

메틸수은-에틸화-원자형광법

2024

(Methyl Mercury-Ethylation-Atomic Fluorescence Photometry)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 물 중에 존재하는 메틸수은을 증류, 에틸화, 가스 퍼지와 흡착, 그리고 열 탈착, 기체크로마토그래프 (GC, gas chromatograph) 컬럼을 거쳐 원자형광광도계 (AFS, atomic fluorescence photometer)를 이용하여 측정하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험기준은 물 중 메틸수은 농도가 0.02 ng/L ~ 5 ng/L 범위일 때 적절하며, 이보다 낮거나 높은 농도는 에틸화 시키기 전 증류하는 시료량을 적절하게 변경하여 측정한다. 이 방법의 정량한계는 0.02 ng/L 이다. 정량한계 목표 값보다 낮은 정량한계를 얻을 수 있는 분석기술이 있는 경우 소급성이 인정된다면 정량한계로 사용할 수 있다.

1.2.2 분석 가능한 메틸수은 화학종

산성조건에서 증류 가능한 모든 메틸수은은 소듐테트라에틸보레이트 (sodium tetraethylborate, $\text{NaB}(\text{Et})_4$)와 반응하여, 에틸메틸수은 (ethyl methyl mercury, $\text{CH}_3\text{HgCH}_2\text{CH}_3$)으로 변환되어 검출된다. 본 시험방법에서 검출되는 메틸수은에는 메틸수은 이온 (CH_3Hg^+) 이외에도, 유기물 또는 입자에 결합된 메틸수은화합물이나 미생물에 결합된 메틸수은 등도 포함된다. 단, 채취된 지 수 일 이내의 시료에서는 다이메틸수은 ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$)은 메틸수은으로 검출되지 않으나 산성 조건의 시료 중에서 수 일 이내에 분해되어 CH_3Hg^+ 형태로 변환되어 존재한다.

1.3 메틸수는 분석에서 일반적인 주의사항

1.3.1 만성적인 메틸수는 노출은 간 손상, 근육 경련, 발작, 성격 변화, 우울증, 신경과민 및 영구적인 뇌 손상을 유발시킬 수 있으므로 메틸수는 표준용액은 안전관리에 익숙하며 잘 숙련된 사람만이 다룰 수 있도록 해야 한다.

1.3.2 이 시험기준을 사용하는 실험실에서는 회석된 메틸수는 표준용액을 사용하도록 권고한다. 표준용액을 준비할 시에는 후드 안에서 준비하도록 한다.

1.3.3 테플론 재질이 아닌 시험기구의 사용을 피해야 하며, 모든 기구는 사용하기 전에 산으로 세척하여야 한다.

1.3.4 모든 시험 절차는 class-100의 클린룸 또는 class-100의 클린벤치에서 진행한다. 클린룸이나 클린벤치에서 진행이 어려울 경우 비금속 재질의 글러브 박스에서 진행하도록 한다.

1.3.5 많은 양의 수용성 물질, 부유물질, 높은 끓는점 또는 휘발성 물질을 함유하는 시료는 분석 후 퍼지 장치들을 세척제와 정제수로 세척한 후, 105 °C 오븐 안에서 건조시킨다.

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 열 탈착 장치 - 등온기체크로마토그래프 시스템 - 원자형광광도계

3.1.1 열 탈착 장치

에틸화 장치를 통해 트랩에 흡착된 메틸수은을 열 탈착하여 GC 컬럼으로 주입하기 위한 부분으로 400 °C ~ 500 °C로 가열·유지할 수 있어야 한다. 별도의 열 탈착 장

치가 없는 경우 니크롬선으로 트랩을 감아서 사용할 수 있다. 이 때 니크롬선은 24 게이지로 75 cm 정도의 길이가 필요하다.

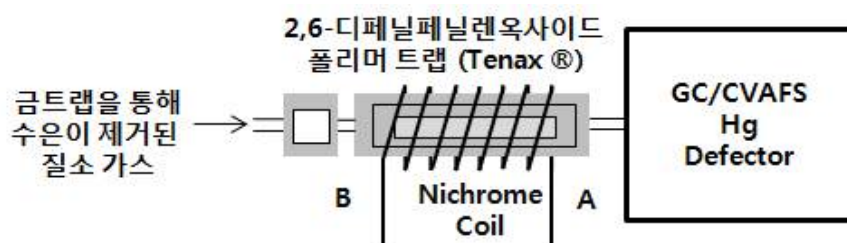


그림 1. 메틸수은 열 탈착 장치

3.1.2 등온기체크로마토그래프 시스템

등온기체크로마토그래프 (isothermal gas chromatograph) 시스템은 열 탈착된 수은 화학종들을 분리하기 위한 장치로 열 탈착 장치와 GC 컬럼을 연결하는 장치, GC 컬럼, 항온 오븐으로 구성된다.

3.1.3 열분해 컬럼

기체크로마토그래프 컬럼에서 나온 수은 화학종들은 고온의 열분해 컬럼 (pyrolytic column)으로 들어간 후 Hg^0 로 분해된다. 이 컬럼을 통과한 가스는 냉증기 원자형광광도계로 유입되어 분석된다.

3.1.4 원자형광광도계

원자형광광도계 (AFS, atomic fluorescence photometer)는 수은 증기램프로부터 나오는 빛을 흡수한 시료가 방출하는 형광 강도를 253.7 nm의 파장에서 측정한다. 이때 형광 강도는 광증배관 (PMT, photomultiplier tube)에 의해 전기적 신호로 변환되어 측정하게 된다.

3.2 전처리 기구 및 장치

3.2.1 시료용기

미리 산으로 세척된 테플론 용기를 사용하며, 시료 용기 부피는 125 mL 이상이어야 한다. 시료 용기는 산세척 전 깨끗한 술을 이용하여 알칼라인 세제와 정제수로 세척 후 1 N 질산에 하루 이상을 담가둔다. 정제수를 이용하여 3회 이상 세척 후 클린벤치에서 건조시키고, 두 개의 지퍼백에 이중으로 보관한다.

3.2.2 증류 시스템

온도 조절이 되는 알루미늄 블록 가열판과 질소퍼지 기구, 증류 용기, 증류 후 가스로 넘어오는 샘플을 냉각하여 다시 액체상으로 받는 포집 용기로 구성된다. 알루미늄 블록 가열판은 원형의 증류 용기가 들어갈 수 있는 구멍이 있으며 열 센서가 장착되어 있는 것을 사용한다. 증류 용기 및 포집 용기는 테플론 재질의 바이알로서 마개가 있어야 한다. 증류 시 증류 용기에 테플론 재질의 1/8 인치 튜빙(30 cm ~ 40 cm 길이)이 들어가 있는 퍼징용 마개를 장착하여 사용한다.

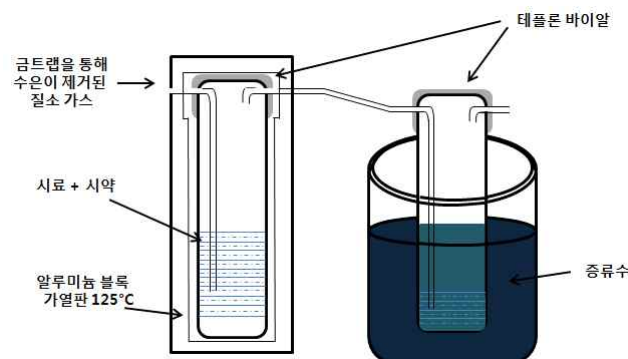


그림 2. 메틸수은 증류시스템

3.2.3 가스퍼지 시스템

가스 유량 조절장치와 냉증기를 발생시키는 버블러 세트에 구성된다. 버블러 세트는 200 mL 봉규산 재질의 유리병(높이 15 cm, 너비 5 cm)에 가스를 주입시킬 수 있는 다공성 유리관이 부착된 유리 재질 마개가 장착된 것을 사용한다.

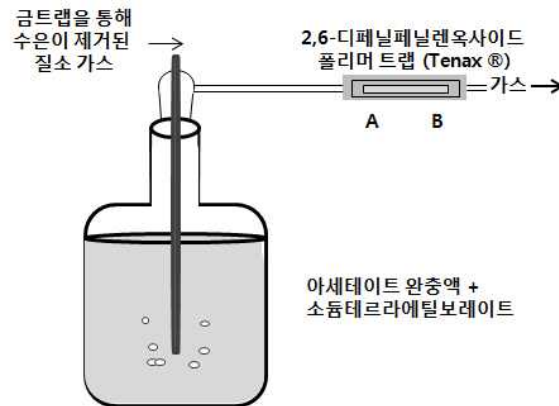


그림 3. 메틸수은 에틸화/퍼징/흡착 시스템

3.2.4 2,6-디페닐페닐렌옥사이드 (2,6-diphenylphenylene oxide) 폴리머 트랩

크로마토그래프용으로 60/80 메쉬의 것을 사용한다. Tenax 트랩 또는 이와 동등한 것을 사용한다.

3.2.5 피펫

200 μ L, 1 mL, 5 mL 피펫과 피펫팁을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 정제수

시약용 정제수 또는 탈이온수(비저항 18 M Ω)를 사용한다.

4.1.2 염산 (hydrochloric acid, HCl, 36.46) (37 %)

염산 (hydrochloric acid, HCl, 분자량 : 36.46)은 수은 함량이 5.0 ng/L 이하인 유해 중금속 분석용 또는 그 이상의 등급을 사용한다. 고농도의 산에서 메틸수은은 안정하지 않기 때문에 산에 있는 메틸수은 농도를 측정할 필요는 없다.

4.1.3 황산 (sulfuric acid, H_2SO_4 , 98.08) (98 %)

황산 (sulfuric acid, H_2SO_4 , 분자량 : 98.08)은 수은 함량이 5.0 ng/L 이하인 유해중금속 분석용 또는 그 이상의 등급을 사용한다. 고농도의 산에서 메틸수은은 안정하지 않기 때문에 산에 있는 메틸수은 농도를 측정할 필요는 없다.

4.1.4 암모늄피롤리딘디티오카바메이트 용액(1 %)

유해중금속 분석용 또는 그 이상의 등급을 사용한다. 암모늄피롤리딘디티오카바메이트 (APDC, ammonium pyrrolidine dithiocarbamate, $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_2$, 분자량 : 164.29) 1 g을 정제수에 녹여 100 mL로 한다.

4.1.5 아세트산소듐

아세트산소듐 (sodium acetate, CH_3COONa , 분자량 : 82.03)은 유해중금속 분석용 또는 그 이상 등급을 사용한다.

4.1.6 아세트산

아세트산 (glacial acetic acid, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, 분자량 : 60.05, 99.8 %)은 유해중금속 분석용 또는 그 이상의 등급을 사용한다.

4.1.7 아세테이트 완충액(2 M)

아세트산소듐 (sodium acetate, $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, 분자량: 82.03) 164.06 g과 아세트산 (glacial acetic acid, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$, 분자량 : 60.05, 99.8 %) 118 mL를 정제수와 섞어 최종부피를 1 L로 만든다. 사용한 시약은 유해중금속 분석용 또는 그 이상의 등급을 사용한다.

4.1.8 수산화포타슘 용액(2 %)

유해중금속 분석용 또는 그 이상의 등급을 사용한다. 수산화포타슘 (potassium hydroxide, KOH, 분자량 : 56.11) 2.0 g을 정제수에 녹여 100 mL로 한다.

4.1.9 소듐테트라에틸보레이트 용액(1 %)

2 % 수산화포타슘 (potassium hydroxide, KOH, 분자량 : 56.11) 용액 100 mL에 소듐테트라에틸보레이트 (sodium tetraethylborate, $C_8H_{20}BNa$, 분자량 : 150.05) 1.0 g을 용해시켜 만든다. 제조된 시약은 5 mL의 미리 산 세척된 유리병 또는 테플론 병에 나눠 담아 바로 냉동시킨다. 시약을 사용할 때는 얼린 시약 위의 녹은 부분만 사용한다.

[주 1] 2 % 수산화포타슘 용액은 제조 후 냉동 보관하였다가, 사용 전 실온에서 일부 녹은 상태의 용액을 소듐테트라에틸보레이트 용액 제조에 사용한다.

[주 2] 제조된 소듐테트라에틸보레이트 용액은 얼음이 완전히 녹기 전까지만 사용할 수 있고, 다시 열려 사용하면 안 된다. 이 용액은 그리고 공기 중에 노출되면 사용 가능한 시간이 줄어들므로, 용액 사용 시 뚜껑은 빠르고 신속하게 개폐하며 잘 밀봉하여 보관한다. 단 용액이 노랗게 변한 경우, 사용하지 않는다.

[주 3] 1 % 소듐테트라에틸보레이트 용액의 활성화는 에틸화 과정에 중요한 요소이다. pH 2 이하 염산 또는 질산에 시약을 첨가 시, 즉각적으로 하얀색 입자가 발생하는 경우, 용액은 활성화가 있는 상태이다.

[주 4] 소듐테트라에틸보레이트는 독성 물질로 자연적으로 독성 물질이 사라지면서 독성 가스를 발생시킨다. 남은 시약을 버릴 때는 후드 안에 두면 자연적으로 산화되어 사라진다.

4.1.10 질소 (N_2) 가스

순도 99.995 %의 질소가스를 사용한다. 금이 코팅된 트랩을 가스 주입관에 연결하면 질소가스에 존재할 수 있는 미량 수은을 제거할 수 있다.

4.1.11 아르곤 (Ar) 가스

순도 99.999 %의 아르곤 가스를 사용한다. 금이 코팅된 트랩을 가스 주입관에 연결하면 아르곤 가스에 존재할 수 있는 미량 수은을 제거할 수 있다.

4.2 표준용액

4.2.1 메틸수은 시약

시약등급 (reagent grade)의 염화메틸수은 (methylmercury chloride, CH_3HgCl , 분자량 251.08)을 사용한다.

4.2.2 메틸수은 표준원액(1 000 mg/L)

염화메틸수은 (methylmercury chloride, CH_3HgCl , 분자량 251.08) 0.125 g을 정제수에 녹인다. 다시 염산 0.2 mL를 넣고 아세트산 0.5 mL를 넣어 정제수로 100 mL를 만든다. 일반적으로 시판되는 표준원액을 구입하여 사용하는 것이 바람직하다.

4.2.3 메틸수은 표준용액(1 000 $\mu\text{g/L}$)

메틸수은 표준원액(1 000 mg/L) 1.0 mL를 정확히 취하여 1 L 부피플라스크에 넣고 정제수 적당량에 염산 2 mL를 넣고 아세트산 5 mL를 넣어 정제수로 표선까지 채운다. 이 표준용액은 테플론 재질의 용기에 보관할 경우, 4 °C 냉장 보관 시, 1년 이상 보관 가능하다. 또한 분석에 사용되는 모든 메틸수은 표준용액은 이 표준원액을 이용해서 제조해야 한다.

4.2.4 검정곡선용 표준용액(0.01 $\mu\text{g/L}$)

메틸수은 표준용액(1 000 $\mu\text{g/L}$) 1 mL를 정확히 취하여 1 L 부피플라스크에 넣고 정제수 적당량에 염산 2 mL를 넣고 아세트산 5 mL를 넣어 정제수로 표선까지 채운다. 이 용액 1 mL를 정확히 취하여 100 mL 부피플라스크에 넣고 정제수 적당량에 염산 0.2 mL를 넣고 아세트산 0.5 mL를 넣어 정제수로 표선까지 채운다. 이 검정곡선용 표준용액은 테플론 재질의 용기 내 상온 조건에서 한 달 정도 보관 가능하다.

5.0 시료채취 및 관리

일반적인 물 시료 채취 및 보관은 ES 04130.1f에 따르며, 시료채취 용기 및 보존방법은 ES 04130.1f의 저농도 수은 시료 채취 및 보존방법을 따른다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계, 정량한계, 검정곡선, 검정곡선검증, 정밀도 및 정확도의 측정방법과 내부정도관리 주기는 ES 04001.b 정도보증/정도관리에 따른다.

[주 5] 에틸화 바탕시료는 버블러에 정제수 100 mL를 넣고, 아세트이트 완충용액 1 mL와 소듐테트라에틸보레이트 0.1 mL를 넣은 다음, 7.3.1 에틸화 및 퍼징, 7.3.2 열탈착 절차에 따라 분석한다. 측정값은 2 pg 미만이어야 한다.

(에틸화 바탕시료는 검정곡선용 바탕시료로서 시약바탕시료 (reagent blank)이다. 모든 검정곡선 작성 시, 에틸화 바탕시료와 같이 7.3의 분석절차에 따라 분석한다. 방법바탕시료의 분석은 각 시료군마다 실시하며, 고농도의 시료 다음에는 방법바탕시료를 측정하여 오염여부를 점검한다.)

[주 6] 실제 시료에 대한 정확도와 정밀도를 측정하기 위해 매질첨가시료 (MS, matrix spike)와 매질첨가반복시료 (MSD, matrix spike duplicate)을 측정하여야 한다. 시료량의 10 %에 해당하는 양의 매질첨가시료와 매질첨가반복시료를 분석하거나 각 시험군 당 하나 이상의 시료에 대해 진행한다. 매질첨가시료의 평균 회수율은 65 % ~ 135 %, 상대표준편차 (RPD, Relative percent difference)는 35 % 이내가 되어야 한다.

[주 7] 현재 시판되는 물 중 메틸수는 분석용 인증표준물질 (CRM, certified reference material)은 없지만 대신 다른 매체 (예: 퇴적물, 어류 등)의 메틸수는 분석용 인증표준물질을 이용하여 정확도 및 정밀도를 확인할 수 있다. 인증표준물질의 분석값은 인증값의 범위 내에 있어야 한다.

6.2 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표 값은 표 1과 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 시료의 종류

7.1.1.1 산을 첨가하여 보존한 시료를 잘 흔들어 섞은 후, 시료 90 mL를 125 mL 용량의 증류 용기에 담는다. 암모늄피콜리딘디티오카바메이트 용액 400 μ L를 넣고

뚜껑을 닫은 후 질소가스 튜빙을 증류 용기 바닥에 단도록 넣어준다.

7.1.1.2 125 mL 용량의 포집 용기에 정제수 5 mL를 미리 넣어주고, 증류 용기와 연결된 마개를 막는다. 증류된 시료가 이 물 층으로 들어가게 한다.

7.1.1.3 증류 용기를 알루미늄 블록에 넣고, 포집 용기는 얼음 통에 둔 후 알루미늄 블록을 $(125 \pm 3)^\circ\text{C}$ 로 가열하고, 질소가스의 유량은 (60 ± 20) mL/min이 되도록 한다.

7.1.1.4 포집 용기에 포집된 증류액이 총 90 mL이 되면 증류를 종료한다. 포집 용기에 90 mL 선이 표시되어 있으면 종료 시점을 확인하는데 용이하다.

[주 8] 증류되는 시간은 온도와 가스 유량 그리고 샘플 성상에 따라 다르지만 보통 2.5시간 ~ 4시간 정도 소요된다. 모든 시료가 동시에 증류가 끝나는 것이 아니기 때문에 각 샘플을 개별적으로 관찰해야한다.

[주 9] 증류된 시료가 40 mL 라인을 넘게 되면 회수율이 좋지 않은데 이는 시료에 넣은 염산이 증류되어 pH를 낮추어 에틸화 과정에 간섭을 일으키기 때문이다. 만약 시료가 너무 많이 증류 되면 시료의 pH를 측정하여 3.5 이하인 경우 시료를 버리고 다시 준비한다.

[주 10] 증류된 시료는 실내온도 조건에서 어두운 곳에 보관하고 48시간 안에 측정하거나, 최대 1개월간 냉동보관 가능하다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 검정곡선은 에틸화 바탕시료를 제외하고 최소 4개 농도 이상에 대해 작성한다. 검정곡선 작성용 용액은 메틸수는 표준용액 적당량을 직접 버블러에 넣는 방식으로 준비한다.

7.2.2 검정곡선 작성을 위해 버블러에 100 mL의 정제수를 넣고 0.01 µg/L의 메틸수는 검정곡선용 표준용액 0.2 mL를 넣은 후, 1 mL의 아세트이트 완충용액과 0.1 mL의 소듐테트라에틸보레이트 용액을 넣고 부드럽게 흔들어준다. 15분 간 에틸화가 일어나도록 기다린 후, 7.3.1과 7.3.2의 절차에 따라 퍼지 및 열탈착 시킨다. 순차적으로 0.5 mL, 1.0 mL, 5.0 mL의 검정곡선용 표준용액을 첨가한 후 분석한다. 이때 첨가된 메틸수은의 양은 각각 2 pg, 5 pg, 10 pg, 50 pg이고 이 때 검정곡선의

농도는 각각 20 pg/L, 50 pg/L, 100 pg/L, 500 pg/L이다.

7.2.3 각 표준용액의 측정된 피크 넓이에서 에틸화 바탕시료의 피크 넓이를 빼서 보정한다. 측정한 4개의 검정곡선 작성 표준용액 결과값을 이용하여 검정계수 (CF, Calibration factor)를 계산한다.

$$CF = \frac{R_S - R_E}{C_S} \quad (\text{식 1})$$

여기서, R_S = 표준용액의 피크 넓이 또는 높이

R_E = 에틸화 바탕시료의 피크 넓이 또는 높이

C_S = 검정곡선 작성용 용액 중 메틸수은의 양 (pg)

7.2.4 검정계수 값의 평균 (CF_m)과 표준편차 (SD)를 구한다.

7.3 분석방법

7.3.1 에틸화와 퍼징

7.3.1.1 증류액을 버블러에 넣고 정제수를 100 mL 넣은 후 2 M 아세테이트 완충액 1 mL를 넣어준다. 이 때 pH를 약 4.9 ~ 5.0으로 맞춘다.

7.3.1.2 반 냉동상태의 소듐테트라에틸보레이트 0.1 mL를 버블러에 넣고 뚜껑을 닫은 후 병을 흔들어 부드럽게 섞어준다.

7.3.1.3 시료가 반응할 수 있도록 15분 동안 방치한다. 이 때 시료에 존재하는 모든 비휘발성 메틸수은이 기체상의 에틸메틸수은으로 바뀐다.

7.3.1.4 반응이 끝난 뒤 2,6-디페닐페닐렌옥사이드 폴리머 트랩 (Tenax 트랩 또는 이와 동등한 트랩)을 버블러에 연결하여 200 mL/min 유량으로 질소가스를 흘려주며 15분간 버블링한다.

7.3.1.5 버블링이 끝나면 질소가스를 이용하여 7분 정도 트랩을 건조시킨다.

7.3.1.6 트랩에 포집된 메틸수은은 6시간까지 보관하는 것을 권장하며, 최대 24시간 이내에는 냉증기원자형광광도계를 이용하여 분석한다.

7.3.2 메틸수은의 열 탈착 과정

7.3.2.1 메틸수은이 포집된 트랩을 열 탈착 장치에 넣은 후 아르곤 가스를 연결한다.

7.3.2.2 트랩에 열을 가하기 전 30초 정도 가스를 흘려준다. 이 때 GC 컬럼용 오븐의 온도가 100 °C ~ 110 °C에 있는지 확인한다. 또한 광증배관 전압이나 기기 신호가 안정하게 유지되는지 확인한다.

7.3.2.3 트랩에 열을 45초 정도 가하면, 탈착된 메틸수은 및 다른 휘발성 수은 화합물들이 GC로 유입되어 분석된다.

[주 11] 열 탈착 장치의 온도는 400 °C ~ 500 °C로 트랩을 장착하거나 뺄 때에는 화상을 입지 않도록 주의해야 한다.

7.3.3 GC의 크로마토그램에서 총 세 개의 피크가 나타나게 되는데, 1분 정도에 나오는 첫 번째 피크는 Hg^0 으로 정량이 되지 않는 잔유물이다. 보통 2.5분 정도에 나오는 두 번째 피크가 메틸수은으로, $MeHgEt$ 형태로 검출된다. 다음으로 4분 정도에 나오는 피크는 원소상 수은으로 $Hg(Et)_2$ 형태로 검출된다.

7.3.4 모든 피크가 나온 뒤 피크가 베이스 라인으로 돌아가도록 GC를 켜둔다. 다음 시료를 준비하기 위하여 트랩을 교환하여 준다.

[주 12] 피크는 다른 피크들과 분리되어야 한다. 두 번째인 2.5분에 나오는 메틸수은 피크는 10초 안에 피크의 반이 나와야 하며, 일반적으로 처음 피크의 폭은 좁고, 마지막 피크의 폭은 보통 넓다.

[주 13] 일반적으로 첫 번째 피크만 측정되는 경우는 열분해 컬럼이 작동하지 않았거나 소듐테트라에틸보레이트를 시료에 넣지 않은 경우이다.

[주 14] 보통 Hg^0 피크는 굉장히 작다. Hg^0 피크가 크게 나타났다면 이는 시료의 무기수은 농도가 매우 높기 때문이다.

8.0 결과보고

$$\text{메틸수은 (ng/L)} = \frac{R_S - R_{MB}}{CF_m * W}$$

(식 2)

여기서, R_S = 시료의 메틸수은 피크 넓이 또는 높이
 R_{MB} = 방법바탕시료의 평균 메틸수은 피크 넓이 또는 높이
 CF_m = 평균 검정계수
 W = 시료량 (L)

9.0 참고자료

9.1 EPA Methods 1630, Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes
“Methyl Mercury in Water by Distillation, Aqueous Ethylation, Purge and Trap,
and Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry” US EPA, (1998)

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
방법검출한계	0.007 ng/L
정량한계	0.02 ng/L
검정곡선	검정계수의 상대표준편차 ≤ 25 %
검정곡선검증	측정값의 ± 25 % 이내
정밀도	≤ 31 %
정확도	69 % ~ 131 %
매질첨가 시료와	평균 회수율 65 % ~ 135 %,
매질첨가 반복시료	상대표준편차 < 35 %
방법바탕시료	방법검출한계 미만