

# Application News

No. SSK-ICPMS-2301

Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer, ICPMS-2030

## ICP-MS를 이용한 혈액 중 중금속 분석

Analysis of Heavy Metals in Whole Blood Using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer

### ■ 분석방법

혈액에 포함된 각종 유해 성분들에 대한 검사는 특정 질병의 예방과 진단을 목적으로 행해지는 경우가 많다. 특히 납, 카드뮴 등 중금속의 경우 인체에 유입되면 쉽게 배출되지 않고 축적되면서 특별한 중독 증상을 유발할 가능성이 있다. 최근에는 식품 및 대기, 수질 등의 환경에서도 이러한 유해 중금속의 관리가 철저히 이루어지고 있기 때문에 민간에서는 중독될 가능성이 낮지만, 관련 중금속을 다루는 근무환경에 종사하는 경우 지속적인 검사를 통해 건강을 관리할 필요가 있다. 국내에서는 산업안전보건법에 따라 관련 업종 종사자에 대해 생물학적 노출지표 물질과 노출기준을 지정하여 혈액 및 소변을 정기적으로 검사하도록 하고 있다.<sup>[1]</sup> 현재 국내의 혈액 내 중금속 검사 방법은 한국산업안전보건공단(KOSHA)의 가이드라인에 따라 흑연로 원자흡수분광기(Graphite furnace atomic absorption spectrometer, 이하 GFAAS)를 이용한 방법을 채택하고 있다.<sup>[2]</sup>

혈액 내 중금속 분석은 수 ppb 수준의 미량 분석이 요구되는 데에 반해 많은 시료량을 확보하기 어렵고, 단백질, 지방, 무기질이 혼합된 콜로이드 상의 물질로 회화 처리가 필요하기 때문에 고감도의 분석기기가 요구된다. GFAAS는 소량의 시료로도 회화처리와 고감도 분석이 가능하기 때문에 혈액 분석에 주로 활용되고 있지만, 시료 주입에 따른 재현성 불량 문제와 개별 원소 분석에 의한 비효율성 문제가 따른다.

이에 따라 본 뉴스레터에서는 고감도로 다원소 동시분석이 가능한 유도결합플라즈마 질량분석기(Inductively coupled plasma mass spectrometry, 이하 ICP-MS)를 이용해 혈액 중 주요 유해 원소인 납, 카드뮴, 비소, 수은을 두 가지 방법으로 분석한 결과를 소개하고자 한다. 한 가지 방법은 Microwave를 이용한 유기물 분해 법이며, 다른 방법은 계면활성제를 이용한 희석법이다.

### ■ 시약 및 분석 기기

대상 시료는 미량의 중금속이 포함된 Whole blood CRM(Seronom™ Trace elements, Level I, Nycomed Pharma社)에 일부 원소를 첨가하여 준비하였다. 시료는 응고되지 않도록 시험 전까지 Blood mixer를 이용해 교반하였다. 검정곡선 작성과 첨가회수를 시험을 위한 표준용액은 1000 mg/L의 시판 표준용액(AccuStandard社)을 각 원소별로 준비하였으며, 질산 및 염산은 전자급(EP-S, 케미탑社) 시약을 이용하였다.

희석법을 위한 희석액 조제를 위해 25 % 수산화테트라메틸암모늄 수용액(C<sub>4</sub>H<sub>13</sub>NO, tetramethylammonium hydroxide, Alfa Aesar社, 이하 TMAH), 에틸렌다이아민테트라아세트산(C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, ethylenediamine tetraacetate, 이하 EDTA, Samjun chemical社, Triton X-100(Sigma Aldrich社), n-부틸알코올(C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH, butyl alcohol, 99 %, Junsei社) 시약을 준비하였다.

시료의 분석에는 그림 1의 ICPMS-2030 model을 이용하였다.

### ■ 분석 방법

시료 중 납, 카드뮴, 비소, 수은을 분석 항목으로 하여, 방법검출한계, 첨가회수율에 의한 정확도, 정밀도 시험을 진행하였다.

#### 1. Microwave법

통상적인 무기 분석 시료 전처리와 동일하게 산 시약과 시료를 함께 용기에 넣고, Microwave를 이용해 유기물을 분해하는 방법으로, 국립환경과학원에서 이전에 발간한 『생체시료 중 환경오염물질 분석 매뉴얼 (2006)』을 준용하였다.<sup>[3]</sup> 시료의 분취량과 산 시약의 조합은 일부 수정하였으며, 세부적인 시료 전처리 방법은 그림 2에 나타내었다.



그림 1. ICPMS-2030 System

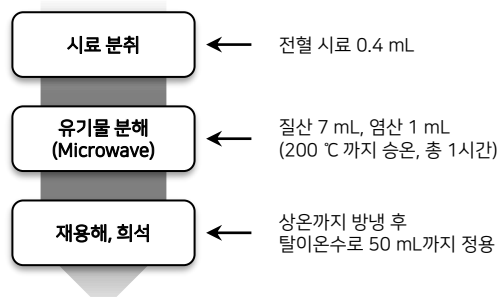


그림 2. 시료 전처리 (Microwave를 이용한 산분해법)

## 2. 희석법

약 0.05 % (w/w) Triton X-100 용액으로 혈액시료를 희석하여 유기물 분해 없이 ICP-MS에 직접 주입하여 분석하는 방법으로, 미국 NHANES (National health and nutrition examination survey)의 『CDC Laboratory Procedure Manual (2003 - 2004)』을 준용하였다.<sup>[4]</sup> 희석법을 이용한 시료 준비 과정은 그림 3에 정리하였다.

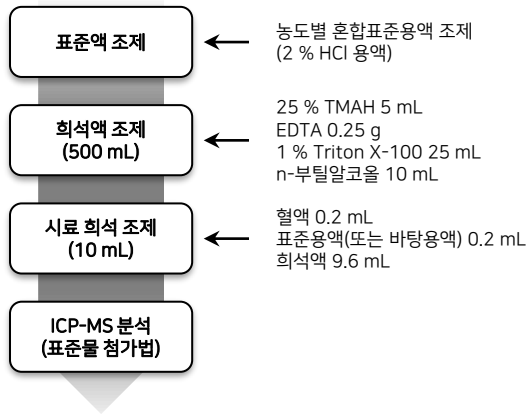


그림 3. 희석법 시료 조제

## 3. 분석 조건

준비된 표준용액과 시료는 표 1의 조건에 따라 ICP-MS로 분석하였으며, 원소별 세부 분석 조건은 표 2와 같다.

표 1. ICP-MS 분석 조건

RF power	: 1.20 kW
Sampling depth	: 5.0 mm
Plasma gas flow	: 8.0 L/min
Auxiliary gas flow	: 1.10 L/min
Carrier gas flow	: 0.70 L/min
Cell gas (He) flow	: 6.0 mL/min
Torch type	: Mini torch
Sampling & Skimmer cone	: Copper & Nickel
Quantification method	: Internal standard correction method (희석법: Standard addition method)

희석법의 경우 표준물첨가법과 내부표준법을 함께 적용하였으며, 수은의 흡착과 메모리효과 방지를 위해 금(Au)을 10 µg/L 농도로 각 용액에 첨가 하였다.

표 3. 전혈 시료의 분석 결과와 방법검출한계, 첨가 회수율 시험 결과

분석방법	분석 원소	대상 시료 분석 결과 (µg/L) (n = 7)				첨가 회수율 시험 결과 (µg/L) (n = 5)			
		미첨가시료 측정값(A)	분석 결과	인증 값*	방법검출한계**	표준물질 첨가량(S)	첨가시료 측정값(B)	정확도*** (%Recovery)	정밀도 (%RSD)
Microwave법	As	0.034	4.3	(4.0)	0.499	0.050	0.085	100.7 %	3.1 %
	Cd	0.006	0.8	0.7	0.176	0.050	0.057	103.0 %	4.0 %
	Hg	0.025	3.1	3.0	0.165	0.200	0.226	100.9 %	2.2 %
	Pb	0.289	36.1	34.0	1.083	2.000	2.278	99.5 %	0.6 %
희석법	As	0.084	4.2	(4.0)	0.218	0.050	0.133	97.4 %	3.2 %
	Cd	0.016	0.8	0.7	0.082	0.050	0.064	95.9 %	3.3 %
	Hg	0.057	2.9	3.0	0.115	0.200	0.249	96.2 %	0.9 %
	Pb	0.637	31.9	34.0	1.603	2.000	2.616	98.9 %	0.2 %

\* 인증 값: 인증표준시료에 As를 해당농도 만큼 첨가하여 대상시료로 조제하였음. Cd, Hg, Pb의 경우 대상 시료의 인증 값을 적용하였음.

\*\* 방법검출한계: 대상시료의 7회 반복 분석 표준편차(SD)를 이용해 산출하였음 (SD × 3.14)

\*\*\* 정확도(%): 표준물질 첨가량에 대한 회수율로 산출하였음. [(B - A)/S] × 100

검정곡선의 범위와 첨가회수율 시험을 위한 표준물질의 첨가량은 Microwave법과 희석법 모두 동일하게 적용하였다.

표 2. 원소별 세부 분석 조건

원소	질량수	내부표준 원소	목표검출한계* (µg/L)	검정곡선 범위 (µg/L)
As	75	<sup>103</sup> Rh	-	(0.01 - 0.10)
Cd	111	<sup>103</sup> Rh	0.20	(0.01 - 0.10)
Hg	202	<sup>209</sup> Bi	0.18	(0.04 - 0.40)
Pb	208	<sup>209</sup> Bi	8.50	(0.40 - 4.00)

\* 목표검출한계: KOSHA Guideline 각 중금속의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 지침에 제시된 방법검출한계로 Pb, Cd은 GFAAS법, Hg은 CVAAS법을 기반으로 산출된 값이며, As의 경우 소변에 대한 기준만 제시하고 있어 기술하지 않았다.

## ■ 분석 결과

### 1. Microwave법

Microwave법 시료 분석을 위해 작성된 검정곡선은 그림 4와 같이 결정계수 ( $R^2$ ) 0.99 이상으로 양호한 직선성을 보였다. 방법검출한계 시험은 대상시료 반복 분석 결과의 표준편차를 이용해 산출하였고, 정확도와 정밀도는 대상시료에 표준물질을 첨가하여 확인하였다. 시험결과는 표 3과 같이 목표 방법검출한계를 만족하고, 첨가 회수율 ( $101.0 \pm 1.4$  %), 상대표준편차 ( $2.5 \pm 1.5$  % ) 수준으로 확인되었다.

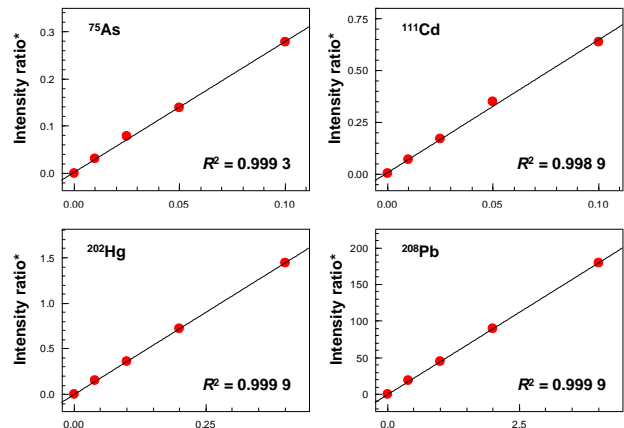


그림 4. 원소별 검정곡선 (Microwave법)

\* Intensity ratio: (Intensity of the target element) / (Intensity of the internal standard element)

## 2. 희석법

Microwave법과 마찬가지로 방법검출한계 시험은 대상시료 반복 분석 결과의 표준편차를 이용해 산출하였고, 정확도와 정밀도는 대상시료에 표준물질을 첨가하여 확인하였다. 시험결과는 표 3과 같이 목표 방법검출한계를 만족하였으며, 첨가 회수율 ( $97.1 \pm 1.4$  %), 상대표준편차 ( $1.9 \pm 1.6$  % ) 수준으로 확인되었다.

## ■ 결론

본 뉴스레터에서는 건강지표로 활용되는 혈액 중 주요 중금속 함량을 기존의 GFAAS법에 비해 더 높은 감도와 다원소 동시 분석의 장점을 가지는 ICP-MS를 이용해 Microwave법과 희석법을 비교하였다.

Microwave를 이용해 유기물을 분해 후 분석하는 방법은 시료의 희석배수 산정에 불리한 점이 있지만, 물리적, 화학적 간섭의 제어가 용이하며, Triton X-100을 이용한 희석법은 시료 전처리 과정을 간소화할 수 있지만, 간섭을 통제하기 위해 표준물첨가법의 적용이 필요하다.

두 시험법 모두 기존의 GFAAS에서 요구되는 방법검출한계 수준을 만족하였고, (95 ~ 103) %의 정확도와 4 % 이내의 정밀도를 보였다. 이를 통해 혈액 중 중금속 분석에도 ICP-MS를 활용해 빠르고 정확한 고감도 분석이 가능함을 확인할 수 있었다.

## ■ 참고문헌

- 1) 산업안전보건법 시행규칙, 고용노동부령 제363호, 2023-01-01 시행.
- 2) 한국산업안전보건공단 산업안전보건연구원, 근로자 건강진단 실무 지침: 제 1 권 특수건강진단의 개요, 2021-산업안전보건연구원-805, 2021-12.
- 3) 국립환경과학원, 생체시료 중 환경오염물질 분석 매뉴얼. 2006-12
- 4) Laboratory Procedure Manual - ITB001A Lead, Cadmium, and Mercury in Whole Blood, CDC, NHANES 2003 - 2004, 2004-09-09