

발 간 등 록 번 호

11-1471057-000385-01

국민의 내일을 위한 정부혁신

보다나은 정부

<http://www.mfds.go.kr>

# 식품 중 무기비소 시험법 해설서

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

오염물질과



## 지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

식품 중 무기비소 시험법 해설서

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

<b>등록대상 여부</b>	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input checked="" type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : 식품 중 무기비소 기준 신설 및 시험법 개정에 따른 해설서 발간 )	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
<b>지침서·안내서 구분</b>	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
<b>기타 확인사항</b>	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
<p>상기 사항에 대하여 확인하였음.</p> <p>2018 년 8 월 20 일</p> <p style="text-align: right;">                         담당자                      신민수                          확 인(부서장)              강길진                     </p>		

이 안내서는 식품 중 무기비소 시험법에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품 안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 ('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2018년 8월 20일 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 오염물질과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호 : 043-719-4255

팩스번호 : 043-719-4250

# 목 차 C.O.N.T.E.N.T.S



1. 개 요 .....	1
1-1. 무기비소 .....	1
1-2. 무기비소의 독성 .....	3
1-3. 무기비소 시험법 연구현황 .....	3
1-4. 국내외 무기비소 관리현황 .....	4
2. 식품 중 무기비소 분석 .....	6
2-1. 측정원리 .....	6
2-2. 시약 및 기구 .....	6
가. 시약 .....	6
나. 기구 .....	7
다. 분석기기 .....	8
2-3. 표준물질 및 제조 .....	8
가. 비소화학종 표준물질 .....	8
나. 표준원액 및 혼합표준용액 .....	9
2-4. 시료전처리 .....	12
가. 쌀, 톳 또는 모자반 함유 식품 .....	12
나. 어유(크릴유) .....	16
2-5. 기기분석 .....	21
가. 시험장비 .....	21
나. 이동상 .....	21
다. 분석방법 .....	23
3. 참고문헌 .....	28
참고1. 무기비소 시험법의 문제점 개선 .....	29
참고2. 무기비소 시험법 개정(안) .....	36





# 1. 개요

## 1-1 무기비소

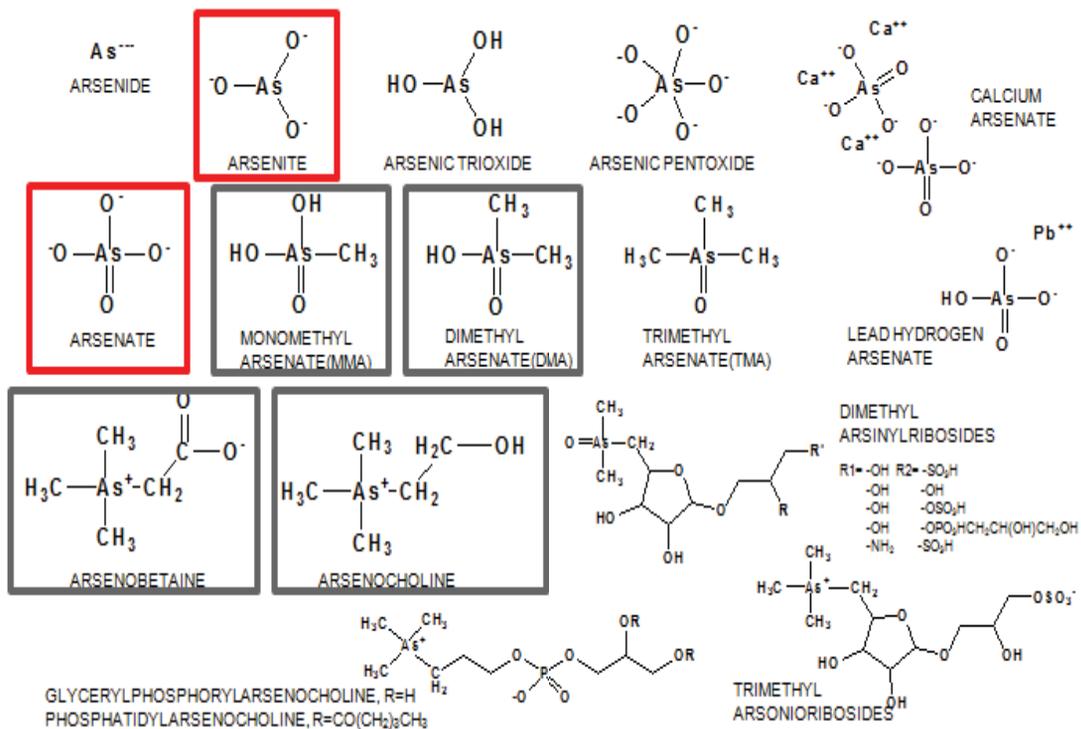
비소는 토양, 광물 및 구리 혹은 납을 함유하고 있는 광석 등에서 자연적으로 함유하고 있다. 이러한 광석들이 가열되면 많은 비소들이 미세한 먼지의 형태로 대기 중으로 방출된다. 식품 중 비소의 오염은 주로 지하수가 원인이 되며, 특히 물에 잠겨 재배되는 쌀 등의 곡류, 과일, 채소는 관개수에 의해 비소의 오염이 이뤄진다. 비소는 자연식품과 가공식품 모두에 존재하며, 해양식품과 일부 곡물제품이 비소를 많이 함유하는 것으로 알려져 있다.

비소는 원소기호 As, 원자번호 33, 원자량은 74.9216인 원소로 주기율표 5족(N, P, As, Sb, Bi)의 질소 족에 속하는 원소로 화학적으로 준금속(metalloid)로 분류되며 금속과 비금속의 특성을 모두 가지고 있으나, 흔히 금속으로 간주한다. 비소는 -3, 0, +3, +5 등 4개의 원자가 상태로 존재할 수 있는데 일반적으로 환원 상태에서는 3가 비소(arsenite, As(III))가, 산화상태에서는 5가 비소(arsenate, As(V))가 안정된 형태이다. 비소의 화학적 성질은 매우 복잡하여 여러 가지 비소 화합물을 생성하며, 산소, 염소, 황 등과 결합하고 있는 무기비소(inorganic arsenic) 화합물과 탄소 및 수소와 결합하고 있는 유기비소(organic arsenic)로 분류되고 있다.

무기비소는 자연계에서 다양한 화학적 형태로 존재하지만 환경 및 식품 중에 존재하는 형태는 arsenic trioxide(As(III))와 arsenic pentoxide(As(V))가 있다. 일반적인 3가 무기비소 화합물은 삼산화비소 arsenic trioxide, arsenenous acid, sodium arsenite 등이 있으며, 5가 무기비소 화합물은 오산화비소(arsenic pentoxide), 비산(arsenic acid), 비산납(lead arsenate) 등과 같은 비산염류(arsenate)가 있다. 유기비소로는 monomethylarsinic acid (MMA),



dimethylarsinic acid (DMA), trimethylarsine oxide, tetramethylarsonium ion, arsenobetaine (AsB), arsenocholine (AsC)와 다양한 arsenosugars와 arsenolipids 등이 있다.



- 무기비소 (Inorganic Arsenic)
- 유기비소 (Organic Arsenic)

〈그림 1〉 비소 화학종 종류



## 1-2 무기비소의 독성

국제암연구소(IARC, International Agency for Research on Cancer)는 엄격한 역학조사를 통해 비소를 발암물질 human carcinogen, “Group 1”으로 분류하여 관리하고 있으며, EPA(United states Environmental Protection Agency)는 무기금속 내분비계장애물질(ECD, endocrine disruptor)로 비소를 첫 번째 독성화학물질 리스트인 “Group A”로 관리하고 있다.

비소는 화학물의 형태에 따라 독성의 차이가 존재하며, 무기비소가 유기비소보다 독성이 강하다. 무기비소 중 As(III)는 As(V)보다 10배 정도 독성이 강하며 MMA, DMA 등 메틸화된 유기비소 중들보다는 700배 정도 독성이 강하다. 비소의 형태에 따른 독성의 정도는 As(III) > As(V) > MMA > DMA > AsC > AsB순이다.

## 1-3 무기비소 시험법 연구현황

식품 내 비소는 대부분이 독성이 낮은 유기비소이기 때문에 무기비소만을 선택적으로 확인하고 관리해야 하지만, 국제적으로 통용되는 보편적인 식품 중 무기비소 시험법이 제시되지 않았다. 현재 무기비소 분석연구는 액체크로마토그래피(LC)를 유도결합플라즈마 질량분석기(ICP/MS)에 연결하여 분석하는 LC-ICP/MS방법이 많이 알려져 있으나, 고도의 숙련도와 높은 분석비용이 발생하기 때문에 식품 내 무기비소 함량 조사가 부족한 실정이다.

독성이 높은 무기비소의 선택적인 관리가 필요하지만 제외국에서 현재까지는 일부 쌀 및 해조류 함유 식품에 대해서 무기비소 분석법이 제시되어 있으며 대부분 식품에 대해서는 분석이 난해한 무기비소 대신 총비소로서 분석하고 있다. 향후 비소의 안전관리는 실질적으로 관리가 필요한 무기비소로서 연구 및 관리로 전환



되어야할 필요성이 있으며, 이에 따라 식품 중 무기비소 시험법에 대한 연구가 필요한 실정이다.

식품 중 다양한 비소화학종으로부터 무기비소를 선택적으로 분석하는 방법은 크게 추출, 화학종 분리 및 검출 3단계로 나누어 볼 수 있다. 추출에는 증류수, 메탄올, 질산용액 등 다양한 추출용매로 가온 또는 상온조건에서 추출하는 방법이 사용되고 있다. 비소화학종 분리에는 화학종의 산화상태, 이온세기, 용해도 등을 고려한 ion-chromatography(IC)법과 highperformance liquid chromatography (HPLC)법을 주로 활용하여 이루어지고 있으며, 검출단계에서는 비소를 고감도로 검출할 수 있는 inductively coupled plasma/mass spectrometry(ICP/MS), atomic fluorescence spectrometry(AFS), atomic absorption spectrometry (AAS), atomic emission spectrometry(AES)가 사용되었으며 일부 tandemmass spectrometry가 이용되었다. 또한, 무기비소를 포함한 비소화학종간 전환되는 한계점을 개선한 방법으로 기기에 시료 추출액을 도입해 주는 방법으로 hydride-generation 방법이 연구되고 있다.

### 1-4 국내외 무기비소 관리현황

국내·외에서 최근 식품에 대한 비소의 함량 규제가 강화되고 있고 국제 교역에서 비소의 규제가 강화되고 있는 실정이다. 현재 Codex에서 쌀 중 백미와 현미에 대해 무기비소 기준을 각각 0.2 mg/kg 0.35 mg/kg으로 설정하였다. 또한 최근 어유에 대해 무기비소 규격을 0.1 mg/kg으로 신설하였다(2017.7월).

식품 중 무기비소의 안전관리 강화를 위해 식품의약품안전처에서는 2016년 9월 쌀에 대한 기준(0.2 mg/kg)을 설정하여 2017년 3월부터 시행중이다. 최근 무기비소가 많이 함유되어 있다고 알려진 해조류(뽕, 모자반) 및 해조류 혹은 쌀이 함유되어 있는 기타식품과 특수용도식품에 대한 기준을 2018년 7월에 개정



고시하였다. 또한 크릴유의 비소기준을 무기비소 기준으로 개정하기 위해 2018년 7월에 행정예고(안)을 마련하여 관련부서의 의견을 검토 중이다.

**<표 1> 국내외 식품 중 무기비소 기준설정 현황**

대상 식품	무기비소 (mg/kg)	
	한국	CODEX
곡류	0.2 (백미)	0.2 (백미), 0.35(현미)
영아용 조제유, 성장기용 조제유, 영아용 조제식, 성장기용 조제식, 영·유아용 곡류조제식, 기타 영·유아식, 영·유아용 특수조제식품	0.1 이하 (현미, 미강, 쌀눈, 톳 또는 모자반을 사용한 식품에 한함)	-
특수의료용도등식품(영·유아용 특수조제 식품 제외), 과자, 시리얼류, 면류	0.1 이하 (현미, 미강, 쌀눈, 톳 또는 모자반을 사용한 식품에 한함)	-
기타식품	1 이하 (현미, 미강, 쌀눈, 톳 또는 모자반을 사용한 식품에 한함)	-
어유	0.1 이하 (크릴유에 한한다) (2018.7.25 행정예고)	0.1 이하 (fish oil)





## 2.

## 식품 중 무기비소 분석

### 2-1

### 측정원리

1% 질산용액을 사용하여 식품 중 무기비소를 추출하고, 비소 화합물의 이온성을 이용하여 LC컬럼으로 분리한 후, ICP/MS로 정량함으로서 무기비소를 분리분석한다.

### 2-2

### 시약 및 기구

#### 가. 시약

- 1) 증류수 (저항 18M $\Omega$  이상)
- 2) Arsenite (AsIII) standard
- 3) Arsenate (AsV) standard
- 4) Monomethyl arsonic acid (MMA) standard
- 5) 질산 (Nitric acid, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 60~62%)
- 6) 헥산 (Hexane, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, 95% 이상, MW 86.18)
- 7) 클로로포름 (Chloroform, CHCl<sub>3</sub>, 99.999%, MW 119.38)
- 8) 메탄올 (Methanol, CH<sub>3</sub>OH, 99.999%, MW 32.04)
- 9) 1-부탄설포네이트 나트륨염  
(Sodium 1-butane sulfonate, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NaO<sub>3</sub>S, 98% 이상, MW 160.17)
- 10) 말론산 (Malonic acid, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 98% 이상, MW 104.06)



11) 수산화테트라메틸암모늄오수화물

(Tetramethylammonium hydroxide pentahydrate,  $(\text{CH}_3)_4\text{N}(\text{OH}) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 97% 이상, MW 181.23)

## 나. 기구

- 1) 정밀저울 : 소숫점 셋째자리 이상 정확성을 지닌 것
- 2) 마이크로 피펫(1000, 5000  $\mu\text{l}$ )
- 3) 부피 플라스크(25, 50, 100, 1000 mL)
- 4) 시약 스폰
- 5) 분쇄기
- 6) 시료보관용 밀폐용기
- 7) 15, 50 mL 원심분리관
- 8) 진탕기 (Vortex mixer)
- 9) 칭량접시
- 10) 항온수조 : 80°C 이상 유지 되는 것
- 11) 원심분리기
- 12) 실린지 (Plastic syringe, 10 mL)
- 13) 0.45  $\mu\text{m}$  멤브레인 필터 (지름 : 25-30 mm)
- 14) pH meter
- 15) 왕복식 진탕기

※ 초자는 실험이 수행되는 과정에서 정확성과 정밀성에 직접적인 영향을 미친다. 초자나 분해용기로부터 무기비소의 오염을 최소화한 결과를 얻기 위해 P.P, P.E, Teflon 등의 폴리머재질의 용기사용을 권장한다. 단, 유리 재질을 사용 할 경우 반드시 HCl 용액(1:1)으로 세척 후 사용한다.



## 다. 분석기기

- 1) CAPCELL PAK C18 MG (4.6×250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것
- 2) 액체크로마토그래피 (LC)
- 3) 유도결합플라즈마/질량분석기(ICP/MS)

### 2-3

### 표준물질 및 제조

분석에 사용되는 표준물질과 제조방법은 다음과 같다.

## 가. 비소 화학종 표준물질

### 1) 무기비소

#### 1-1) Arsenite (As<sup>III</sup>) standard

[Sodium arsenite, NaAsO<sub>2</sub>, F.W.129.91, 98% 이상, Fisher chemical]

#### 1-2) Arsenate (As<sup>V</sup>) standard

[Sodium arsenate dibasic heptahydrate, Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, F.W. 312.01, 98% 이상, Sigma-aldrich]

### 2) 유기비소

#### 2-1) Monomethyl arsonic acid (MMA) standard

[Disodium methyl arsonate hexahydrate, CH<sub>3</sub>AsNa<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O, F.W. 291.90, 98% 이상, Chem service]

#### 2-2) Arsenocholine (AsC) standard

[Arsenocholine bromide, C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>AsBrO, F.W. 244.99, 95% 이상, Wako]



Arsenite standard (AsIII)



Arsenate standard (AsV)



Monomethyl arsonic acid standard (MMA)



Arsenocholine standard (AsC)

### <그림 2> 비소화학종 표준물질

## 나. 표준원액 및 혼합표준용액

### 1) 표준원액 제조

#### 1-1) 시약 및 기구

- ① 증류수 (저항 18MΩ 이상)
- ② 정밀저울 : 소숫점 셋째자리 이상 정확성을 지닌 것
- ③ 칭량접시
- ④ 시약 스푼
- ⑤ 부피 플라스크(100 mL)

#### 1-2) 표준원액의 제조

비소 화학종 표준품을 증류수로 용해시켜 비소(As)로써 1,000 ppm(100 mg/100 mL 권장)이 되게 한다. 이 때, 표준품의 순도를 고려하여 계산한다.

$$\text{표준품의 양(mg/L)} = \frac{A}{74.92} \times \frac{100}{B}$$

A : 표준품 분자량 (Molecular Weight)

B : 표준품의 순도 (%)



- ① Arsenite (AsIII) standard: Sodium arsenite ( $\text{NaAsO}_2$ , MW 129.91) 중 비소로써 1,000 ppm, 100 mL을 만들기 위해 0.173 g (순도 100%로 계산한 값)을 증류수 100 mL로 용해시켜 조제한다.
- ② Arsenate (AsV) standard: Sodium arsenate dibasic heptahydrate ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , MW 312.01) 중 비소로써 1,000 ppm, 100 mL을 만들기 위해 0.416 g (순도 100%로 계산한 값)을 증류수 100 mL로 용해시켜 조제한다.
- ③ Monomethyl arsonic acid (MMA) standard: Disodium methyl arsonate hexahydrate [ $\text{CH}_3\text{AsNa}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , F.W. 291.90] 중 비소로써 1,000 ppm, 100 mL을 만들기 위해 0.390 g(순도 100%로 계산한 값)을 증류수 100 mL로 용해시켜 조제한다.
- ④ Arsenocholine (AsC): Arsenocholine bromide, [ $\text{C}_5\text{H}_{14}\text{AsBrO}$ , F.W. 244.99] 중 비소로써 1,000 ppm, 100 mL을 만들기 위해 0.326 g (순도 100%로 계산한 값)을 3차 증류수 100 mL로 용해시켜 조제한다.

※ MMA 분석 사유

: AsIII와 MMA 피크가 인접하여 MMA피크가 AsIII로 오인될 가능성 있으므로 정확한 분석을 위해 AsV, AsIII와 MMA를 함께 분석하여 분리됨을 반드시 확인 할 것

※ AsC 분석 사유

: AsC는 비소종 중 가장 늦게 분리되는 물질이므로 AsC 피크 검출을 확인한 뒤 분석시간을 결정한다.

다만, AsC 표준물질을 첨가하지 않고 분석할 경우 분석시간을 20분으로 하여 다음 샘플에 영향을 주지 않도록 충분히 용출시킨다.

## 2) 혼합표준용액 제조

### 2-1) 시약 및 기구

- ① 증류수 (저항  $18\text{M}\Omega$  이상)
- ② 질산 (Nitric acid,  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_4$ , 60~62%)



- ③ 마이크로 피펫(1000, 5000  $\mu$ l)
- ④ 부피 플라스크(50 mL)
- ⑤ 15, 50 mL 원심분리관

※ 표준원액의 경우, 비소종의 변화를 최소화하기 위해 빛과 온도의 영향이 적은 **냉장 보관**을 하며, 혼합 표준용액을 제조하기에 앞서 1시간 전에 꺼내 실온에 방치한다.

## 2-2) 혼합표준용액의 제조

비소(As)로써 1,000 ppm으로 조제한 각각의 표준용액을 5 mL씩 취하고 0.2% 질산용액으로 50 mL 정용하여 100 ppm 혼합 표준용액을 조제한다. 이를 0.2% 질산용액으로 희석하여 분석하려는 대상 식품에 대한 검량선 농도로 조제한다.

※ 혼합 표준용액은 장기간 보관할 경우 비소종 간의 전환이 일어나기 때문에 분석 당일 조제하여 사용한다.

(예시1) 무기비소 기준 0.2 mg/kg 이하인 백미의 경우

→ 검량선 1, 2, 5, 10, 20 ppb 권장

\* 시험용액 8 ppb 이상시 부적합 (시료량 1 g 기준)

(예시2) 무기비소 기준 0.1 mg/kg 이하인 현미, 톳 등을 사용한 식품의 경우

→ 검량선 0.5, 1, 2, 5, 10 ppb 권장

\* 시험용액 4 ppb 이상시 부적합 (시료량 1 g 기준)

(예시3) 무기비소 기준 1.0 mg/kg 이하인 현미, 톳 등을 사용한 식품의 경우

→ 검량선 1, 10, 20, 50, 100 ppb 권장

\* 시험용액 40 ppb 이상시 부적합 (시료량 1 g 기준)

(예시4) 무기비소 기준 0.1 mg/kg 이하인 어유(크릴유)의 경우

→ 검량선 0.5, 1, 2, 5, 10 ppb 권장

\* 시험용액 2 ppb 이상시 부적합 (시료량 1 g 기준)





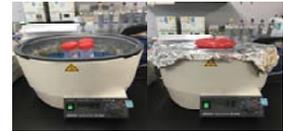
2-4

시료전처리

가. 쌀, 톳 또는 모자반 함유 식품

1) 실험 모식도

<p>시료 1 g + 1% 질산용액 5 mL</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 시료와 추출용매가 균질화 되도록 충분히 진탕한 후 실험 진행</li> </ul>
<p>중탕 추출 (90℃, 90분)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 초기 30분 동안 시료와 추출용매가 충분히 섞이도록 5~10분 간격으로 격렬히 혼합</li> </ul>
<p>정용</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 3차 증류수로 25 mL 정용한다.</li> </ul>
<p>원심분리 (10분, 3000G)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 원심분리 후, 상층액을 적당히 취함</li> </ul>
<p>원심분리 (10분, 3000G)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 10분간 원심분리 (3,000×g)</li> </ul>
<p>여과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 상층액을 멤브레인필터(nylon, 0.45 μm)로 여과</li> </ul>
<p>LC-ICP/MS 분석</p>



<그림 3> 쌀, 톳 또는 모자반 함유 식품의 전처리 모식도



## 2) 실험 과정

### 2-1) 시약 및 기구

- ① 증류수 (저항 18M $\Omega$  이상)
- ② 질산 (Nitric acid, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 60~62%)
- ③ 정밀저울 : 소숫점 셋째자리 이상 정확성을 지닌 것
- ④ 시약 스푼
- ⑤ 마이크로 피펫(1000, 5000  $\mu$ l)
- ⑤ 부피 플라스크(25 mL)
- ⑥ 진탕기 (Vortex mixer)
- ⑦ 15, 50 mL 원심분리관
- ⑧ 항온수조 : 80 $^{\circ}$ C 이상 유지 되는 것
- ⑨ 원심분리기
- ⑩ 실린지 (Plastic syringe, 10 mL)
- ⑪ 0.45  $\mu$ m 멤브레인 필터 (지름 : 25-30 mm)

### 2-2) 실험 방법

- ① 분말로 하여 균질화한 시료를 시약스푼으로 50 mL 원심분리관에 1 g (해조류 건조물의 경우 0.2~1 g)을 정밀히 취한다. 추출용매로 1% 질산 5 mL을 넣고 마개를 막은 후 vortex mixer를 이용하여 균질화 될 때까지 충분히 진탕한다.



진탕 전



진탕

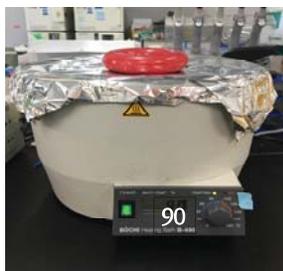


진탕 후



- ※ 진탕할 때 vortex mixer를 사용하면 보다 효과적으로 균질화 된다.
- ※ 시료를 15 mL 원심분리관에 취할 경우, 가열추출 과정의 어려움이 있으므로 50 mL 원심분리관 사용을 권장한다.

- ② 90℃로 맞추어 놓은 항온수조에서 90분간 가열 추출한다.  
이 때, 초기 30분 동안 시료와 추출용매가 충분히 섞이도록 5~10분 간격으로 격렬히 흔들어 준다.



- ※ 추출시간 동안 90℃가 유지될 수 있도록 하며, 전분이 호화되기 전 초기 30분 동안 무기비소가 충분히 추출될 수 있도록 가열과 진탕을 반복한다.

- ③ 90분의 가열 추출과정이 끝나면 식힌 후, 증류수로 25 mL 정용한다.

- ※ 정용 후, 원심분리 전 vortex mixer를 이용하여 한 번 더 진탕한다.

- ④ 10분간 원심분리(3000G)한다. [1차 원심분리]



원심분리 전



원심분리 후



- ⑤ 1차 원심분리 후 상층액을 적당히 취하여 다시 10분간 원심분리 (3000G) 한다. [2차 원심분리]



1차 원심분리 후,  
상층액 일부 취함



원심분리(3000G)

- ⑥ 2차 원심분리가 끝난 상층액을 멤브레인필터(nylon, 0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과하여 시험용액으로 한다.



필터여과

※ 원심분리(2회)와 여과과정은 분석장비 (LC-ICP/MS)에 주입되는 불순물을 최소화하기 위함이며, 시험용액이 많지 않을 경우 ⑤~⑥을 추가로 진행한다.



## 나. 어유 (크릴유)

### 1) 실험 모식도

시료 2.5 g + 헥산 5 mL, 메탄올 5 mL, 1% 질산용액 0.5 mL



진탕 (30분) [1차 추출]

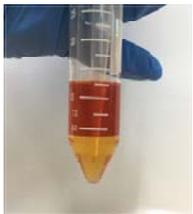


원심분리 (10분, 3,000G)



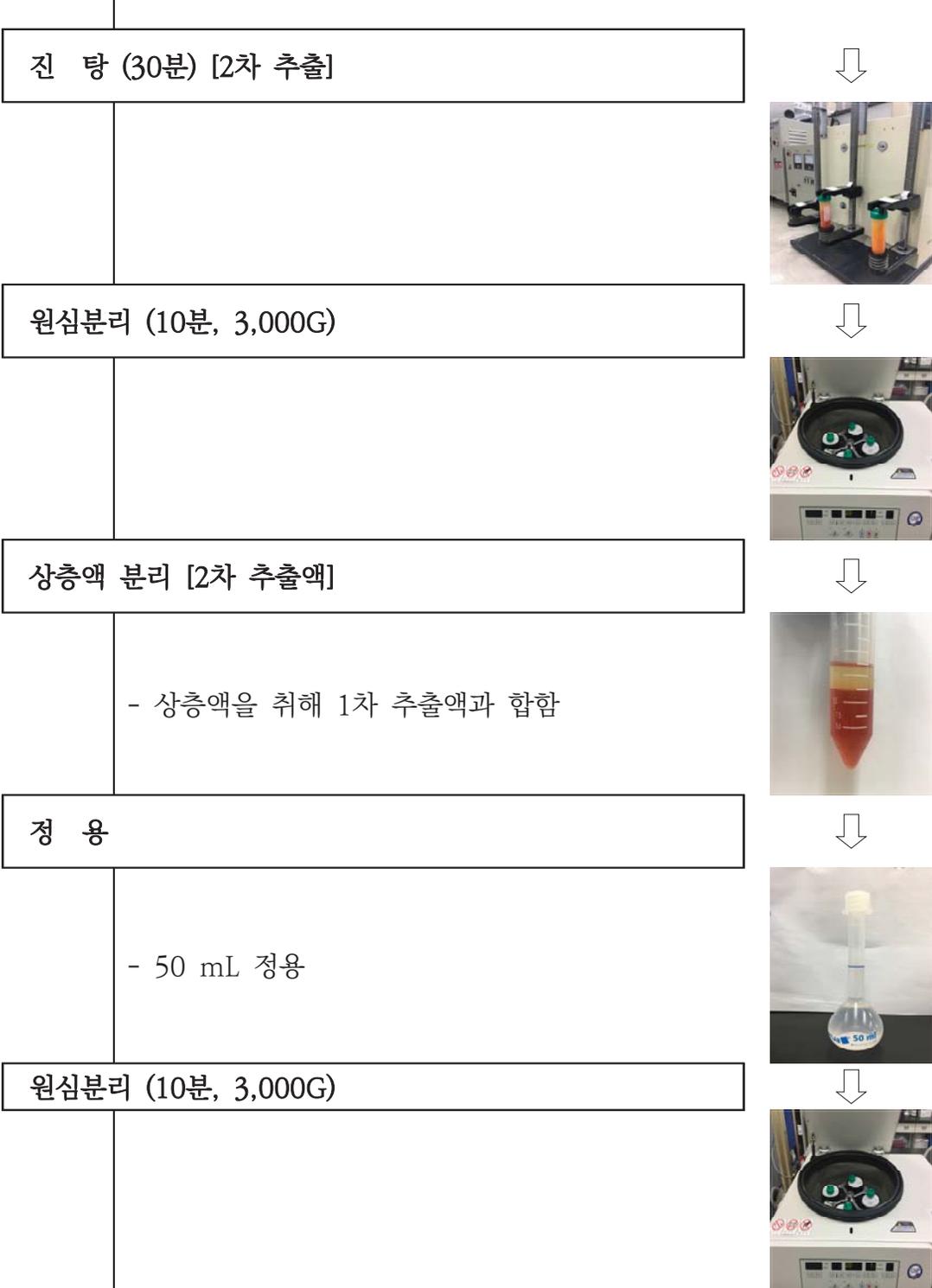
하층액 분리 [1차 추출액]

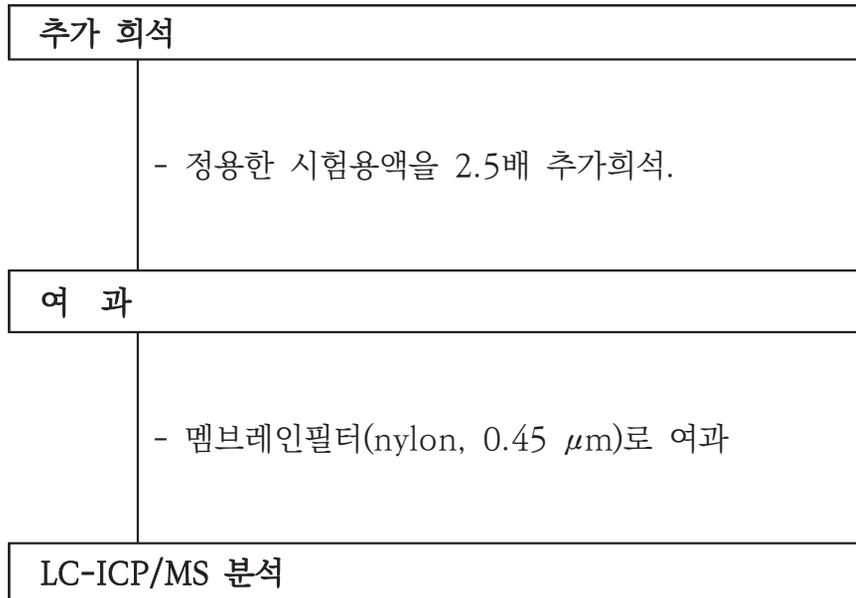
- 하층액을 다른 원심분리관에 모음



남은 여액 + 클로로포름 5 mL, 메탄올 3.75 mL, 1% 질산용액 1.25 mL







<그림 4> 어유(크릴유) 전처리 모식도

## 2) 실험 과정

### 2-1) 시약 및 기구

- ① 증류수 (저항 18M $\Omega$  이상)
- ② 질산 (Nitric acid, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 60~62%)
- ③ 헥산 (Hexane, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, 95%이상, MW 86.18)
- ④ 메탄올 (Methanol, CH<sub>3</sub>OH, 99.999%, MW 32.04)
- ⑤ 클로로포름 (Chloroform, CHCl<sub>3</sub>, 99.999%, MW 119.38)
- ⑥ 정밀저울 : 소숫점 셋째자리 이상 정확성을 지닌 것
- ⑦ 마이크로 피펫(1000, 5000  $\mu\text{l}$ )
- ⑧ 부피 플라스크(25, 50 mL)
- ⑨ 15, 50 mL 원심분리관
- ⑩ 왕복식 진탕기
- ⑪ 원심분리기
- ⑫ 실린지 (Plastic syringe, 10 mL)
- ⑬ 0.45  $\mu\text{m}$  멤브레인 필터 (지름 : 25-30 mm)



## 2-2) 실험 방법

- ① 어유(크릴유) 2.5 g을 50 mL 원심분리관에 정밀히 취한다. 추출용액으로 헥산 5 mL, 메탄올 5 mL, 1% 질산 0.5 mL을 넣고 마개를 막는다.

※ 시료를 15 mL 원심분리관에 취할 경우, 추출 과정의 어려움이 있으므로 50 mL 원심분리관 사용을 권장한다.

- ② 진탕기를 이용하여 30분간 진탕한다. [1차 추출]



진탕 전



진탕



진탕 후

- ③ 10분간 원심분리(3000G) 한다.

※ 상층액(헥산)은 기름(어유)이 존재하고, 하층액(메탄올+1%질산)은 무기비소가 존재한다.

- ④ 분리 된 아래층을 취해 다른 원심분리관에 모은다.



원심분리 후 층분리



1차 추출액

※ 아래층(메탄올+1%질산)에 무기비소가 추출되어 있으므로, 주의를 기울여 최대한 취한다.





⑤ 남은 여액에 클로로포름 5 mL, 메탄올 3.75 mL, 1% 질산 1.25 mL를 넣고 진탕기를 이용하여 30분간 진탕한다. [2차 추출]

⑥ 10분간 원심분리(3000G) 한다.

※ 하층액(헥산+클로로포름)은 기름(어유)이 존재하고, 상층액(메탄올+1%질산)은 무기 비소가 존재한다.

⑦ 분리 된 상층액을 취해 1차 추출액과 합친다.



※ 상층액(메탄올+1% 질산)에 무기비소가 추출되어 있으므로, 주의를 기울여 최대한 취한다.

⑧ 1,2차 추출액에 0.2% 질산으로 50 mL로 정용한다.

⑨ 10분간 원심분리(3000G) 한다.

※ 정용 시 현탁 현상이 생길 수 있으며 반드시 원심분리를 통해 맑은 액을 취한다.

⑩ 상층액을 취하여 0.2% 질산으로 2.5배 희석한다.

※ 현탁액이 없는 맑은 시험용액을 얻음과 동시에 메탄올의 함량을 줄이기 위하여 희석을 진행한다.

⑪ 멤브레인필터(nylon, 0.45 μm)로 여과하여 시험용액으로 한다.



추가 희석



여과

※ 멤브레인 필터로 여과 시 압력이 강하게 가해지지 않도록 누르는 힘을 조절하여 맑은 액을 얻는다.

## 2-5 기기분석

분석에 사용되는 모든 기기 및 조건은 다음과 같다.

### 가. 시험장비

- 1) 컬럼 : CAPCELL PAK C18 MG (4.6×250 mm, 5  $\mu$ m) 또는 이와 동등한 것
- 2) 액체크로마토그래피 (LC)
- 3) 유도결합플라즈마/질량분석기(ICP/MS)

### 나. 이동상

#### 1) 시약 및 기구

- ① 물 (저항 18M $\Omega$  이상)
- ② 질산 (Nitric acid, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 60~62%)
- ③ 메탄올 (Methanol, CH<sub>3</sub>OH, 99.999%, MW 32.04)



- ④ 1-부탄설포네이트 나트륨염  
(Sodium 1-butane sulfonate,  $C_4H_9NaO_3S$ , 98% 이상, MW 160.17)
- ⑤ 말론산 (Malonic acid,  $C_3H_4O_4$ , 98%이상, MW 104.06)
- ⑥ 수산화테트라메틸암모늄오수화물  
(Tetramethylammonium hydroxide pentahydrate,  $(CH_3)_4N(OH) \cdot 5H_2O$ , 97% 이상, MW 181.23)
- ⑦ 정밀저울 : 소숫점 셋째자리 이상 정확성을 지닌 것
- ⑧ 마이크로 피펫(1000, 5000  $\mu l$ )
- ⑨ 부피 플라스크(1000 mL)
- ⑩ 시약 스푼
- ⑪ pH meter

## 2) 이동상 조제 및 방법

이동상 : 0.05%(v/v)메탄올, 10 mM sodium 1-butane sulfonate, 4 mM malonic acid, 4 mM tetramethylammonium hydroxide pentahydrate (TMAH) (pH 2.7)

- 메탄올 0.5 mL, 1-부탄설포네이트 나트륨염 1.634 g, 말론산 0.425 g, 수산화테트라메틸암모늄오수화물 0.747 g을 990 mL 증류수에 녹이고, 10% 질산용액(약 1.8 mL/L)으로 pH 2.7을 정확하게 맞춘 후, 최종 1000 mL로 정용한다.

※ 비소종분리는 pH에 매우 예민하기 때문에 반드시 pH를 정확하게 맞춰야 하며 맞춰지지 않을 때에는 pH meter를 보정하거나, pH 2.5-2.8 범위의 이동상을 제조하여 반드시 분리여부를 확인한 후에 분석을 진행한다.



## 다. 분석 방법

### 1) 분석원리

역상컬럼에 이온교환시약을 사용하여 극성을 띠게 한 후, 비소화합종을 액체 크로마토그래피(LC)로 분리하고 유도결합플라즈마-질량분석기(ICP/MS)로 정성 및 정량하는 방법이다.

### 2) 분석순서

바탕용액(0.2% 질산), 혼합 표준용액, 시험용액 순서로 분석

※ 다수의 시료분석 시, 기기상태 확인을 위하여 시험용액 15건 간격으로 10 µg/L 농도의 혼합 표준용액을 분석하여 회수율 70% 미만 혹은 125% 초과한 경우, 표준검량선 재작성 후 분석한다.

### 3) LC 기기분석 조건

LC conditions	
컬럼	CAPCELL PAK C18 MG (4.6×250 mm, 5 µm) 또는 이와 동등한 것
이동상	0.05%(v/v)메탄올, 10 mM sodium 1-butane sulfonate, 4 mM malonic acid, 4 mM tetramethylammonium hydroxide pentahydrate (TMAH)(pH 2.7)
컬럼 온도	25 °C
유속	0.75 mL/min
주입량	10~50 µL
총 분석시간	13분~20분

#### ※ 총 분석시간

- AsC는 비소종 중 가장 늦게 분리되는 물질이므로 표준용액 중 AsC 피크 검출을 확인한 뒤 분석 시간을 결정한다.
- 만약 표준용액에 AsC를 첨가하여 분석하지 않을 경우 다음 시료에 영향을 주지 않을 정도 충분히 용출하기 위해 20분을 분석시간으로 설정한다.



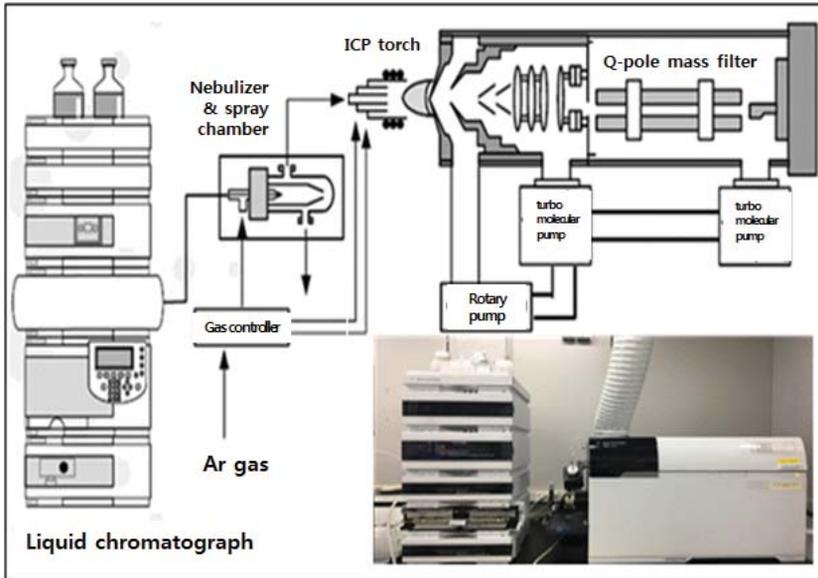
〈그림 5〉 비소화학종 분리에 사용하는 역상컬럼  
(CAPCELL PAK C18 MG (4.6×250 mm, 5 μm))

※ CAPCELL PAK C18 중 MG 컬럼이 가장 분석에 적합함

#### 4) ICP/MS 기기분석 조건(예시)

ICP/MS conditions	
RF power	1550 W
Argon gas flow rates	
Carrier	0.80 L/min
Makeup	0.35 L/min
He gas flow rate	3.0 mL/min
Analyte ion (m/z)	As(75)

※ 염이 많거나 분석간섭물질이 많은 식품을 측정하는 경우(소금, 해조류 등)  
 - 활성가스(암모니아, 산소, 메탄, 수소 등)를 통한 화학적 간섭 제거 방식을 이용하거나,  
 비활성 가스(헬륨 등)를 이용한 물리적 간섭제거 방식을 사용 할 수 있다  
 예) DRC mode에서 AsO(91)로 분석

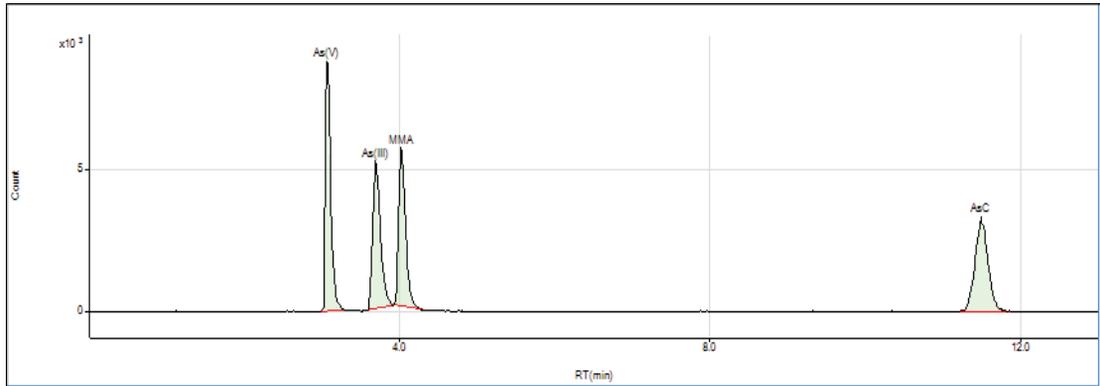


<그림 6> 액체크로마토그래피-유도결합플라즈마/질량분석기

※ 컬럼에서 유도결합플라즈마-질량분석기로 들어가는 tubing의 길이는 약 40 cm 정도로 한다.



<그림 7> 컬럼과 유도결합플라즈마-질량분석기 사이의 tubing



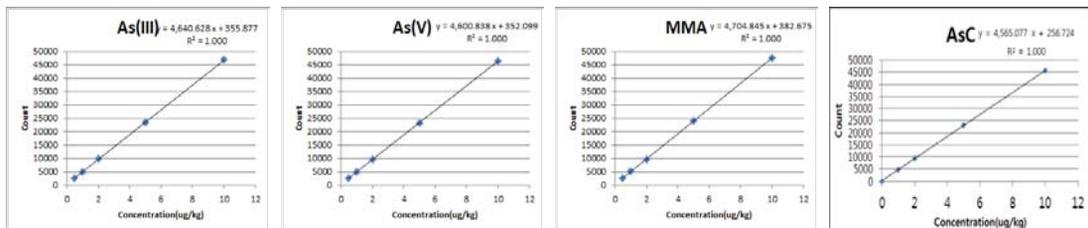
〈그림 8〉 무기비소[As(III), As(V)] 및 유기비소(MMA, AsC) 분석 결과

※ 반드시 확인

1. As III, MMA 피크 분리
2. AsC 피크 용출 (혹은 분석시간 20분 설정)

### 5) 검량선 작성

위의 시험조작 조건에서 얻어진 시험용액의 크로마토그램으로부터 목적원소의 질량 값(As, m/z 75)의 피크들은 혼합 표준용액 피크의 머무름 시간과 일치하여야 한다. 확인된 혼합표준용액의 농도별로 검량선을 작성하며, 표준검량선의 상관계수 ( $R^2$ )는 0.99이상의 직선성을 가져야 하고 분석한 시험용액의 결과 값은 표준검량선 범위 안에 포함되어야 한다.



〈그림 9〉 무기비소[As(III), As(V)] 및 유기비소(MMA, AsC) 검량선



## 6) 시험용액의 정량

표준용액을 이용하여 시험한 각 용액에서 얻은 피크의 높이 또는 면적을 Y축으로, 비소 화학종의 농도( $\mu\text{g/L}$ )를 X축으로 표준검량선을 작성한다. 시험용액에서 얻은 비소 화학종의 면적을 표준검량선에 적용하여 시험용액 중의 비소 화학종 농도  $A(\mu\text{g/L})$ 를 구하고 다음 식에 따라 시료 중 각 비소 화학종 함량( $\text{mg/kg}$ )의 계산은 다음과 같다.

$$\textcircled{1} \text{ 각 비소 화학종의 함량}(\text{mg/kg}) = A \times \frac{V}{B} \times \frac{1}{1000} \times C$$

A : 시험용액 중의 비소 화학종 농도 ( $\mu\text{g/L}$ )

B : 검액 조제에 사용한 시료의 채취량 (g)

V : 추출용매의 부피 (mL)

C : 추가희석배수

$$\textcircled{2} \text{ 무기비소 함량}(\text{mg/kg}) = \text{AsV함량}(\text{mg/kg}) + \text{AsIII함량}(\text{mg/kg})$$





### 3. 참고문헌

국립독성과학원, 중금속 위해종합보고서 비소, (2008).

식품의약품안전평가원, 영유아식 중 중금속 안전성평가 연구, (2012).

식품의약품안전평가원, 식품 중 중금속 실태조사 (코코아가공품류 또는 초콜릿류 및 향신료 가공품), (2015).

Narayan Chakrabarty. Arsenic Toxicity Prevention and Treatment. New York: CRC Press. (2016).

International Agency for Research on Cancer (IARC), Agents classified by the IARC Monographs. Vol 1-109. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. (2014).

Environmental Protection Agency (EPA): Guidelines for carcinogen risk assessment. (1986).

Tatken R.L. and Lewis R.J, eds. Registry of toxic effects chemical substances. Report Cincinnati, OH: US Department of Health and Human Services. (1983).

Connelly R et al., Analytical method for determination of various arsenic species in marine oils by IC-ICP-MS. Covance Solutions Made Real. (2016).

Tomohiro Narukawa et al., Reversed phase column HPLC-ICP-MS condition for arsenic speciation analysis of rice flour, Analytical sciences, (2015)



## 참고1

## 무기비소 시험법 문제점 개선

### 〈쌀 중 무기비소 시험법〉

#### 1. 찹쌀에 대한 추출 용액

- 찹쌀에 대한 기존 말론산 가온 추출 방법은 점질성 추출액이 생성되어 여과가 어려움

☞ 1% 질산을 이용하여 추출 용매 개선

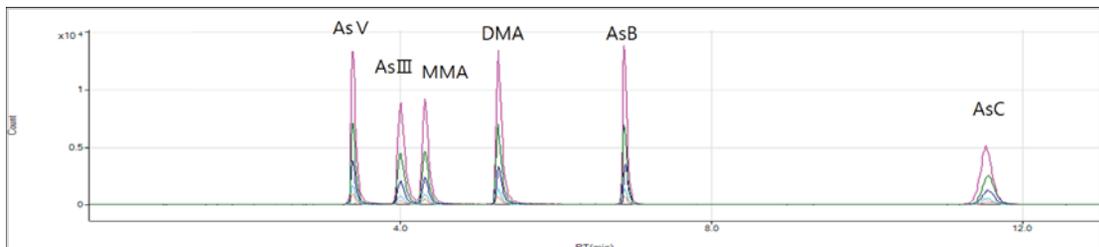
#### 2. 추출용매 변경에 따른 As(III) 초과 정량

- 개선된 추출용액(1% 질산)으로 찹쌀의 점성 문제는 해결되지만 기기 분석시 As(III)가 특이적으로 초과 정량 현상 발생

☞ 비소가 검출되는 시약(bicarbonate, phosphate)을 배제하여 이동상 변경 및 C18 컬럼으로 교체

- 이동상 : 0.05%(v/v)메탄올, 10 mM sodium 1-butane sulfonate, 4 mM malonic acid, 4 mM tetramethylammonium hydroxide pentahydrate (TMAH), pH 3.0 (nitric acid) → isocratic 분석

- 컬럼 : CAPCELL PAK C18 MG



- ① 6종의 비소화합종 대한 분리능 확인[기존 4종(AsIII, AsV, MMA, DMA) 분석 가능]
- ② 낮은 바탕선으로 미량 농도의 비소종 분석 가능

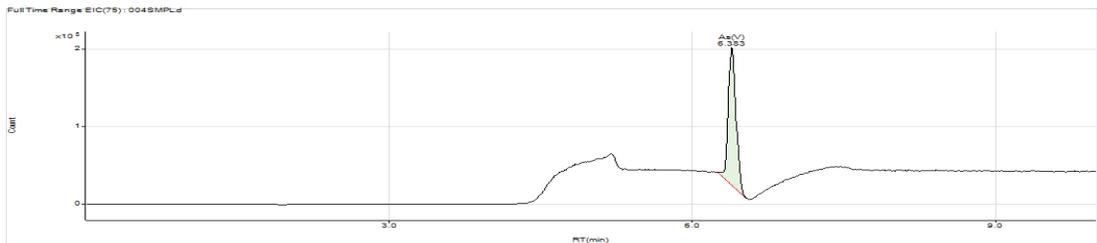
[그림 1] 비소 6종 표준용액의 크로마토그램(0.5, 1, 2.5, 5, 10 ug/L)



## 〈해조류 및 쌀·해조류 가공식품 무기비소 시험법〉

### 1. 무기비소 As(V)에 유령피크(ghost peak) 발생

- 이동상 제조시약(Ammonium phosphate)에 의하여 무기비소 As(V)에 유령피크(ghost peak) 발생



As(V)환산 농도 : 0.2 ppb ~ 2 ppb 수준으로 검출

[그림 2] 이동상 제조시약(Ammonium phosphate)에 의한 공실험 크로마토그램

#### ※ 유령피크 확인

- 비소 count가 높은 시약을 이용하여 제조한 이동상으로 분석결과, As(V)유령피크의 농도 약 10배까지 높게 확인됨
- \* As(V)로서 0.2 ppb(최소 As count) ~ 2 ppb(최대 As count)범위

☞ 비소가 검출되는 시약(bicarbonate, phosphite)을 배제하여 이동상 변경 및 C18 컬럼으로 교체

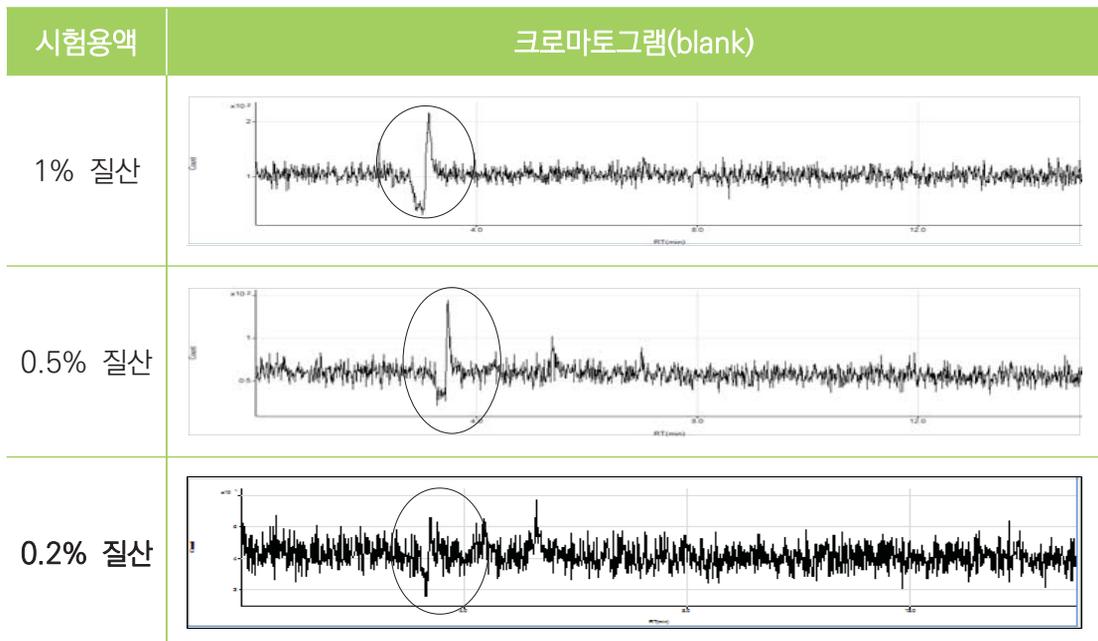
- 이동상 : 0.05%(v/v)메탄올, 10 mM sodium 1-butane sulfonate, 4 mM malonic acid, 4 mM tetramethylammonium hydroxide pentahydrate(TMAH), pH 3.0 (nitric acid) → isocratic 분석
- 컬럼 : CAPCELL PAK C18 MG column



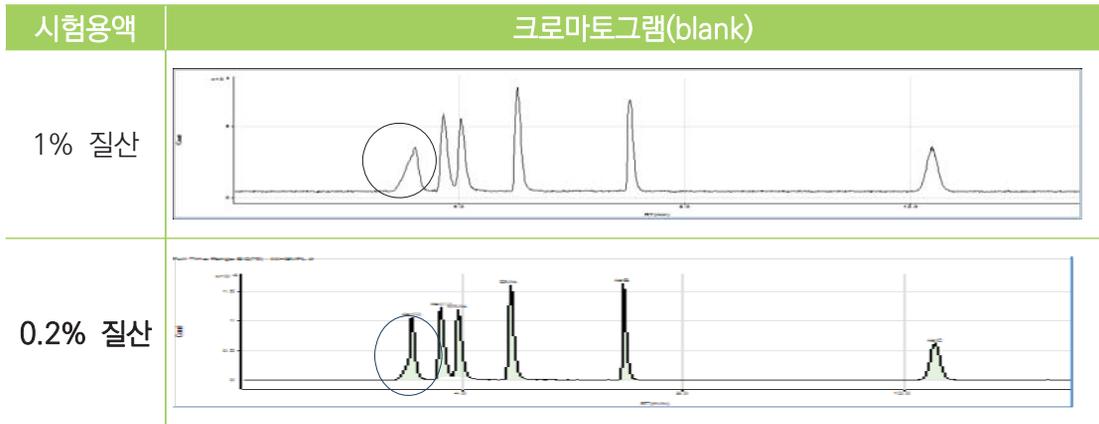
## 〈추가 개선 사항〉

### 1. 시험용액의 질산 농도에 따른 분리능 저하

- 추출용액인 1% 질산으로 기기분석 할 경우 As(V)피크 앞 꺼짐 및 As(V) 피크 퍼짐 현상이 발생
  - 질산의 농도를 줄일수록(0.2% 질산) 크로마토그램의 베이스가 안정적이고 As(V)피크의 efficiency가 높아짐을 확인
- ☞ 최종 시험용액 및 표준용액의 질산 농도를 0.2%로 조정



[그림 3] 시험용액의 질산 농도에 따른 공실험 크로마토그램

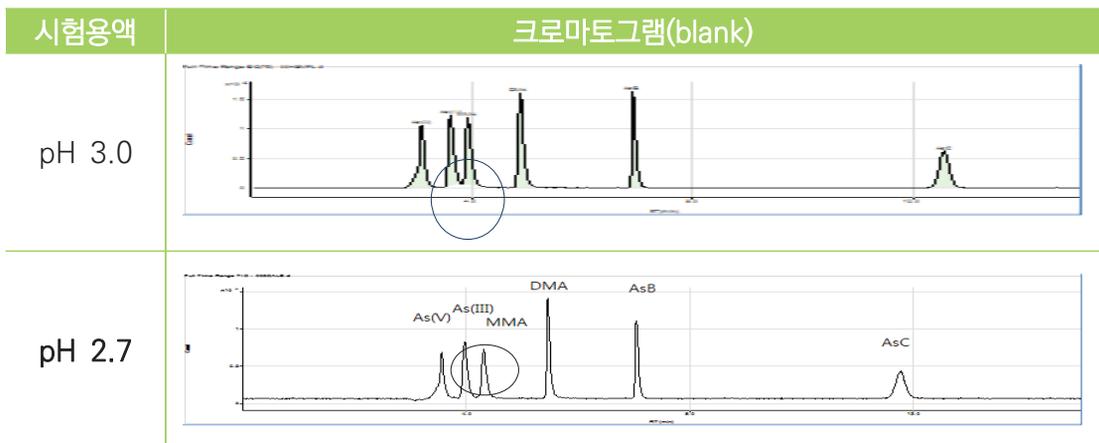


[그림 4] 시험용액의 질산 농도에 따른 표준용액 크로마토그램

## 2. As<sup>III</sup>과 MMA의 피크 분리능 검토

- As(III)와 MMA 피크가 인접하여 분리능이 낮을 경우 MMA를 As(III)로 오인 할 소지가 있음

☞ 이동상 pH 조정(pH 3.0 → 2.7)



[그림 5] 이동상 pH에 따른 표준용액의 공실험 크로마토그램



### 3. 전처리 방법 일원화

- 광범위한 식품매질에 적용가능한 객관적, 범용적인 시험법으로 개선 필요
- 쌀과 해조류 및 쌀·해조류 함유 가공식품으로 구분 된 현행 시험법을 기준규격의 범위와 동일하게 쌀, 톳 또는 모자반 함유 식품에 대한 전처리법으로 일원화

☞ 1% 질산으로 90℃ 가온추출로 동일한 전처리법 적용

추출 용액	추출 방법	크로마토그램(blank)	무기비소 회수율
1% 질산	가온		108%
	초음파		33%
1% 질산 (50% 메탄올)	초음파		38%

[그림 6] 추출용액 및 추출방법에 따른 크로마토그램 및 회수율(쌀CRM) 비교



추출 용액	추출 방법	크로마토그램(blank)	무기비소 회수율
1% 질산	가온		90%
	초음파		75%
1% 질산 (50% 메탄올)	초음파		74%

[그림 7] 추출용액 및 추출방법에 따른 크로마토그램 및 회수율(트 CRM) 비교



## 〈결론〉

- 쌀 중 무기비소 시험법(식약처 고시 2016-101호)과 해조류 및 쌀·해조류 가공식품 중 무기비소 시험법(식약처 공고 2017-473호)을 통합하여 일원화된 시험법 마련

		기존		개선(안)
		쌀	해조류	쌀, 톳 또는 모자반 함유 식품
전처리		말론산에서 80℃ 가온추출	건조시료에 대해 1% 질산(50% 메탄올 함유)초음파 추출	1% 질산에서 90℃ 가온추출
표준용액		1% 질산 희석		0.2% 질산 희석
분석	이동상	5 mM malonic acid, pH 5.6 → isocratic분석	A: 3 mM 질산암모늄 (1%메탄올) B: 20 mM질산암모늄 20 mM 제2인산암모늄 → gradient 분석	0.05%(v/v)메탄올, 10 mM sodium 1-butane sulfonate, 4 mM malonic acid, 4 mM tetramethylammonium hydroxide pentahydrate(TMAH), pH 2.7(nitric acid)→ isocratic 분석
	컬럼	이온교환컬럼	이온교환컬럼	역상컬럼(C18)





참고2

무기비소 시험법 개정(안)

---

---

# 식품 중 무기비소 시험법 개정(안)

---

---

2018. 6. .

식품의약품안전평가원

오염물질과



### 9.1.5 무기비소(Inorganic arsenic)

#### 가. 시험법의 적용범위

무기비소의 기준규격이 설정된 식품에 적용한다(어유 포함).

#### 나. 분석원리

검체 중 무기비소를 1% 질산용액으로 추출하여 액체크로마토그래프로 비소종을 분리한 후 유도결합플라즈마/질량분석기로 분석한다.

#### 다. 장치

액체크로마토그래프-유도결합플라즈마/질량분석기(LC-ICP/MS)

※ 액체크로마토그래프와 유도결합플라즈마/질량분석기 연결 시 튜브 길이를 40 cm 이내로 한다.

#### 라. 시약 및 시액

- 1) 표준원액 : 아비산나트륨(As(III), Sodium arsenite,  $\text{NaAsO}_2$ ) 및 비산나트륨(As(V), Sodium arsenate dibasic heptahydrate,  $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 표준품을 증류수에 녹여 각각 As로써 농도가 1,000 mg/L이 되게 한다.
- 2) 혼합표준용액 : 각 표준원액을 0.2% 질산용액으로 희석하여 검량선 작성을 위한 표준용액으로 한다. 단, 혼합표준용액은 분석 당일 조제하여 사용한다.

#### 마. 시험용액의 조제

- 1) 쌀 및 쌀·툇 또는 모자반 함유 식품

균질화한 시료 1 g(해조류 건조물의 경우 0.2 g~1 g)을 정밀히 달아 용기(단, 유리용기는 제외)에 넣고 1% 질산용액 5 mL를 가하여 90°C에서 90분간 열탕 추출한다. 이때 초기 30분 동안 시료와 1% 질산용액이 충분히 섞이도록 5분~10분 간격으로 격렬히 흔들어준다. 추출 후 여기에 물을 넣어 25 mL되게 한 후 잘 혼합하고 10분간 원심분리(3,000 G)한다. 원심분리 후 상층액을 적당히 취하여 다시 10분간 원심분리(3,000 G)하고 그 상층액을 멤브레인 필터(nylon, 0.45  $\mu\text{m}$ )로 여과하여 시험용액으로 한다.



2) 어유

시료 2.5 g을 원심분리기용 튜브에 정밀히 달아 헥산 5 mL, 메탄올 5 mL, 1% 질산 0.5 mL을 넣고 30분간 진탕기에서 진탕하고 10분간 원심분리 (3000 G) 하여 층 분리된 아래층(1차 추출액)을 완전히 취해 원심분리기용 튜브에 옮긴다. 남은 여액에 클로로포름 5 mL, 메탄올 3.75 mL, 1% 질산 1.25 mL을 넣고 30분간 진탕기에서 다시 진탕하고 10분간 원심분리 하여 층 분리된 상층액(2차 추출액)을 완전히 취해 앞에서 취한 1차 추출액과 합한다. 여기에 0.2% 질산을 넣어 50 mL이 되게 하여 잘 섞은 후 10분간 원심분리 (3000 G) 한다. 이후 상층액 4 mL을 취하여 0.2% 질산으로 10 mL로 맞추고 멤브레인 필터(nylon, 0.45  $\mu$ m)로 일부를 여과하여 시험용액으로 한다.

바. 시험조작

1) 액체크로마토그래프의 측정조건

가) 컬럼 : C18 MG (4.6×250 mm, 5  $\mu$ m) 또는 이와 동등한 것

나) 이동상 : 0.05%(v/v) 메탄올, 10 mM sodium 1-butane sulfonate, 4 mM malonic acid, 4 mM tetramethylammonium hydroxide (TMAH)의 혼합용액을 조제하고, 이때 용액의 pH는 10% 질산용액을 사용하여(약 1.8 mL/L) 정확히 2.7로 맞춘다.

다) 컬럼온도 : 25℃

라) 유속 : 0.75 mL/min

마) 주입량 : 10~50  $\mu$ l

바) 분석시간 : 총 13분

2) 유도결합플라즈마/질량분석기 측정조건(예)

가) RF Power : 1300~1500 W

나) Nebulizer argon gas : 0.95~1.15 L/min

다) Auxillary argon gas flow : 1.2~1.5 L/min

라) Plasma argon gas flow : 15~20 L/min



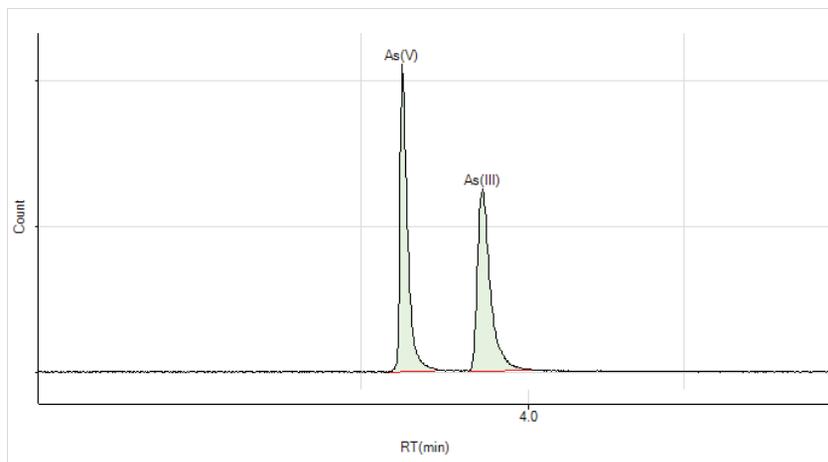
마) Lens voltage : 5~10 V

바) Ion monitored : As ( $m/z$  75), 다만, DRC mode 사용시에는 AsO ( $m/z$  91)로 분석한다.

### 3) 검량선의 작성

혼합표준용액을 농도별(1~50 ppb)로 취하여 분석한 후 크로마토그램상의 As(V)와 As(III) 각 피크 면적을 구하여 검량선을 작성한다.

### 4) 혼합표준용액의 크로마토그램(예)



<그림 1> 혼합표준용액(각 10 ppb)의 크로마토그램

## 사. 정성시험

위의 시험조작조건에서 얻은 시험용액의 크로마토그램으로부터 목적원소의 질량값( $m/z$  75)의 피크들은 혼합표준용액 피크의 머무름 시간과 일치하여야 한다.

## 아. 정량시험

정성시험과 동일한 조건에서 얻은 시험용액의 피크가 혼합표준용액 피크와 일치할 때 피크면적을 검량선에 대입하여 As(III)와 As(V)를 정량하고 각각의 정량값을 합하여 무기비소의 함량으로 한다.



## 식품 중 무기비소 시험법 해설서

---

발 행 일 2018년 8월

발 행 인 이 선 희

편집위원장 식품위해평가부장 홍진환

편 집 위 원 식품의약품안전평가원 오염물질과  
강길진, 최장덕, 김신희, 신민수, 신춘식,  
권유진, 천소영, 김태훈, 김가예, 김민희

발 행 처 식품의약품안전평가원 오염물질과  
충청북도 청주시 흥덕구 오송읍  
오송생명2로 187

전 화 043-719-4251~4261

팩 스 043-719-4250





# 식품 중 무기비소 시험법 해설서

MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY



“청렴한 식약처 국민 안심의 시작”

## 공익신고자 보호제도란?

공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장, 불이익보호조치, 신변보호조치** 등을 통하여 보호하는 제도

### ♣ 보호조치 요구 방법

우편(30102) 세종특별자치시 도움5로 20 정부세종청사 7동, 국민권익위원회  
공익보호지원과 / 전화 044-200-7773 / 팩스 044-200-7949



식품의약품안전처  
식품의약품안전평가원

우) 28159 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187