

## 유리질 탄소전극에서 양극벗김 네모파 전압-전류법에 의한 생체내 미량 수은의 정량

金日光\* · 千賢子<sup>1</sup> · 鄭昇濬<sup>1</sup> · 白承和<sup>1</sup> · 韓完洙<sup>2</sup>

원광대학교 자연과학대학 화학과

<sup>1</sup>원광대학교 BK21 한의학전분대학원

<sup>2</sup>북원대학교 자연과학대학 화학과

(2001. 3. 21 접수)

### Determination of Bio-Accumulated Trace Mercury by Anodic Stripping Square Wave Voltammetry at Glassy Carbon Electrode

Ilkwang Kim\*, Hyunja Chun<sup>1</sup>, Seungil Jeong<sup>1</sup>, Seunghwa Beck<sup>1</sup>, and Wansoo Han<sup>2</sup>

Department of Chemistry, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

<sup>1</sup>BK21 Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Mokwon University, Taejeon 302-729, Korea

(Received March 21, 2001)

**요 약.** 생체시료에 함유된 미량수은을 유리질 탄소전극을 사용하는 양극 벗김 네모파 전압-전류법으로 정량하였다. 생체시료는 HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 산혼합용액으로 삭히고, KMnO<sub>4</sub>를 가하여 산화시켰다. 수은의 검출한계는 석출전위, 시간, pH, 그리고 용액을 저어주는 속도 등에 크게 영향을 받았다. 1.0 volts vs. Ag/AgCl에서 400 rpm으로 저어주면서 240 sec 동안 석출시켰을 경우, 검출한계는 0.5 ppb 이하였다. 흰쥐에 대한 수은의 생체 축적량은 신장과 간에서 높았고, 뇌에서는 매우 낮았다.

**ABSTRACT.** The trace-level mercury in bio-materials has been determined by the anodic stripping square wave voltammetry (ASSWV)-technique at glassy carbon electrode. Prior to the analysis, the bio-materials were digested with HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mixture and KMnO<sub>4</sub> was added to complete an oxidation process of the mixture. The detection limit of the mercury varied greatly with deposition time, deposition potential, pH and stirring rate. When the deposition was carried out for 240 sec on 400 rpm stirring at -1.0 volts vs. Ag/AgCl, the detection limit was below 0.5 ppb (2.5 × 10<sup>-9</sup> M). The accumulated mercury was high in the kidney and liver, and low in the brain according to the determination of mercury accumulation for a white rat by this method.

## 서 론

우리 나라에서는 실란제의 주조용 이득이 있던 유기 수은의 제조 및 사용을 1978년부터 금지하고 있다.<sup>1</sup> 일련의 정책적인 억제에도 불구하고 농약과 전지 그리고 각 산업시설에 의한 수은의 배출은 우리의 건강과 환경을 크게 오염시키고 있다.

수은 중독의 증상으로는 금속수은의 경우 고농도의

수은증기를 흡입하면 급성중독으로 폐렴이나 신장 기능장애가 유발된다. 온도가 제조공장이나 수은 광산에서 보이는 만성중독의 경우 분면, 식욕부진, 무기력증, 신기능 부전, 구내염 등이 전형적인 증상으로 나타나며, 무기수은이 경구적으로 섭취되었을 때는 위장의 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, 구음장애, 청력장애, 구신성 시야협착, 정신이상 등 신경계 장애가 주로 일어난다.<sup>2,3</sup> 이상과 같이 심각한 분체를 야기시키는 수은 화합물에 대한 여러 가지 검출방법들이 그 동안 많이 보고된 바 있다. 생체 내에 흡수되는 미량의 수은 화합물을 검출하는 대부분의 분석방법들은 전처리 과정과 분석조건들에 따른 검출한계 그리고 분석에 소요되는 시간 등의 문제점을 가지고 있으며, 이를 최소화시키는 노력이 절실히 요구된다. 그 동안 보고된 수은 화합물 분석방법으로는 보통 원자흡광분석법<sup>4,5</sup> 등이 주종을 이루고 있고, 미분 펄스 플라노 그래피를 이용한 양극 및 침법<sup>6,7</sup>이 어느정도 보고된 바 있다. 근래 전자공학의 발달에 따라 새로운 전해방식과 전기화학적 측정방법의 도입으로 네모와 전압-전류법(SWV), 흡착 및 전압-전류법 등이 개발되었으며, 분석감도와 분리도가 크게 향상되어  $10^{-9}$ ~ $10^{-11}$  M 정도의 극미량(0.1 ppb)까지도 측정할 수 있게 되었다.<sup>14-18</sup>

또한 방해요소와 검출한계를 최소화하기 위해 이온교환성화합물,<sup>19,20</sup> 거대고리 리간드,<sup>21,22</sup> polypyrrole이나 유황 함유 화합물<sup>23,26</sup> 등으로 수식된 전극에 수은을 전착시키는 방법도 많이 보고되고 있다.

본 연구에서는 사용이 간편하고 재현성이 좋은 유리질 탄소 전극으로 신속성에서 유리한 산화 및 침 네모와 전압-전류법(ASSWV)를 이용하여 석출시간, 제어속도, pH, 주파수 변화 등 여러 가지 분석조건에 따른 피크 전류값을 조사하고, 검출능도 한계와 분석의 최적 조건을 제시하였다. 또한, 수은 검출시 공존할 수 있는 여러 가지 미량 중금속의 영향을 조사하였고, 일정기간 동안 수은을 경구 투여한 쥐의 생체시료에 흡수된 수은에 대한 응용분석도 시도하여 생체부위별 수은 축적을 비교하였다.

## 재료 및 방법

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

수은 표준 용액은 원자 흡광용 표준시약(Junsei제)을 희석시키는 방법으로 조제하였다. 붉은 1차 증류수를 Millipore Milli-Q에 통과시킨 탈이온수를 사용하였다.

시판용 질소(99.9%)를 구입하여 vanadous chloride

용액과 염기성 pyrogallol 용액 그리고 증류수 층에 통과시킨 후 실험용액의 용존산소를 제거하였다.

**생체시료.** 체중 200+10 g 네모의 Sprague Dawley종 수컷 흰쥐를 실험 동물로 선택하고, 염화수은을 탈이온수에 녹여 매일 10 mg/kg(10 ppm)씩 10일 동안 경구 투여하였다. 뇌, 간, 신장을 부분별로 채취하여 탈이온수로 세척하고 항량이 될 때까지 40 °C에서 냉동 건조하였다. Johnson 등의 방법<sup>27,28</sup>에 따라 습식탄화시킨 인은 전처리 액을 표준시료 실험과 동일한 조건하에서 벗김 전압-전류곡선을 얻어, 각 장기에 흡수된 수은의 함량을 분석하였다.

**실험기기.** PARC model 303A static mercury drop electrode(Ohmie drop 보상을 위한 3전극형)와 PARC model 305 magnetic stirrer가 연결된 EG&G PARC model 384B polarographic analyzer에 PARC model RE0093 digital plotter를 이용하여 voltammogram을 얻었다. 작업전극은 유리질 탄소, 기준전극은 Ag/AgCl(PARC model GO159)을, 상대전극은 백금선을 사용하였다. 생체시료 분석결과를 비교하기 위하여, 수은분석용 quartz cell analyzer가 부착된 원자흡광분광장치(Varian AA-875)를 사용하였다. pH 측정은 Orion Research사의 model EA 940 digital pH meter를 사용하였다.

**실험방법.** 0.1 M 염산 용액으로 pH를 맞추어둔 지지 전해질 10.0 ml를 취하여 cell에 넣고 EG&G에서 제공된 프로그램을 이용하여, 펄스 높이 20 mV, 주사증가량 2 mV로 고정하였다. 적절한 석출전위에서 고정된 시간만큼 석출을 시행한 다음 양전위쪽으로 200 mV/sec 씩 주사하면서 벗김 전압-전류곡선을 얻었다. 석출시간, 석출전위, 주파수, 제어속도, 측정용액의 pH 변화에 따른 벗김 피크 전류값의 변화를 조사하였다. 수은 표준용액의 농도에 따른 벗김 피크 전류값의 변화를 조사하여 표준검정곡선을 작성하였다.

## 결과 및 고찰

**제어속도의 영향.** Fig. 1은 1.0 ppb 수은 표준용액을 적지 않은 상태(A)와 400 rpm(B)과 700 rpm(C)의 속도로 제어하는 상태에서 ASSWV의 피크 전류값을 측정하여 비교한 것이다. 용액을 제어하는 속도가 빠를수록 주어진 시간당 전극표면에 석출되는 수은의 양이 많아지므로 피크 전류값이 증가함을 알 수 있었다.

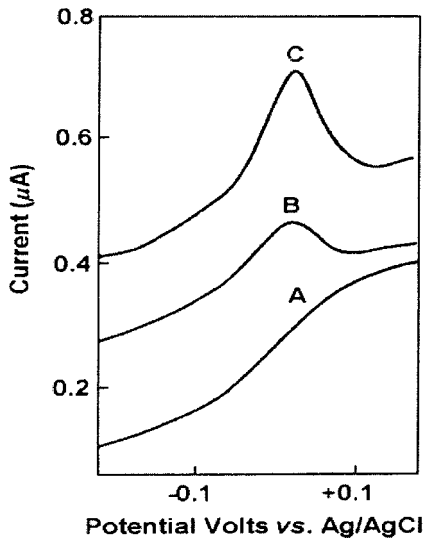


Fig. 1. Dependence of the SWASV peak current on the stirring rate for mercury solution. A: non-stirring, 1 ppb, B: Stirring at 400 rpm, 1 ppb (210 nA), C: Stirring at 700 rpm, 1 ppb (433 nA).

Fig. 1에서 1.0 ppb 수은을 기준으로 볼 때 제어되지 않은 조건에서는 피이크 전류값이 나타나지 않았지만 400 rpm(B)으로 제어할 때는 210 nA, 700 rpm(C)으로 제어할 때는 433 nA로 점점 크게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이것으로 보아 제어하는 속도를 증가시키거나 조절하는 때 따라서 1.0 ppb보다 미량인 경우에도 정량이 가능할 것으로 사료되었다.

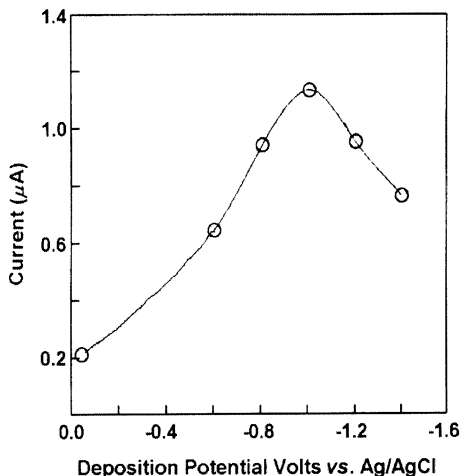


Fig. 2. Effect of deposition potential on the SWASV peak current for mercury solution (10 ppb).

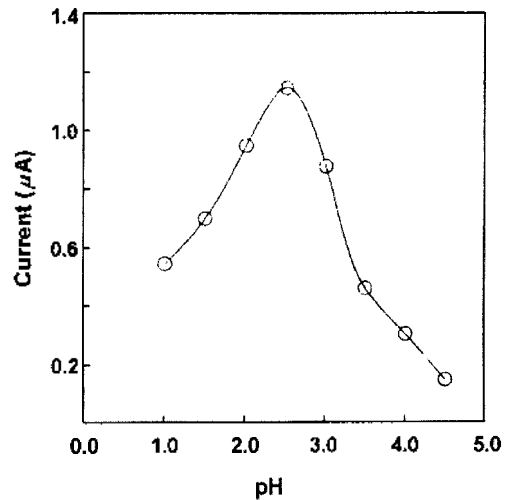


Fig. 3. Effect of pH on the SWASV peak current for mercury solution (10 ppb) at the deposition time 240 sec.

**석출전위의 영향.** Fig. 2는 10 ppb 수은 표준용액을 석출시간 240초와 pH 2.5의 조건에서 석출전위를 변화시키면서 ASSWV 방법으로 얻어진 피이크 전류값을 도시한 그림이다. 석출전위가  $-0.4$  volts에서  $-1.0$  volts로 변함에 따라 점차로 피이크 전류값이 증가하고,  $-1.0$  volts 보다 음전위로 변할 경우에는 다시 감소함을 알 수 있었다. 이는  $-1.0$  volts 이상의 센 음전위를 걸어줄수록 전극표면에 수은이 강하고 조밀하게 환원된 상태가 되어 양극벚길 때 환원된 성분의 용해속도가 늦어지기 때문으로 보인다. 따라서, 본 실험에서는 가장 높은 피이크 전류값을 얻을 수 있는  $-1.0$  volts를 석출전위로 선택하였으며 이것은 석출전위를 반파전위보다  $0.3$ - $0.5$  volts 정도 더 음전위 쪽으로 잡는 것이 좋다는 제안<sup>2)</sup>과도 일치하는 것이다.

**pH의 영향.** Fig. 3은 10 ppb 수은 표준용액에 대하여 석출시간 240초, 석출전위  $-1.0$  volts의 조건에서 pH를 변화시키면서 ASSWV 방법으로 얻어진 피이크 전류값을 나타낸 것이다. pH 1에서부터 피이크 전류값이 증가되기 시작하였으며, pH 2.8 이후부터는 다시 감소되기 시작하였는데, 이것은 pH가 증가할수록 수은이 수산화물로 침전되는데 기인하는 것으로 보인다. 따라서 모든 측정용액을 pH 2.5인 조건에 맞추고 실험하였다.

**주파수 변화의 영향.** Fig. 4는 10 ppb 수은 표준용액에 대하여 석출시간 240초, pH 2.5인 조건에서 주파수를 변화시키면서 피이크 전류값을 비교한 것이다. 확산

전류는 주파수의 제곱근에 비례하는데, Fig. 4에서 ASSWV 법으로 얻어진 피이크 전류도 주파수의 제곱근 값이 커짐에 따라 증가함을 알 수 있었다. 그러나 주파수가 지나치게 클 경우에는 오히려 피이크 전류값이 불안정하게 되기 위하여 100 Hz의 주파수를 선택하였다.

**석출시간의 영향.** Fig. 5는 10 ppb 수은 표준용액을 400 rpm으로 저어준 조건에서 석출시간의 변화에 따른 ASSWV의 피이크 전류값을 비교한 것이다. 석출시간

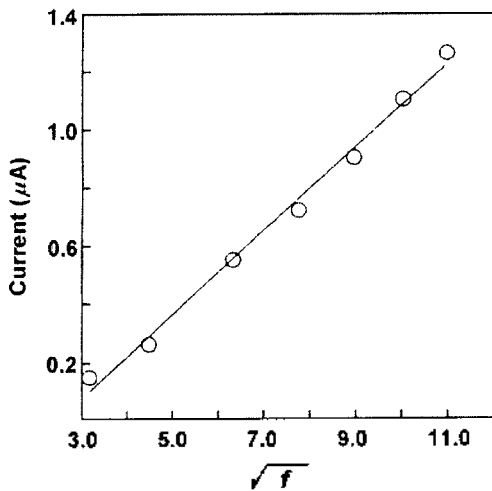


Fig. 4. Effect of frequency (f) on the SWASV peak current for mercury solution (10 ppb).

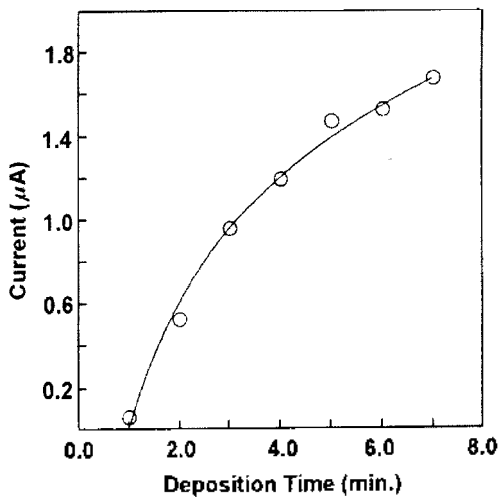


Fig. 5. Dependence of the SWASV peak current on the deposition time for mercury solution (10 ppb).

5-6분까지는 전류값이 거의 직선으로 증가하다가 7분이 경과하면 증가폭이 점점 적어지면서 전류값의 제한성이 감소하는 것을 알 수 있었다. 이것은 피이크 전류값과 포인틱에 흡착 석출되는 수은 양이 어느 일정한 석출시간까지는 비례하지만 그 이상의 석출시간에서는 전극의 표면적에 대한 수은의 포화 효과나 수은과 불순물 금속이온과의 intermetallic 효과<sup>12</sup> 등으로 편차가 생기는 것으로 해석된다. 따라서 본 실험에서는 석출시간을 240초로 선택하였다.

**금속이온 첨가의 영향.** Fig. 6은 10 ppb 수은 표준용액에 각각 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연의 양을 증가시키면서 수은의 피이크 전류값의 변화를 나타낸 것이다. 카드뮴과 구리가 수은농도보다 2-3배정도 많이 존재할 때 아말감 형성 시 카드뮴의 수은에 대한 높은 용해도와 구리의 intermetallic 효과<sup>13</sup>로 인하여 수은의 피이크 전류값이 증가하였으며 니켈, 납, 아연 등은 10배 이상이 존재하여도 수은에 대한 그들의 반과전위 차이가 크기 때문에 피이크 전류값은 큰 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 여기에서 원소들이 소량으로 첨가되었을 때 피이크 전류의 증가가 나타나는 것은 각 원소들의 수은 아말감 형성에 대한 용해도의 차이와 intermetallic 효과 등의 영향 때문으로 보여진다.

**피이크 전류의 농도 의존성.** 석출시간 240초, 석출전위 -1.0 volts, pH 2.5, 주파수 100 Hz의 분석조건에서

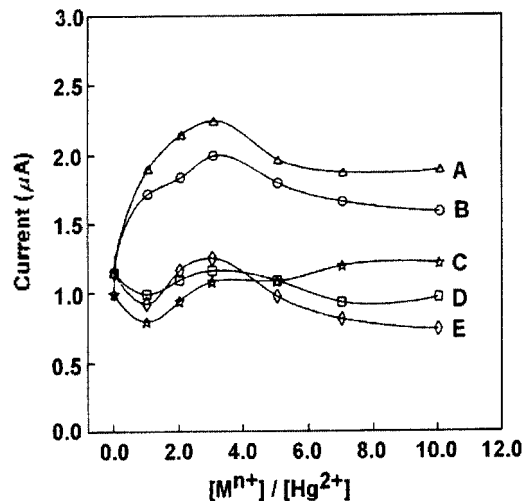


Fig. 6. The dependence of the  $i_p$  values of mercury (10 ppb) on the ratio  $[M^{n+}] / [Hg^{2+}]$  in KSCN media. (A)  $Cd^{2+}$ , (B)  $Cu^{2+}$ , (C)  $Zn^{2+}$ , (D)  $Pb^{2+}$ , (E)  $Ni^{2+}$ .

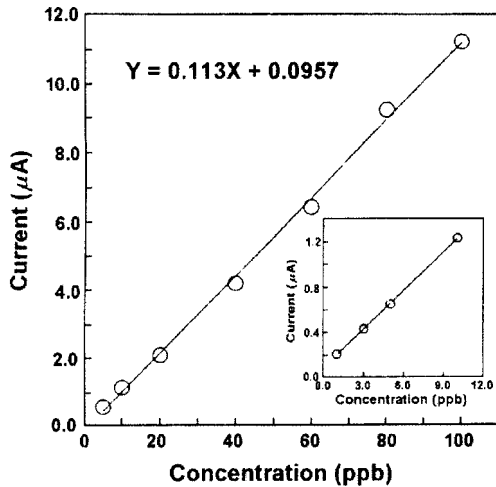


Fig. 7. Calibration curve for the anodic stripping square wave voltammetric determination of mercury in 0.1 M KSCN of pH, 2.5. Deposition time, 240 sec; deposition potential, -1.0 V; frequency, 100 Hz; stirring rate, 400 rpm.

용액을 400 rpm의 속도로 저으면서 얻어진 수은 표준 용액의 농도변화에 대한 피이크 전류값을 Fig. 7에 나타내었다. 이 조건에서 0.5 ppb부터 100 ppb 이상의 범위까지 농도 비례식은  $Y=0.113X+0.096$ 이었고, 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 것이다.

**생체시료 분석에의 응용.** 이상의 시험을 통하여 ASSWV 방법에 의한 수은 분석의 최적조건을 조사하였고 이를 실제 생체시료 중에 들어 있는 수은 분석에 응용하였다. 생체시료는 염화수은을 매일 10 mg/kg(10 ppm)씩 10일 동안 경구 투여한 Sprague-Dawley 종 흰 쥐의 뇌, 간, 신장을 각 장기별로 채취하여 사용하였다.

0.19-0.23 g 범위로 냉동 건조된 각 장기를 전처리하여 10.0 mL 씩 되도록 시료용액으로 만들었다. 0.1 mL의 시료용액을 취하여 전해용기에 옮기고, 지지전해질 용액으로 10.0 mL가 되도록 한 다음, 400 rpm으로 저어주면서 표준시료 실험과 동일한 조건에서 네모파 산화 전극범김 전압전류곡선을 얻었다. 이 때 얻어진 피이크 전류값을 표준검정곡선에 적용하여 정량하였으며, 회석율을 보정하여 생체시료 0.1 g 중에 들어있는 수은의 함량으로 환산하였다. 또한 측정용액을 저어주었을 때와 짓지 않았을 때의 피이크 전류값들과 석영 용기를 이용한 원자흡광분석법으로 얻어진 결과를 비교하여 Table 1에 나타내었다. 수은은 신장과 간에 주로 축적되었으며, 뇌부위에서는 400 rpm으로 저어줄 때 1-2 ppb 정도로 검출되었다. 이는 각종 중금속이나 화학물질이 생체내에 투입되었을 때 대사경로에 따라 축적량이 많아지고 뇌에 전이될 때는 뇌 세포의 외피층을 통과해야 되는 선택적 장애 때문에 뇌축적량은 매우 적어진다고 볼 수 있다. Table 1에서 원자흡광분석의 결과와 비교하여 볼 때 오차 허용범위에서 결과가 잘 일치하는 것을 알 수 있었고, 따라서 비교적 짧은 시간에 수은을 미량정량 할 수 있는 ASSWV법을 생체조직의 수은 분석에 유용하게 이용할 수 있었다.

## 결 론

ASSWV법을 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 저어주면서 실험하였을 때는 0.5 ppb에서 100 ppb 정도까지 농도비례가 잘 됨을 알 수 있었다. 또한 카드뮴, 구리, 니켈, 납, 아연 등 다른 금속이온이

Table 1. Contained mercury (ppb for 0.1 g sample weight) in brain, liver and kidney of mouse

	Non-stirring <sup>a</sup>	Stirring at 400 rpm <sup>b</sup>	AAS <sup>c</sup>
Brain		1.8±0.3	1.6±0.5
Liver	45.2±2.2	49.9±4.1	48.2±4.3
Kidney	71.1±3.0	77.0±4.5	74.9±4.7

<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 (253.7 nm) at cold mercury vapor cell.

<sup>d</sup>S.D.(standard deviation) obtained from a mean of experimental data for 5 times.

존재하여도 농도 의존이 가능하였으나 카드뮴과 구리가 많이 존재할 때는 intermetallic 효과로 수은 피이크 전류값의 오차가 크게 증가하였다.

이 방법을 실험용 쥐의 장기부의별 수은축적의 정량에 이용한 결과, 신장에 70 ppb 이상, 간에 45 ppb 이상, 그리고 뇌에 1-2 ppb 정도가 측정된 것으로 나타났다. 이것은 수은이 일반적 중금속 대사경로를 따라 배출기관인 신장과 간장에 먼저 많이 축적되고, 뇌에는 위폐층 통과와 장애효과 때문에 서서히 축적되는 것을 의미한다.

본 연구는 BK21 한의학전통대학원(2001년도)과 원광대학교 교비(2000년도)의 지원에 의한 것으로 이에 감사드립니다.

### 인용문헌

1. 李頌淳 農藥과 植物保存, 1982; p 3.
2. 文星明 化學藥品大辭典, 學園出版公私, 1989; p 188.
3. 朴霖雨 등 國立科學搜查研究所年報, 18th ed.; 1986; p 240.
4. Ure, A. M. *Anal. Chim. Acta* **1975**, *1*, 76.
5. Chilov, S. *Talanta* **1975**, *22*, 205.
6. Christian, C. M. H.; Robinsom, J. W. *Anal. Chim. Acta* **1971**, *56*, 566.
7. Burton, J. D.; Leatherland, T. M. *Nature* (London) **1971**, *440*.
8. Scaringelli, F. P.; Puzak, J. C.; Bennett, B. I.; Denny, R. L. *Anal. Chem.* **1974**, *46*, 278.
9. Allen, R. E.; Johnson, C. D. *Talanta* **1973**, *20*, 799.
10. Perone, S. P.; Kretlow, W. J. *Anal. Chem.* **1965**, *37*, 968.
11. Johnson, D. C.; Allen, R. E. *Talanta* **1973**, *20*, 305.
12. Luong, L.; Vydra, F. *Electroanal. Chem. and Inter Electrochem.* **1974**, *50*, 376.
13. Kritsotakis, K.; Kaskowski, N.; Tobschall, H. J.

- J. Environ. Anal. Chem.* **1976**, 203.
14. Fukai, R.; Huynh-Ngoc, L. *Anal. Chim. Acta* **1976**, *83*, 375.
15. Sipos, L.; Numberg, H. W.; Valenta, P.; Brunica, M. *Anal. Chim. Acta* **1980**, *115*, 25.
16. Bard, A. J. *Electrochemical Methods*, John Wiley & Sons, Inc.: U.S.A., 1980; p 146.
17. Bond, A. M. *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*; Marcel Dekker Inc.: New York, 1980; p 1.
18. Gorecki, J.; Goles, J. *Electroanalysis* **2001**, *13*, 719.
19. Ugo, P.; Moretto, L. M.; Mazzocchin, G. A. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *305*, 74.
20. Ugo, P.; Spemi, L.; Moretto, L. M. *Electroanalysis* **1997**, *9*, 1153.
21. Tyryan, I.; Mandler, D. *Nature* **1993**, *362*, 703.
22. Tyryan, I.; Mandler, D. *Electroanalysis* **1994**, *6*, 838.
23. Imisides, M. D.; Wallace, C. G. *J. Electroanal. Chem.* **1988**, *246*, 181.
24. Agraz, R.; Sevilla, M. J.; Hernandez, L. *J. Electroanal. Chem.* **1995**, *390*, 47.
25. Ugo, P.; Moretto, L. M.; Wang, J. *Electroanalysis* **1998**, *10*, 1017.
26. Tyryan, I.; Erichsen, T.; Schuhmann, W.; Mandler, D. *Electroanalysis* **2001**, *13*, 79.
27. 日本藥學會編, 衛生試驗法註解, 金星出版; 1980; p 400.
28. Johnson, C. A. *Anal. Chim. Acta* **1976**, *81*, 69.
29. Wang, J. *Stripping Analysis*; VCH: Weinheim, 1985; p 14.
30. Bard, A. J. *Electroanalytical Chemistry* Marcel Dekker: 1986; Vol. 14, p 267.
31. 영인과학출판부, Model 384B Polarographic Analyzer Manual; 1987; p 24.
32. Wang, J. *Stripping Analysis*; VCH: Weinheim, 1985; p 16.
33. Wang, J. *Stripping Analysis*; VCH: Weinheim, 1985; p 84.