

= 단신 =

습식 분해법을 이용한 해산물 중 총 비소 분석을 위한 전처리 방법 연구

김선태* · 박경수

한국과학기술연구원 특성분석센터
(2003. 9. 9. 접수, 2003. 10. 16 승인)

Study on the Pretreatment of Seafood for the Determination of Total Arsenic using Wet Ashing Method

Sun Tae Kim* and Kyung Su Park

Advanced Analysis Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-791, Korea
(Received Sep. 9, 2003, Accepted Oct. 16, 2003)

Abstract : Pretreatment method for the determination of total arsenic in seafood sample was studied. NIST SRM 1566a oyster tissue (14.0 ± 1.2 mg As/kg) as a standard arsenic compound in order to establish the decomposition method. We confirmed that the best way for pretreatment of seafoods to analyze total arsenic content precisely was $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4\text{-HClO}_4$ method by comparison of two methods which are dry ashing and wet ashing methods.

Key words : total arsenic, wet ashing, seafood

1. 서 론

비소는 금속성과 비금속성을 갖는 원소로서 자연에 널리 존재하며, 파이라이트 등의 황화물이나 산화물 형태로 금속 광석에 많이 존재한다. 비소는 어디에든지 존재할 수 있는 원소로서 지각에는 2 mg/kg 정도 존재하며, 해수에는 2 $\mu\text{g/L}$ 정도 존재한다. 육상 생물 중의 비소 함유량은 대단히 낮지만 해양 생물 중에는 비소가 1~100 mg/kg 존재한다.

비소는 원래 유해 원소이면서 인체 필수 원소이다. 역사 드라마에서 수시로 등장하는 비소는 독약이면서도 혈액 형성제, 뼈 성장제, 피부병 치료제 및 가축의

성장 촉진제와 같은 유용한 의약품으로 사용되고 있다. 지금은 사용되지 않지만 농약(살충제)으로도 많이 사용되어 왔으며 목재나 솜의 보존제로 사용되고 있다. 비소는 이와같이 양면성을 갖고 있지만 발암물질로 알려져 있으므로 식품 중의 비소 함유량을 중요시하여 종종 분석 결과가 발표되곤 한다. 비소의 독성은 화학적인 형태에 따라 다르다. 일반적으로 무기 비소 화합물이 유기 비소 화합물보다 독성이 크다고 알려져 있다. 그러므로 식품 중의 무기 비소 화합물의 함유량 연구는 중요하다. 그러나 식품 중에서 비소는 대부분 유기 비소 화합물로 되어 있으므로 식품으로부터 오는 위해성은 적다고 말할 수 있다.

비소는 이와 같이 관심의 대상으로 되어 있어 식품이나 환경 시료에서 수시로 분석되고 있다. 식품 중의 유해 비소 화합물은 시료의 종류에 따라 모두 다르지

★ Corresponding author
Phone : +82+(0)2-958-5952 Fax : +82+(0)2-958-5969
E-mail : kst0779@kist.re.kr

만 총 비소의 일정 부분을 함유하고 있다고 알려져 있다. 그러므로 식품 중의 총 비소 함유량을 정확하게 분석할 필요가 있다. 비소를 식품 등의 시료에서 분석하기 위해서는 비소의 손실을 줄이기 위해 항상 산화성 분위기에서 전처리해야만 한다. 산화성 분위기로 만드는 것은 질산이 가장 적합하지만 식품 중의 유기 비소 화합물들을 완전히 분해시키기에는 부족하다. 그러므로 다른 산과의 혼합산을 사용하지만 산의 종류에 따라 분해 정도가 다르다. 본 연구에서는 식품 중의 유기 비소 화합물들을 완전히 분해시키기 위해 화학 분석에서 많이 활용되고 있는 전처리 방법들을 비교 검토하였다.

2. 실험

2.1. 분석 기기

총 비소의 함유량을 분석하기 위해 사용한 기기는 Thermo Jarrell Ash사의 model PolyScan 61E ICP-AES로서 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Instrumental conditions for the total arsenic analysis in seafoods by ICP-AES

| Descriptions | Conditions |
|-------------------------|-----------------|
| R.F. generator | 27.12 MHz |
| R.F. power | 950 W |
| Coolant gas flow rate | 12 L/min. |
| Auxiliary gas flow rate | 1.0 L/min. |
| Nebulizer gas flow rate | 1.4 L/min. |
| Sample uptake flow | 1.00 mL/min. |
| Nebulizer | Cross flow type |
| Spray chamber | Scott type |
| Torch | Demountable |

2.2. 시약 및 시료

본 연구에서 사용한 시약은 모두 분석급(AR급) 이상이며, 사용한 물은 증류한 후 이온수지를 통과시켜 정제한 것이다. 총 비소 분석을 위해 Strem Chemical사의 As_2O_3 를 사용하였고, 전처리 정도를 확인하기 위해 NIST SRM 중 1566a, oyster tissue (14.0 ± 1.2 mg/kg)와 1566b, oyster tissue ($7.65 \pm 0.65\%$)를 이용하였다. 또한 전처리에 사용한 HNO_3 와 H_2SO_4 는 반도

체 가공용 시약 생산업체인 동우화인켐(주)의 EP-S급 시약이고, $HClO_4$ 는 Junsei사의 GR급 시약(60%)이다. 시료는 총 비소의 함유량이 높다고 알려진 김, 미역 및 다시마의 해조류와 어패류 등이다.

2.3. 시료의 전처리 방법 비교

식품 중 총 비소 함유량을 분석하기 위해 Table 2와 같이 건식 회화 및 습식 회화법을 NIST SRM에 적용시켰다. NIST SRM 1566a를 NIST에서 제시한 건조 조건 [$Mg(ClO_4)_2 \cdot anhydrous$ 존재하의 100 torr 감압하에서 48 시간 건조]에 따라 건조한 후 다음의 7가지 전처리 실험을 수행하였다. SRM 0.2~0.3 g을 취하여 AOAC 방법에 따른 건식 회화법¹을 적용시켰고, HNO_3 만으로 처리하거나, $HNO_3-H_2O_2$ 처리, HNO_3-HClO_4 처리, $HNO_3-H_2SO_4$ 처리, $HNO_3-H_2SO_4-HClO_4$ 처리, 또는 HNO_3 -microwave 처리를 하여 총 비소의 함유량을 비교 분석하였다. 시료 용액 중의 비소 함유량이 높은 경우에는 ICP-AES로 직접 분석하고, 낮은 경우에는 hydride generation-ICP-AES로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

식품에서 총 비소의 함유량을 분석하기 위해서는 As^{3+} 나 As^{5+} 의 무기 이온으로 만들어야만 한다. 식품 중의 유기 비소 화합물들을 분해시키기 위해서는 건식 회화법²⁻⁷이나 습식 회화법⁸⁻¹²을 이용한다. 건식 회화법은 400~700 °C의 낮은 온도와 산소(공기)하에서 연소시키고 산처리하여 무기 이온으로 만드는 방법이고, 습식 회화법은 산화성 산류들로 무기 이온화 시키는 방법이다. 건식 회화법으로는 가열 도중 손실이 일어나므로 MgO 나 $Mg(NO_3)_2$ 와 같은 회화 보조제를 첨가하여 비소의 손실을 최소화 하고 있으나 비소의 손실을 피할 수 없다고 알려져 있다¹. 한편 습식 회화법은 산화성 산을 단일 또는 혼합하여 처리하며 대부분 혼합산을 사용한다. 혼합산의 조성으로는 $HNO_3-H_2SO_4$, HNO_3-HClO_4 , $HNO_3-H_2SO_4-H_2O_2$, $HNO_3-H_2SO_4-HClO_4$ 등이 있다. 또한 $HNO_3-H_2SO_4$ 에 V_2O_5 와 같은 촉매를 첨가하여 유기 비소 화합물들을 분해시킨 예도 있으나 습식 회화법이 건식 회화법에 비해 항상 10~20% 정도 높은 결과가 측정되었다고 발표된 바 있다.¹

본 실험에 의한 NIST SRM의 분석 결과는 Table 2와 같으며, 전처리한 분석자에 따라, 전처리 방법에 따라

시험 결과에 큰 차이가 있음을 알 수 있다. 또한 HNO₃-H₂SO₄ 처리와 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리가 NIST에서의 인증값에 가장 근사한 것을 알 수 있다. AOAC의 건식 회화법으로는 50% 정도 밖에 검출되지 않았고, HNO₃ 단독으로 처리하거나 HNO₃-H₂O₂ 처리로는 30% 이하로 검출되었다. HNO₃-HClO₄ 처리도 최고 56% 정도 밖에 검출되지 않았고, HNO₃-microwave 방법도 재현성이 전혀 없었다.

Kazuo⁸ 등에 따르면 유기 비소 화합물들을 분해시킬 때 HNO₃ 단독처리로는 0~40%, HNO₃-H₂O₂ 처리로는 0~50%, HNO₃-HClO₄ 처리로는 95~100%, HNO₃-H₂SO₄ 처리로는 50~100%, HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리로는 96~100%, HNO₃-(NH₄)₂S₂O₈ 처리로는 10~100% 및 NaOH-(NH₄)₂S₂O₈ 처리로는 93~100% 회수되었다고 발표하였는데 본 연구 결과와 대체적으로 유사하며, 이들 7 가지 전처리 방법 중 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리 방법이 비소 화합물을 완전 분해시키는데 가장 좋은 전처리 방법이라고 발표한 바 있다. Maher⁹도 NIST SRM을 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ (10 : 2 : 3) 처리 하여 97% 이상의 회수율을 얻었다고 발표하였다.

Yasui와 Tsutsumi¹⁰는 현미를 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄와 HNO₃-H₂SO₄ 로 처리하여 비소 측정치를 서로 비교함으로써 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리법이 유기물을 완전 분해시키는데 가장 효과적이라고 발표했다. 이들은 또한 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리 후의 황산의 양은 1 mL 이하가 좋으며, H₂SO₄의 양이 적을수록 hydride generation을 이용한 분석시 높은 신뢰도를 주며 전처리 후의 NO₂를 제거하기 위해 (NH₄)₂C₂O₄의 첨가도 생략할 수 있다고 발표하였다.

본 연구에서 HNO₃-H₂SO₄ 분해법은 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리 보다 더 많이 검출되기도 했는데 Leblanc

등¹¹이 지적한 것처럼 재현성이 없었다. Martine와 Schilt¹²도 HNO₃-H₂SO₄ 분해법은 재현성이 없음을 지적한 바 있으며 HNO₃-HClO₄ 처리로는 유기물의 분해가 완전하지 않다고 발표하였는데 본 연구와 일치한다. 실제로 이상의 여러 가지 조작을 수행했을 때 투명 용액이 얻어진 것처럼 보이지만 유기물과 비소의 결합이 끊어지지 않았음을 말해준다.

이상의 결과들을 미루어 볼 때, 식품 중의 유기 비소 화합물들을 가장 잘 분해시키는 전처리 방법은 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 처리 방법이지만 본 연구에서는 Table 2와 같이 HNO₃-H₂SO₄ 처리시 더 많이 검출되었으므로 NIST SRM 1566b, oyster tissue (7.65 ± 0.6% As)를 HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 방법과 HNO₃-H₂SO₄ 방법만을 똑같이 재분석하여 Table 3과 같은 결과를 얻었다.

Table 3. Pretreatment technique for the determination of total arsenic in NIST SRM

| Pretreatment technique | Analytical results (recovery, %) | | |
|---|----------------------------------|-----------|-----------|
| | Analyst A | Analyst B | Analyst C |
| HNO ₃ -H ₂ SO ₄ | 78.7 | 74.8 | 76.3 |
| HNO ₃ -H ₂ SO ₄ -HClO ₄ | 80.0 | 81.2 | 81.3 |

HNO₃-H₂SO₄-HClO₄ 방법이 HNO₃-H₂SO₄ 방법보다 더 많이 검출되었다. 여기서 인증값의 20% 정도가 덜 검출되었는데 이와 같은 결과는 전처리 후의 측정에서 유래된 것으로 판단되며 보충 연구를 수행할 예정이다.

이상의 결과들을 토대로 하여 해산물들을 분석하여 Table 4와 같은 결과를 얻었다. 분석 조작을 약술하면 다음과 같다.

Table 2. Pretreatment technique for the determination of total arsenic in NIST SRM 1566a oyster tissue (14.0±1.2 mg As/kg)

| Pretreatment technique | Analytical results (recovery, %) | | |
|--|----------------------------------|-----------|-----------|
| | Analyst A | Analyst B | Analyst C |
| Dry ashing with MgO · Mg(ClO ₄) ₂ , AOAC method | 49.3 | 47.9 | 51.4 |
| HNO ₃ only | 7.9 | 11.4 | 12.1 |
| HNO ₃ -H ₂ O ₂ | 25.7 | <7 | <7 |
| HNO ₃ -HClO ₄ | 56.4 | 43.6 | 28.6 |
| HNO ₃ -H ₂ SO ₄ | 77.9 | 87.1 | 76.4 |
| HNO ₃ -H ₂ SO ₄ -HClO ₄ | 77.9 | 76.4 | 75.7 |
| HNO ₃ -microwave | 181 | 23.6 | 15.0 |

Table 4. Total arsenic content in seafoods (unit : mg/kg)

| Sample | Concentration | Sample | Concentration | Sample | Concentration |
|---------------|---------------|----------|---------------|------------|---------------|
| Laver | 18~39.7 | Croaker | 1.9~4.7 | Mackerel | 2.3~2.9 |
| Brown seaweed | 32.1~52.2 | Shrimp | 1.5~25.7 | Clam | 3.8~29.2 |
| Tangle | 28.0~73.2 | Hairtail | 0.2~1.5 | Cuttlefish | 4.1~6.4 |

비소의 함유량에 따라 시료를 1~5 g을 취해 질산을 가하여 대부분의 유기물이 제거될 때까지 분해시키고 황산을 5~10 mL 가하여 황산의 백연이 날 때까지 가열한다. 유기물이 아직도 남아있는 것으로 보이면 질산 처리를 반복하고 과염소산을 약 5 mL 가한다. 황산의 백연이 날 때까지 가열하고 황산의 양을 1 mL 이하로 줄인 다음 물을 가해 끓여주고 일정 부피로 하여 비소를 분석한다.

4. 결 론

해산물 중에서 총 비소를 분석하기 위한 가장 좋은 전처리 방법은 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4\text{-HClO}_4$ 처리법 이다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 국립독성연구원의 KNTF 사업의 일환으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. J. F. Uthe, H. C. Freeman, J. R. Johnston, and P. Michallik, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **57**, 1363~1365(1974).
2. M. L. Cervera, A. Navarro, R. Montoro, and R. Catala, *Atomic Spectroscopy*, **10**(5), 154~159 (1989).
3. M. L. Cervera and R. Montoro, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **348**, 331~340(1994).
4. G. K. H. Tam and G. Lacroix, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 647~650(1982).
5. R. E. Sturgeon, S. N. Willie, and S. S. Berman, *J. Anal. At. Spectrom.*, **1**, 115~118(1986).
6. W. G. Brumbaugh and M. J. Walther, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **72**, 484~486(1989).
7. N. Ybanez, M. L. Cervera, R. Montoro, *Anal. Chim. Acta*, **258**, 61~71(1992).
8. K. Jin, H. Ogawa, and M. Taga, *Bunseki Kagaku*, **32**, E171~E176(1983).
9. W. A. Maher, *Talanta*, **30**, 534~536(1983).
10. A. Yasui and C. Tsutsumi, *Bunseki Kagaku*, **26**, 809~814(1977).
11. P. J. Leblanc and A. L. Jackson, *J. Assoc. Anal. Chem.*, **56**, 383~386(1973).
12. G. D. Martinie and A. A. Schilt, *Anal. Chem.*, **48**, 70(1976).