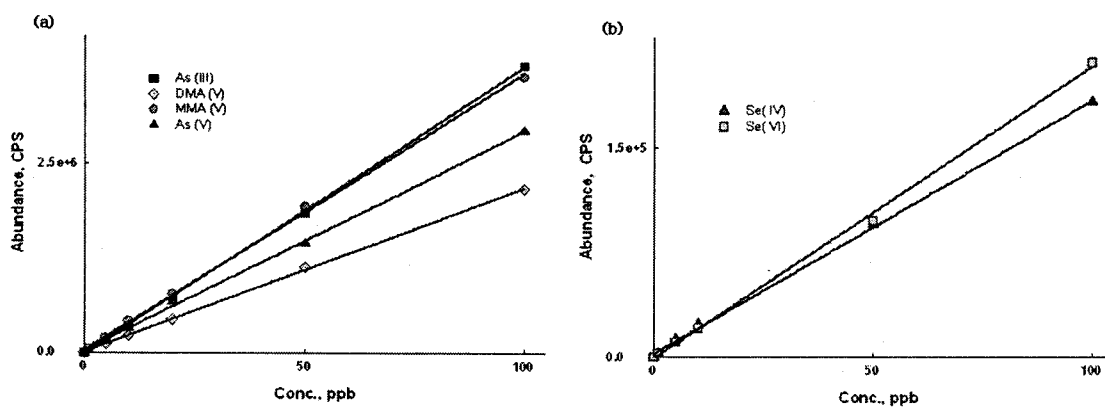


Fig. 2. Calibration curves for (a) As(III), DMA(V), MMA(V), and As(V) species (b) Se(IV), and Se(VI) species.

참고문헌

- Barceloux, D.G. (2006) Selenium. Clin. Toxicol. v. 37, p. 145-172.
- Meng, X., Bang, S. and Korfiatis, G.P. Removal of selenocyanate from water using elemental iron. Water Res. v. 36, p. 3867-3873.
- Richardson, S.S. and Ternes, T.A. (2005) Emerging contaminants and current issues. Anal. Chem. v. 77, p. 3807 ~ 3838.