

## 네모파 산화전극벚김 전압전류법을 이용한 생체시료 중의 미량 수은 분석

金日光\* · 朴賢雨<sup>†</sup> · 韓宗鉉<sup>‡</sup> · 金潤根 · 千賢子 · 朴勛玉

원광대학교 자연과학대 화학과

<sup>†</sup>국립과학수사연구소 화학분석과

<sup>‡</sup>원광대학교 한의과대

(1992. 2. 13 접수)

## Determination of Trace Level Mercury in Bio-Materials by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry

Il Kwang Kim\*, Sung Woo Park<sup>†</sup>, Jong Hyun Han<sup>‡</sup>, Youn Geun Kim, Hyun Ja Chun, and Kyung Ok Park

Department of Chemistry, WonKwang University, Iri 570-749, Korea

<sup>†</sup>Chemical Analysis Div. National Institute of Scientific Investigation, Seoul 158-094, Korea

<sup>‡</sup>College of Oriental Medicine, WonKwang University, Iri 570-749, Korea

(Received February 13, 1992)

**요 약.** 생체시료 중의 미량수은정량을 glassy carbon 전극을 사용하는 네모파 산화전극벚김 전압전류법으로 연구하였다. 생체시료는 분석에 들어가기 전에 질산과 황산 그리고 과망간산 칼륨으로 충분히 온침시켰다. 수은의 검출한계는 석출시간, 석출전위, pH, 그리고 저어증속도 등에 의하여 크게 영향을 받았다. -1.0 volts에서 240초간 400 rpm으로 저어주면서 수은을 석출하였을 때 검출한계는 0.5 ppb( $2.5 \times 10^{-9} M$ ) 이하였다. 이 방법은 분석시간이 짧고 감도가 높기 때문에 생체시료 중의 미량수은 분석에 유용하였다.

**ABSTRACT.** The determination of trace level mercury in bio-materials has been investigated by the square wave anodic stripping voltammetry (ASV)-technique at glassy carbon electrode. Prior to analysis, the bio-materials were digested with  $HNO_3/H_2SO_4$  mixture and  $KMnO_4$  was added to complete the oxidation. The detection limit of the mercury varied greatly with deposition time, deposition potential, pH and stirring rate. When deposition is carried out for 240 sec with 400 rpm stirring at -1.0 volts vs. Ag/AgCl, the detection limit was below 0.5 ppb ( $2.5 \times 10^{-9} M$ ). The method is recommended for trace level mercury analysis of biomaterials because this procedure is time saving and has higher sensitivity.

### 서 론

우리나라에서는 살균제의 주종을 이루고 있던 유기 수은계 살균제의 제조 및 사용을 1978년부터 금지하고 있다. 그러나 일련의 정책적인 억제에도 불구하고 농약과 전지 등의 사용과 각 산업시설에 의한 수은의 배출은 우리의 건강을 크게 위협하고 있다.

수은중독의 증상으로는 급성수은의 경우 고농도의 수은증기를 흡입하면 급성중독으로 폐렴이나 신장

기능 장애가 유발된다. 온도계 제조공장이나 수은 광산에서 보이는 만성중독의 경우 불면, 식욕부진, 무기력증, 신기능 부전, 구내염 등이 전형적인 중독 증상으로 나타나며, 무기수은이 경구적으로 섭취되었을 때는 위장의 작열감을 수반하는 통증, 구토, 설사 등의 격심한 소화기계 장애를 일으킨다. 또한 유기수은의 경우는 급성과 만성중독 모두 전형적인 증상에는 별로 차이가 없으나, 처음에는 구순 주변이나 사지말단의 지각이상으로 시작되어 운동실조,

구움장애, 청력장애, 구심성 시야협착, 정신이상 등 신경계 장애가 주로 일어난다<sup>2</sup>. 이상과 같이 심각한 문제를 야기시키는 수은 화합물에 대한 여러가지 검출방법들이 그 동안 많이 보고된 바 있으나 생체내에 흡수되는 미량의 수은 화합물을 검출하는 대부분의 분석방법들은 비교적 복잡한 전처리 과정과 분석조건들에 따른 검출한계 그리고 분석에 소요되는 시간 등의 문제점을 가지고 있으며, 이를 최소화시키는 노력이 절실히 요구되고 있다. 그 동안 보고된 수은 화합물 분석방법으로는 보통 원자흡광 분석법<sup>3-6</sup>, 자외선 비색법<sup>7-9</sup> 등이 주종을 이루고 있고, 미분 펄스 플라로그래피를 이용한 양극벚김법<sup>10-16</sup>이 일부 보고된 바 있다. 초기의 플라로그래피는 주로 무기물질을 대상으로 한 분석 및 전극 반응을 규명하는 수단으로 널리 활용되어 왔으며, 정량분석의 측정 범위는  $10^{-3}$ - $10^{-6}$  M 정도였다. 그러나 근래 전자공학의 발달에 따른 새로운 전해방식과 전기화학적 측정방법의 도입으로 펄스 차이 플라로그래피, 네모파 전압전류법(SWV) 및 벚김 전압전류법 등의 새로운 방법이 개발되었으며, 분석감도 및 분리도가 크게 향상되어  $10^{-9}$ - $10^{-11}$  M 정도의 극미량(0.1 ppb)까지도 측정할 수 있게 되었다<sup>17,18</sup>.

본 연구에서는 신속성과 감도면에서 유리한 네모파 산화전극벚김 전압전류법(SWASV)을 이용하여 석출시간, 석출전위, 저어짐 속도, pH, 주파수 등 여러가지 분석조건에 따라 피이크 전류값을 조사하고 검출농도 한계와 분석의 최적조건을 제시하였다. 또한, 수은 검출시 공존할 수 있는 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연 등 미량 중금속의 영향을 조사하고, 일정기간 동안 수은을 경구투여한 쥐의 생체시료(간, 뇌, 신장) 중에 흡수된 수은에 대한 응용 분석도 시도하였다.

## 실 험

**시 약.** 본 실험에서 사용한 nitric acid, sulfuric acid, hydrochloric acid, potassium permanganate, hydroxylamine-hydrochloride, ammonia water, potassium thiocyanate 등은 GR급 시약(Aldrich계)을 사용하였다.

수은 표준 용액은 원자 흡광용 표준시약(Junsei계)을 희석시키는 방법으로 조제하였다. 실험에서 사용한 물은 1차 증류수를 Millipore Milli-Q에 통과시킨 탈이온수를 사용하였다.

실험 용액의 용존산소를 제거하기 위한 질소는 시판용을 구입하여 vanadous chloride 용액과 염기성 pyrogallol 용액 그리고 calcium chloride 층에 통과시킨 후 사용하였다.

**실험기기.** PARC model 303A static mercury drop electrode(ohmic drop 보상을 위한 3전극형)와 PARC model 305 magnetic stirrer가 연결된 EG & G PARC model 384B polarography analyzer에 PARC model RE0093 digital plotter를 이용하여 voltammogram을 얻었다. 작업전극은 glassy carbon을, 기준전극은 Ag/AgCl(PARC model GO159)을, 상대전극은 백금선을 사용하였다. 생체시료 분석 결과를 비교하기 위하여 수은 분석용 quartz cell analyzer가 부착된 원자흡광 분광장치(Varian AA-875)를 사용하였다. pH 측정은 Orion Research사의 model EA 940 digital pH-meter를 사용하였다.

**실험방법.** 염산 용액으로 pH를 맞추어둔 지지 전해질 10.0 ml를 취하여 cell에 넣고 EG & G의 자동 프로그램을 펄스 높이 20 mV, 주사 증가량 2 mV로 고정하였다. 적절한 석출전위에서 선택한 시간 만큼 석출을 시행한 다음 양전위쪽으로 200 mV/sec씩 주사하면서 벚김 전압전류곡선을 얻었다. 석출시간, 석출전위, 주파수, 저어짐속도, 측정용액의 pH에 따른 벚김 피이크 전류값의 변화를 조사하였다. 수은 표준용액의 농도에 따른 벚김 피이크 전류값의 변화를 조사하여 표준검량선을 작성하였다.

**생체시료 분석용용.** 체중 200 g 내외의 Sprague Dawley종 수컷 흰쥐를 실험동물로 선택하여 염화수은을 탈이온 증류수에 녹여 매일 10 mg/kg(10 ppm)씩 10일동안 경구투여하였다. 뇌, 간, 신장을 부분별로 채취하여 증류수로 세척하고  $-40^{\circ}\text{C}$ 에서 항량이 될 때까지 냉동 건조한 후 Johnson 등의 방법에<sup>19,20</sup> 따라 습식탄화시켜 얻은 전처리액을 표준시료 실험과 동일한 조건하에서 벚김 전압전류곡선을 얻어 각 장기에 흡수된 수은의 함량을 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**저어줌 속도의 영향.** Fig.1은 1 ppb 수은 표준 용액을 저어줌 없는 상태에서(A), 그리고 석출과 벗김 때에 400 rpm(B)과 700 rpm(C)의 속도로 저어주는 상태에서 양극벗김 피이크 전류값을 측정하여 비교한 것이다. 용액을 저어주는 속도가 빠를수록 주어진 시간당 전극표면에 석출되는 수은의 양이 많아지므로 피이크 전류값이 증가함을 알 수 있었다. Fig.1에서 1 ppb 수은을 기준으로 볼 때 저어주지 않는 조건에서는 피이크 전류값이 나타나지 않았지만 400 rpm(B)으로 저어줄 때는 210 nA, 700 rpm(C)으로 저어줄 때는 433 nA로 점점 크게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이것으로 보아 저어주는 속도를 증가시키거나 조절하는데 따라서 미량인 경우에도 정량 가능할 것으로 사료되었다.

**석출 전위의 영향.** Fig.2는 10 ppb 수은 표준용액을 석출시간 240초 pH 2.5의 조건에서 석출전위를 변화시키면서 SWASV 방법으로 얻어진 피이크 전류값을 도시한 그림이다. 석출전위가 -0.4 volts에서 -1.0 volts로 변함에 따라 점차로 피이크 전류값이

증가하고, -1.0 volts보다 음전위로 변할 경우에는 다시 감소함을 알 수 있었다. 이는 -1.0 volts 이상의 음전위를 걸어줄수록 전극표면에 수은이 강하고 조밀하게 환원된 상태가 되어 양극벗김할 때 환원된 성분의 용해속도가 늦어지기 때문으로 보인다. 따라서, 본 실험에서는 가장 높은 피이크 전류값을 얻을 수 있는 -1.0 volts를 석출 전위로 선택하였으며 이것은 석출전위를 반과전위보다 0.3~0.5

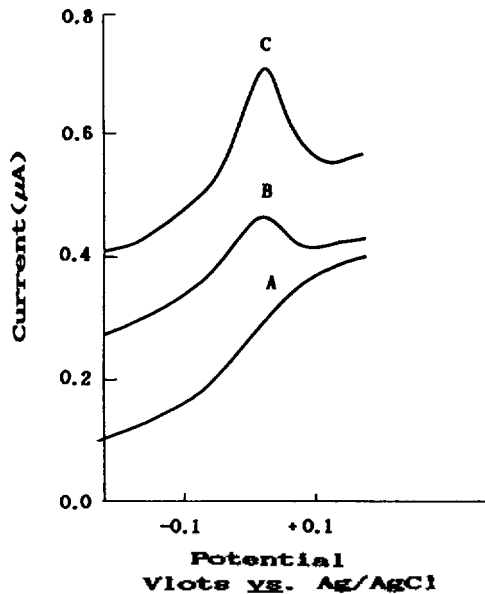


Fig. 1. Dependence of the SWASV peak current on the stirring rate for 1 ppb mercury solution. A; non-stirring, 1 ppb. B; Stirring at 400 rpm, 1 ppb(210 nA). C; Stirring at 700 rpm, 1 ppb (433 nA).

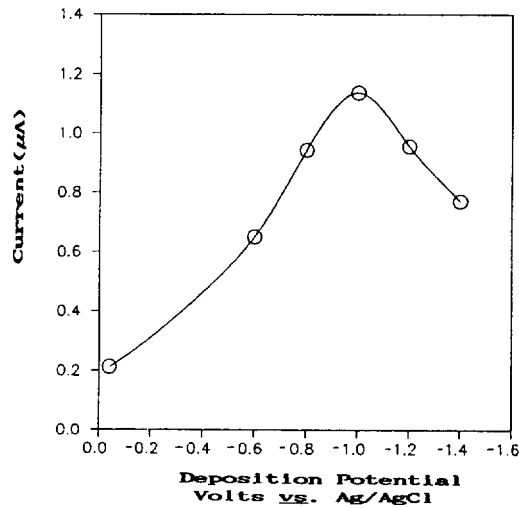


Fig. 2. Effect of deposition potential on the SWASV peak current for 10 ppb mercury solution.

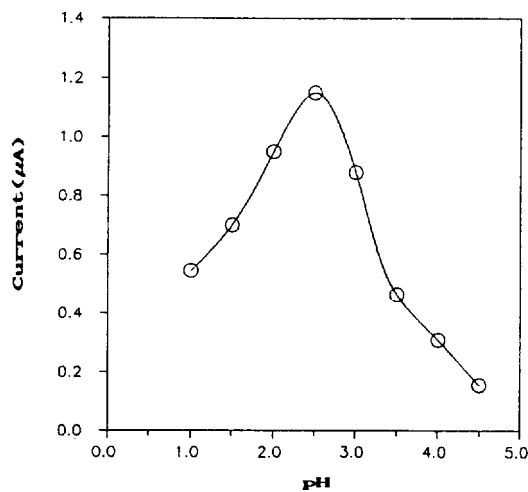


Fig. 3. Effect of pH on the SWASV peak current for 10 ppb mercury solution at the deposition time 240 sec.

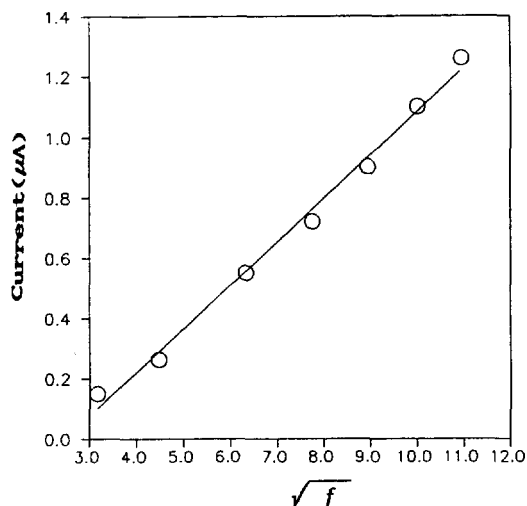


Fig. 4. Effect of frequency (Hz) on the SWASV peak current for 10 ppb mercury solution.

volts 정도 더 음전위 쪽으로 잡는 것이 좋다는 제안과도 일치하는 것이다<sup>21</sup>.

**pH의 영향.** Fig. 3은 10 ppb 수은 표준용액에 대하여 석출시간 240초, 석출전위  $-1.0$  volts의 조건에서 pH를 변화시키면서 SWASV 방법으로 얻어진 피크 전류값을 나타낸 것이다. pH 1에서부터 피크 전류값이 증가되기 시작하여 pH 2와 pH 2.5 사이에서 가장 큰 값을 보여주었으며 pH 2.8 이후부터는 다시 감소되기 시작하였는데 이것은 pH가 증가할수록 수은이 수산화물로 침전되었는데 기인되는 것으로 보인다. 따라서 모든 측정용액을 pH 2.5 인 조건에 맞추고 실험하였다.

**주파수 변화의 영향.** Fig. 4는 10 ppb 수은 표준용액에 대하여 석출시간 240초, pH 2.5인 조건에서 주파수를 변화시키면서 피크 전류값을 비교한 것이다. 확산전류는 주파수의 제곱근에 비례하는데<sup>22</sup>, Fig. 4에서 SWASV법으로 얻어진 피크 전류도 주파수가 커짐에 따라 증가함을 알 수 있었다. 그러나 주파수가 지나치게 클 경우에는 오히려 피크 전류값이 불안정<sup>23</sup>하기 때문에 본 실험에서는 높은 피크 전류값을 안정하게 얻기 위하여 100 Hz의 주파수를 선택하였다.

**석출시간의 영향.** Fig. 5는 10 ppb 수은 표준용액을 400 rpm으로 저어준 조건에서 석출시간의 변화에 따른 음극 벗김 피크 전류값을 비교한 것

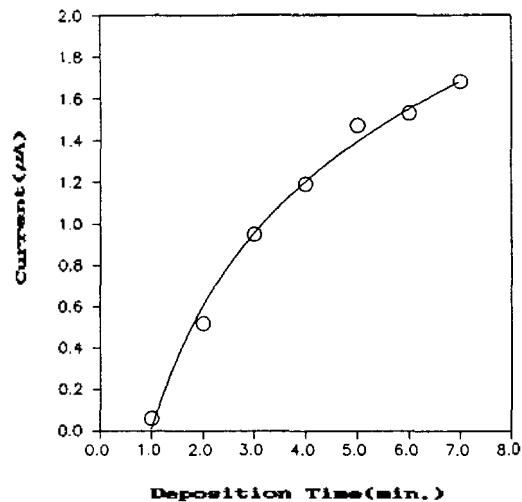


Fig. 5. Dependence of the SWASV peak current on the deposition time for 10 ppb mercury solution.

이다. 석출시간 5~6분까지는 전류값이 거의 직선으로 증가하다가 7분이 경과하면 증가폭이 점점 적어지면서 전류값의 재현성이 감소하는 것을 알 수 있었다. 이것은 피크 전류값과 표면적에 흡착·석출되는 수은 양이 어느 일정한 석출시간까지는 비례하지만 그 이상의 석출시간에서는 전극의 표면적에 대한 수은의 포화 효과나 수은과 불순물 금속이온과의 intermetallic 효과 등으로 편차가 생기는 것으로 해석된다<sup>24</sup>. 따라서 본 실험에서는 석출시간을 240초로 선택하였다.

**금속이온 첨가의 영향.** Fig. 6은 10 ppb 수은 표준용액에 각각 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연의 양을 증가시키면서 수은의 피크 전류값의 변화를 나타낸 것이다. 카드뮴과 구리가 수은농도보다 2~3배 정도 많이 존재할 때 아말감 형성시 카드뮴의 수은에 대한 높은 용해도와 구리의 intermetallic 효과<sup>25</sup>로 인하여 수은의 피크 전류값이 증가하였으며 니켈, 납, 아연 등은 10배 이상이 존재하여도 수은에 대한 그들의 반파전위 차이가 크기 때문에 피크 전류값은 큰 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 여기에서 원소들이 소량으로 첨가되었을 때 피크 전류의 증감이 나타나는 것은 각 원소들의 수은 아말감 형성에 대한 용해도의 차이와 intermetallic 효과 등의 영향 때문으로 보여진다.

**피크 전류의 농도 의존성.** 석출시간 240초,

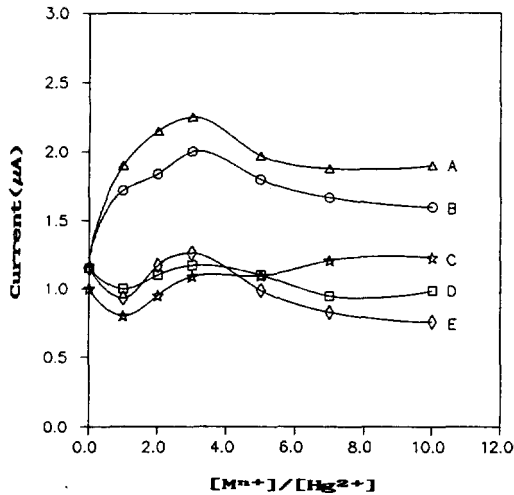


Fig. 6. The dependence of the  $i_p$  values of mercury (10 ppb) on the ratio  $[M^{n+}]/[Hg^{2+}]$  in KSCN media. (A)  $Cd^{2+}$ , (B)  $Cu^{2+}$ , (C)  $Zn^{2+}$ , (D)  $Pb^{2+}$ , (E)  $Ni^{2+}$ .

석출전위  $-1.0$  volts, pH 2.5, 주파수 100 Hz의 분석조건에서 용액을 400 rpm의 속도로 저으면서 얻어진 수은 표준용액의 농도 변화에 대한 피이크 전류값을 Fig. 7에 나타내었다. 이 조건에서 0.5 ppb부터 100 ppb 이상의 범위까지 좋은 농도 비례를 보여주었으며 검량선에서의 검량감도는 0.113 이었다. 이 결과는 저어주지 않은 상태와 비교하여 볼 때 저어줌의 효과가 매우 크므로 저어줌의 속도를 증가시키거나 조절하면 0.1 ppb 정도의 극미량도 검출할 수 있을 것으로 보여진다.

**생체 시료 분석에의 응용.** 이상의 실험을 통하여 수은 분석의 최적조건을 조사하였고 이를 실제 생체 시료 중에 들어 있는 수은 분석에 응용하였다. 생체 시료로는 염화수은을 매일 10 mg/kg(10 ppm)씩 10 일 동안 경구투여한 Sprague-Dawley종 흰쥐의 뇌, 간, 신장을 각 장기별로 채취하여 사용하였다. 0.09~0.23 g 범위로 냉동건조된 각 장기를 전처리하여 10.0 ml씩 되도록 시료용액으로 만들었다. 저어주지 않을 때는 1.0 ml, 400 rpm으로 저어줄 때는 0.1 ml의 시료용액을 취하여 전해용기에 옮기고 지지전해질 용액으로 10.0 ml가 되도록 한 다음 표준시료 실험과 동일한 조건에서 네모파 전극전류법 전압전류곡선을 얻었다. 이때 얻어진 피이크 전류값을 표준 검정곡선 범위에 적용하여(표준용액 첨가방법으로도

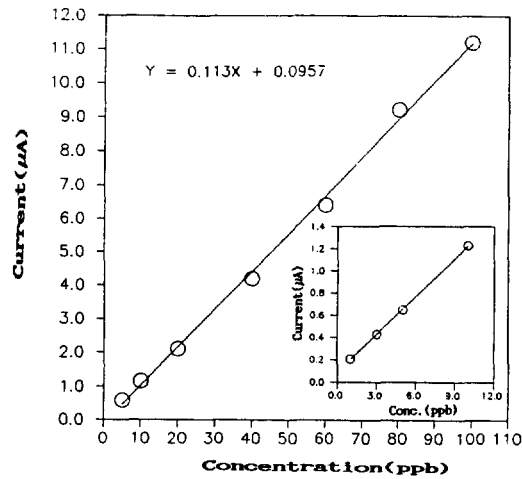


Fig. 7. Calibration curve for the square wave anodic stripping voltammetric determination of mercury in 0.1M KSCN solution. pH, 2.5; Deposition time, 240 sec; Deposition potential,  $-1.0$  V; Frequency, 100 Hz; Stirring rate, 400 rpm.

Table 1. Contained mercury (ppm for 100 mg sample weight) in brain, liver and kidney of mouse

	mean $\pm$ SD		
	Non-stirring <sup>a</sup>	Stirring at 400 rpm <sup>b</sup>	AAS <sup>c</sup>
Brain		1.8 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.3
Liver	45.2 $\pm$ 2.2	49.9 $\pm$ 4.1	48.2 $\pm$ 3.3
Kidney	71.1 $\pm$ 3.0	77.0 $\pm$ 5.1	74.9 $\pm$ 3.7

<sup>a</sup>Deposition time 240 sec, deposition potential  $-1.0$  volts, pH 2.5, frequency 100 Hz. <sup>b</sup>Deposition time 240 sec, deposition potential  $-1.0$  volts, pH 2.5, frequency 100 Hz, stirring at 400 rpm. <sup>c</sup>253.7 nm mercury resonance line at cold mercury vapor cell.

확인하였음) 정량하였으며 회석율을 감안하여 생체 시료 각각의 0.1 g 중에 들어있는 수은의 함량으로 환산하였다. 또한 측정용액을 저어주었을 때와 저어주지 않았을 때의 피이크 전류값들과 석영 용기를 이용한 원자흡광분석법으로 얻어진 결과를 비교하여 Table 1에 나타내었다. 뇌에 수은이 가장 적게 분포되는 것으로 나타났으며, 저어주지 않을 때는 검출되지 않았으나 400 rpm으로 저어줄 때에는 1~2 ppb 정도가 검출되었다. Table 1에서 원자흡광분석의 결과와 비교하여 볼 때 오차 허용범위에서 서로 잘 일치하는 것을 알 수 있었고, 따라서 비교적 짧은

시간에 수은을 미량정량할 수 있는 SWASV법은 생체물질의 수은 분석에도 유용하게 이용할 수 있을 것이다.

## 결 론

SWASV를 이용한 수은 분석은 석출시간 240 sec, 석출전위 -1.0 volts, pH 2.5, 주파수 100 Hz인 상태에서 가장 적합하였다. 용액을 짓지 않았을 때 10 ppb에서 20 ppm 정도까지 농도비례가 잘 되었고 용액을 400 rpm의 속도로 저으면서 실험하였을 때는 0.5 ppb에서 100 ppb 정도까지 농도 비례가 잘 됨을 알 수 있었다. 또한 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연 등 다른 금속이온이 존재하여도 농도 의존이 가능하였으나 카드뮴과 구리가 많이 존재할 때는 intermetallic 효과로 수은 피이크 전류값의 오차가 크게 증가하였다.

이상의 분석법을 일정기간 동안 염화 수은 경구 투여한 쥐로부터 얻어진 생체시료의 수은 정량에 응용할 수 있었다.

## 인 용 문 헌

- 李頭淳, 農藥과 植物保存, 3, 4 (1982).
- 文星明, 化學藥品大辭典, 學園出版社, pp. 188~191 (1989).
- A. M. Ure, *Anal. Chim. Acta*, **76**, 1 (1975).
- S. Chilov, *Talanta*, **22**, 205 (1975).
- C. M. H. Christian and J. W. Robinson, *Anal. Chim. Acta*, **56**, 466~470 (1971).
- 李聲雨 등, 國立科學搜查研究所年報, **18**, 240~245 (1986).
- J. D. Burton and T. M. Leatherland, *Nature* (London), **231**, 440 (1971).
- T. M. Leatherland, J. D. Burton, J. M. McCartney, and F. Culkun, *Nature* (London), **232**, 112 (1971).
- F. P. Scaringelli, J. C. Puzak, B. I. Bennett, and R. L. Denny, *Anal. Chem.*, **46**, 278~283 (1974).
- D. C. Johnson and R. E. Allen, *Talanta*, **20**, 305 (1973).
- S. P. Perone and W. J. Kretlow, *Anal. Chem.*, **37**, 968 (1965).
- R. E. Allen and C. D. Johnson, *Talanta*, **20**, 799~809 (1973).
- L. Luong and F. Vydra, *Electroanal. Chem. and Inter. Electrochem.*, **50**, 379~386 (1974).
- K. Kritsotakis, N. Laskowski, and H. J. Tobschall, *J. Environ. Anal. Chem.*, **6**, 203~216 (1979).
- R. Fukai and L. Huynh-Ngoc, *Analytica Chimica Acta*, **83**, 375~379 (1976).
- L. Sipos, H. W. Nurnberg, P. Valenta, and M. Branica, *Analytica Chimica Acta*, **115**, 25~52 (1980).
- A. J. Bard, "Electrochemical Methods", John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., pp. 146~151 (1980).
- A. M. Bond, "Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry", Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1~8 (1980).
- 日本藥學會編, 衛生試驗法註解, 金星出版, p. 400 (1980).
- C. A. Johnson, *Anal. Chim. Acta*, **81**, 69~74 (1976).
- J. Wang, "Stripping Analysis", VCH., Weinheim, p. 14 (1985).
- "Electroanal. Chem." (Edited by A. J. Bard), Vol. 14, p. 267 Marcell Dekker (1986).
- 영인과학출판부, Model 384B Polarographic Analyzer Manual, pp. 24~35.
- J. Wang, "Stripping Analysis", VCH., Weinheim, p. 16 (1985).
- J. Wang, "Stripping Analysis", VCH., Weinheim, pp. 94~96 (1985).