

반응셀 유도결합플라스마 질량분석분석기를 이용한 칼슘 동위원소비율의 측정과 동위원소희석법의 적용

서정기* · 임용현 · 황의진 · *이상학

한국표준과학연구원 무기분석그룹

*경북대학교 자연과학대 화학과

(2002. 6. 17 접수)

Application of Dynamic Reaction Cell - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for the Determination of Calcium by Isotope Dilution Method

Jungkee Suh*, Yonghyeon Yim, Euijin Hwang, *Sanghak Lee

Division of Chemical Metrology and Materials Evaluation, Korea Research Institute of Standards and Science, P.O. Box 102, Yusung, Taejeon, 305-600, Korea,
Tel +82-042-868-5368, FAX+82-042-868-5042 (E-mail: jksuh@kriss.re.kr)

* Department of Chemistry, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Korea

(Received June. 17, 2002)

요 약 : 반응셀이 장치된 유도결합플라스마 사중극자 질량분석기를 이용하여 자연적으로 존재하는 6개의 칼슘 동위원소의 검출특성에 관한 연구를 수행하였다. 동적반응셀 (dynamic reaction cell, DRC)장치를 이용한 실험에서 최적의 신호 대 잡음비를 얻기 위한 실험조건을 조사하였다. 본 실험을 통해서 반응기체로서 0.7 mL/min의 NH₃를 사용하고 rejection parameter (RPq)값을 0.6으로 사용함으로써, Ca의 질량위치인 m/z 40, 42, 43, 44, 46 그리고 m/z 48의 위치에서 잠재적인 간섭이온인 Ar⁺, CO₂⁺, NO₂⁺, CNO⁺ 등이 효과적으로 제거됨을 확인하였다. 검출한계는 동위원소 ⁴⁰Ca, ⁴²Ca, ⁴³Ca, ⁴⁴Ca, 및 ⁴⁸Ca에 대해서 각각 1, 29, 169, 34, and 15 pg/g으로 얻을 수 있었다. 이러한 실험조건 하에서 국제비교분석을 위해서 영국의 LGC (Laboratory of the Government Chemistry, Queens Road, Teddington, England)로부터 공급된 합성식품분해물질 중의 Ca를 동위원소희석법을 적용하여 분석하였다. 동위원소희석법에 의한 측정의 불확도는 ISO/GUM과 EURACHEM지침서에 따라 평가하였다. 측정된 시료중의 Ca의 농도와 불확도는 (66.4±1.2) mg/kg이었다. 또한 본 실험방법의 유효성을 확인하기 위해 농도가 인증된 표준시료 NRCC (National Research Council of Canada)의 SLRS-3 (riverine water CRM)과 NIST (National Institute of Science and Technology)의 SRM1643d (trace element in water)를 분석하였다.

Abstract : Inductively Coupled Plasma Dynamic Reaction Cell Quadrupole Mass Spectrometry (ICP-DRC-QMS) was characterized for the detection of the six naturally occurring calcium isotopes. The effect of the operating conditions of the DRC system was studied to get the best signal-to-noise ratio. This experiment shows that the potentially interfering ions such as Ar⁺, CO₂⁺, NO₂⁺, CNO⁺ at the calcium masses m/z 40, 42, 43, 44 and 48 were removed by flowing NH₃ gas at the rate of 0.7

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)42-868-5368 Fax : +82+(0)42-868-5042

E-mail : jksuh@kriss.re.kr

mL/min NH₃ as reactive cell gas in the DRC with a RPq value (rejection parameter) of 0.6. The limits of detection for ⁴⁰Ca, ⁴²Ca, ⁴³Ca, ⁴⁴Ca, and ⁴⁸Ca were 1, 29, 169, 34, and 15 pg/mL, respectively. This method was applied to the determination of calcium in synthetic food digest samples (CCQM-P13) provided by LGC for international comparison. The isotope dilution method was used for the determination of calcium in the samples. The uncertainty evaluation was performed according to the ISO/GUM and EURACHEM guidelines. The determined mean concentration and its expanded uncertainty of calcium was (66.4±1.2) mg/kg. In order to assess our method, two reference samples, Riverine Water reference sample (NRCC SLRS-3) and Trace Elements in Water reference sample (NIST SRM 1643d), were analyzed.

Key words: dynamic reaction cell, calcium isotopes, isotope dilution method, expanded uncertainty, ICP-MS, NRCC SLRS-3, NIST SRM 1643d.

1. 서 론

사중극자 질량분석기가 장착된 ICP-MS의 경우, 많은 다 원자 간섭이온 (polyatomic species)에 의해 영향을 받게 되며, 특히 m/z 40-80범위의 질량범위에 있는 원소를 정량할 경우 더욱 간섭이 심하다.¹ 이러한 간섭의 문제점을 해결하기 위해 hexapole collision cell^{2,3}이나 dynamic reaction cell (DRC)^{4,5}이 장착된 ICP-MS가 개발되었으며, Ar⁺을 포함하는 다 원자 이온의 간섭을 크게 줄일 수 있게 되었다. 이 장치는 ICP-MS의 skimmer cone과 질량분석관 사이에 설치된 반응셀에 기체를 주입함으로써 이온과 중성기체간의 충돌에 의한 해리 (collisional dissociation)나 화학적인 반응을 유발함으로써 간섭의 요인이 되는 다 원자 화학종을 제거한다. Hexapole collision cell의 응용 예를 들면, He-H₂ 혼합기체를 사용함으로써 다 원자 간섭이온을 제거하여 Ca, Cr, Mn, Fe, Ar, Se을 분석하였다.^{6,7} 또한 Xe기체를 사용함으로써 ³²S의 분석에 간섭을 일으키는 ¹⁶O¹⁶O의 생성을 감소시킬 수 있었다.⁸ DRC를 사용하는 경우는 NH₃ 반응기체가 주로 많이 사용되었지만 CH₄ 반응기체도 As에 간섭을 일으키는 ⁴⁰Ar³⁵Cl의 제거⁹와 Se에 간섭을 일으키는 Ar중합체 (dimer)의 제거에 효과적으로 사용되었다.¹⁰ 이러한 반응셀 기체와 생성된 다원자 간섭이온간의 반응 메카니즘은 전하이동 (charge transfer), 양성자 혹은 수소원자 전이 (proton transfer or hydrogen atom transfer)등으로 설명되고 있다.⁴

본 실험에서는 국제비교분석용으로 LGC로부터 제공된 식품분해물질 중에서 Ca성분 (Ca in synthetic food digest, CCQM-P13)을 DRC-ICP-MS를 이용하여 동위원

소희석법 (isotope dilution mass spectrometry, IDMS)으로 분석하였다. IDMS를 적용하기 위해서는 농축동위원소(enriched isotope)과 기준동위원소 (reference isotope)를 선택하여야 한다. 그러나 일반 사중극자 질량분석기가 달려있는 ICP-MS를 이용할 경우 많은 간섭이 일어날 수 있으며, Ca의 동위원소 측정에서 나타날 수 있는 간섭이온을 Table 1에 요약해서 나타내었다.

Table 1. Potential interferences of calcium isotopes and isotopic compositions of natural calcium and ⁴²Ca enriched isotope used in this IDMS experiment

Isotope	^a Natural Abundance (%)	^b Abundances of ⁴² Ca Enriched Isotope	^c Potential Interferences
⁴⁰ Ca	96.941(156)	5.11±0.17	⁴⁰ Ar ⁺ , ⁴⁰ K ⁺ , ²⁴ Mg ¹⁶ O ⁺
⁴² Ca	0.647(23)	94.41±0.19	⁴⁰ ArH ₂ ⁺ , ²⁵ Mg ¹⁶ O ⁺ , ¹² C ¹⁴ N ¹⁶ O ⁺
⁴³ Ca	0.135(10)	0.31±0.02	²⁶ Mg ¹⁶ O ⁺ , ¹¹ B ¹⁶ O ₂ ⁺ , ²⁷ Al ¹⁶ O ⁺ , ⁴² Ca ¹ H ⁺
⁴⁴ Ca	2.086(110)	0.17±0.05	⁴³ Ca ¹ H ⁺ , ²⁴ Mg ¹⁸ O, ²⁸ Si ¹⁶ O ⁺ , ¹² C ¹⁶ O ₂ ⁺ , ¹⁴ N ₂ ¹⁶ O ⁺ , ⁸⁸ Sr ⁺⁺
⁴⁶ Ca	0.004(3)	< 0.01	³² S ¹⁴ N ⁺ , ⁴⁶ Ti ⁺ , ¹⁴ N ¹⁶ O ₂ ⁺ , ⁹² Zr ⁺⁺
⁴⁸ Ca	0.187(21)	< 0.01	⁴⁸ Ti ⁺ , ³⁶ Ar ¹² C ⁺ , ¹² C ³⁶ Cl ⁺ , ³² S ¹⁶ O, ³⁴ S ¹⁴ N, ³¹ P ¹⁷ O, ⁹⁶ Zr ⁺⁺

^a : Data taken from reference (13). Numbers in parentheses indicate the uncertainty of the reported value.

^b : Data taken from certificates of supplier⁷ (Oak- Ridge Lab. in U.S.A)

^c : Data from reference (14).

이러한 간섭문제를 해결하고 정확한 동위원소희석법을 적용하기 위해서 NH₃반응기체를 이용한 DRC-ICP-MS를 사용하여 Ca의 6개의 동위원소를 측정하였다. 동위원소비율의 측정 불확도(uncertainty)에 관한 연구와 질량차별(mass bias)에 관한 연구를 수행하였다. 또한 IDMS 분석결과에 대한 측정불확도를 ISO/GUM¹¹(International Organization for Standardization/ Guide to the expression of Uncertainty in Measurement) and Eurachem 지침서¹²에 따라 평가하였으며, 확장불확도(expanded uncertainty)를 나타내었다.

2. 실험

2.1 기기 및 시약

본 실험에 사용한 기기는 ELAN 6100 DRC-ICP-MS (Perkin-Elmer SCIEX, Concord, ON, Canada)이며, 본 실험에 사용한 최적 실험조건을 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Instrumental parameters and their values for optimum calcium measurement

ICP-MS instrument	Perkin-Elmer SCIEX Elan 6100DRC
<i>Plasma conditions</i>	
Rf power	1300 W
Plasma gas flow	15 L/min
Auxiliary gas flow	1.2 L/min
Nebulizer gas flow	0.9 L/min
<i>DRC parameters</i>	
NH ₃ reaction gas flow	0.7 mL/min
Quadrupole rod offset	-7 V
Cell path voltage	-20 V
Cell rod offset	-1 V
Rejection parameter a	0.0
Rejection parameter q	0.6
Autolens	On
<i>Mass spectrometer settings</i>	
Dwell time	100 ms
Sweeps	20
Detector dead time	60 ns
Readings	1
Replicates	5
Isotopes monitored	⁴⁰ Ca, ⁴² Ca, ⁴³ Ca, ⁴⁴ Ca, ⁴⁶ Ca, ⁴⁸ Ca

DRC에서의 반응기체로 99.9995%이상의 NH₃ (Sokatron, Pennsylvania U.S.A.)를 사용하였다. 사용한 HNO₃는 (주) 동우반도체 (IKsan, Korea)에서 구입한 전자급 시약을 증류장치(sub-boiling distillation)를 이용해 정제한 다음 사용하였다. 동위원소희석법에 사용한 농축동위원소는 ⁴²Ca (Oak Ridge Lab, U.S.A)를 사용하였다. 농축동위원소 ⁴²Ca의 조성과 조성에 대한 불확도값을 Table 1에 나타내었다.

2.2 시료

본 실험에 사용한 시료는 2002년 2월 LGC (Laboratory of the Government Chemistry, Queens Road, Teddington, England)에서 국제비교분석을 위해 제공한 시료이다. 이 시료는 합성식품분해물질(synthetic food digest)중의 원소의 분석에 대한 국제 간의 분석결과와 불일치를 해결하기 위해 제공되었으며, 시료명은 CCQM-P13이다. 시료는 7% HNO₃용액으로 만들어졌으며, 60 mL Nalgene HDPE 병에 보관되었다. 주어진 매질성분의 농도는 다음과 같았다: 100~120 µg/g Cl, 80~100 µg/g K, 5~10 µg/g Mg, 20~50 µg/g Na, 20~60 µg/g P, ~0.1 µg/g Fe, ~0.2 µg/g Zn, ~0.08 µg/g Sn. 한편, 분석원소인 Ca의 경우 농도범위가 주어졌으며, Ca의 농도 범위는 25~100 µg/g이었다. 분석방법은 자유롭게 선택할 수 있도록 제안되었지만, 본 실험에서는 동위원소희석법에 의해 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 DRC의 사중극자에 가해지는 전압인 RP_q (rejection parameter q)값의 최적화

DRC-ICP-MS기기에서 6개의 Ca의 동위원소에 대해서 신호 대 잡음비(S/N ratio)가 최적조건이 될 수 있는 조건을 찾았다. 최적조건에 가장 많은 영향을 미치는 기기인자는 r.f. power, 반응기체의 유속, DRC의 사중극자에 가해지는 전압인 RP_q (rejection parameter q) 값이다.^{15,16} RP_q 및 RP_a값은 각각 DRC의 사중극자에 의해 제거되는 반응생성물의 최저 질량 및 최고 질량의 범위를 조절하는 인자이다. Elan 6100 DRC-ICP-QMS의 경우 RP_a의 값은 0으로 고정하고, RP_q의 값으로 신호의 감도를 최적화한다. 이 값(RP_q)이 낮을 경우 Ca 신호의 세기가 증가되는 반면, 바탕신호가 값도 증가된다.

따라서 바탕값은 최저가 되고 신호값은 최대가 되도록 실험조건을 최적화하여야 한다. 최적의 RP_q 값을 구하기 위해 먼저 3%의 HNO_3 를 사용한 바탕용액의 신호값과 Ca 50 ng/g 용액의 신호값을 이용하여 신호 대 잡음비를 구하여 Fig. 1에 도시하였다. 여기서 알 수 있는 바와 같이 Ca의 모든 동위원소에 대해서 신호 대 잡음비가 최대가 되는 RP_q 값은 0.6~0.7의 범위에 있음을 알 수 있었다. 여기서 ^{46}Ca 의 경우는 신호 대 잡음비가 매우 작은 값을 나타내고 있다. 이러한 이유는 ^{46}Ca 동위원소의 경우 Fig. 3의 질량스펙트럼에서 확인할 수 있는 바와 같이 바탕값이 매우 커서 신호값을 확인하기 힘들기 때문이다.

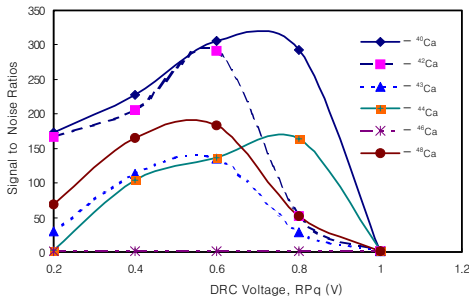


Fig. 1. Dependence of the signal to noise ratio of calcium isotopes on the DRC voltage, RP_q . The solution was introduced by means of a Meinhard nebulizer (for other experimental conditions see Table 2).

3.2 간섭이온의 제거와 반응기체 유량의 최적화

사중극자 ICP-MS를 사용할 경우 Table 1에서 나타난 바와 같이 여러 가지 분자이온의 간섭으로 인해 Ca의 측정에 방해받는다. 이러한 간섭이온을 제거하기 위해 반응기체 NH_3 를 이용한 DRC를 이용하였다. 따라서 이들 방해이온들이 충분히 제거될 수 있는 반응기체의 유량을 확인하기 위해 반응기체의 유량을 변화시키면서 방해이온 CO_2^+ , Ar^+ , NO_2^+ , CNO^+ 의 세기를 측정하였다. 그 결과를 Fig. 2에 나타내었으며, NH_3 반응기체의 유량이 0.6~0.7 mL/min. 이상일 때 이들 간섭이온들이 충분히 제거됨을 확인할 수 있었다. 한편, 반응기체의 유량을 너무 크게 하면 분석원소 Ca의 감도도 줄어들게 된다. 이것은 반응기체와 충돌에 의한 이온의 산란이 증가하여 Ca이온이 DRC의 사중극자를 충분히

통과하지 못하기 때문이다.⁴ 따라서 본 Ca동위원소 측정실험에서는 최적의 NH_3 반응기체의 유량을 방해이온도 충분히 제거하고 Ca의 감도도 크게 감소되지 않도록 하기 위해 0.7 mL/min으로 사용하였다.

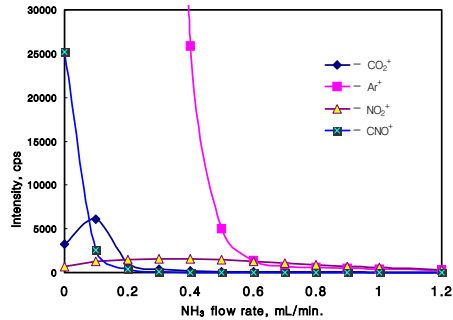
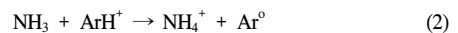


Fig. 2. Effect of the NH_3 gas flow rate on the intensities of argon ion Ar^+ and on polyatomic ions, measured at m/z 42, m/z 44, m/z 46, respectively, in 3% HNO_3 blank solution introduced by means of a Meinhard nebulizer (for other experimental conditions see Table 1).

3.3 Ca 동위원소의 측정과 검출한계

Ca의 6개의 동위원소 측정에 대한 질량스펙트럼을 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. 이 질량스펙트럼에서 6개의 Ca 동위원소인 m/z 40, 42, 43, 44, 46, 48에서의 신호의 세기와 5회 측정했을 때의 RSD%를 나타내며, Fig. 3은 3% HNO_3 의 바탕시료에 대한 질량스펙트럼을 나타내었다. Fig. 3의 질량스펙트럼에서 가장 두터진 부분은 m/z 40에서의 세기이며, 이 부분은 일반 사중극자 ICP-MS에서는 $^{40}Ar^+$ 으로 인해 이온의 세기가 매우 커서 Ca의 신호를 확인할 수 없는 질량위치이다. 그러나 NH_3 반응기체를 이용한 DRC를 사용함으로써 바탕신호의 세기가 크게 감소했음을 확인할 수 있다. 이때의 실험조건은 Table 2에 나타난 실험조건이다. 이는 다음과 같은 식 (1)과 (2)의 반응으로 인해 Ar^+ 이온은 중성원자로 되었기 때문이라 설명되고 있다.^{4,17}



따라서 NH_3 반응기체를 이용한 DRC에서 Table 1에

나타낸 잠재적인 간섭이온이 대부분 제거되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 ^{46}Ca 동위원소의 경우 약 900 cps에 가까운 신호가 나타났다. 이는 Table 1의 잠재적인 간섭이온 중에서 $^{14}\text{N}^{16}\text{O}_2^+$ 이온에 의한 영향이 가장 유력하다고 생각된다. 즉 반응기체인 NH_3 와 바탕용액 속의 HNO_3 에 의해 m/z 46에서 NO_2^+ 이온이 생성되는 것으로 생각된다. 바탕값을 고려할 때 다원자이온의 간섭이 적은 동위원소들은 ^{40}Ca , ^{42}Ca , ^{43}Ca , ^{48}Ca 임을 확인할 수 있었다.

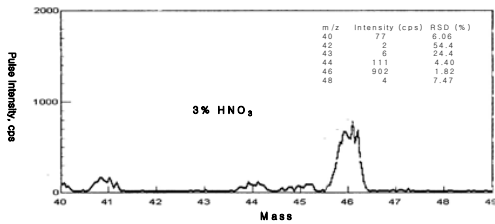


Fig. 3. DRC-ICP-QMS mass spectrum of a 3% HNO_3 blank solution at m/z 40~48. (for experimental conditions see Table 2).

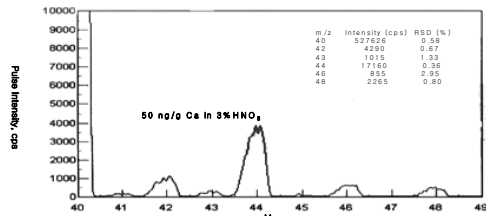


Fig. 4. DRC-ICP-QMS spectrum of a 50 ng/g solution of calcium with a natural isotopic composition (for experimental conditions see Table 2).

한편, Fig. 4에서는 50 ng/g 농도의 Ca시료의 질량 스펙트럼을 나타내었다. Ca의 각 동위원소에서의 신호의 세기와 신호세기에 대한 RSD (%)값을 나타내었다. 이 스펙트럼에서는 자연존재비가 96% 이상인 ^{40}Ca 동위원소가 대부분의 세기를 차지하게 되며, ^{46}Ca 의 경우는 바탕값 보다 오히려 더 적은 세기를 나타내었다. 따라서 자연존재비 0.04%로 가장 작은 낮으며 간섭이온에 의해서 바탕값의 세기가 가장 큰 ^{46}Ca 동위원소의 경우는 50 ng/g 농도로서는 측정이 불가능하였다. 동위원소측정의 RSD값은 자연존재비가 클수록 비례해서 좋아짐을 확인할 수 있었으며, 자연존재비가 2.08%인

^{44}Ca 의 경우 RSD가 0.36%로 나타났다.

각 동위원소의 검출한계는 다음의 식 (3)에 의해서 구하였다.¹⁸

$$C_{DL} = \frac{t \cdot s_b}{m} \quad (3)$$

여기서 C_{DL} 은 검출한계 (detection limit)이며, t 값은 Student's t-분포 표로부터 자유도와 신뢰수준을 고려하여 구한 값이며, s_b 값은 10회 이상 측정된 바탕값의 표준편차 값이다. 그리고 m 값은 검량 선으로부터 구한 기울기이다. 이 식(3)으로부터 구한 각 동위원소의 검출한계값은 다음의 Table 3과 같다. 이때의 측정조건은 Table 2에서의 조건과 같다.

Table 3. Detection Limits of calcium isotopes that have been achieved using an ELAN 6100 DRC-ICP-MS system under conditions in Table 2

Analyte	Detection Limit (pg/g)
^{40}Ca	1
^{42}Ca	29
^{43}Ca	169
^{44}Ca	34
^{46}Ca	> 50000
^{48}Ca	15

본 실험에서 구한 검출한계의 값은 ^{40}Ca 동위원소의 경우 Class 100의 청정실험실조건에서 얻은 문헌상의 검출한계와 같은 값이다.¹⁵ 다른 동위원소들에 대한 검출한계값은 지금까지의 문헌상에 나타나 있지 않았다. 이상의 실험으로부터 검출한계만을 고려할 때는 동위원소희석법을 적용하여 Ca를 분석하고자 할 때 선택해야 할 농축동위원소와 기준동위원소는 ^{40}Ca , ^{42}Ca , ^{44}Ca , ^{48}Ca 를 선택하는 것이 적절하다고 판단된다.

3.4 질량차별보정인자 (Mass Bias Correction Factor)

다음은 ICP-MS에서 동위원소비율의 측정 정확성에 중요한 영향을 미치는 것은 공간 전하의 영향 (space charge effects)에 의한 질량차별 (mass bias)의 영향이다. 동위원소비율측정에 대한 질량차별보정인자는 다음의 식(4)와 같이 표현된다.¹⁹

$$\frac{R_{\text{exp}} - R_{\text{theo}}}{R_{\text{theo}}} = K \cdot \Delta M$$

여기서 R_{exp} 와 R_{theo} 선택한 두 개의 동위원소 ④의 측정값과 이론값을 의미하며, ΔM 은 두 동위원소 간의 질량차이를 나타낸다. 이 식으로부터 질량차별보정인자 K 를 구할 수 있다. 질량차별보정인자를 이용해서 보정된 동위원소비를 R_{corr} 은 다음 식 (5)으로부터 구할 수 있었다.

$$R_{\text{corr}} = \frac{R_{\text{exp}}}{1 + K \cdot \Delta M}$$

본 실험에서는 약 100 ng/g 수준의 자연존재비의 Ca용액시료에 대해 측정된 동위원소비율값과 ⑤인 동위원소비율값¹¹을 Table 4에 나타내었다. 실험결과 질량차별이 보정된 동위원소비율값은 $^{43}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ 의 비율이 가장 이론 값과 유사하였다. 따라서 동위원소희석법을 적용하고자 할 때 적절한 농축동위원소(enriched isotope)나 기준동위원소(reference isotope)는 질량차별효과만을 고려할 때는 $^{43}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ 을 선택하는 것이 가장 적합하다고 판단된다. 이는 질량차별보정인자가 동위원소희석법의 결과에 중요한 영향을 미치기 때문이다.²⁰

Table 4. Determination of mass bias factor for Ca

Isotope Ratios ^a	Theo. Value ¹¹	Exp. Value	RSD(%) n=5	(Exp.-Theo.) /Theo.(%)	Mass Dif.	Corr. Ratios ^b	(Corre.-Theo.) /Theo.(%)
$^{40}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	149.831	128.133	0.512	-16.93	2	154.2548	2.95
$^{43}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	0.20865	0.22417	0.997	6.92	1	0.20966	0.48
$^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	3.22411	3.78115	1.26	14.73	2	3.29563	2.22
$^{46}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	0.00618	0.02664	24.229	76.80	4	0.01507	143.77
$^{48}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	0.28902	0.46199	4.047	37.44	6	0.33614	16.30

^aIon counts measured: ^{40}Ca , 944327

^bFrom Eq.(5)

mass spectrometry, IDMS)에 의한 분석

동위원소희석 질량분석법에 관해서는 이미 잘 알려져 있으며 여러 문헌에서 발견할 수 있다.^{21,22} 동위원소희석법에 의해 식품분해물질 중의 Ca를 측정하기 위해 6개의 동위원소 중 농축동위원소와 기준동위원소를 선택해야한다. 앞의 실험결과로부터 각 동위원소에서의 방해이온의 영향과 질량차별효과만을 고려해 볼 때 가장 적절한 동위원소는 ^{42}Ca 와 ^{43}Ca 의 비율을 측정하는 것이 가장 적절하다고 판단된다. 그러나, 시료의 농도가 낮을 경우 자연존재비가 적고 검출한계값이 큰 ^{43}Ca 동위원소는 부적합하다. 그러므로 본 실험에서는 $^{40}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$, $^{43}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$, $^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$, $^{48}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ 의 비율을 각각 측정하여 동위원소희석법을 모두 적용하였으며, 그 결과를 비교 검토하였다.

본 실험절차는 이중-동위원소희석법(double-IDMS)를 적용한 NIST protocol²³을 적용하였으며, 이를 위해서 시료와 ^{42}Ca 농축동위원소를 혼합한 시료를 4개 제조하고 (S1, S2, S3, S4), 또한 ^{42}Ca 농축동위원소와 일차표준용액과의 혼합 용액을 4개 (spkcal 1, spkcal 2, spkcal 3, spkcal 4), 바탕용액에 ^{42}Ca 농축동위원소를 첨가한 용액 (blank 1, blank 2)를 각각 제조하였다. 또한 질량차별인자를 구하기 위해 자연존재비의 150 ng/g 농도의 Ca 표준용액 (Natural-Ca)을 제조하였다. 이들 용액의 측정 순서와 측정된 동위원소비율을 측정 RSD(%) 데이터와 함께 Table 5에 나타내었다.

3.5 동위원소희석 질량분석법 (Isotope dilution

Table 5. The measured isotopic ratios and measurement acquisition sequence by ICP-MS for applying IDMS

Sequences & Sample Name	Measured Isotope Ratios							
	⁴⁰ Ca/ ⁴² Ca		⁴³ Ca/ ⁴² Ca		⁴⁴ Ca/ ⁴² Ca		⁴⁸ Ca/ ⁴² Ca	
	Ratios	RSD (%)	Ratios	RSD (%)	Ratios	RSD (%)	Ratios	RSD (%)
Natural-Ca	128.132	0.454	0.234	0.842	3.5714	0.825	0.544	0.262
spkcal 3-1	20.535	0.238	0.042	0.252	0.5720	0.454	0.086	0.499
spkcal 1	20.478	0.208	0.041	0.393	0.5668	0.204	0.085	0.230
spkcal 3-2	20.681	0.551	0.042	0.385	0.5737	0.385	0.085	0.655
spkcal 2	20.29	0.327	0.041	0.395	0.5627	0.572	0.084	0.322
spkcal 4	20.128	0.456	0.041	0.557	0.5605	0.464	0.083	0.289
spkcal 3-3	20.674	0.327	0.042	0.523	0.5740	0.265	0.085	0.455
balnk 1	0.7158	4.548	0.007	1.226	0.0656	1.251	0.005	18.556
blank 2	0.5998	4.894	0.007	1.556	0.0751	1.192	0.004	9.552
spkcal 3-4	20.674	0.363	0.042	0.519	0.5724	0.464	0.085	0.576
S1-1	22.721	0.642	0.046	0.440	0.6242	0.726	0.092	0.344
S2-1	22.841	0.609	0.046	0.437	0.6269	0.230	0.093	0.566
spkcal 3-5	20.681	0.134	0.042	0.391	0.5724	0.437	0.085	0.348
S3-1	22.532	0.253	0.046	0.498	0.6257	0.498	0.093	0.549
S4-1	22.460	0.752	0.046	0.774	0.6226	0.774	0.091	0.303
spkcal 3-6	20.600	0.391	0.042	0.379	0.5727	0.591	0.085	0.592
S4-2	22.451	0.088	0.045	0.509	0.6242	0.509	0.091	0.495
S3-2	22.606	0.3111	0.046	0.594	0.6277	0.594	0.093	0.624
spkcal 3-7	20.54	0.329	0.042	0.413	0.5717	0.538	0.085	0.664
S2-2	22.77	0.412	0.046	0.388	0.6246	0.388	0.092	0.366
S1-2	22.642	0.489	0.046	0.326	0.6234	0.326	0.092	0.311
spkcal 3-8	20.683	0.246	0.042	0.549	0.5720	0.551	0.085	0.585

이때 DRC-ICP-QMS에서 측정된 시료와 spkcal 용액의 농도 수준은 약 150 ng/g 수준이며, 실험조건은 Table 2에서 나타낸 조건과 같다. 이 표로부터 DRC-ICP-QMS에서 ⁴⁴Ca/⁴²Ca의 비에 대한 RSD값은 바탕용액을 제외하고는 0.2~0.6% 사이에 있음을 확인할 수 있다. 이러한 결과는 고 분해능 질량분석기의 분해능(R) 3000에서 Becker²⁴ 등이 측정한 ⁴⁴Ca/⁴²Ca 비의 측정 RSD인 0.4~0.7% 보다 좋은 값을 얻을 수 있었다. 동위원소비율측정에 대한 측정불확도는 동위원소희석법의 결과에 중요한 영향을 미친다. 이러한 예는 혈액중의 Cd을 동위원소희석법으로 측정한 J. Diemer 등의 논문에서는 동위원소비율측정의 불확도가 전체 불확도에 미치는 영향은 15-23%로 나타났다.²⁰

3.6 동위원소희석법에 의한 측정결과의 불확도 평가

동위원소희석법에 의한 시료의 농도 계산에 사용된 식²⁵은 식(6)와 같다.

$$C_x = C_z \cdot \frac{m_y m_z}{m_x m_y} \cdot \frac{R_y - R_b}{R_b - R_x} \cdot \frac{R_y - R_z}{R_y - R_y} - C_{\text{blank}} \quad \text{식(6)}$$

이 식에서의 각 인자의 의미는 Table 6에 나타난 바와 같다. Table 6에서는 ⁴⁴Ca/⁴²Ca의 동위원소비율을 측정해서 동위원소희석법을 적용할 때의 불확도 요인과 그 대표값을 나타내었다.

농축동위원소는 ⁴²Ca를 사용하고 기준동위원소의 종류에 따라서 최종 계산된 Ca의 농도와 측정불확도를 Table 7에 요약하였다. 측정불확도는 ISO/GUM¹¹ 및 Eurachem Guides¹² 따라 계산하였다. 불확도는 먼저 합성불확도 (combined uncertainty, *u_c*) 구한 다음, 유효자유도(Degree of freedom, *v*)로 부터 계산된 포함인자 (coverage factor, *k*)를 곱해 줌으로써 확장불확도 (expanded uncertainty, *U*)값을 계산하였다. 이들 불확도 값과 유효자유도는 Kragten spreadsheet method²⁶을 사용하여 구한 값이다.

Table 6. Uncertainty Budget for Ca amount content measurement by applying IDMS when the isotope ^{44}Ca was used as a reference isotope

Parameter	Typical Value	Standard Uncertainty, u	Uncertainty Type	Number of measurement, n	Description
R_b	1.7731	0.0098	A	4	mass-bias corrected measured isotope amount ratio of blend b
R_b'	1.9625	0.0095	A	4	mass-bias corrected measured isotope amount ratio of blend b'
$R_x=R_z$	0.3102	0.0197	B	-	isotope amount ratio in the sample & primary assay standard
c_{blank}	1.68 mmol/kg	0.13 mmol/kg	A	2	procedure blank
c_z	5930.0 mmol/kg	6.0 mmol/kg	B	-	amount content of the primary assay standard
R_y	555.3	94.3	B	-	isotope amount ratio in the spike
m_x	2.1243 g	0.0005 g	B	-	mass fraction of sample in blend b
m_y	1.5861 g	0.0005 g	B	-	mass fraction of spike in blend b
m'_y	6.2356 g	0.0005 g	B	-	mass fraction of spike in blend b'
m_z	2.0683 g	0.0005 g	B	-	mass fraction of primary assay standard in blend b'

Results

c_x	1657 mmol/kg	amount content in the sample (end result)
u_c	15 mmol/kg	combined uncertainty
v_{eff}	430	effective degree of freedom
k	1.97	coverage factor
U	30 mmol/kg	expanded uncertainty

Table 7. Determined concentration of calcium in synthetic food digest (CCQM-P13) determined by double isotope dilution technique

Measured Isotope Ratios	Concentration, mg/kg	Combined Uncertainty, (u)	Relative Uncertainty (%)	Degree of Freedom	Expanded Uncertainty, (U)
$^{40}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	66.74	0.48	0.73	88	0.96
$^{43}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	66.85	0.81	1.2	105	1.61
$^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	66.42	0.61	0.91	430	1.19
$^{48}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$	65.89	0.48	0.73	25	0.98
Average	66.47±1.19				
95% confidence level					

이상으로부터 동위원소희석법에 의해 구한 결과는 기준동위원소의 종류에 상관없이 모두 불확도 범위 내에서 일치함을 보여주었다. 이는 이들 동위원소에 대한 동위원소비 측정에서 간섭이온의 유의한 영향이 없을 정도로 DRC에 의해 제거되었음을 입증해 주는 결과이다. 따라서 DRC-ICP-MS를 이용하여 ^{46}Ca 를 제외한 Ca의 모든 동위원소에 대해 동위원소희석법을 적용할 수 있음을 보여주었다. 이들 불확도 값은 평균 1.8%범위에 있었다. 국제비교분석을 위해 최종적으로 보고한 결과는 평균농도에 가장 가까운 $^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$ 의 측정에 의해 구해진 값을 보고하였다.

3.7 국제적으로 공인된 표준물질을 이용한 분석 방법에 관한 유효성 입증

본 분석 방법에 대한 유효성을 검토하기 위하여 농도가 인증된 표준시료를 분석하였다. 이들 시료는 표준시료 NRCC (National Research Council of Canada)의 SLRS-3 (river water CRM)과 NIST (National Institute of Science and Technology)의 SRM1643d (trace element in water) 시료이다. 이들 시료중의 Ca성

분을 Double-IDMS방법으로 DRC-ICP-MS를 이용해 분석하였다. Double-IDMS 방법을 적용하기 위해서는 먼저 조성이 알려져 있는 농축동위원소와 시료와의 혼합 용액이 필요하다. 또한 시료에 첨가한 농축동위원소의 농도와 농도를 알고 있는 표준용액 (primary assay standard solution)과의 혼합용액 ("spike calibration solution"이라고 불림)의 제조가 필요하다. 이들 용액의 제조와 측정된 동위원소비율을 Table 8에 요약하였다.

이들 Table 8에서 나타난 각 용액의 무게와 DRC로부터 측정된 동위원소비를 값으로부터 식(6)에 의해 계산된 시료의 농도와 95%의 신뢰수준으로 나타난 확장 불확도는 SLRS-3의 경우 $5.82 \pm 0.12 \mu\text{g/g}$ 이며, NIST1643d의 경우 $30.80 \pm 0.58 \mu\text{g/g}$ 이었다. 각 표준시료의 인증값은 $\mu\text{g/mL}$ 의 단위로 표기되어 있었으므로 비중을 고려하여 $\mu\text{g/mL}$ 로 환산된 값을 각 표준시료의 인증값과 함께 Table 9에 나타내었다. 측정값은 모두 인증값과 불확도 범위 이내에서 잘 일치함을 확인할 수 있다. 이상의 결과로부터 DRC-ICP-MS를 사용한 IDMS분석방법이 유용한 방법임을 확인할 수 있었다.

Table 8. Preparation of Spike calibrations, and the mixtures of sample and enriched spike isotopic solution for the determination of Ca content in CRMs by double-IDMS.

Sample	Preparation of spike calibration solutions		Preparation of th mixtures of sample and ^{42}Ca enriched isotopic solution.		Measured isotopic ratios ($^{44}\text{Ca}/^{42}\text{Ca}$), (mean of 5 measurements \pm standard deviation)	
	Weights of $0.99 \mu\text{g/g}$ ^{42}Ca spike solution, (g)	Weights of primary assay solution, (g) (conc. $49.3018 \mu\text{g/g}$)	Wegths of Sample, (g)	Weights of $0.99 \mu\text{g/g}$ ^{42}Ca spike solution, (g)	Spike Calibtation solutions	Mixtures of sample and ^{42}Ca enriched isotopic solution
SLRS-3	8.1911	3.7758	18.0247	4.4967	0.543 ± 0.004	0.556 ± 0.005
NIST SRM1643d	2.8697	1.2424	1.0406	1.2035	0.515 ± 0.04	0.622 ± 0.005

Table 9. The determined value of calcium in certified reference materials by IDMS using DRC-ICP-MS.

CRM	Certified Value ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	Density at 22 $^{\circ}\text{C}$ (g / mL)	Determined Value ($\mu\text{g} / \text{mL}$)
SLRS-3	6.0 ± 0.4	0.99967	5.82 ± 0.12
NIST1643d	31.04 ± 0.50	1.016	31.29 ± 0.58

4. 결 론

본 실험을 통해 확인한 결과들을 요약하면 다음과 같다. 반응기체로서 0.7 mL/min의 NH₃를 사용하고 rejection parameter (RPQ)값을 0.6으로 사용함으로써, Ca의 질량위치인 m/z 40, 42, 43, 44, 46 그리고 m/z48의 위치에서 잠재적인 간섭이온인 Ar⁺, CO₂⁺, CNO⁺ 등의 효과적으로 제거됨을 확인하였다. 검출한계는 동위원소 ⁴⁰Ca, ⁴²Ca, ⁴³Ca, ⁴⁴Ca, 및 ⁴⁸Ca에 대해서 각각 1, 29, 169, 34, and 15 pg/g으로 얻을 수 있었다. 동위원소비율의 측정불확도는 DRC-ICP-QMS에서 ⁴⁰Ca/⁴²Ca, ⁴³Ca/⁴²Ca, ⁴⁴Ca/⁴²Ca, ⁴⁸Ca/⁴²Ca의 비에 대한 RSD값은 바탕용액을 제외하고는 0.2~0.6%사이에 있음을 확인할 수 있다. 이러한 실험조건 하에서 국제비교분석을 위해서 영국의 LGC로부터 공급된 합성식품분해물질 중의 Ca을 동위원소희석법을 적용하여 분석된 시료중의 Ca의 농도와 확장불확도 값은 (66.4±1.2) mg/kg이었다. 본 분석결과에 대한 국제비교분석결과에 관해서는 이후의 논문에 발표할 예정이다.

참고 문헌

1. S. H. Tan, G. Horlick, *Appl. Spectrosc.*, **40**, 445-460, (1986).
2. D. R. Bandura, V. I. Baranov, S. D. Tanner, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **370**, 454-470, (2001).
3. I. Feldmann, N. Jakubowski, D. Stuewer, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **365**, 415-421, (1999).
4. S. D. Tanner, V. I. Baranov, *At. Spectrosc.*, **20**, 45-52, (1999).
5. V. I. Baranov, S. D. Tanner, *J. Anal. at. Spectrom.*, **14**, 1133-1142, (1999).
6. I. Feldmann, N. Jakubowski, D. Stuewer, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **365**, 415, (1999).
7. I. Feldmann, N. Jakubowski, C. Thomas, D. Stuewer, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **365**, 422, (1999).
8. P. R. D. Mason, K. Kaspers, M. J. van Bergen, *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 1067, (1999).
9. S. D. Tanner, V. I. Baranov, *At. Spectrosc.*, **20**, 45, (1999).
10. U. Vollkopf, K. Klemm, M. Pfluger, *At. Spectrosc.*, **20**, 53, (1999).
11. "Guide to the expression of Uncertainty in Measurement", ISBN 92-67-10188-9, International Organization for Standardization, Genève, (1995).
12. "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement", ISBN 0-948926-08-2, Crown Copyright, EURACHEM, (1995).
13. Rosman KJR, Taylor PDP(eds), *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 5N-23N, (1999).
14. T. W. May, R. H. Weidmeyer, *At. spectrosc.*, **19**, 150-155, (1998).
15. Yu-Ling Chang, Shih-Jen Jiang, *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**, 1434-1438, (2001).
16. Jens J. sloth, Erick H. Larsen, *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**, 669-672 (2000).
17. E. R. Denoyer S.D.Tanner, U.Voellkopf, *Spectroscopy*, **14**, 2, (1999).
18. Howard E. Taylor (eds), "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Practices and Techniques", Copyright© Academic Press, Chapter10, pp152, (2001).
19. J. I. Garcia Alonso, *Anal. Chim. Acta*, **312**, 57, (1995).
20. J. Diemer, J. Vogl, C. R. Quétel, T. Linsinger, P. D. P. Taylor, A. Lamberty, J. Pauwels, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **370**, 492-498, (2001).
21. De Bièvere P, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **337**, 776-771, (1990).
22. Heuman KG (eds), "Inorganic Mass Spectrometry", Wiley, New York, pp301-376, (1985).
23. R. L. Watters, Jr., K. R. Eberhardt, E. S. Beary, J. D. Fasset, *Metrologia*, **34**, 87, (1997).
24. Becker JS, Kerl W, Dietze HJ, *Anal. Chim. Acta*, **387**, 145, (1999).
25. De Bièvre P, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **350**, 277, (1994).
26. Kragten J, *Analyst*, **119**, 2161, (1994).