

## 유도결합 플라즈마-질량분석법과 고체-액체 추출법을 이용한 혈액 및 소변중 미량금속의 분석에 관한 연구

이 원 · 허영희 · 박경수  
경희대학교 문리과대학 화학과  
(1998. 3 11 접수)

### A Study of Analytical Method for Trace Metal Ions in Whole Blood and Urine by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry using Solid-Liquid Extraction Technique

Won Lee, Young-Hoe Hur and Kyung-Su Park  
*Research Institute for Basic Sciences and Department of Chemistry, Kyunghee University  
Seoul 130-701, Korea*  
(Received March 11, 1998)

**요 약:** 혈액과 소변중의 미량 Cu, Sn 및 Bi를 유도결합 플라즈마 질량분석법으로 동시 분석하였다. 혈액시료 1 mL를 closed-vessel digestion system에 넣고 질산과 과산화수소수를 가한 후 microwave oven에서 8분 동안 전처리하였다. Amberlite IRC-718 수지를 정지상으로 사용한, 고체-액체추출법으로 Na, S, P 및 polyatomic species에 의한 매트릭스 방해물 제거하였다. 위 방법에 대한 검출한계를 구한 결과 Cu는 0.000375 ng/mL, Sn은 0.000297 ng/mL, Bi는 0.000174 ng/mL 이었다. NIST SRM 955a 혈액 시료에 표준용액을 첨가하여 구한 회수율은 Cu의 경우 99.1%, Sn은 102.5%, Bi는 98.4%이었다. 아울러 본 연구에서 조사한 최적기 및 분석조건에서 실제 혈액과 소변시료의 분석을 시도하였다.

**Abstract:** An analytical method for the simultaneous measurement of trace Cu, Sn, and Bi in blood and urine has been investigated by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS). Microwave oven was used for the pretreatment of blood samples using nitric acid and hydrogen peroxide in a closed-vessel digestion system with 1 mL whole blood for 8 minutes. Amberlite IRC-718 resin was used as a solid phase in solid-liquid extraction technique for the removal of matrix interferences such as Na, S, P, and other polyatomic ion species. Detection limits for Cu, Sn, and Bi by this method were 0.000375 ng/mL, 0.000297 ng/mL, and 0.000174 ng/mL, respectively. Recoveries of 99.1% for Cu, 102.5% for Sn, and 98.4% for Bi were obtained for the standard spiked NIST SRM 955a blood sample. The developed method was applied for whole real blood and urine samples.

**Key words:** ICP-MS, whole blood, urine, analysis, solid-liquid extraction

#### 1. 서 론

혈액, 뇨 및 머리카락 등 생체시료중에 함유된 미량 금속의 함량은 인체에 대한 유해성 평가의 기준으로 이용하고 있다는 것은 널리 알려진 사실이다. 이와같은 유해금속들은 현재 AAS-ETV법 또는 ICP-AES법 등과 같은 여러 가지 방법으로 분석하고 있으나 그 중

에서도 특히 ICP-MS법은 다른 방법에 비하여 검출한계가 1~2 자리 이상 낮고, 극소량의 시료를 취급할 수 있을 뿐만 아니라 검정곡선의 직선 범위가 넓고 여러 가지 원소들을 동시 분석할 수 있는 장점이 있다. 아울러 매트릭스 및 분광학적 방해 영향이 비교적 적고 정확성과 정밀성이 높기 때문에 생체 및 환경 오염 시료를 비롯하여 방사성 폐기물중에 함유되어 있는

ppb 농도 범위의 금속 원소를 분석하는 방법으로 널리 이용되고 있다.

그러나 이와같이 우수한 분석법이라고 하더라도 신뢰할 수 있는 분석결과를 얻기 위해서는 우선적으로 시료의 손실과 오염을 최소화 시키면서 분석원소를 시료 매트릭스로부터 유리시킬 수 있는 효율적인 전처리 방법이 요구된다. 따라서 혈액 등과 같은 생체시료는 높은 압력의 밀폐된 용기에서 소량의 산으로도 오염이나 손실을 최소로 하면서 시료 매트릭스를 단시간 내에 완전히 분해시킬 수 있는 마이크로파 오븐(microwave oven)을 이용하여 전처리하는 것이 효과적이라고 할 수 있다. 또한 방해 성분의 화학적 특성과 분석원소의 측정 가능 농도 범위를 고려하여 분석원소를 농축 분리시켜야 할 필요가 있다.

최근에 ICP-MS를 이용하여 생체시료중에 극미량으로 함유된 몇 가지 금속을 분석할 때 발생하는 매트릭스 방해영향을 제거하고 극미량까지 분석하는 방법에 관한 연구가 수행되고 있다.<sup>1-2</sup> 이와 관련된 연구를 살펴보면, Outridge<sup>3</sup> 등은 인체나 동물이 Pb, Cd 등에 의해서 노출된 정도를 확인하기 위해, 치아와 뼈 등을 시료로 선택하고 ICP-MS를 이용하여 중금속의 분석을 시도하였다. 그러나 이 경우 높은 농도로 존재하는 Ca에 의한 매트릭스 효과로 인하여 미량 금속을 정량하는데 많은 문제점이 있음을 제시하였다. 한편, Marawi<sup>4</sup>는 흑연로에서 As 등을 0.002 mg/mL까지 multielement volatile hydride법으로 예비농축하고, ICP-MS를 이용하여 정량하는 새로운 분석방법을 발표하였으며, Sturgeon<sup>5</sup> 등은 비슷한 방법으로 수소화물을 형성하는 휘발성 금속, 즉 As, Bi, Se, Sb 및 Sn 등에 대한 정량을 수행하였다. 그러나 이 방법은 휘발성 금속에 대해서만 이용할 수 있는 제한된 방법이다. 뿐만 아니라 Koirtzohann<sup>6</sup>는 ICP-MS를 이용하여 동위원소비 측정 방법으로 생체시료중에 함유된 Cu 등 몇 가지 금속을 정량하였는데, <sup>63</sup>Cu의 정량시에 Na에 의해 발생하는 <sup>40</sup>Ar<sup>23</sup>Na<sup>+</sup>이온 때문에 질량검침 방해영향을 일으킴으로서 Cu 0.1 ppm에 대하여 Na의 농도가 20 ppm 이하일 경우는 상대오차가 <0.1%인 결과를 얻었지만, 500 ppm일 경우는 22%정도로 크게 증가한다고 보고한 바 있다.

본 연구는 다른 분석법에 비해 한 자리수 이상 검출한계가 낮고 정밀성이 높은 ICP-MS법을 이용하여 혈액 등 생체시료중에 함유된 Cu, Sn 및 Bi 등 극미량의

금속을 신속, 정확하게 분석하기 위한 방법을 확립하였다. 먼저 마이크로파 삭임법(microwave digestion)으로 시료를 전처리 할 때 요구되는 조건을 검토하고 다음 고체-액체 추출법으로 방해이온을 제거하였다. ICP-MS법으로 정량하기 위한 최적 측정 파라미터를 조사한 다음 표준 및 실제시료의 분석을 시도하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 측정기기 및 실험기구

본 연구에서 혈액 및 소변중 Cu, Sn 및 Bi를 분석하기 위하여 사용한 분석기기는 Perkin-Elmer사의 Elan 5000 inductively coupled plasma mass spectrometer(ICP-MS)이다. 모든 용액의 pH 측정은 Metrohm사의 691 pH meter를, 그리고 용리법에 의한 흡착 및 탈착 실험은 유리제 disposable pasteur pipet column(14.6 cm L. × 0.55 cm I.D.)을 사용하였다. 혈액중에 존재하는 유기물을 분해시키기 위하여 ECM30 exhaust/capping module이 부착된 Milestone사제 MLS 1200 microwave oven을 사용하였다.

한편, 시료를 받는 용기는 Nalgene사 폴리에틸렌 재질의 용기를 10% 질산으로 수일동안 담근 후 증류수로 씻어 사용하였다. 또한 Pyrex제 부피 플라스크는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 ammonium peroxodisulfate를 섞어 만든 씻는 용액으로 씻은 다음 사용하였다.

### 2.2. 시약 및 시료

본 연구에서 사용한 Cu, Sn 및 Bi의 표준용액은 Perkin-Elmer사제 10 µg/mL 표준용액을 필요에 따라 적당한 농도로 묽힌 후 사용하였으며, 모든 표준용액에는 약 0.16 M의 산농도를 유지하도록 고순도의 질산을 소량 첨가하였다. 한편, 혈액을 전처리하기 위해 사용한 질산과 과산화수소는 분석용 동위원소체 약품의 전자급(금속 성분이 철저히 규제된 HP 또는 SP급)을, 그 밖에 사용한 모든 시약들은 특급 시약으로 정제하지 않고 그대로 사용하였다. 그리고 본 연구에서 사용한 모든 물은 1차 증류후 Millipore Q 이온교환수지를 통과시킨 것을 사용하였다. 이상과 같은 시약과 증류수는 사용하기 전에 ICP-MS로 금속들의 함량을 측정후 바탕값을 보정하였다. 또한 본 연구에서 ICP-MS에 사용한 플라스마 기체는 고순도의 액체 알곤이며 수지는 Rohm and Haas사의 amberlite

IRC-718(16-50 mesh)를 사용하였다.

한편 대조 혈액시료는 산업보건협회의 정도관리위원회에서, 실제 혈액 및 소변시료는 고려대학교 환경의학 연구소로부터 채취한 시료의 일부를 사용하였다. 그리고 표준시료는 NIST의 standard reference material 955a blood(No. 4)이었다.

**2.3. 실험 방법**

**2.3.1. 시료의 전처리**

혈액시료는 Fig. 1과 같은 60 mL 용량의 테프론 용기에 혈액 1 mL와 질산 2 mL, 과산화수소수 0.2 mL를 각각 넣고 뚜껑을 닫았다. 용기를 safety shield에 넣은 후 마이크로파 오븐에 넣고 300 W에서 5분, 600 W에서 3분 동안 분해시켰다. 다음, 실온으로 식히고 25 mL 부피 플라스크에 옮겨 눈금까지 증류수로 불렀다. 한편, 소변시료는 1 mL씩 정확히 취한 다음 25 mL 부피 플라스크에 넣고 소량의 질산을 가한 후 눈금까지 증류수로 불려 사용하였다.

**2.3.2. 수지에 대한 금속이온의 회수율 조사**

10 ppb의 금속용액 10 mL(100 ng)을 각각 정확히 취하고 pH 4로 조절한 후 0.6 g의 amberlite IRC-718 수지가 충전된 컬럼에 용리시켰다. pH를 조절한 완충용액(0.1 M HNO<sub>3</sub>-0.1 M KHphthalate)과 증류수로 씻어준 다음, pH 0.1의 질산용액으로 10 mL 부피 플라스크에 탈착시키고 이 용액중에 함유된 각 금속이온들을 최적 기기조건에서 ICP-MS로 분석하였다. 위와 같은 방법으로 각각 5회에 걸쳐 반복 실험한 후 회수율과 표준편차를 구하였다.

**2.3.3. 검정곡선의 작성**

대조혈액 1 mL와 1, 5, 10, 20, 100 ppb의 표준용액을 각각 10 mL(10, 50, 100, 200, 1000 ng)씩 마이크

로파 오븐 용기에 넣고 질산 2 mL와 과산화수소 0.2 mL를 가하여 분해시킨다음, 각 금속이온의 최적 pH를 조절하였다. 이것을 위와 같은 방법으로 탈착시킨 다음 최적 측정조건에서 ICP-MS로 금속이온들의 방출세기를 각각 측정하고, 금속의 농도와 방출세기를 도시하여 검정곡선을 작성하였다.

소변의 경우는 대조시료 1 mL에 표준용액(1~100 ppb)을 각각 10 mL씩 가한 다음 전처리 과정을 거치지 않고 pH를 조절한 후 컬럼에 용리시켰다. 흡착된 금속이온들을 pH 0.1의 질산 용액으로 10 mL 부피 플라스크에 탈착시키고, 혈액과 같은 방법으로 검정곡선을 작성하였다.

**2.3.4. 검출한계**

최적 측정조건에서 각 금속의 표준용액 Cu, Sn 및 Bi 1 ppb에 대한 방출세기와 바탕 시험용액의 방출세기를 각각 10회 측정하고 표준편차를 구한 후, 다음 식으로부터 검출한계를 계산하였다.

$$\text{Detection Limit} = \frac{2 \times \text{RSD} \times \text{Conc.}}{\text{SBR} \times 100} \quad (1)$$

여기에서, RSD=relative standard deviation of blank

SBR=signal to background ratio

$$= \frac{I_{1\text{ppb}} - I_{\text{Blank}}}{I_{\text{Blank}}}$$

Conc.=1 ppb이다.

**2.3.5. 표준 및 실제시료의 분석 방법**

먼저 Fig. 1과 같은 테프론 용기에 SRM 955a 표준 혈액시료 1 mL와 100 ppb의 금속용액 1 mL(100 ng)을 각각 넣고 질산 2 mL, 과산화수소 0.2 mL를 넣은 후 앞에서 조사한 조건에서 마이크로파 오븐으로 분해시켰다. 다음 실온으로 식히고 25 mL 부피 플라스크에 옮겨 눈금까지 증류수로 불린 후 이 용액 10 mL를 정확히 취한 다음 pH 4로 조절하고, 0.6 g의 수지가 충전된 컬럼에 용리시켰다. 앞에서 언급한 방법에 따라 각 금속이온을 탈착시키고 ICP-MS로 분석하였다. 위와 같은 방법으로 각각 5회에 걸쳐 반복 실험한 후 표준시료중 각 금속의 회수율을 구하였다.

한편 실시료의 경우, 먼저 혈액시료는 테프론 용기에 혈액 1 mL를 정확히 취하여 넣은 다음 표준시료와 같은 방법으로 전처리를 한 후 함유된 각 금속이온을 분석하였다. 그리고 소변시료는 1 mL를 정확히 취한 다음 25 mL부피 플라스크에 넣고 소량의 질산을 가한

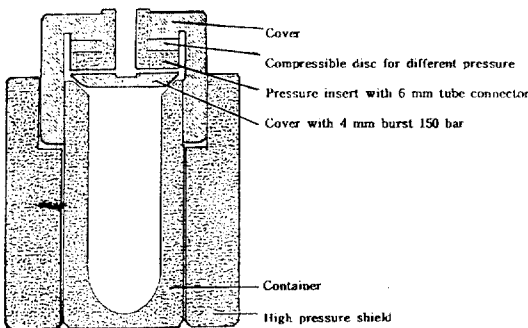


Fig. 1. High pressure digestion vessel.

후 눈금까지 증류수로 물렸다. 이 용액 10 mL를 취하여 pH 4로 조절한 후 컬럼에 용리시켰다. 흡착된 금속 이온들을 pH 0.1의 질산 매트릭스 용액으로 10 mL 부피 플라스크에 탈착시키고 이 용액중에 함유된 금속 이온들을 혈액과 같은 방법으로 분석하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. ICP-MS의 최적 측정 파라미터 조사

본 연구에서 사용한 ICP-MS는 이온 생성원으로서 free running type의 RF generator가 부착된 ICP와 생성된 이온을 검출하는 질량분석장치로 이루어져 있다. 따라서 기기의 최적 측정 파라미터를 확립하기 위하여 ICP의 RF forward power, auxiliary 및 nebulizer argon의 흐름속도와 시료의 흐름속도를 결정하였다. 또한 시료를 분석하기에 앞서 플라즈마를 약 1시간정도 예열시킨 다음 안정된 플라즈마 상태에서 시료의 방출세기를 측정하였다. 그리고 기기의 감도는 10 ppb의 조절용액으로 질량 범위에 따라  $^{207}\text{Pb}$  및  $^{208}\text{Pb}$ ,  $^{103}\text{Rh}$ , 그리고  $^{24}\text{Mg}$ 의 방출세기를 측정하여 각각 조절하였다. 또한  $\text{CeO}$ 와  $\text{Ba}^{2+}$ 의 방출세기를 측정하고 기기적으로 바탕선 이하의 값으로 조절함으로써 산화물과 2가 금속이온의 형성을 최소로 억제하였다.

Table 1. Instrumental parameters for ICP-MS

Descriptions	Conditions
R.F. power	1000 W
Argon gas flow rate	
Coolant	14.8 L/min.
Auxiliary	0.84 L/min.
Nebulizer	0.90 L/min.
Sample uptake flow	1.0 mL/min.
Nebulizer	Cross flow type
Quadrupole chamber	$2 \times 10^{-7}$ torr
Sample introduction	Pneumatic nebulization
Quantitative Mode	
Replicate time (ms)	300
Dwell time (ms)	100
Sweeps/Reading	3
Reading/Replicate	1
Number of Replicates	5
Points/Spectral peak	3
Cu/Mass	63, 65
Sn/Mass	118, 120
Bi/Mass	209
Total Quant Mode Mass Range	60-70, 110-130, 205-215

그리고 각 분석원소의 방출세기는 상대 존재 비율이 가장 큰 동위원소의 질량에서 각각 측정하였는데, 몇 가지 중요한 ICP-MS의 측정 조건들은 Table 1에 수록하였다.

#### 3.2. 시료의 전처리 방법

일반적으로 혈액등과 같은 생체시료는 건식 또는 습식회화법으로 분해시키지만 본 연구에서는 보다 짧은 시간내에 시료중 유기물을 효과적으로 분해시키기 위하여 마이크로파 오븐을 사용하였다. 즉, 먼저 일정량의 시료를 Fig. 1의 테프론 용기에 넣고 질산 및 과산화수소를 소량 가한 다음 마이크로파 오븐에 넣은 후 300 W에서 5분간 처리하여 지방이 불완전 분해된 상태로 만들었다. 계속 600 W에서 3분간 처리하여 완전히 투명한 맑은 용액으로 분해시켰다. 실제 이 방법으로 시료의 손실이나 오염 및 완전히 분해되는 것을 확인하기 위하여 표준시료인 NIST사제 SRM 955a blood를 마이크로파 오븐으로 분해시키고 최적조건에서 표준시료중에 함유된 Pb를 분석한 결과, 회수율이 97.6-103.3% 범위이었다(Table 2). 이와 같은 결과로 미루어 마이크로파 오븐으로 전처리되면 혈액시료를 완전 분해시킬 수 있다는 것을 알수 있었다. 이상과 같이 시료를 처리하는데 소요되는 시간이 약 8분 정도로써 다른 방법에 비하여 대단히 짧은 시간내에 처리가 가능할 뿐만 아니라 처리할 시료의 양이 1 mL 정도로써 많은 양의 시료를 분해하는 일반적인 습식회화법의 단점을 극복할수 있었다.

한편 시료의 분해에 사용한  $\text{HNO}_3$ 으로부터 생성되는 화학종으로인하여 스펙트럼 방해를 받을 가능성이 있다. 따라서 이를 확인하기 위하여  $\text{HNO}_3$ 을 함유한 바탕용액에 대한 스펙트럼을 질량수 60-67, 109-127 및 203-216 범위에서 측정한 결과, Fig. 2에서 보는 바와 같이 질량수 64근처에서  $^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ 으로 추정되는 대단히 약한 스펙트럼만이 얻어졌고, 질량수가 높

Table 2. Recovery of Pb from spiked SRM blood sample

Metal ions	Added amount (ng)	Found average (ng)	Recovery <sup>1</sup> (%)	C. V. <sup>2</sup> (%)
Pb	27.2	28.1	103.3	2.84
	54.4	53.1	97.6	3.77

Recovery<sup>1</sup>: average value of five runs C.V.<sup>2</sup>: coefficient of variation.

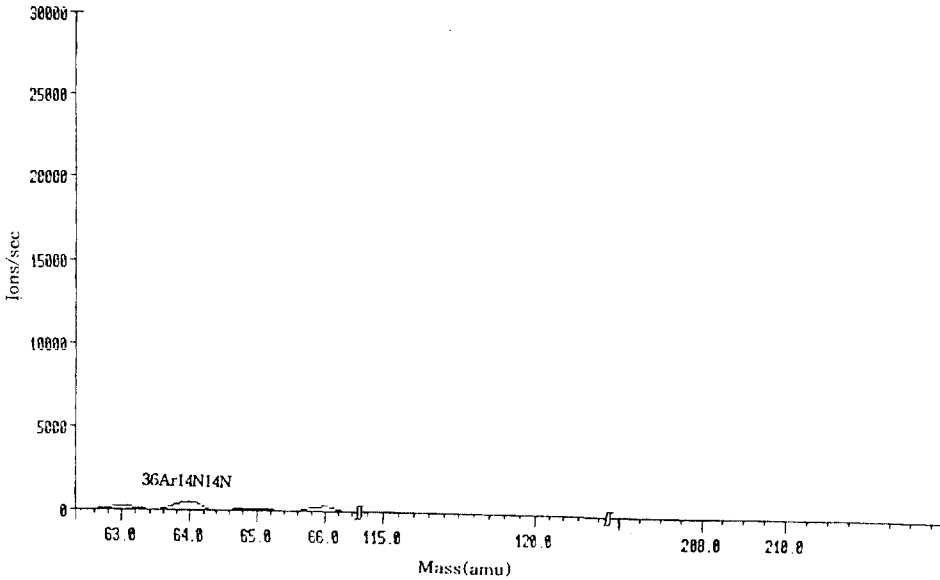


Fig. 2. ICP-MS spectra of reagent blank.

은 109-216 범위에서는 전혀 스펙트럼이 나타나지 않았다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 물과 마찬가지로 시약 바탕용액인 HNO<sub>3</sub>는 질량 겹침에 의한 스펙트럼 방해작용을 일으키지 않는다는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 HNO<sub>3</sub>은 ICP-MS를 이용하여 분석할 때 시료 처리에 가장 적합한 산이라고 할 수 있다. 그리고 본 연구에서는 혈액중에 함유된 지방의 분해를 돕기 위하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 소량 첨가하였다.

### 3.3. 공존화합종의 방해영향

혈액, 소변등과 같은 생체시료 및 해수와 같이 매트릭스가 비교적 복잡한 시료를 정확하게 분석하기 위해서는 무엇보다도 분석대상 원소로부터 우선적으로 매트릭스 방해화합종들을 분리 제거해야만 된다. 따라서 본 연구에서는 이들 시료중에 극미량으로 함유되어 있는 Cu, Sn 및 Bi를 ICP-MS법으로 정량할 때, 이들 이온들의 방출세기에 영향을 미치는 방해영향을 확인하고 아울러 효과적인 제거방법을 조사 검토하였다.

따라서 혈액 및 소변중에 함유되어 있는 Na, P, Pb등을 비롯하여 공존 가능성이 있으며 분석 원소와 질량수가 비슷한 S, Cd등 몇가지 원소를 첨가시킨 다음 질량 스펙트럼을 측정한 결과를 Fig. 3 및 Fig. 4에 나타내었다. 먼저 20 ppb의 Cu 표준용액(Fig. 3A)과 20 ppb의 Cu 표준용액에 생체시료중에 함유되어 있

는 Na(0.1%), S(0.3%), 및 P(0.08%)를 첨가시킨 용액의 스펙트럼을 비교하여 보면(Fig. 3B), Na의 경우, Cu(m/z=63)의 봉우리가 <sup>40</sup>Ar<sup>23</sup>Na로 추정되는 스펙트럼과 겹침으로써 방출세기가 크게 증가하였다. S의 경우(Fig. 3C)는 질량수 63인 Cu의 방출세기에 거의 영향을 받지 않았지만, 그 대신 질량수 65인 Cu의 세기가 <sup>32</sup>S<sup>33</sup>S 및 <sup>33</sup>S<sup>16</sup>O<sup>16</sup>O로서 확인되는 봉우리와 겹치고 있음을 알 수 있었다. 그러나 P의 경우(Fig. 3D)는 질량수 63인 Cu의 봉우리가 <sup>31</sup>P<sup>16</sup>O<sup>16</sup>O에 의하여, 그리고 질량수 65인 Cu는 <sup>31</sup>P<sup>16</sup>O<sup>17</sup>O<sup>1</sup>H 및 <sup>31</sup>P<sup>16</sup>O<sup>16</sup>O<sup>2</sup>H에 의한 스펙트럼과 겹침으로써 이들 세가지 화학종은 Cu의 방출세기를 측정할 때 스펙트럼 방해를 일으키고 있음을 확인할 수 있었다.

또한 20 ppb Sn 표준용액과 이 용액에 Sn과 비슷한 질량수를 갖는 Cd을 1 ppb 및 20 ppb가 되도록 첨가시킨 용액의 스펙트럼을 측정하였다. 먼저 Sn 표준용액의 스펙트럼을 보면(Fig. 4A), 질량수가 109-127인 넓은 영역에 걸쳐 Sn 동위원소에 의한 복잡한 여러 개의 봉우리가 나타났다. 그 중에서도 특히 질량수 120에서 방출세기가 가장 큰 봉우리가 일어졌다. 다음, 1 ppb의 Cd을 첨가시킨 용액의 스펙트럼을 보면(Fig. 4B), 질량수 120인 Sn 뿐만 아니라 그 밖에 다른 봉우리의 방출세기가 거의 영향을 받지 않는 것을 알 수 있다. 그러나 Cd을 20 ppb 첨가시킨 경우(Fig.

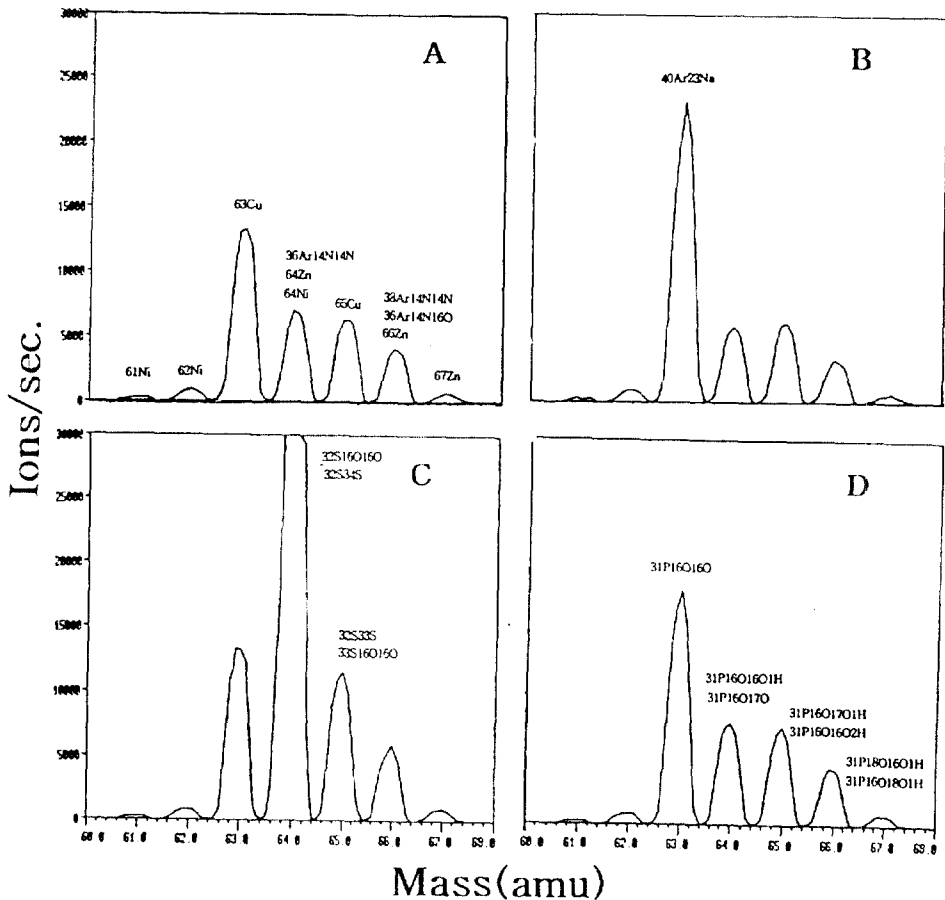


Fig. 3. ICP-MS spectra of standard and matrix added. A: standard mixed Cu 20 ppb, B: Na 0.1% addition, C: S 0.3% addition, D: P 0.08% addition.

4C) 에는 질량수 109-118인 범위에서 질량수 114인 Cd에 의한 방해영향으로 방출세기가 크게 증가할 뿐만 아니라, 질량수 120인 Sn의 방출세기 역시 약 10% 정도 증가함을 확인하였다. 따라서 Sn을 분석할 때 시료 중에 만약 Cd 이 20 ppb 수준 이상으로 존재하는 경우 매트릭스 방해작용을 일으킬 가능성이 있으므로 이를 제거하거나 보정해 주어야 한다.

한편 Bi의 경우, 20 ppb Bi 표준용액의 스펙트럼 (Fig. 4D)은 다른 질량수를 갖는 동위원소가 존재하지 않기 때문에 질량수 209에서 특성적인 최대 방출세기를 나타내며 공존화합종의 스펙트럼이 거의 나타나지 않고 비교적 간단하였다. 다음 1 ppb 및 20 ppb의 Pb를 첨가 시켰을 때 방출세기를 보면, Fig. 4E에서 보는 바와 같이 1 ppb의 경우 Bi의 세기에 거의 영향을 미치지 않았으나, 20 ppb로 Pb의 농도가 증가하면 Fig.

4F와 같이 203-209 범위에서 질량수 207인 Pb 뿐만 아니라 이와 결합된 화학종들로 인하여 방출 세기가 크게 증가하였다. 뿐만 아니라 Bi의 질량수인 209에서도 약 10% 정도 그 세기가 증가함을 알 수 있었다. 이상의 결과로 보아 Sn을 정량할 경우 Cd와 Bi에서는 Pb의 공존에 따르는 방해작용을 반드시 고려해야 할 것이다. 그러나 시료용액의 물힘 효과를 고려하여 볼 때 본 연구에서 전처리한 생체시료의 최종 용액중에는 Cd 및 Pb가 각각 1 ppb 이하로 함유되어 있으므로 이들의 방해영향을 무시할 수 있을 것으로 생각된다.

### 3.4. 매트릭스 방해화학종의 제거

본 연구에서는 방해작용을 비교적 크게 미치는 Na, S 및 P 등과 같은 화학종을 시료매트릭스로부터 제거 시키는 동시에 분석원소를 농축시키기 위하여 am-

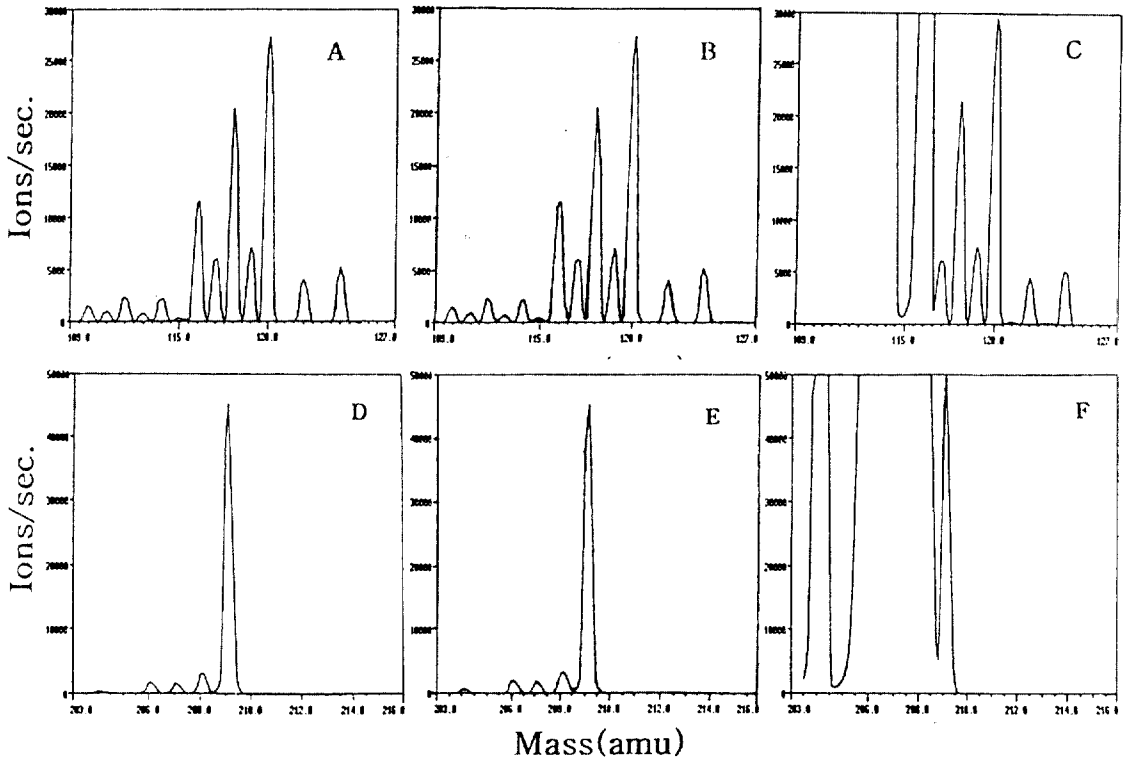


Fig. 4. ICP-MS spectra of standard and matrix added. A: standard Sn 20 ppb, B: Cd 1 ppb addition, C: Cd 20ppb addition, D: standard Bi 20 ppb, E: Pb 1 ppb addition, F: Pb 20 ppb addition.

berlite IRC-718수지에 의한 고체-액체 추출법을 이용하였다. 먼저 각 금속이온 100 ng을 최적 pH 4.0에서 수지층에 흡착시키고, pH 0.1인 HNO<sub>3</sub> 용액으로 탈착시킨다음 회수율을 각각 5회씩 조사하였다. Table 3에서 보는바와 같이 Cu의 경우, 99.8%의 높은 회수율을 얻었으며 표준편차(C.V.)가 4.76%으로써 재현성도 비교적 좋았다. 한편 Sn과 Bi의 경우도 각각 99.1%와 97.7%의 회수율을 나타내었다. 특히 Sn은 표준편차가 0.58%로서 재현성이 매우 좋았다. Bi의 경우는 회수율이 약간 낮았지만 표준편차가 2.12%로 비교적 재현성 있는 결과를 얻었다. 따라서 본 연구에서는 수지를 이용한 고체-액체 추출법을 이용함으로써 각 금속이온들을 효과적으로 흡착 및 탈착시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

다음 이 조건에서 분석원소와 공존이온이 혼합된 용액을 컬럼에 충전시킨 0.6 g의 수지층에 흡착시킨 다음, 0.8 M HNO<sub>3</sub> 용액으로 탈착시켰다. 그리고 질량수 60-209 범위에서 이 용액의 스펙트럼을 측정하고, 이것과 공존 화학종이 함유한 용액 및 순수한 표

Table 3. Recovery of the metal ions from standard spiked sample

Metal ions	Added amount (ng)	Found average (ng)	Recovery <sup>1</sup> (%)	C.V. <sup>2</sup> (%)
Cu	100	99.8	99.8	4.76
Sn	100	99.1	99.1	0.58
Bi	100	97.7	97.7	2.12

Recovery<sup>1</sup>: average value of five runs. C.V.<sup>2</sup>: coefficient of variation. Resin: Amberlite IRC-718, 0.6 g (16-50 mesh). Conc. of spiked standard solutions: 10 ppb/10 mL (100 ng), pH 4. Eluent: HNO<sub>3</sub> matrix (pH 0.1)

준용액의 스펙트럼을 비교하여 Fig. 5에 나타내었다. 결과에서 보는 바와 같이 질량수가 63 및 65인 Cu의 동위원소 봉우리에 주로 영향을 미쳤던 Na, S 및 P와 같은 방해 화학종이 완전히 제거되고, 순수한 Cu 표준용액과 일치하는 방출세기를 나타내고 있음을 확인하였다. 아울러 Sn과 Bi의 경우도 방출세기에 영향을 미쳤던 방해 화학종이 완전히 제거되고 순수한 표준

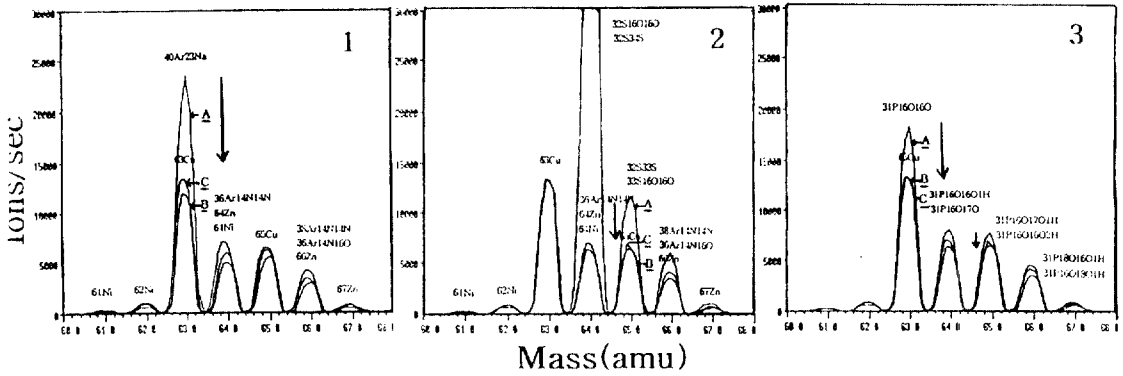


Fig. 5. ICP-MS spectra by comparison added matrix and eliminated. 1: 0.1% Na matrix, 2: 0.3% S matrix, 3: 0.08% P matrix, A: before elimination, B: after elimination, C: standard. Resin: Amberlite IRC-718, 0.6 g (16-50 mesh). Eluent: HNO<sub>3</sub> matrix (pH 0.1).

Sn 및 Bi 용액의 스펙트럼의 세기와 비교적 잘 일치하는 결과를 얻었다.

### 3.5. 검정곡선의 작성 및 검출한계 측정

혈액 및 소변의 대조시료에 0-100 ng/mL 농도 범위가 되도록 Cu, Sn과 Bi 표준용액을 각각 spike시킨 다음, 앞에서 조사한 조건에서 마이크로파 오븐으로 분해시킨 후 고체-액체 추출법으로 매트릭스 방해 화학종을 제거시켰다. 다음 각 분석원소의 표준용액에 대한 방출세기를 각각 측정하고, 이 세기와 각 금속이온의 농도를 도시하여 작성한 검정곡선을 Fig. 6에 나타내었다. 결과에서 보는 바와 같이 얻어진, 검정곡선의 상관관계함수는 Cu의 경우  $y=144.54+762.25x$ 이고, Sn은  $y=-576.90+1313.5x$ , 그리고 Bi는  $y=-4953.1+3386.3x$  이었다. 그리고 상관계수( $R^2$ )를 보면 Cu 및 Sn의 경우 1.000이었고, Bi는 0.999으로써 대단히 좋은 직선성을 나타내고 있음을 알 수 있었다.

한편 각 금속이온들의 검출한계를 조사하기 위하여 Cu, Sn 및 Bi 표준용액 1 ppb의 방출세기와 바탕용액의 방출세기를 각각 10회 측정하고 식(1)에 따라 구한 검출한계를 Table 4에 수록하였다. 결과에서 보는 바와 같이 Cu의 경우 검출한계는 평균 0.000375 ng/mL이었고, Sn은 0.000297 ng/mL, 그리고 Bi의 경우는 0.000174 ng/mL로서 가장 낮은 값을 나타내고 있었다. 이 값들은 시료로부터 Cu, Sn 및 Bi를 정량할 수 있는 최소 한계치로써 시료중에 각 금속원소가 이 정도 이상으로 함유되어 있으면 이 방법을 이용하여 충분히 정량할 수 있음을 의미한다.

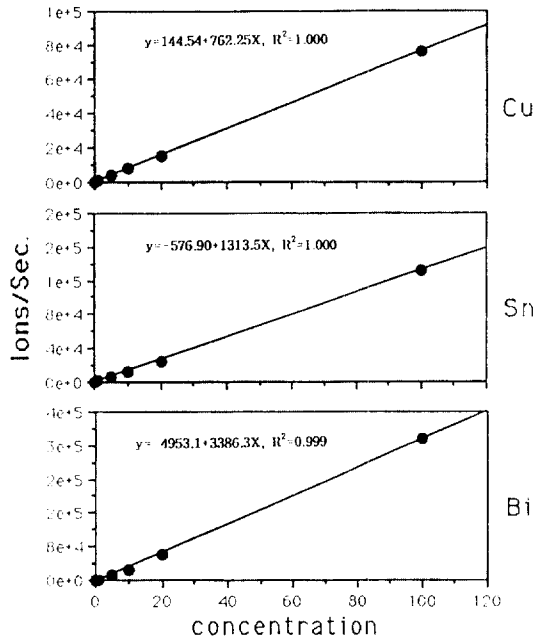


Fig. 6. Calibration curve of metal ions. Resin: Amberlite IRC-718, 0.6 g (16-50 mesh). Conc. of standard solution: 1, 5, 10, 20, 100 ppb/10 mL (10, 50, 100, 200, 1000 ng).

### 3.6. 표준 및 실제시료의 분석

최적기 및 분석조건에서 얻어진 결과를 표준 및 실제시료에 응용할 수 있는 가능성을 확인하기 위하여, 먼저 표준 SRM 955a blood 시료에 Cu, Sn 및 Bi 표준용액을 각각 spike 시켰다. 다음 앞에서 조사한 조건에서 마이크로파 오븐으로 분해시키고 각 금속이온들을 최적 pH 범위에서 흡착 및 탈착시킨 후 회수



Table 4. Analytical data for detection limit of Cu, Sn and Bi

Metal	No.	Intensity of 1 ppb (S)	Blank (B)	RSD of Blank	Net Intensity (A) (A=S-B)	Signal to Background Ratio (A/B)	Detection Limit (ng/mL)
Cu	1	2486	25	1.17	2461	98.4	0.000237
	2	3207	32	1.44	3175	99.2	0.000289
	3	3610	45	1.43	3565	79.2	0.000361
	4	2538	27	0.95	2511	93.0	0.000504
	5	2195	52	1.04	2143	41.2	0.000504
	6	2644	80	0.70	2564	32.1	0.000437
	7	2069	87	0.93	1982	22.7	0.000815
	8	2009	19	1.95	1990	104.7	0.000371
	9	2958	21	1.85	2937	139.9	0.000265
	10	2580	10	3.45	2570	257.0	0.000269
mean	-	-	-	-	-	0.000375	
Sn	1	1462	20	0.91	1442	72.1	0.000252
	2	1600	7	1.51	1593	227.6	0.000133
	3	1017	9	1.04	1008	112.0	0.000185
	4	1154	10	1.30	1144	114.4	0.000226
	5	1260	14	2.23	1246	89.0	0.000502
	6	1447	10	1.67	1437	143.7	0.000232
	7	1027	9	1.29	1018	113.1	0.000228
	8	1132	11	1.91	1121	101.9	0.000374
	9	1408	8	1.43	1400	175.0	0.000164
	10	1418	29	1.61	1389	47.9	0.000674
mean	-	-	-	-	-	0.000297	
Bi	1	1500	7	1.62	1493	213.3	0.000152
	2	2100	5	5.39	2095	419.0	0.000257
	3	2391	12	1.56	2379	198.3	0.000158
	4	2978	10	1.92	2968	296.8	0.000129
	5	2224	7	1.67	2217	316.7	0.000105
	6	1526	7	1.76	1519	217.0	0.000162
	7	1010	8	1.46	1002	125.3	0.000233
	8	2231	10	1.30	2221	222.1	0.000117
	9	1760	11	1.46	1749	159.0	0.000183
	10	1470	16	1.10	1454	90.9	0.000242
mean	-	-	-	-	-	0.000174	

율을 조사하여 Table 5에 수록하였다.

결과에서 보는 바와 같이 Cu의 경우, 각각 5회씩 100 ng을 수지에 흡착시킨 다음 탈착시킨 결과 평균적으로 99.1 ng이 탈착됨으로써, 99.1%의 높은 회수율을 얻었다. 또한 표준편차(C.V.)를 구한 결과 1.53%으로서 재현성도 비교적 좋았다. 한편, Sn과 Bi의 경우도 같은 양을 각각 5회 흡착 및 탈착시킨 결과 102.5%와 98.4%의 회수율을 나타내었다. 특히 Sn의 회수율이 약간 증가된 값을 나타내고 있지만 표준편차가 2.42%로서 비교적 재현성있는 결과를 얻었고, Bi 역시 2.26%로서 정확성 및 재현성이 높은 결과를 얻었다.

다음, 최적 기기 측정조건에서 실제 혈액 및 소변중

Table 5. Recovery of the metal ions from spiked SRM blood sample

Metal ions	Added amount (ng)	Found average (ng)	Recovery <sup>1</sup> (%)	C. V. <sup>2</sup> (%)
Cu	100	99.1	99.1	1.53
Sn	100	102.5	102.5	2.42
Bi	100	98.4	98.4	2.26

Recovery<sup>1</sup>: average value of five runs C. V.<sup>2</sup>: coefficient of variation. Resin: Amberlite IRC-718, 0.6 g (16-50 mesh). Conc. of spiked standard solutions: 100 ppb/1 mL, pH 4. Eluent: HNO<sub>3</sub> matrix (pH 0.1).

에 함유된 Cu, Sn 및 Bi의 정량을 시도한 결과는 Table 6에 각각 수록하였다. 실제 혈액 및 소변시료는

환경부의 대기오염 측정자료에 근거하여 전국을 환경오염이 심한지역, 보통지역 및 청정지역으로 구분하고, 이 지역에서 표본 추출한 12개 학교 학생들로부터 고려대학교 환경의학 연구소가 채취한 10종의 시료를 선택하였다.

먼저 혈액시료를 분석한 결과를 보면, Cu의 농도범위는 603-1252 ng/mL이었고, Sn은 16.8-96.8 ng/mL, 그리고 Bi의 경우는 2.2-43.7 ng/mL이었다. 현재까지 보고된 결과에 의하면 일반적으로 혈액중에는 1 µg/mL 정도의 Cu가 함유되어 있다고 알려졌다.<sup>7</sup> 또한 plasma와 serum중에 함유된 Cu의 양은 평균적으로 1.1 µg/mL이고, 개인적 차이에 따라 0.815-1.37 µg/mL 범위라고 보고된 바 있다. 이와 같은 Cu의 함량분포와 본 연구에서 얻어진 결과(603-1250 ng/mL)를 비교하여 보면, 대체적으로 문헌의 값들보다 적거나 비슷한 농도범위를 나타내고 있었다. 이것은 본 연구에서 선택한 시료가 대부분 환경오염으로부터 영향을 비교적 덜 받은 초등학교 및 중학교 저학년 학생들을 대상으로 한 시료이기 때문이라고 추정된다.

다음 Sn 및 Bi의 경우를 보면, Sn은 특히 1970년대에서야 비로소 인체와 동물의 신진대사 활동에 필수

원소로 알려졌기 때문에 문헌에 보고된 자료들이 Cu에 비해서 대단히 부족한 실정이다. 그 동안 생체시료 중에서 Sn의 분포는 분석방법의 향상에 따라 그 값이 각각 차이가 있었다. 그러나 방사화 중성자분석법으로 정량한 serum중 Sn의 농도는 0.502±0.096 ng/mL의 범위였고, Bi역시 측정방법 및 시료의 종류에 따라 혈액중 1 ng/mL, <3 ng/mL, 1-9 ng/mL등이 함유되어 있다는 다양한 결과가 보고되고 있다.<sup>7</sup> 본 연구에서 분석한 결과와 비교하여 보면, Sn은 16.8-96.8 ng/mL으로서 현재까지 알려진 값보다 100배 정도로 훨씬 큰 농도 범위를 나타내고 있었다. 그러나 Bi는 2.2-43.7 ng/mL로서 문헌의 값들보다 약간 크거나 비슷한 농도범위 수준을 보여 주었다.

한편 소변시료의 경우, 본 연구에서 얻어진 Cu의 농도범위는 111-170 ng/mL 이었고, Sn은 13.4-62.3 ng/mL, 그리고 Bi의 경우는 0.73-25.1 ng/mL 이었다. 현재까지 보고된 소변중 함유된 Cu의 함량은 0-50 µg/day 이었지만,<sup>7</sup> 본 연구에서는 111-170 ng/mL 정도의 범위를 나타내고 있었다. 그리고 Sn 및 Bi의 경우 소변시료 중에서 Sn의 분포는 분석방법에 따라 그 값이 각각 차이가 있었는데, 원자흡수분광법으로 정량한 Sn의 함량은 1.2-3.6 ng/mL 범위였고, Bi역시 20 ng/mL 및 0.3-4.6 ng/mL 등과 같이 측정방법에 따라 서로 다른 농도범위의 값이 알려져 있다.<sup>7</sup> 이들과 본 연구에서 분석한 결과를 비교하여 보면 Sn은 13.4-62.3 ng/mL로서 현재까지 알려진 값보다 10배 정도로 큰 농도범위를 나타내고 있었다. Bi는 0.73-25.1 ng/mL로서 문헌의 값들보다 약간 크거나 비슷한 농도범위 수준을 보여주었다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 혈액, 소변등과 같은 생체시료중 함유된 Cu, Sn 및 Bi등의 미량금속을 ICP-MS법으로 분석하기 위하여 마이크로파 오븐으로 혈액시료를 분해시키고, amberlite IRC-718 수지를 이용한 고체-액체 추출법으로 방해화합물들을 제거하였다. 그리고 ICP-MS법의 최적 측정 파라미터를 조사하고 표준 및 실체시료를 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 유기물이 다량 함유되어 있는 혈액시료는 밀폐된 마이크로파 오븐을 이용하여 1 mL의 시료를 약 8분

Table 6. Analytical results for Cu, Sn and Bi in blood and urine

Sample	Sample No.	Found (ng/mL)		
		Cu	Sn	Bi
Blood	1	603	41.1	41.7
	2	874	23.5	9.3
	3	690	42.9	43.7
	4	636	96.8	17.7
	5	772	19.8	2.2
	6	140	14.9	3.9
	7	863	16.8	3.2
	8	1250	18.1	5.0
	9	1030	25.9	3.0
	10	890	9.5	4.5
Urine	1	140	14.9	3.9
	2	148	19.8	25.1
	3	131	25.3	16.9
	4	111	27.2	20.8
	5	128	62.3	7.9
	6	148	15.7	0.9
	7	143	16.9	1.4
	8	159	13.4	0.7
	9	166	16.1	0.9
	10	170	17.5	0.8

동안 소량의 질산과 과산화수소를 사용하여 분해시키고 Pb의 회수율을 구한 결과 97.6-103.3% 이었다. 따라서 짧은 시간내에 시료를 완전히 투명하게 분해시킬 수 있는 동시에 오염이나 손실을 최소화 할 수 있었다.

2. Amberlite IRC-718 수지를 이용하여 매트릭스 및 방해화합종을 제거하고 각 금속 이온을 흡착 및 탈착시킨 다음 회수율을 조사한 결과, 모두 97.7%-99.8% 범위의 높은 회수율을, C.V.는 0.58%-4.76% 범위의 재현성이 대단히 좋은 결과를 얻었다.

3. 각 금속이온들의 검출한계를 조사한 결과, Cu의 경우 평균 0.000375 ng/mL 이었고, Sn은 0.000297 ng/mL, 그리고 Bi의 경우는 0.000174 ng/mL이었다.

4. 표준시료를 분석한 결과 Cu, Sn 및 Bi에 대한 회수율은 각각 99.1%, 102.5%, 98.4% 이었고, C.V.는 각각 1.53%, 2.42%, 2.26%으로서 정확성 및 정밀성이 높은 결과를 얻음으로써, 실제시료의 분석에 응용할 수 있음을 확인하였다.

5. 실제시료를 분석한 결과, 먼저 혈액시료의 경우 Cu의 농도범위는 603-1252 ng/mL, Sn은 16.8-96.8 ng/mL, 그리고 Bi는 2.2-43.7 ng/mL 범위임을 확인하였다. 그리고 소변시료의 경우 Cu의 농도범위는 111-170 ng/mL 이었고, Sn은 13.4-62.3 ng/mL, Bi

의 경우는 0.73-25.1 ng/mL 이었다.

### 감사의 글

본 연구는 1997년도 교육부 기초과학연구소 학술연구조성비(BSRI-97-3439)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다. 아울러 이 논문을 수행하기까지 수고하여 주신 김선태 박사에게 깊은 감사를 드립니다.

### 참 고 문 헌

1. B. Casetta, *Atomic Spectroscopy*, **12**(3), 81 (1991).
2. P. Twiss, *Atomic Spectroscopy*, **15**(1), 36 (1994).
3. P. M. Outridge, R. J. Hughes, R. D. Evans, *Atomic Spectroscopy*, **17**(1), 1 (1996).
4. Isam Marawi, Jiansheng Wang, Joseph A. Caruso, *Analytica Chimica Acta.*, **291**, 127 (1994).
5. Ralph E. Sturgeon, D. Conrad Gregoire, *Spectrochimica Acta*, **49B**(12-14), 1335 (1994).
6. S. R. Koirtyohann, *Spectrochimica Acta*, **49B**(12-14), 135 (1994).
7. H. G. Seiler, "*Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry*", 1st Ed., p. 339, Hans G Seiler, Ed. Marcel Dekker Incorp., Basel, Switzerland, 1994.