

HVG-ICPMS를 이용한 식물체 중 게르마늄과 셀레늄의 동시분석 연구

함용규[★] · 김보경¹ · 권영욱² · 백효현³ · 이석기

동일시마즈(주), ¹국립환경과학원 환경측정분석센터, ²성균관대학교 자연과학부,
³동일시마즈스펙트럼(주)

(2010. 11. 8. 접수, 2011. 5. 12. 승인)

The simultaneous determination of germanium and selenium in plant by hydride vapour generator inductively coupled plasma mass spectrometry

Yong-Gyu Ham[★], Bo-kyong Kim¹, Young-uk Kwon², Hyo-Hyun Baek³ and Seok-Ki Lee

Dongil Shimadzu Corp.R&D Center, Seoul, Korea

¹*National institute of environmental research, Kyungseo-Dong Seo-Gu Incheon*

²*Department of Chemistry, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea*

³*Dongil SHIMADZU Spechrom Corp., Seoul, Korea*

(Received November 8, 2010; Accepted May 12, 2011)

요 약: 식물 체중에 포함되어 있는 항산화제로서 주목받고 있는 게르마늄과 셀레늄의 극미량 분석에 있어서의 재현성 있는 분석방법을 제시하고자 수소화물생성장치와 유도결합플라스마질량분석기를 이용하여 분석하였다. 유도결합플라스마질량분석기에 일반적으로 사용되는 torch 대신 에너지를 높여 이온 간섭, 분자이온 생성 등의 간섭현상을 줄일 수 있는 mini torch를 사용하여 산 종류와 농도의 영향, 수소화물의 생성을 위한 환원조건, 시료 전처리 방법의 차이 등 다양한 조건하에서 상추 중의 게르마늄과 셀레늄을 분석하였다. 분석의 정확성을 평가하기 위하여 회수율 검증과 셀레늄의 표준시료인 SRM-1547, 1570a를 분석하여 기준 값과 비교함으로써 분석의 정확성을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

Abstract: In this study, the hydride vapour generator inductively coupled plasma mass spectrometry (HVG-ICPMS) was applied as the new analytical method to show the high accurate and reproductive data analysing the amounts of selenium and germanium being existed inside a system of plant. In order to decrease the interference effects, such as ion and molecular interference. Mini torch was used into the ICPMS instead of the conventional torch. At conditions of the different kinds and concentrations of acid solution, the different reductive conditions for composing hydride, and the different methods for making ash, the contents of selenium and germanium in lettuce were analysed. The inspection of yields and data comparison from SRM-1574 and -1570a were used for increasing the accuracy of this analysis.

Key words: ICP-MS, HVG, mini torch, selenium, germanium

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-540-5960 Fax : +82-(0)2-540-5980

E-mail : sklee@shimadzu.co.kr

1. 서 론

본 연구에서는 식물체 내의 게르마늄과 셀레늄의 정확하고 신속한 분석 방법을 제시하고자 우리나라 전역에서 재배되고 있는 대표 식물인 상추(*Lactuca sativa* L.)를 시료로 하여 분석하였다. 상추는 식용뿐만 아니라 한방에서는 와거(경엽)와 와거자(종자)라 하여 약용으로도 이용해 왔으며 음종, 하형에 대하여 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다.¹

게르마늄(Ge)은 회백색 무른 결정상의 주기율표상 제 XIV 군에 속하는 희소원소로 반도체의 성질을 갖고 있으며 동족의 주석이나 납보다 독성이 낮다.² 자연계에서는 지각 중의 존재량이 2 mg/L, 해수 중에는 0.05 µg/L 정도 함유되어 있다. 석탄에도 소량 포함되어 있으며, 발생로(發生爐)의 가스 연소 연기의 분진 중에는 최고 3%에 이르는 게르마늄이 함유되어 있다는 보고도 있다. 흡속의 금속원소인 무기 게르마늄은 그 자체로는 인체에 독소로 작용하지만 식물에 흡수되어 식물을 자라게 하고, 동물은 그 식물을 섭취하여 유기물의 형태로 이용하게 되므로 생체에 유리한 여러 가지 작용을 하게 된다. 이러한 유기게르마늄의 제암효과는 생체 내에서 산소를 풍부하게 해주는 작용과 인터페론 유도체로서의 역할 때문이라고 한다.

셀레늄(Se)은 구리, 은 등의 셀레늄화물로 산출되며 지각에 9×10^{-6} % 정도 존재한다. 대기 중에 존재하는 셀레늄의 90%는 화석연료가 탈 때 방출되는 것으로 이는 연료에 존재하는 셀레늄 원소가 연소시 이산화 셀레늄의 형태로 되기 때문이다. 지하수와 지표수 중에도 검출되며 농도는 0.062~400 µg/L이고, 지하수 중 최대 농도가 600 µg/L까지 나타난 곳도 있다. 전세계 공공 공급수 시료를 측정 한 결과 수돗물 시료 중 셀레늄 농도는 10 µg/L보다 훨씬 적게 보고되었다. 산성 또는 중성의 토양에서는 생물학적으로 유용한 셀레늄의 양이 점차 감소하는 경향을 갖으며, 알칼리성 토양에서 셀레늄은 수용성 셀레늄산염으로 존재하고 식물에 이용되기도 한다.³ 셀레늄은 체내의 유해산소와 자유기를 처리하고 세포내를 환원 상태로 유지하려는 효소들, 글루타치온 과산화효소(glutathione peroxidase)나 thioredoxin reductase와 같은 효소들의 아미노산에 들어가 있는 성분이다. 그래서 셀레늄이 결핍되면 이러한 효소들이 원활하게 작동하지 못해 유해산소와 자유기가 세포를 공격하며 암세포가 전이할 수 있는 바탕이 된다.

식물체 중 극미량의 게르마늄, 비소 및 셀레늄을 분석하는 방법은 주로 고온흑연전기로에서 원자화시키는 전열원자흡수분광법(graphite furnace atomic absorption spectrophotometer, GF-AAS)^{4,6}을 이용해 왔으며 검출 한계와 재현성을 향상시키기 위하여 수소화물생성법(hydride vapour generation method, HVG)으로 원자화시킨 다음 원자흡수분광법(atomic absorption spectroscopy, AAS)으로 분석하는 방법도 사용 하고 있다. 그러나 이러한 분광법을 이용하는 경우에는 매트릭스에 의한 방해 영향이 비교적 큰 동시에 회화과정 또는 원자화 과정에서 산화게르마늄(GeO)이나^{7,8} 황화물(GeS)⁹과 같이 분석 대상원소가 분자상태로 휘발되는 등의 단점이 있어 재현성 있는 결과를 얻기 힘들다. 최근 수소화물생성법으로 원자화 시킨 후 유도결합플라즈마방출분광법(inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, ICP-AES)을 이용한 분석도 수행되고 있으나 검출한계면에서 분석능력이 떨어지는 것이 현실이다. 따라서 식물체 시료 중 극미량 금속원소를 분석하기 위해 질량분석법을 이용하여야 한다. 유도결합플라즈마질량분석법(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)은 무기원소 분석을 위한 중요한 분석법으로 대부분 원소들의 동시분석 능력이 우수하고 넓은 선형농도범위를 갖으며 분해능이 높다.

본 연구에서는 수소화물생성-유도결합플라즈마 질량분석법으로 게르마늄과 셀레늄을 동시 정량하기 위해 에너지 밀도가 높은 mini torch를 사용하여 수소화물의 생성을 위한 환원조건, 산의 종류 및 농도의 영향, 시료의 회화방법의 차이 등을 연구하여, 게르마늄과 셀레늄의 분석 시 최적조건을 찾고 그 결과를 토대로 상추의 분석에 적용하여 식물체내의 게르마늄과 셀레늄의 동시정량 시 신속하고 정확한 분석 방법을 제시하고자한다.

2. 실 험

2.1. 시약, 재료 및 기기

본 연구에서 사용한 시약은 Extra Pure 급의 NaBH₄ (Aldrich, U.S.A), NaOH (Aldrich, U.S.A)을 사용하였으며, HNO₃ (70%, MB급, 동우화인캡), HCl (40%, 동우화인캡), H₂O₂ (30%, 동우화인캡), H₂SO₄ (98%, 동우화인캡)은 전자급 사용하였으며, HClO₄ (70%, Aldrich)는 ICPMS 분석용 시약을 사용하였다. 이중 HCl은 시약 순도에 따른 수소화물생성량을 보기 위하여, AR

(35% Junsei, Japan), GR (36~37%, Merck, Germany)를 사용하였다.

사용한 기기는 mini torch를 장착한 유도결합플라스마 질량분석기(ICPMS, ICPM-8500, Shimadzu, Japan)로 spray chamber는 외부벽과 내부벽 내에 냉각수를 순환시킬 수 있도록 고안된 것을 사용하여, 2 °C의 냉각수를 순환시켜 사용하였다. Nebulizer (GE, Australia)는 가압분무식을 사용하였으며 가스유량은 0.4~1.0 L/min로 조정하여 사용하였다.

2.2. 용액 및 시료의 조제

2.2.1. 용액

수소화물 생성장치의 반응시약인 NaBH₄는 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1%를 각각 1L씩 제조하였고 안정제로는 NaOH를 0.1%에서 1%까지 제조하여 사용하였다. 제조된 NaBH₄용액은 Knechel¹⁰ 등이 보고한 방법을 사용하여 0.45 μm membrane filter로 여과하였다.

산은 HNO₃, H₂SO₄, HClO₄, HCl를 각각 초순수로 단계별로 희석하여 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 M로 제조하여 사용하였다.

시료를 회화하기 위한 단일 산으로는 HNO₃을 혼합 산으로는 HNO₃와 H₂O₂, H₂SO₄, HClO₄를 각각 3:1로 혼합하여 HNO₃-H₂O₂, HNO₃-H₂SO₄, HNO₃-HClO₄를

제조하여 사용하였다.

2.2.2. 시료

분석에 사용한 시료는 XXX에서 양액 재배된 상추를 이용하였다. 상추는 파종 후 1개월간 기른 후 Yamazaki 상추 전용 배양액을 사용하여 4주간 양액재배를 실시한 후 셀레늄은 Na₂SeO₄ (Sigma Co. U.S.A)를 Se의 공급원으로 사용하여 Se의 농도를 2 mg/L를 처리하였고, 게르마늄은 수용성 GeO₂ (Aldrich Co. U.S.A)를 Ge의 공급원으로 Ge의 농도를 2 mg/L로 한 후 1주일간 재배 후 수확하여 사용하였다. 수확된 상추는 물로 씻은 후 건조기에서 70 °C로 48시간 건조한 후 200 mesh의 크기로 분쇄 한 후 사용하였다.

검량선용 표준용액은 시판되는 게르마늄과 셀레늄의 ICPMS용 표준용액(Accustandard, 10 μg/mL)을 단계적으로 분취하여 1% HNO₃ 용액으로 희석하여 각각 100 μg/L의 2차 표준용액을 제조하고 5, 10, 20, 40 mL를 분취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 1% HNO₃로 희석하여 5, 10, 20, 40 ng/mL로 제조하여 검량선용 표준용액으로 사용하였다.

또한, 분석의 정확성을 평가하기 위하여 표준시료 SRM-1547, 1570a (NIST U.S.A)를 사용하여 비교 분석 하였다.

Table 1. Instrumental operating conditions for ICPMS and HVG

| | Descriptions | Conditions |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| ICPMS | R.F. Power | 1.2 Kw |
| | Sampling Depth | 5.0 mm |
| | Torch Type | Mini-Torch |
| | Coolant Gas | 7.0 L/min |
| | Plasma Gas | 1.5 L/min |
| | Carrier Gas | 0.4~0.7 L/min |
| | Sample Introduction | Peristaltic pump |
| | Sparry Chamber | Cooling type Scott Chamber |
| | Interface cone | Cooper |
| | Condition Mode | Auto |
| | Quant1. Integration time | 10 |
| | Quant2. Analysis Point | 21 |
| | Quant2. Integration Time | 10 |
| | Quant2. Catching | 1 |
| | Quali. Profile Point | 11 |
| Quali. Integration Point | 1 | |
| Integration Repeat Time | 20 | |
| Hydride Vapor Generation system | Sample uptake | 4 mL/min |
| | Acid uptake | 2 mL/min |
| | Reduction Agent uptake | 2 mL/min |

2.3. 실험방법

게르마늄과 셀레늄의 분석은 수소화물생성장치를 이용하여 환원제, 산, 시료를 연동펌프에 의해 반응기에 도입한 후, 아르곤 가스를 주입하여 시료중의 게르마늄과 셀레늄의 수소화물을 생성시킨다. 생성된 수소화물은 아르곤 가스에 의하여 mini torch로 도입되어 이온화되고 이온화된 게르마늄과 셀레늄은 sample cone을 통하여 이온렌즈를 거친 후 질량분리부에서 분리되어 전자증폭검출기에서 검출하여 정량하였다. 사용되는 기기의 최적 분석조건, 환원제의 농도, 산 종류와 농도 등을 실험하였다.

2.3.1. Mini torch ICPMS의 최적 조건 측정

ICPMS의 최적측정 조건을 찾기 위해 Li, In, Bi의 이온세기를 측정하여 RF power를 결정한 후 ^7Li , ^{115}In , ^{209}Bi 와 Ar의 polyatomic 이온의 간섭현상이 많이 발생하는 질량수 52와 54에서의 background를 측정하여 sample cone과 mini torch의 최적 거리를 결정하였다.

또한 Sampling cone과 torch의 거리를 결정한 후 carrier gas 유량의 최적조건을 측정하였다. 기기조건은 Table 1과 같다.

2.3.2. 산에 따른 수소화물의 생성 조건

수소화물생성장치를 이용하여 게르마늄과 셀레늄의 분석에 사용되는 산 종류와 농도에 따른 최적조건에 대하여 실험하였다.

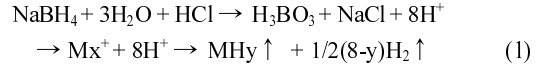
게르마늄의 경우 10 $\mu\text{g/L}$ 의 게르마늄 표준용액을 제조한 후 NaBH_4 는 0.4%로 고정하였으며 안정제로 사용되는 NaOH 는 0.5%로 농도를 고정하여 HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4 , HCl 을 각각 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 M로 제조하여 게르마늄의 농도를 측정하여 최적조건을 구하였다.

셀레늄의 경우도 게르마늄의 경우와 같은 방법으로 실험하여 산의 종류와 농도별로 셀레늄의 농도를 측정하여 최적조건을 구하였다.

2.3.3. NaBH_4 및 NaOH 의 농도에 따른 영향

게르마늄과 셀레늄의 분석 시 사용되는 수소화물생성장치에 환원제로 사용되는 NaBH_4 와 NaOH 의 최적 농도 조건을 구하였다. 유도결합플라스마를 이용하여 분석에 응용한 B. Pahlavanpour¹¹ 등과 Robin¹² 등은 게르마늄이 수소화물화 되는 과정을 이용하여 분석에 응용하였다. 게르마늄과 셀레늄은 식 (1)와 같이 HCl

조건하에서 수용액중의 금속이온(Mx^+)과 NaBH_4 가 반응하여 휘발성인 수소화물(MHy)를 생성한다고 알려져 있다.^{13,14}



NaBH_4 는 산성용액에서 분해가 잘되며 중성이나 알칼리성 용액에서도 분해되어 수소를 생성시키고, 수용액 중에서 식 (2)와 같이 가수분해 반응이 일어난다.^{13,14}



이러한 가수분해는 NaBH_4 를 이용하여 수소화물을 생성시킨 후 ICPMS로 도입 시켜 분석할 경우 충분한 수소화물을 생성시킬 수 없어, 일반적으로 안정제로 NaOH , KOH 등을 첨가하여 제조한다. NaOH 등의 알칼리를 첨가하게 되면 NaBH_4 가 비교적 분해가 덜되어 효과적으로 사용할 수 있으나 HCl 용액을 중화시킬 수 있어 첨가하는 농도에 주의를 기울여야 한다.

게르마늄의 경우 10 $\mu\text{g/L}$ 의 게르마늄 표준용액을 제조한 후 3 M의 HCl 을 사용하고 NaBH_4 를 0.1%에서 1%까지 변화시키면서 게르마늄을 분석하여 NaBH_4 의 최적농도를 찾았다. 이때 안정제로는 0.5%의 NaOH 를 각각의 NaBH_4 용액에 첨가하여 분석하였다.

셀레늄의 경우에는 게르마늄과 같은 방법으로 10 $\mu\text{g/L}$ 의 셀레늄 표준용액을 제조한 후 3 M의 HCl 을 사용하여 NaBH_4 를 0.1%부터 1%까지 변화시키면서 셀레늄을 분석하여 NaBH_4 의 최적농도를 찾았고, 이때 안정제로는 0.5%의 NaOH 를 각각의 NaBH_4 용액에 첨가하여 분석하였다. 실험에 사용한 NaBH_4 와 NaOH 는 데시케이터에 보관하였고 분석 직전에 제조하여 사용하였다.

2.3.4. 시료의 전처리 방법에 대한 영향

식물체 및 식품 등과 같은 시료 중의 금속원소 분석에 ICPMS를 이용하여 분석하기 위해서는 시료 중의 매트릭스를 최대한 제거하여 투명한 용액으로 만드는 과정이 수반되어야 한다. 식물체와 같이 유기물이 다량 함유되어 있는 시료의 전처리 방법에는 여러 가지 방법이 있으나, 일반적으로 건식회화법과 습식회화법이 주로 이용되며, 근래에는 마이크로파를 이용한 분해방법도 사용되고 있다.

건식회화법은 시료를 500 °C 정도에서 장시간 태워

서 유기물을 분해하는 방법으로 시료량에 제한이 적고 소량의 시약을 사용하므로 시약으로부터의 오염을 최소로 할 수 있으며, 시료의 분해과정을 지켜보지 않아도 되는 장점이 있다. 그러나 건식회화법은 실온으로부터 시작하여 서서히 온도를 올려주어야 유기물이 완전히 연소하므로 분해시간이 3~5시간 정도로 많이 소요되고 동시에 여러 가지 시료를 처리 할 수 없으므로 시료의 개수가 많은 경우에는 더욱 많은 시간이 소요된다. 또한 전기로나 불꽃에서 장시간 가열하기 때문에 휘발성 원소인 게르마늄과 셀레늄의 손실이 발생하며, 전기로나 용기 또는 실험실 대기로부터의 오염이 발생할 소지가 많아진다. 또한 회화 중에 끓는점이 낮은 게르마늄, 셀레늄 등이 염화물과 결합하여 염화게르마늄, 염화셀레늄 등이 형성되어 휘발할 수 있으므로 시료의 손실 및 2차적인 오염을 일으킬 수 있으며, 회화가 종료된 후에도 타르 및 회분 성분이 남아 재차 산처리를 해야 하는 번거로움이 있다. 건식회화법은 이와 같이 오염과 손실의 우려가 크므로 극미량 분석에서는 이용되기 어려우며, 특히 휘발성 금속원소를 분석할 때에는 적당하지 않아 식물체중의 게르마늄과 셀레늄을 정량하는데 적용이 어려울 것으로 판단된다.

마이크로파를 이용한 분석방법은 대기압하의 분해법보다 매우 신속하게 시료를 분해할 수 있으며, 산의 증발이 없고, 산의 세기가 저하되지 않으며 외부로부터의 오염이 없을 뿐만 아니라 산(Acid) 증기가 밖으로 유출되지 않는 이점이 있다. 또한 테프론 용기를 사용하므로 용기자체의 오염이 적고 높은 압력을 사용하므로 인하여 산의 끓는점을 상승시켜 산화력을 증가시킬 수 있다. 그러나 마이크로파의 에너지가 산과 매트릭스에 침투함에 따라 쌍극자 회전과 이온전도를 발생시켜 온도가 급격히 상승되어 게르마늄과 셀레늄 등의 휘발성 원소들이 테프론 용기의 재질 속으로 확산되어 분석하고자 하는 원소의 손실을 가져올 수 있는 단점이 있다.¹⁵

습식회화법은 시료를 산(Acid)류로 처리하여 유기물을 분해시키는 방법으로, 분해온도가 낮고 건식회화법에 비해 성분의 손실이 적어, 납, 카드뮴, 게르마늄, 셀레늄, 수은 등 비교적 저비점 화합물의 전처리에 적합하다.

습식회화법에 주로 사용되는 산은 HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 , HF 등이 있고, 산화력이 큰 H_2O_2 를 이용하기도 하지만, 단일산을 사용한 회화법 보다는 HNO_3 - H_2SO_4 , HNO_3 - HClO_4 , HNO_3 - H_2O_2 , HNO_3 - H_2SO_4 - HClO_4

와 같은 혼합산을 이용하여 시료를 분해하는 경우가 많이 이용되고 있다. 습식분해법은 분해시간이 건식회화법에 비하여 적게 소요되지만 시약으로부터의 오염이 발생할 수 있으며, 분해가 완결될 때까지 실험자가 관찰을 계속해야하는 단점이 있다.

이상의 각 회화방법의 장단점의 결과를 토대로 상추 중의 휘발성 원소인 게르마늄과 셀레늄의 전처리 방법은 성분의 손실이 적고 시간소요가 적은 습식회화법이 가장 알맞은 것으로 나타나 시료의 분해에는 습식회화방법을 적용하였다.

전처리에 사용한 산(Acid)중 단일산은 HNO_3 을 사용하였으며, 혼합산으로는 HNO_3 - HClO_4 (3:1), HNO_3 - H_2O_2 (3:1), HNO_3 - H_2SO_4 (3:1)을 사용하였다. 건조기에서 건조된 시료를 각각 0.2 g을 취하여 250 mL pyrex 재질의 비커에 넣고 각각의 산을 5 mL씩 가하고 시계접시를 덮은 후 4시간 이상 방치 한다. 다시 5 mL의 산을 첨가한 후 시계접시를 덮은 채 서서히 가열하여 hot plate 표면온도를 150 °C로 유지하면서 백연이 발생할 때까지 농축시킨 후 실온까지 방냉 하여, 완전히 식은 후 1% HNO_3 를 이용하여 비커 벽을 닦는 후 100 mL 용량플라스크에 넣는다. 이 과정을 반복하여 100 mL 용량플라스크의 눈금까지 묽혀 게르마늄과 셀레늄의 분석용 시료 용액으로 하였으며 표

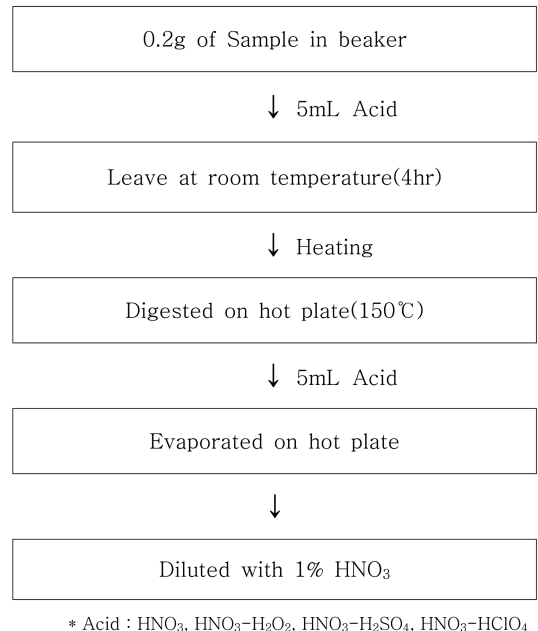


Fig. 1. Digestion procedure for the determination of Germanium and Selenium by HVG-ICPMS.

준시료도 같은 방법으로 처리하여 농도를 측정하였다. 실험방법을 Fig. 1에 나타냈다.

4. 결과 및 고찰

본 연구에서는 게르마늄과 셀레늄을 ICPMS로 분석할 때 간섭현상을 최소화하기 위하여 Montaser¹⁶ 등이 고안한 mini torch system을 이용하여, sampling cone과 torch의 거리를 변화시키면서 확인한 결과 거리가 3.0 mm 일때 가장 높은 intensity를 나타냈으며, 그 이상으로 갈수록 감소하는 경향이 나타났다.

게르마늄과 셀레늄의 분석에 사용한 질량수는 ⁷²Ge과 ⁷⁸Se을 선택하여 분석하였다. 일반적으로 게르마늄은 ⁷⁴Ge가 동위원소체 비율이 36.5%로 가장 높지만, ⁷⁴Ge을 사용할 경우 셀레늄과의 동시 정량 시 셀레늄의 동위원소체인 ⁷⁴Se과 겹치게 되어 분석에 영향을 미치므로 ⁷⁴Ge 다음으로 동위원소체 비율이 좋은 ⁷²Ge을 사용하였다.

셀레늄의 경우 ⁸⁰Se이 동위원소체 비율이 가장 많지만, 플라즈마에서 발생된 ⁴⁰Ar⁴⁰Ar, ³²S¹⁶O₃의 이온 spectrum이 나타나고 ⁸⁰Kr의 동위원소가 존재하여 분석에는 사용이 제한되어야 하므로, 간섭이온이 적고 동위원소체 비율이 높은 ⁷⁸Se을 사용하여 분석하였다.

게르마늄과 셀레늄을 HVG-ICPMS를 이용하여 분석할 경우, 시료를 산성조건하에서 환원제를 이용하여 환원시켜 수소화물을 생성시킨 후 플라즈마에 도입하여 분석을 한다고 알려져 있다. 일반적으로 NaBH₄와 같은 환원제를 이용하여 수소화물을 생성시킬 때에 비소(As), 게르마늄(Ge), 셀레늄(Se), 비스무스(Bi), 안티몬(Sb)은 산성조건하에서 잘 생성 된다고 알려져 있다.¹⁷

게르마늄과 셀레늄을 HVG-ICPMS로 분석할 경우 수소화합물을 생성시킬 때의 가장 적합한 산과 농도를 결정하기 위한 실험결과를 Fig. 2에 나타냈다. HCl은 다른 산 종류와는 달리 환원성이 높은 산으로 HNO₃, HClO₄, H₂SO₄ 보다는 수소화물을 생성시키는데 적합한 것으로 나타났다. 분석시의 농도는 게르마늄의 경우 0.5M의 농도가 가장 알맞은 농도로 나타났으나 ICPMS를 이용한 분석에서는 셀레늄과의 동시 정량을 실시하여야 하므로 3M의 HCl을 사용하는 것이 HVG mini torch ICPMS를 이용한 분석 시 최적의 농도 조건으로 나타났다.

수소화물생성장치에 사용하는 산을 HCl 3M로 고정하고 HVG-ICPMS를 이용한 게르마늄과 셀레늄의 분석에 일반적으로 사용되는 NaBH₄와 NaOH의 농도의 영향을 측정하여 Fig. 3에 나타냈다. Se는 NaBH₄와 NaOH 모두 0.4~0.6% 농도범위에서 가장 좋은 세기를 보였으며, Ge는 NaBH₄와 NaOH가 각각 0.8~1.0%와 0.4~0.6% 농도범위에서 가장 좋은 결과를 보였다.

게르마늄의 경우 HNO₃로 단독처리 한 경우와 HNO₃-H₂O₂로 처리한 결과값은 2.3 µg/g으로 나타났으며, HNO₃-H₂SO₄와 HNO₃-HClO₄로 처리한 경우는 각각 4.12, 5.96 µg/g로 나타났다. 셀레늄의 경우 HNO₃로 처리한 경우와 HNO₃-H₂O₂로 처리한 경우는 5.6, 7.0 µg/g으로 나타났으며 HNO₃-H₂SO₄, HNO₃-HClO₄으로 처리한 경우 각각 11.9, 16.2 µg/g로 나타났다.

HNO₃ 단독으로 처리한 경우 산화력이 다른 혼합산 보다 떨어져 상추 분해 시 유기물이 완전히 분해가 되지 않아 2, 3회 반복하여 분해를 해야 하는 번거로움이 나타났으며, 분해 후 ICPMS를 이용하여 분석한 결과도 다른 산에 비하여 낮게 평가되어 상추 등의 식물체를 분해하는데 적합하지 않는 것으로 나타났다.

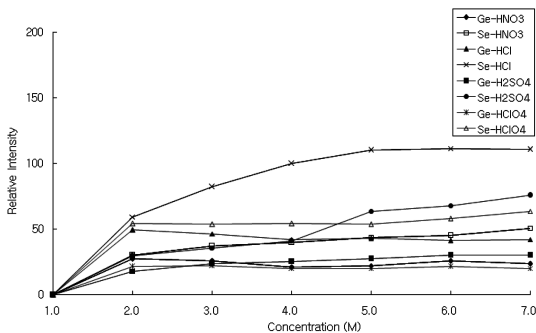


Fig. 2. Effect of acids concentration at HVG mini torch ICPMS system.

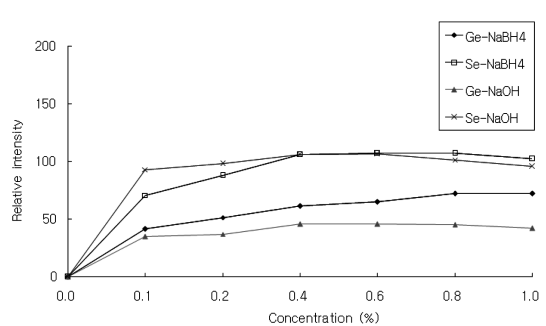


Fig. 3. Effect of NaBH₄ and NaOH concentration at hydride generation system.

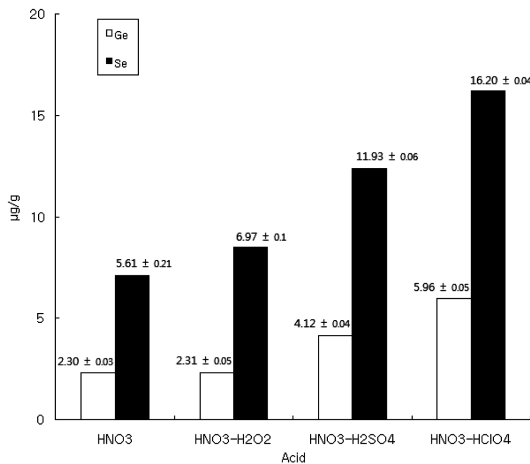


Fig. 4. Element contents in lettuce according to acid pretreatment.

HNO₃-H₂O₂의 혼합산으로 전처리를 실시하여 분석한 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 게르마늄의 결과값은 2.3 µg/g으로 HNO₃로 처리 하였을 때와 같은 경향이 나타났으며, 셀레늄의 경우 7.0 µg/g으로 HNO₃보다는 약간 높은 결과가 나왔다.

H₂O₂는 유기물질이나 환원성 물질과는 환원제로 작용하여, 특히 지질(脂質, fat)를 포함하는 시료의 분해에 적합하다고 알려져 있으며, Ti, V, Cr, W 등과는 착물을 형성하여 이들을 포함하는 시료의 전처리에 많이 사용이 되고 있다. 본 연구에서는 상추를 회화시킬 때 게르마늄 및 셀레늄의 Ge(VI), Se(VI) 화합물을 4가 화합물로 변화시키고자 H₂O₂를 처리하였으나, 환원제로서 작용을 하지 못하는 것을 알 수 있었으며, 이 결과는 H₂O₂가 HNO₃ 등과의 반응 시 H₂O₂보다 산화력이 강한 산과는 강력한 산화제로 작용한다는 결과를 나타냈다.¹⁸

H₂O₂를 이용하여 상추를 회화 할 때에는 유기물이 회화되면서 많은 거품이 생겨 비커의 기벽 내에 유기물 상태로 찌꺼기가 많이 남아 HNO₃으로 비커 벽면을 2~3회 반복하여 닦은 후 회화를 실시하여야 하는 번거로움이 나타났다. 또한 H₂O₂로 분해하여 HVG-ICPMS로 분석할 경우 sampling cone에 백색의 가루 형태가 부착되는 것이 관찰되어 다른 산을 이용하여 전처리 할 때 보다 ICPMS 분석 시 일반 다른 원소들과의 산화물 형태로 존재한다는 것을 추정할 수 있어, 상추를 포함한 식물체의 전처리에는 적합하지 않은 방법으로 생각된다.

H₂SO₄를 이용할 경우 게르마늄과 셀레늄의 검량선

을 작성 할 때 H₂SO₄ 자체의 이온세기로 인하여 검량선의 바탕용액 자체가 높게 평가되어 기울기가 높은 현상이 나타나 결과값이 높게 평가되는 현상이 나타났다.

유기물 분해 시 H₂SO₄를 HNO₃와 혼합한 방법이 많이 사용되고 있으나, ICPMS를 이용하여 시료를 분석할 경우 H₂SO₄의 높은 boiling point (338 °C)로 인하여 시료를 산화시키는데 장시간이 소요되고 Ba, Ca, Pb, Sr 등의 금속원소 등과는 낮은 용해도를 갖으며, 침전물을 생성하기도 한다. 또한 Ag, As, Ge, Hg, Re, Se 등의 휘발성 원소를 회화시킬 경우 휘발에 의한 영향이 나타나기도 한다.¹⁸

Gray¹⁹ 등은 ICPMS 분석 시 H₂SO₄의 polyatomic ion 간섭에 대한 연구를 실시하여 Ti, V, Cr, Zn, Ga, Ge, Se 등의 분석시 ³²S¹⁶O₂, ³⁴S¹⁶O₂, ³⁴S¹⁶O₂¹H⁺ 등의 이온 간섭이 나타나 ICPMS의 분석에는 적절하지 않다고 하였다. 또한 H₂SO₄를 희석하여 최종 검액으로 하는 경우는 시료의 분무에 영향을 줄 수 있다고 하였으며, sampling cone과 skimmer cone에 다른 화합물과의 결합으로 오염이 심하다고 보고하였다.

Tan 등²⁰은 H₂SO₄중의 SO, SOH(SOH:SO)의 생성 비율이 0.005로 m/z 48~53 사이에서 분자이온을 생성시켜 Ti와 Cr의 측정에 간섭을 일으키고, SO₂와 SO₂H(생성비율 0.3)의 분자이온은 m/z 64~69 사이에서 간섭을 일으켜 Zn의 분석에 방해로 일으키며, SO₃와 SO(생성비율0.02)는 ⁸⁰Se, ⁸²Se의 측정에 방해로 준다고 하였으며, ArS 분자이온은 ⁷²Ge의 분석에 영향을 준다고 보고하였다.

이러한 결과를 토대로 ICPMS의 분석에 H₂SO₄를 사용하는 것은 poly atomic ion의 형성으로 인한 Spectral 간섭으로 인하여 분석에 영향을 끼칠 수 있어 사용을 피해야 할 것으로 사료된다.

HNO₃-HClO₄으로 회화한 경우 게르마늄 5.96 µg/g, 셀레늄 16.2 µg/g로 가장 높은 결과값을 나타냈다.

HNO₃-HClO₄는 유기물의 습식회화에 가장 많이 사용되는 방법으로 특히 식물체 및 식품 분석에 많이 이용되고 있다. HClO₄는 K, Ru 등과는 착물을 형성한다고 알려져 있으나, 대부분의 원소와는 착물을 형성하지 않으며, 분해 시 산화력이 큰 발생기 산소와 염소로 분해되어 높은 산화력을 나타낸다.²¹

유기물이 많은 시료를 HNO₃-HClO₄ 혼합산으로 전처리 하여 ICPMS로 분석할 경우 Cl의 간섭현상과 분자이온에 의한 spectrum 간섭을 줄이는 것이 중요하다고 할 수 있다.

Table 2. Recovery of germanium and selenium in pretreated lettuce by various acids

(unit : $\mu\text{g/g}$)

| | Ge | | | Se | | |
|--|-----------|-----------|--------------|------------|------------|--------------|
| | Unspike | spiked | Recovery (%) | Unspike | spiked | Recovery (%) |
| HNO ₃ | 2.30±0.03 | 3.27±0.06 | 33.5 | 5.61±0.21 | 7.10±0.08 | 43.8 |
| HNO ₃ -H ₂ O ₂ | 2.30±0.05 | 3.45±0.10 | 41.3 | 6.97±0.10 | 8.51±0.05 | 52.5 |
| HNO ₃ -H ₂ SO ₄ | 4.12±0.04 | 5.35±0.05 | 69.2 | 11.93±0.06 | 12.36±0.12 | 76.3 |
| HNO ₃ -HClO ₄ | 5.96±0.05 | 8.35±0.06 | 98.2 | 16.20±0.04 | 18.46±0.13 | 98.5 |

*Spike value of Ge and Se : 2.5 $\mu\text{g/g}$

Janghorbani,²² Ting²³ 등은 As, Bi, Ge, Se 등의 휘발성 원소에서 수소화물생성장치를 이용하면 게르마늄, 셀레늄 등은 각각 GeH₄, H₂Se 등의 수소화물이 생성되어 간섭현상을 많이 발생시키는 Cl이 수소화물 생성 반응 coil과 반응관을 지날 때 H와 결합하여 HCl로 된 후 배수되어 분석 시 간섭현상을 줄일 수 있다고 보고하였다.

이상의 결과에서 HVG-ICPMS를 이용하여 상추 중의 게르마늄과 셀레늄의 동시정량 분석에 시료 전처리하는 HNO₃-HClO₄를 이용하고 ICPMS 이용 시 Cl의 간섭현상을 피하기 위해서는 수소화물생성장치를 이용하는 이 분석의 최적조건임을 알 수 있었다.

이러한 결과를 토대로 HVG mini torch ICPMS를 이용하여 게르마늄과 셀레늄의 동시정량 분석에는 HNO₃-HClO₄를 이용한 시료 전처리방법으로 제안할 수 있다.

시료 전처리 방법에서 나타난 결과와 회수율을 Table 2에 나타냈다. 게르마늄의 경우 HNO₃ 단독사용 할 경우 33.5%, HNO₃-H₂O₂ 및 HNO₃-H₂SO₄은 각각 41.3%, 69.2%의 회수율을 나타냈고, HNO₃-HClO₄가 98.2%로 회수율이 가장 높게 나타났다. 셀레늄의 경우 HNO₃ 43.8%, HNO₃-H₂O₂ 52.5%, HNO₃-H₂SO₄ 76.3%, HNO₃-HClO₄가 98.5%로 게르마늄보다는 높은 회수율의 경향을 보였으며, 게르마늄의 경우와 같이 HNO₃-HClO₄에서 가장 우수한 회수율이 나타났다.

회수율은 다음과 같은 식으로 구하였다.

$$R(\%) = \frac{C-C'}{A} \times 100 \quad (3)$$

R : 회수율

C : 첨가 후 시료의 정량값

C' : 첨가 전 시료의 정량값

A : 첨가농도

이상의 결과를 바탕으로 분석방법의 정확성을 평가하기 위하여 셀레늄 표준물질인 SRM-1547과 1570a (NIST, U.S)를 분석한 후 참고 값과 비교 검증하였다. 표준시료의 분석결과는 Table 3에 나타냈다.

5. 결 론

식물체 중에 포함되어 있는 항산화제로서 주목받고 있는 게르마늄과 셀레늄의 극미량 분석에 있어서의 재현성 있는 분석방법을 제시하고자 수소화물생성장치와 유도결합플라즈마질량분석기를 이용하여 분석하였다.

유도결합플라즈마질량분석기에 일반적으로 사용되는 torch 대신 에너지 밀도를 높여 이온 간섭, 분자이온 생성 등의 간섭현상을 줄일 수 있는 mini torch를 사용하여 산 종류와 농도의 영향, 수소화물의 생성을 위한 환원조건, 시료 전처리 방법의 차이 등 다양한 조건하에서 상추 중의 게르마늄과 셀레늄을 분석하였으며, 분석의 정확성을 평가하기 위하여 회수율 검증과 셀레늄의 표준시료인 SRM-1547, 1570a를 분석하여 기준값과 비교함으로써 분석의 정확성을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

Mini torch가 장착된 유도결합플라즈마질량분석기의 polyatomic 이온과 2차방전의 이온을 효과적으로 제거하기 위한 mini torch와 sampling cone과의 거리는 5.0mm 였으며, carrier gas의 유량은 0.6 L/min로 나타났다. Mini torch의 사용은 기존에 사용 중인 torch와 비교하여 산화물의 생성비율과 2차 방전 효과를 줄일

Table 3. Analytical results of reference sample (Se)

(unit : $\mu\text{g/g}$)

| Method | Reference Value | Experimental Results | Accuracy# (%) |
|-----------|-----------------|----------------------|---------------|
| SRM* 1547 | 0.120 | 0.122 | 101.6 |
| SRM 1570a | 0.117 | 0.115 | 98.3 |

*SRM : Standard Reference Material. NIST. U.S.A

#(Results value/Ref. value) × 100

수 있었으며, Ar 가스 소비량이 일반 torch의 절반으로 경제적으로도 이점이 있었다.

수소화물생성장치를 이용하여 수소화물을 생성시킬 때 알맞은 산은 높은 산성에서 환원성을 갖는 HCl로 나타났으며, HCl의 농도는 게르마늄은 0.5 M, 셀레늄은 3 M 이었다. 게르마늄과 셀레늄의 동시정량에는 3 M의 HCl을 사용하는 것이 mini torch 유도결합플라즈마질량분석기를 사용하는데 최적의 분석조건임을 알 수 있었다.

수소화물생성장치와 mini torch 유도결합플라즈마질량분석기를 이용해 게르마늄과 셀레늄의 동시정량에서 수소화물 생성 시 환원제로 사용되는 NaBH₄의 최적농도는 0.4%로 나타났으며, 안정제로 사용되는 NaOH 농도는 0.4%를 사용하는 것이 최적조건으로 나타났다.

시료 전처리에 HNO₃와 HNO₃-H₂O₂은 유기물이 완전히 분해되지 않는 것으로 확인되었으며, HNO₃-H₂SO₄는 전처리에 시간이 많이 소비되고 유도결합플라즈마질량분석기 사용 시 polyatomic 이온과 2차 방전이온을 생성하는 것으로 나타나, HNO₃-HClO₄를 이용하는 것이 상추 등의 식물체의 분해에 가장 적합한 처리 방법으로 제안할 수 있다.

건조된 상추를 HNO₃와 HClO₄를 이용한 습식회화 후 mini torch가 장착된 수소화물-유도결합플라즈마질량분석기를 사용하여 게르마늄과 셀레늄을 분석한 결과 회수율은 각각 98.2%, 98.5%로 나타났으며, SRM-1547, 1570a 셀레늄 표준시료를 분석하여 참고값과 비교한 결과 정확도는 98.3%, 101.6%로 식물체중 극미량의 게르마늄과 셀레늄의 분석에 mini torch를 장착한 수소화물-유도결합플라즈마질량분석법이 유용하게 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. E. B. Jung and M. K. Shin, In Hyan Yak dictionary, Young Lim Sa, Seoul, 1060 (1990).
2. A. Twonshend, *Encyclopedia of Analytical Science*, Academic Press, **4**, 1935-1943 (1955).
3. 승정자, 극미량원소의 영양, 민음사, 230-232 (1996).

4. Y. Mino, N. Ota, S. Sakao and S. Shimomura, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**(9), 2687 (1980).
5. M. O. Andraea and P. N. Froelich, *J. Anal. Chem.*, **53**, 287 (1981).
6. G. A. Hambrick, P. N. Hroelich, M. M. Andraea and B. L. Lewis, *Anal. Chem.*, **56**, 421 (1984).
7. D. T. Burns and D. Dadger, *Analyst.*, **107**, 452 (1982).
8. D. J. Johnson, T. S. West and R. M. Dagnall, *Anal. Chem. Acta.*, **104**, 293 (1979).
9. K. Dittrich, B. Vorberg, J. Funk and V. Beyer, *Spectrochem. Acta.*, **39B**, 349(1984).
10. J. R. Knechel and J. L. Fraser, *Analyst.*, **103**, 104 (1978).
11. B. Pahlavanpour, J. H. Pullen and M. Pullen, *Analyst.*, **105**, 274 (1980).
12. W. B. Robbins and J. A. Caruso, *Anal. Chem.* **51**, 889A (1979).
13. 中原武利, 武者宗一郎, 南人, 茂未編, 九善, 原子Spectrum, 日本分析科學會, 711-720 (1980).
14. T. Nakahara, *Anal. Atom. Spectrosc.*, **6**, 163-223 (1983).
15. H. M. Kingston and L. B. Jassie, *Introduction to Microwave Sample Preparation*, American Chemical Society (ACS) Professional Reference Book, 157-163 (1996).
16. E. D. Macklen and B. Pahlavanpour, *Anal. Chem. Acta.*, **109**, 251 (1979).
17. A. Montaser and D. W. Golightly, *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry*, VHC Publishers, 528-543 (1987).
18. Z. Sulcek and P. Povondra, *Method of Decomposition in Inorganic Analysis*, CRC Press: Boca Raton, 19-30 (1989).
19. A. L. Gray, *J. Anal. Atom. Spectrum.*, **4**, 371-373 (1989).
20. S. H. Tan, *J. Appl. Spectr.*, **40**(4), 445-460 (1986).
21. G. F. Smith, *The Wet Chemical Oxidation of Organic Compositions Employing Perchloric Acid With or Without Added HNO₃-H₃IO₆-H₂SO₄*, Smith Chemical.
22. M. Janghorbani and B. T. G. Ting, *Anal. Chem.*, **61**, 701 (1986).
23. B. T. Ting, C. S. Mooers and M. Janghorbani, *Analyst.*, **114**, 667 (1989).