

고성능액체크로마토그래피-유도결합플라즈마 질량분석기를 이용한 어류 중 메틸수은 분석법 확립

유경열,* 반경녀,¹ 김은정, 김양선, 명정은, 윤혜성,² 김미혜³

경인지방식품의약품안전청 수입식품분석과, ¹식품의약품안전청 첨가물기준과, ²식품의약품안전평가원 식품감시과학팀,
³식품의약품안전평가원 오염물질과

Establishment of Analytical Method for Methylmercury in Fish by Using HPLC-ICP/MS

Kyung Yoal Yoo,* Kyeong Nyeo Bahn,¹ Eun Jung Kim, Yang Sun Kim, Jyong Eun Myung, Hae Seong Yoon² and Mee Hye Kim³ (Imported Food Analysis Division, Gyeongin Regional Food and Drug Administration, Incheon, 402-835, Korea, ¹Food Additives Standardization Division, Korea Food and Drug Administration, Osong, 363-951, Korea, ²Scientific Food Investigation Team, National Institute of Food & Drug Safety Evaluation, Osong, 363-951, Korea, ³Food Contaminants Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Osong, 363-951, Korea)

Received: 07 July 2011 / Accepted: 08 September 2011
© 2011 The Korean Society of Environmental Agriculture

Abstract

BACKGROUND: Methylmercury is analyzed by HPLC-ICP/MS because of the simplicity for sample preparation and interference. However, most of the pre-treatment methods for methylmercury need a further pH adjustment of the extracted solution and removal of organic matter for HPLC. The purpose of this study was to establish a rapid and accurate analytical method for determination of methylmercury in fish by using HPLC-ICP/MS.

METHOD AND RESULTS: We conducted an experiment for pre-treatment and instrument conditions and analytical method verification. Pre-treatment condition was established with aqueous 1% L-cysteine · HCl and heated at 60°C in microwave for 20 min. Methylmercury in 50 µL of filtered extract was separated by a C18 column and aqueous 0.1% L-cysteine · HCl + 0.1% L-cysteine mobile phase at 25°C. The presence of cysteine in mobile phase and sample solution was essential to eliminate

adsorption, peak tailing and memory effect problems. Correlation coefficient(r^2) for the linearity was 0.9998. The limits of detection and quantitation for this method were 0.15 and 0.45 µg/kg respectively.

CONCLUSION: Result for analytical method verification, accuracy and repeatability of the analytes were in good agreement with the certified reference materials values of methylmercury at a 95% confidence level. The advantage of the established method is that the extracted solution can be directly injected into the HPLC column without additional processes and the memory effect of mercury in the ICP-MS can be eliminated.

Key Words: Fish, HPLC-ICP/MS, Methylmercury, Method establishment

서 론

수은은 상온에서 액체상태로 존재하는 유일한 금속으로 다양한 자연적 또는 인공적인 발생원으로부터 무기수은화합물 및 유기수은화합물의 형태로 환경 중에 방출되게 된다. 방출된 수은 중 무기수은화합물들은 혐기성 미생물, pH, 산화환원조건 등에 의해 가장 독성이 높은 메틸수은으로 변환되

*교신저자(Corresponding author),
Phone: +82-32-450-3296; Fax: +82-32-442-4622;
E-mail: yookr95@korea.kr

며, 메틸수은은 주로 어류에 많이 분포하고 있다(Morita *et al.*, 1998; Craig *et al.*, 2003).

어류 중 다랑어류, 새치류 및 심해성 어류는 총수은의 80% 이상이 메틸수은 형태로 존재하고 있으며, 인간은 메틸수은 총 노출량의 99% 이상이 어류 섭취에 의한 것으로 알려져 있다(United States Environmental Protection Agency, 1997). 메틸수은은 친유성(친지질성)으로 혈액-뇌 관문을 통해 주로 신경계에 독성을 나타내기 때문에 각 나라마다 어류 중 기준규격을 설정하여 관리하고 있다(United Nations Environmental Program, 2002). 우리나라에서도 다랑어류, 새치류 및 심해성 어류에 대한 메틸수은의 기준 규격을 1.0 mg/kg 이하로 설정하여 2009년 12월부터 시행하고 있다(식품공전, 2010).

특히 어류 섭취가 많은 우리나라의 경우, 메틸수은을 합리적으로 관리하기 위해서는 정확한 분석기술이 요구된다. 어류 중 메틸수은의 분석은 1967년 스웨덴의 과학자 Gunnel Westöö가 개발한 Gas Chromatography-Election Capture Detector (GC-ECD) 분석법이 이용되어져 왔고, 지속적으로 전처리 방법의 개선 등이 이루어져 왔다(Westöö, 1967). 현행 식품 공전 상에서 어류 중 메틸수은은 산/염기성 용액으로 추출하여 cysteine과 결합시켜 유도체화 한 후 분배 과정을 거쳐 톨루엔층의 메틸수은을 GC-ECD로 분석한다. GC는 머무름시간에 의해서 물질을 확인하기 때문에 동 시간대의 불순물에 의한 방해 피크 존재 시 메틸수은의 정확한 정량이 어려워 GC-MS를 이용한 추가 분석이 필요하다(Westöö, 1967). 하지만 검출기로 MS를 사용하게 될 경우 sodium tetraphenylborate를 이용한 에틸화반응을 통해 메틸수은을 열에 안정적이며, 휘발성을 갖는 비극성 화합물인 $\text{CH}_3\text{HgC}_2\text{H}_5$ 로 유도체화시키는 별도의 전처리 과정이 필요하다(Lee *et al.*, 2007).

이러한 문제점 때문에 최근 선진국에서는 전처리가 단순하며 정량 시 방해물질의 영향을 받지 않는 액체크로마토그래피를 이용하여 메틸수은을 분리 한 후 유도결합플라즈마/질량분석기로 part per billion까지 정량하는 방법들의 연구가 진행 중에 있으나, 우리나라에서는 아직 어류 중에서 메틸수은 분석에 HPLC-ICP/MS를 이용한 연구가 미비한 실정이다(Qvarnström *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2009).

이에 본 연구에서는 어류 중 잔류하는 메틸수은을 신속하고 정확하게 분석하기 위하여 마이크로웨이브를 이용한 전처리 방법, HPLC-ICP/MS 조건, 시험법 검증의 실험을 통하여 선진화된 분석법을 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

메틸수은(CH_3Hg^+) 표준품은 염화메틸수은(CH_3HgCl , methylmercury chloride, Alfa Aesar, MA, USA)을 구매하였으며, 시약은 L-cysteine · HCl · H₂O(Purity: >99.0%, Sigma-Aldrich, MO, USA), HCl(Purity: 37.0%, Sigma-Aldrich, MO, USA), NaCl(Purity: >99.0%, Sigma-Aldrich, MO, USA), CH₃OH(Purity: >99.0%, J.T. Baker, Korea), NH₄COOH

(Purity: 99.0% trace metals basis, Sigma-Aldrich, MO, USA), Pyridine(Purity: 99.8%, Sigma-Aldrich, MO, USA) 및 L-cysteine(Purity: >99%, Acros, Geel, Belgium)를 구매하여 사용하였다. 모든 실험에 사용된 증류수는 Milli-Q ultrapure water purification system(Millipore Co., Massachusetts, USA)에 의해 18.2 MΩ 수준으로 정제된 물을 사용하였다.

대상 검체

메틸수은 기준규격이 설정된 눈다랑어, 흑새치 및 심해성 어류(메로, 상어, 고래 및 홍메기)를 수산물시장, 백화점 및 대형마트 등을 통해 기준규격이 설정된 가식부위를 구매하여 별도의 손질과정 없이 시료를 균질화한 후 실험에 사용하였다.

마이크로웨이브를 이용한 전처리 조건

전처리 조건 중 메틸수은 분석에 영향을 미치는 추출용매의 종류 및 농도, 추출시간 및 온도, 어종, 시료량 등의 요인에 대하여 실험을 수행하였다. 추출용매의 종류는 50% 메탄올, 0.25 M NaCl + 5 M HCl 및 1% L-cysteine · HCl을 선택하였으며, 선정된 추출용매의 농도를 0.1~2.0%로 다양하게 하여 처리하여 실험하였다. 추출시간은 5, 10, 15, 20, 30, 60분 동안 반응시켰으며, 수은은 다른 중금속과 달리 상온에서 액체로 존재하는 금속으로 온도에 영향을 많이 받기 때문에 추출온도는 40, 60, 90, 120, 150°C로 변화시켰다. 또한 90°C 이상 온도에 따른 메틸수은의 분해되는 경향을 살펴보기 위하여 메틸수은의 표준액을 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150°C로 다르게 반응시킨 후 무기수은과 메틸수은의 함량을 비교하였다. 시료량의 변화에 따른 회수율을 비교하기 위하여 시료량을 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 g로 각각 다르게 하여 실험하였다. 시료별(어종) 매질효과가 다르기 때문에 메틸수은 기준규격이 설정된 다랑어류, 새치류 및 심해성 어류(메로, 상어, 고래 및 홍메기)에 대하여 실험하였다.

기기 분석조건

어류 중 메틸수은 HPLC-ICP/MS에 대한 조건 확립을 위하여 이동상의 종류 및 농도, 검출한계 및 정량한계에 대하여 실험을 수행하였다. 이동상의 종류는 L-cysteine + Pyridine, L-cysteine + Ammonium acetate 및 L-cysteine + L-cysteine · HCl을 선택하여 실험을 수행하였다. 또한 선정된 이동상에 대하여 농도를 0.01~1.0%로 하여 컬럼의 내구성 및 효율성을 비교하였다. 직선성을 평가하기 위하여 분석물질의 농도와 측정값을 각각 x와 y축으로 하여 검량선을 작성한 후, 회귀분석하였다. 검출한계 및 정량한계는 공시료(메틸수은을 함유하지 않은 시료에 전처리 과정을 동일하게 한 시료)를 10회 측정 후 표준편차를 구한 다음 각각 표준편차× 3.3/표준검량곡선의 기울기와 공시료의 표준편차× 10/표준검량곡선의 기울기를 이용하여 산출하였다(Isabel Taverniers *et al.*, 2004). 분석장비인 액체크로마토그래피-유도결합플라즈마/질량분석기(high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma/mass spectrometer) 중

HPLC는 Perkinelmer사의 200series 모델, ICP/MS는 Perkinelmer사의 Elan DRC-II 모델이다.

Table 1. Effect for extraction solvent on and CH_3Hg^+ recovery rate in spiking samples (n=5)

Extraction solvents	Recovery rate (%)
	CH_3Hg^+
0.25M NaCl + 5M HCl	93.14
50% Methanol	20.31
1% L-cysteine · HCl · H_2O	96.82

시험법 검증

확립된 전처리 및 기기조건의 검증을 위하여 매트릭(Matrix)이 어류인 표준인증물질(Certified Reference Material) 3개(BCR-463: IRMM, Geel in Belgium, ERM-CE464: IRMM Geel in Belgium, SRM 1976: NIST, MD in USA)를 구입하여 정확성 및 반복성을 평가하였다.

결과 및 고찰

마이크로웨이브를 이용한 전처리 조건 확립

추출용매가 메틸수은 회수율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 50% 메탄올, 0.25 M NaCl + 5 M HCl 및 1% L-cysteine · HCl을 처리한 후 메틸수은의 회수율을 비교하였다. 추출용매 중 50% 메탄올은 수산물 중 비소 화학종 동시 분석에 사용되는 용매로서 수은 화학종과 동시에 전처리할 수 있는 것을 알아보기 위해 적용하였지만 회수율이 20%로 낮았다. 이는 50% 메탄올이 다른 추출용매에 비하여 메틸수은과 결합되어 있는 단백질 등을 해리할 수 있는 능력이 떨어지며, 또한 ICP-MS의 플라즈마에 유기용매를 일정량 이상 사용할 경우 플라즈마가 불안정하여 정확한 양을 측정하기 어렵기 때문이다. 0.25 M NaCl + 5 M HCl은 식품공전에서 어류 중 GC-ECD를 이용한 메틸수은 분석에 있어 전처리 용매로 사용되어지고 있어 선정하였으며 회수율도 93%로 높았다. 하지만 메틸수은과 결합력이 강한 SH기를 함유한 물질이 없고, 산도가 높기 때문에 일정 이상의 시간이 경과 하면 메틸수은에 대한 감도가 저하되고, 피크 끌림 등의 현상이 발생하는 문제점이 있다(Fig. 1). 추출용매 1% L-cysteine · HCl은 산성용액이면서도 메틸수은과 결합력이 강한 SH기를 함유하고 있어 다른 2개의 추출용매보다 회수율이 높고 플라즈마가 안정화되어 피크 끌림 현상이 없어 추출용매로 선정하였다(Table 1).

선정된 추출용매 L-cysteine · HCl이 메틸수은 회수율에 미치는 최적의 농도를 알아보기 위하여 0.1~2.0%로 농도를 다르게 하여 반응시킨 후 회수율을 비교하였다. 추출용매 L-cysteine · HCl의 농도 0.1~0.6%에서 메틸수은의 회수율은 47~62%였으나, 0.9~2.0%에서는 추출용매의 농도가 증가할수록 메틸수은 회수율도 증가하는 것으로 나타났다(Table 2). 하지만 추출용매의 농도가 1.5% 이상의 농도를

사용 시 컬럼 및 기기 등의 소모품 교체 주기가 빨라지는 문제가 발생하였다. 따라서 분석법 확립에 있어 경제성을 고려할 때 추출용매의 최적 농도를 1.0%로 선정하였다.

추출시간에 따른 메틸수은의 회수율을 알아보기 위하여 5~60분 동안 반응시킨 후 회수율을 비교하였다. 추출시간을 5분에서 15분까지 증가시켰을 때, 메틸수은 회수율도 60%(5분)에서 94%(15분)로 비례적으로 증가하였으며 15분 이후에는 메틸수은 회수율이 94%로 비슷한 수준을 나타내어 추출시간을 15분으로 설정하였다(Table 3).

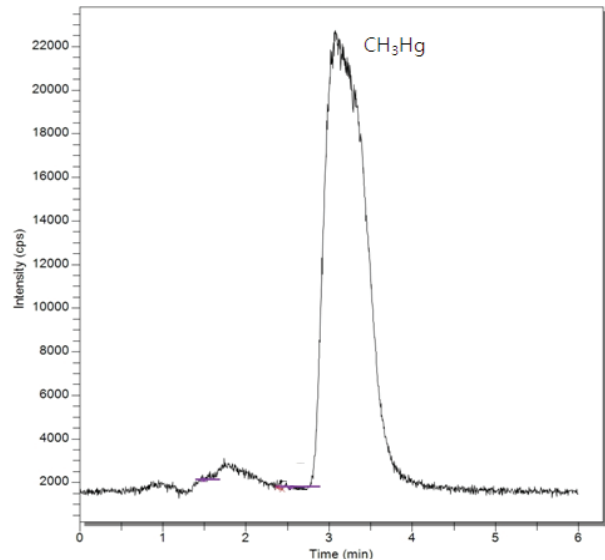


Fig. 1. Chromatogram of methylmercury for 0.25 M NaCl + 5 M HCl extraction solvent.

Table 2. Effect for concentration of extraction solvent on CH_3Hg^+ recovery rate in spiking samples (n=5)

Concentration of extraction solvent (%)	Recovery rate (%)
(L-cysteine · HCl)	CH_3Hg^+
0.1	61.25
0.5	72.15
0.6	76.88
0.7	84.12
0.8	87.22
0.9	95.25
1.0	96.24
1.1	100.25
1.3	96.25
1.5	98.11
2.0	103.25

Table 3. Effect for extraction time on Hg²⁺ and CH₃Hg⁺ recovery rate in spiking samples (n=5)

Extraction time (min)	Recovery rate (%)	
	CH ₃ Hg ⁺	
5	60.12	
10	74.19	
15	94.27	
20	94.12	
30	93.21	
60	94.11	

추출온도가 메틸수은 회수율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다랑어 및 메로에 대해 온도를 40, 60, 90, 100, 120, 150°C에서 각기 반응시킨 후 회수율을 비교하였다. 추출온도 40°C에서 다랑어 및 메로의 메틸수은 회수율은 각각 81, 83%이었으며, 추출온도 60~90°C에서의 회수율 범위는 94~100%였다(Table 4). 하지만 추출온도가 90°C에서 150°C로 상승하였을 때 다랑어에서 메틸수은의 회수율이 95%(90°C)에서 30%(150°C)으로 감소하였으며, 메로에서도 비슷한 경향을 보였다(Table 4). 따라서 90°C 이상의 온도에서 메틸수은이 분해되는 경향을 자세히 살펴보기 위하여 메틸수은의 표준용액을 90~150°C에서 반응시킨 후 무기수은과 메틸수은의 농도를 비교하였다. 메틸수은은 온도가 90°C에서 150°C로 증가하였을 때 99%에서 28%로 감소하였다(Table 5). 반대로 추출온도가 90°C에서 150°C로 증가하였을 때 무기수은이 67% 정도 생성되었기 때문에 메틸수은 회수율이 90% 이상이 되는 최소한의 추출온도 60°C로 설정하였다(Table 5). 이러한 결과를 통하여 메틸수은의 경우 일정 온도 이상이 되면 메틸기가 분해되어 무기수은의 형태로 변환되는 것을 알 수 있었으며, Reyes 등(2009)에 의한 결과와 유사한 경향을 보여주었다.

Table 4. Effect for extraction temperature on CH₃Hg⁺ recovery rate in spiking samples (n=5)

Extraction temperature (°C)	Recovery rate (%)	
	Tuna	Patagonian toothfish
	CH ₃ Hg ⁺	CH ₃ Hg ⁺
40	81.27	83.12
60	97.89	94.14
90	95.25	100.15
120	78.16	70.68
150	30.17	32.44

Table 5. Change of Hg²⁺ and CH₃Hg⁺ concentration by extraction temperature (n=5)

Extraction temperature (°C)	Concentration (%)	
	Hg ²⁺	CH ₃ Hg ⁺
90	0.71	99.31
100	6.21	87.21
110	14.25	81.24
120	21.11	75.54
130	30.17	65.24
140	53.19	41.14
150	68.58	28.47

시료량에 따른 메틸수은의 회수율을 알아보기 위하여 시료량을 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 g 까지 다르게 반응시킨 후 회수율을 비교하였다. 시료량 0.2~1.5 g에서 메틸수은의 회수율은 90~98%였으며, 시료량 2.0 g에서는 매질의 영향 때문에 메틸수은의 회수율이 73%로 0.2~1.5 g에 비해 20% 정도 감소하였다(Table 6). 따라서 회수율 및 검체의 대표성을 고려하여 시료량을 1.0 g로 설정하였다.

다양한 시료에 대한 확립된 시험법을 적용한 결과, 눈다랑어, 흑새치, 메로, 상어, 고래 및 홍메기에서 메틸수은 회수율은 각각 97, 97, 98, 95, 99, 96%로 AOAC에서 제시한 1 mg/kg을 첨가 할 때의 80~110%에 만족한 결과를 나타내었다(Table 7).

Table 6. Effect for sample amount on Hg²⁺ and CH₃Hg⁺ recovery rate in spiking samples (n=5)

Sample amount (g)	Recovery rate (%)
	CH ₃ Hg ⁺
0.2	95.98
0.5	97.89
0.8	96.57
1.0	93.34
1.5	90.17
2.0	72.58

Table 7. Effect for fish species on Hg²⁺ and CH₃Hg⁺ recovery rate in spiking samples (n=5)

Fish species	Recovery rate (%)
	CH ₃ Hg ⁺
Bigeye Tuna	97.25
Sword fish	96.78
Patagonian toothfish	97.88
Shark	94.87
Whale	98.57
Pink cusk-eel	96.22

기기 조건 확립

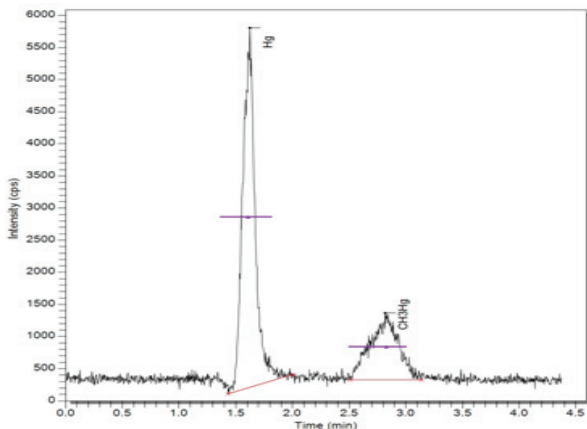
이동상 Pyridine + L-cysteine, L-cysteine + Ammonium acetate 및 L-cysteine + L-cysteine · HCl은 문헌 등을 참고하여 선택하였으며(Qvarnström *et al.*, 2002; Reyes *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009), 이동상에 대한 메틸수은의 분리도 및 감도를 알아보았다. 메틸수은의 머무름 시간(Retention Time, RT)은 모두 5분 이내였으며, 감도 및 분리도는 약간의 차이가 있으나 모두 양호하게 나왔다. 이동상의 종류 (Pyridine + L-cysteine, L-cysteine + Ammonium acetate 및 L-cysteine + L-cysteine · HCl)에 따른 컬럼 내구성 및 피크 분리도를 알아보기 위하여 각 이동상별로 동일한 시료 양을 반복 주입한 후 비교하였다. Pyridine + L-cysteine과 L-cysteine + Ammonium acetate 이동상은 일정 시료를 주입 후 피크 폭이 넓어지거나 피크가 깨지는 경향이 나타났다(Fig. 2). 이외에도 컬럼에 대한 이론단수가 낮아져 피크에 대한 감도 및 머무름 시간 등에 영향을 미쳤다. L-cysteine + L-cysteine · HCl 이동상은 다른 두 개의 이동상과 동일한 시료 양을 반복 주입 한 후에도 분리도가 1.2 이상으로 양호하였고 피크 끌림도 일어나지 않아 L-cysteine + L-cysteine · HCl을 이동상으로 선정하였다(Fig. 3).

선택된 이동상에 대하여 농도를 0.01~1.0%에서 동일한 시료

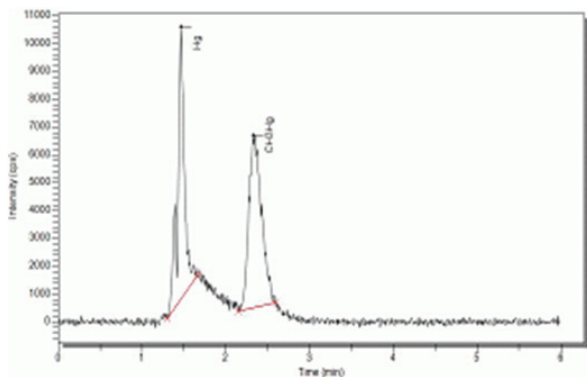
량을 반복 주입하여 효율성을 비교하였다. 0.01% L-cysteine + 0.01% L-cysteine · HCl은 피크 폭이 넓게 나타났으며, 1.0% L-cysteine + 1.0% L-cysteine · HCl은 바탕선(Baseline)이 높게 형성되어 미량 검출에 문제가 있었다(Fig. 4). 0.1% L-cysteine + 0.1% L-cysteine · HCl은 0.01% 농도에 비해 메틸수은의 피크 폭도 좁아졌고 감도도 향상 되었으며, 0.5% 이상의 농도보다는 바탕선(Baseline)이 낮게 형성되어 미량 수준 까지 검출 할 수 있었다(Fig. 5).

직선성은 분석물질의 50~150% 농도범위 내 5개 농도에 대한 측정값과 분석물질의 농도 관계를 회귀분석하여 평가한 결과, 상관계수(r^2) 값은 0.9998로 일반적으로 인정하는 $r^2 > 0.99$ 이상으로 만족하는 결과를 나타내었다.

검출한계와 정량한계는 각각 공시료(10)번의 표준편차 × 3.3/표준검량곡선의 기울기와 공시료(10)번의 표준편차 × 10/표준검량곡선의 기울기를 통해 구한 결과(Isabel *et al.*, 2004), 검출 및 정량한계는 각각 0.15, 0.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 기준규격(1.0 mg/kg)의 10분의 1 이하도 측정이 가능하다.



(a) L-cysteine + Pyridine



(b) L-cysteine + Ammonium acetate

Fig. 2. Chromatogram of CH_3Hg^+ standard solution for mobile phase.

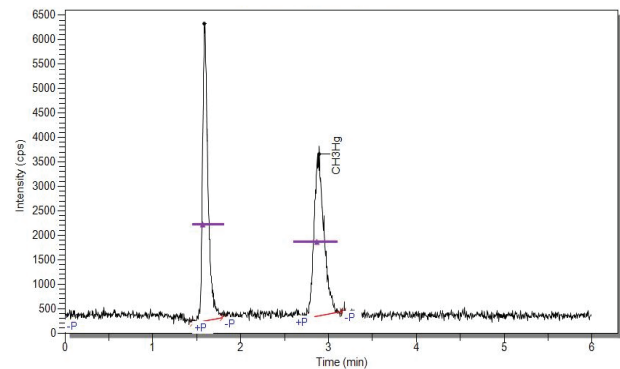


Fig. 3. Chromatogram of CH_3Hg^+ standard solution for 0.1% L-cysteine + L-cysteine · HCl mobile phase.

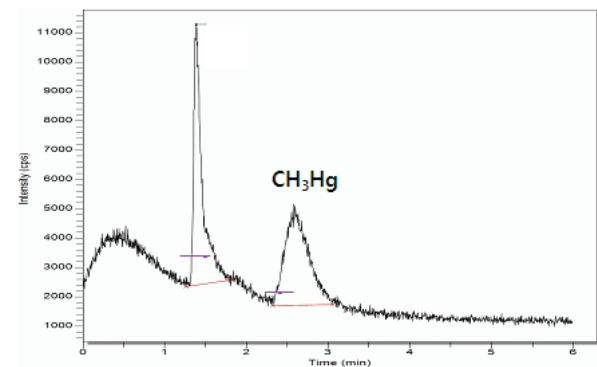
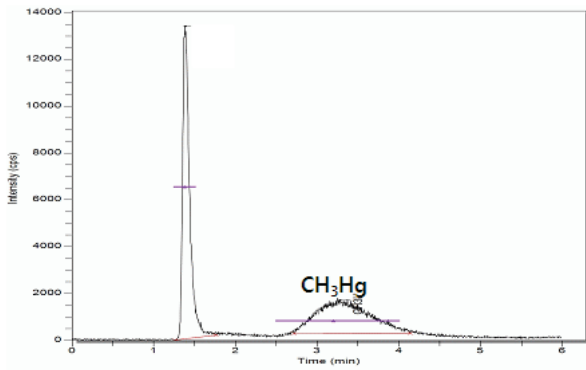


Fig. 4. Chromatogram of CH_3Hg by various concentration of L-cysteine + L-cysteine · HCl mobile phase.

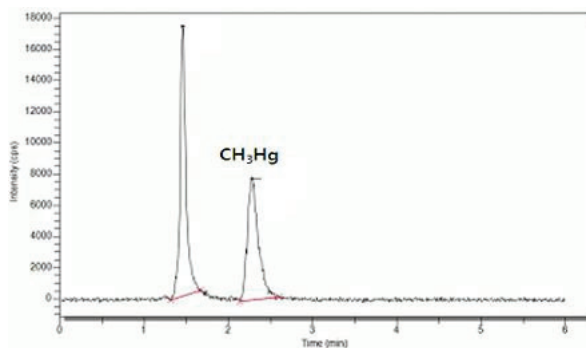


Fig. 5. Chromatogram of CH_3Hg standard solution for 0.1% L-cysteine + 0.1% L-cysteine · HCl mobile phase.

시험법 검증

확립된 전처리 및 기기조건의 검증을 위하여 표준인증물질 BCR-463, ERM-CE464 및 SRM 1976에 대한 정확성을 구하기 위하여 회수율을 구한 결과, 각각 95, 93 및 96%로 AOAC에서 제시한 회수율 범위 80~110%에 만족한 결과를 얻었으며, 반복성은 상대표준편차를 이용하여 구한 결과, 모든 표준인증물질에서 3% 이내로 AOAC에서 제시한 범위 6~15%에 만족한 결과를 얻었다(Table 8).

Table 8. Recovery rate and RSD for methylmercury in certified reference materials(CRM) (n=10)

CRM	Certified value	CH_3Hg^+	
	CH_3Hg^+ (mg/kg)	Recovery rate (%)	RSD ¹ (%)
BCR-463	3.04±0.16	95.24	1.35
ERM-CE464	5.50±0.17	93.14	1.68
SRM 1976	0.394±0.015	96.47	2.57

¹ Relative standard deviation

요 약

최근에는 전처리가 단순하며 정량 시 방해물질의 영향을 최소화하기 위해 액체크로마토그래피를 이용하여 메틸수은을 분리한 후 유도결합플라즈마/질량분석기로 part per billion 수준까지 정량하는 방법들의 연구가 활발하다. 하지만 대부분의 액체크로마토그래피-유도결합플라즈마/질량분석기는 메틸수은 분리 시 전처리 용액의 pH를 조절하지 않으면 피크 겹침 등의 문제가 발생하여 pH를 조절하고 있다. 본 연구에서는 어류에 잔류하는 메틸수은을 신속하고 정확하게 분석하기 위하여 마이크로웨이브를 이용한 전처리 방법, HPLC-ICP/MS 조건, 시험법 검증의 실험을 통하여 효율적인 분석법을 확립하였다. 전처리 방법은 추출용매 1% L-cysteine · HCl로 추출온도 60℃에서 추출시간 120분 동안 추출하는 최적 조건을 확립하였다. 기기조건 중 HPLC에서는 시료주입량 50 μL , 컬럼온도는 25℃에서 0.1% L-cysteine · HCl + 0.1% L-cysteine 이동상으로 메틸수은을 분리한 후, ICP-MS에서 분자량 202의 분석물질을 정량하는 조건을 확립하였다. 직선성에 대한 상관계수 값은 0.9998 이었으며, 검출한계 및 정량한계는 각각 0.15, 0.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 확립된 전처리 및 기기조건을 통하여 시료별 회수율을 구한 결과 95~99%였다. 전처리 용매와 이동상에 L-cysteine이 존재함으로써 수은에 대한 안정성, Memory effect 및 피크 끌림 등의 문제를 해결할 수 있었다. 확립된 HPLC-ICP/MS 방법에 대해 표준인증물질을 이용하여 검증한 결과, 회수율 및 상대표준편차가 각각 93~96%, 1~3%였다. 확립된 방법은 추출과정 후 별도의 전처리 과정 없이 바로 HPLC-ICP/MS를 이용하여 검출할 수 있어 메틸수은을 분석하기에 매우 적합한 것으로 판단된다.

감사의 글

This research was supported by a grant (10231KFDA033) from Korea Food and Drug Administration in 2010.

참고문헌

- Craig, P., George, E., Jenkins, R., 2003. Organometallic compounds in the environment, pp. 32-38, John Wiley & Sons Ltd, USA.
- Isabel, T., Marc, L., Erik, B., 2004. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends in Anal. Chem.* 23, 535-552.
- Santos, J.S., Pastor, M.G.A., Santosa, M.L.P., 2009. Determination of organic and inorganic mercury species in water and sediment samples by HPLC on-line coupled with ICP-MS. *Talanta*, 80, 207-211.
- Lee, J.S., Ryu, Y.J., Park, J.S., Hong E.J., Kang, H.K., Jeon, S.H., Kim, S.C., Ki, Y.H., 2007. A Study of Analytical Method for Methylmercury in Fish Using Purge and Trap Gas Chromatograph-Mass Spectrometer. *Korean J. Environ. Anal.* 10, 8-12.
- Morita, M., Yoshinaga, J., Edmond, J.S., 1998. The determination of mercury species in environmental and biological samples, *Pure Appl. Chem.* 70, 1585-1615.
- Qvarnström, J., Frech, W., 2002. Mercury species transformations during sample pre-treatment of biological tissues studied by HPLC-ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* 17, 1486-1491.
- Reyes, H., Mizanur, R.G.M., Skip, K.H.M., 2009. Robust microwave-assisted extraction protocol for determination of total mercury and methylmercury in fish tissues. *Analytica Chimica Acta.* 631, 121-128.
- Westöö, G., 1967. Determination of methylmercury compounds in foodstuffs. *Acta Chemica Scandinavica*, 21, 1790-1800.