

중성자방사화분석법을 이용한 성인여성 혈청중의 무기 원소 분석

문종화* · 정용삼 · 이옥희*

한국원자력연구소, *용인대학교
(2002. 7. 15 접수)

Determination of Inorganic Elements in Women Blood Serum using Instrumental Neutron Activation Analysis

Jong-Hwa Moon*, Yong-Sam Chung and Ok-Hee Lee*

Korea Atomic Energy Research Institute 150 Dukjin Dong, Yusong, Daejeon, Korea, 305-600

*YongIn University

(Received July. 15, 2002)

요 약 : 본 연구는 우리나라 성인여성의 혈청 내 미량 무기 원소의 농도를 조사하기 위해 중성자 방사화 분석법을 적용하였다. 혈청시료중의 나트륨과 염소의 높은 농도가 분석에 제한을 주었으며 이들의 간섭을 최소화시킨 분석조건에서 Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, Na, Rb, Se, Zn 와 같은 12종 원소의 분석이 가능하였다. 63명의 성인여성으로부터 채취한 혈청시료를 분석하여 각 원소의 농도수준과 범위 등을 결정하였으며 미국표준연구소의 표준물질들을 혈청시료와 동시에 분석하여 분석품질관리에 사용하였다. 혈청시료중의 무기질원소들의 평균값은 Na 과 Cl은 약 3000 mg/L, Ca은 약 100 mg/L, K은 200 mg/L, Br, Se 및 Zn은 각각 6.0, 0.1, 1.0 mg/L 등의 농도수준을 보였으며 지금까지 보고된 값과 비교한 결과 큰 차이를 보이지 않았다.

Abstract : In this study, instrumental neutron activation analysis was used to assess the concentration level of inorganic trace elements in Korean women blood serum. It was found out that high concentration of Na and Cl incurs analytical interference, but 12 elements of Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, Na, Rb, Se, Zn can be determined under the condition of interference minimization. Serum samples collected from 63 women were analyzed and the concentration level and range of the elements were evaluated. NIST SRMs were analyzed simultaneously for analytical quality control. The average values of Na and Cl determined in serum samples are around 3000 mg/L, Ca is 100 mg/L and K is 200 mg/L. Besides, Br, Se and Zn have concentration level of 6.0, 0.1 and 1.0 mg/L, respectively. It was found that there is no significant difference between the present values and reported values.

Key words : Instrumental Neutron Activation Analysis, Serum, Elemental concentration, Analytical quality control.

1. 서 론

인체의 혈액(혈청), 장기, 모발, 뇨 등과 같은 생체시료중의 무기원소는 소량 또는 생체성분으로 많은 종류가 함유되어 있으며 Na, K, I, Zn, Se, Cu, Mn, Fe, Mo 등은 인체에 필요한 필수원소로, Hg, Cd, Pb, As, Bi 등

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)42-868-8534 Fax : +82+(0)42-868-8448

E-mail : jhmoon1@kaeri.re.kr

은 유해원소로 알려져 있다. 또한 이들의 생물적, 생화학적인 작용이나 유해성 등에 관한 많은 연구결과가 보고되었다¹. 특히 혈청시료는 대표적인 생체시료로서 인체의 건강과 영양적 상태를 반영하고 있으며 무기질 원소의 농도수준이 낮아 정확한 분석법의 적용이 필수적이므로 입자유도 엑스선 방출분광법 (PIXE; Particle Induced X-ray Emission Spectroscopy), 유도결합플라즈마 원자방출분광법 (ICP-AES; Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy), 유도결합플라즈마 질량분석법 (ICP-MS; Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy), 전열증기화 원자분광법 (ETVAS; Electro-Thermal Vaporization Atomic Spectroscopy) 등과 같은 다양한 분석법이 적용되어져 왔다^{2,3}. 본 연구는 기기 중성자 방사화 분석법 (INAA; Instrumental Neutron Activation Analysis)을 적용하여 국내 성인여성의 혈청시료중의 무기 원소를 분석하고자 하였다. 이를 위해 예비실험을 통한 분석시의 간섭원소와 검출가능원소를 결정하고 최적화 된 분석조건을 도출하여 일상분석에 적용하고자 하였으며 미국 표준연구소의 인증 표준물질 4종을 동시에 분석하여 각 분석원소들에 대한 품질관리에 사용하였다. 또한 분석된 원소들의 농도수준과 범위 등을 결정하고 문헌에 보고된 농도수준⁶⁻¹¹과의 비교, 검토를 통하여 국내 성인 여성에 대한 인체보건학적인 기초 데이터를 얻고자 하였다.

2. 실험

2.1 혈청시료의 채집 및 준비

혈청시료는 여대생과 보건소에서 성인여성을 대상으로 채집하였다. 연령별로는 20대 30명, 30대 3명, 40

대 5명, 50대 8명 및 60세 이상이 17명으로서 총 63인으로로부터 식후 약 10-12 시간이 지난 후에 정맥혈에서 혈액을 채취하여 3000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 자동 피펫으로 1.9 mL를 취하여 5% 질산 용액과 3차 증류수로 세척하고 무게를 칭량해 둔 플라스틱 튜브에 옮겨 담았다. 플라스틱 튜브에 담긴 혈청시료는 중성자 방사화 분석을 위하여 -60 °C에서 48 시간 동안 냉동건조 하였다. 1.9 mL 부피의 63개 혈청을 냉동건조한 후 수분이 제거된 혈청시료들의 무게를 측정, 기록하였다. 168 mg ~ 198 mg의 범위를 나타냈으며 평균무게는 약 188 mg 이었다.

2.2 중성자 방사화 분석

2.2.1 분석조건 결정

혈청시료의 중성자 방사화 분석조건을 결정하기 위하여 예비실험을 수행하였다. 즉 단 반감기 핵종의 검출을 위하여 혈청시료 약 15 mg을 1분 동안, 장 반감기 핵종의 검출을 위하여 약 60 mg을 4시간 동안 한국원자력연구소의 하나로 연구용 원자로의 공압이송장치를 사용하여 중성자 방사화 분석용 (NAA #1) 조사공에서 중성자 조사하였다. 단 반감기 핵종의 측정에서, ³⁸Cl (반감기 : 37.24 분)의 높은 방사능으로 인해 다른 핵종의 검출이 불가능하였고, 장 반감기 핵종의 측정에서는, ²⁴Na (반감기 : 15.0 시간)의 높은 방사능으로 인해 비슷한 반감기를 갖는 핵종의 검출이 어려웠으며 20일 이상의 냉각시간이 필요함을 알 수 있었다. 예비실험 결과를 토대로 혈청시료의 분석에서 Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Fe, K, Na, Rb, Se, Zn과 같은 12종의 원소가 분석 가능함을 확인하였고 간섭을 최소화한 적정 분석조건을 설정하여 Table 1에 요약하였다.

Table 1. Experimental condition of INAA for the serum analysis.

Nuclide by Half-Life	Sample Wt. (mg)	Irradiation Time	Cooling Time	Counting Time	Nuclides detected (Gamma-Ray Energy, keV)
Short (Medium)	10 - 20	1 min.	2 - 3 hrs.	400 sec.	³⁸ Cl (1643)
			5 - 10 hrs.	6000 sec.	⁴² K (1524)
Long	50 - 100	4 hrs.	9 - 11 days	1000 sec.	⁸² Br (554), ²⁴ Na (1368)
			12 - 13 days	20000 sec.	⁴⁷ Ca (1297)
			longer than 20 days	40000 sec.	⁵¹ Cr (320), ¹³⁴ Cs (796), ⁷⁵ Se (264), ⁶⁰ Co (1173, 1332), ⁸⁶ Rb (1076), ⁵⁹ Fe (1099, 1291), ⁶⁵ Zn (1115)

2.2.2 혈청시료의 분석

혈청시료의 분석을 위해 사용된 NAA #1 조사항은 ¹⁹⁸Au의 카드뮴비가 80정도로서 일반적인 핵종에 대해 열중성자에 의한 방사화 기여도가 열외중성자 보다 절대적으로 높은 특성을 갖고 있으며 측정된 열 중성자속은 $2.81 \times 10^{13}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$ 이다. 조사된 시료의 특정 방사성 핵종으로부터 방출되는 특성 감마선을 계측하여 각 원소의 방사능 계수율을 측정하였다. 방사능 계측에 사용한 고순도 게르마늄 반도체 검출기는 EG&G ORTEC 사 제품으로서 25% relative efficiency, ⁶⁰Co의 1332 keV 에서 1.85 keV FWHM 및 Peak to Compton ratio가 45 : 1 이며, 10 cm 두께의 납으로 차폐시켜 자연방사능 및 외부 방사선의 영향을 최소화하였고, 데이터 수집 및 해석을 위한 16K-Multichannel Analyzer와 personal computer에 연결하였다. 또한 에너지 및 검출효율을 교정해 주기 위해 표준 복합선원 (Isotope Products Laboratories, ML 7500 series) 을 사용하였다. 감마선 계측시의 불감시간은 냉각시간 및 측정위치를 조절하여 10%이하로 유지하였으며 감쇠 및 pile-up의 보정은 MCA와 주 증폭기에서 자동적으로 수행되도록 구성하였다. 계측된 데이터로부터 원소의 농도를 계산하기 위

하여 방사능 생성식, IAEA의 핵 데이터 기술보고서 및 측정된 열 중성자속을 이용한 절대법으로 정량하였으며 이를 위하여 Labview로 작성한 중성자방사화분석용 계산프로그램을 사용, 계산하였다. 또한 검출 가능한 원소들의 분석품질관리를 위하여 미국표준연구소의 인증표준물질 (NIST SRM) 1572 Citrus Leaves, 1548 Total Diet, 1567a Wheat Flour, 1633a Coal Fly Ash를 혈청시료와 동일한 실험조건에서 분석하였다.

3. 결과 및 토의

3.1 표준물질의 분석결과

혈청시료에서 분석 가능한 12개의 원소에 대한 4종의 표준물질의 분석결과를 Table 2 에 나타내었다. CI을 제외한 모든 원소들의 상대오차는 10% 이내였으며 보증값의 불확도와 분석값의 표준편차와 감마선 측정시의 불확도(수 %) 등을 고려할 때 무작위 오차에 의한 것으로서 보정이 필요 없었다. 그러나 상대오차가 큰 CI의 경우에는 보정계수를 사용하여 혈청시료의 분석값을 산출하였다.

Table 2. Analytical results of NIST SRMs by INAA. (Unit : mg/kg)

Elements	Certified Value ± Unc.	Mean ± SD	Rel. Error (%)	SRM No. (Name)
Br	(8.2)	7.69 ± 0.06	-6.2	1572 (Citrus Leaves)
Ca	31500 ± 1000	32893 ± 734	4.4	1572 (Citrus Leaves)
Cl	8700 ± 400	10220 ± 110	17.5	1548 (Total Diet)
Co	(46)	42.8 ± 1.8	-7.0	1633a (Coal Fly Ash)
Cr	196 ± 6	200 ± 18	2.2	1633a (Coal Fly Ash)
Cs	(11)	10.7 ± 0.4	-2.4	1633a (Coal Fly Ash)
Fe	94000 ± 1000	96180 ± 4049	2.3	1633a (Coal Fly Ash)
	14.1 ± 0.5	13.9 ± 1.3	-1.2	1567a (Wheat Flour)
K	6060 ± 280	6029 ± 104	-0.5	1548 (Total Diet)
Na	160 ± 20	150 ± 4	-6.3	1572 (Citrus Leaves)
Rb	131.0 ± 2.0	143 ± 12	9.2	1633a (Coal Fly Ash)
	0.68 ± 0.03	0.74 ± 0.01	8.3	1567a (Wheat Flour)
Se	10.3 ± 0.6	9.97 ± 0.60	-3.2	1633a (Coal Fly Ash)
	1.1 ± 0.2	1.02 ± 0.02	-7.0	1567a (Wheat Flour)
Zn	11.6 ± 0.4	11.5 ± 0.3	-1.1	1567a (Wheat Flour)

Table 3. Analytical results of 63 serum samples by INAA. (Unit : mg/L)

Elements	Range	Mean \pm SD	RSD (%)	Average Counting Error (%)	Detection Limit	Number of Detection
Br	3.72 ~ 9.26	6.46 \pm 1.13	17	1.6	0.76	63
Ca	65.3 ~ 160.8	96.4 \pm 19.7	20	7.1	48.2	63
Cl	2445 ~ 5325	3533 \pm 627	18	4.9	381	63
*Co	0.28 ~ 3.87	1.12 \pm 0.59	52	7.2	0.44	63
*Cr	1.8 ~ 36.0	6.8 \pm 6.0	88	12.9	1.4	40
*Cs	0.29 ~ 1.33	0.74 \pm 0.27	36	14.1	0.33	60
Fe	0.24 ~ 5.07	1.41 \pm 0.78	55	4.1	0.45	63
K	106 ~ 292	191 \pm 46	24	22.2	26	63
Na	2529 ~ 5345	3365 \pm 586	17	0.8	303	63
Rb	0.10 ~ 0.39	0.20 \pm 0.05	25	2.7	0.03	63
Se	0.08 ~ 0.21	0.13 \pm 0.03	26	1.3	0.01	63
Zn	0.66 ~ 1.45	0.98 \pm 0.18	18	0.9	0.03	63

The data with asterisk(*) is in the unit of $\mu\text{g/L}$ and detection limit was calculated by Currie definition⁶, $50\{1+(1+\alpha/\beta/12.5)^{1/2}\}$

Table 4. Distribution of elemental concentration by age group. (Unit : mg/L)

Elements	Mean \pm Standard Deviation (1s)				
	20's	30's	40's	50's	60's and over
Br	6.61 \pm 1.28	5.88 \pm 0.65	6.05 \pm 0.57	6.62 \pm 0.73	6.36 \pm 1.18
Ca	104.9 \pm 23.8	97.3 \pm 10.9	85.7 \pm 12.2	83.9 \pm 9.8	90.3 \pm 9.5
Cl	3712 \pm 803	3509 \pm 506	3247 \pm 409	3080 \pm 223	3517 \pm 268
*Co	0.81 \pm 0.64	1.47 \pm 0.94	1.58 \pm 0.30	1.25 \pm 0.09	1.43 \pm 0.27
*Cr	7.32 \pm 7.58	12.09 \pm 8.11	5.53 \pm 1.54	5.44 \pm 3.57	5.73 \pm 4.12
*Cs	0.73 \pm 0.28	0.76 \pm 0.25	0.78 \pm 0.26	0.75 \pm 0.29	0.77 \pm 0.25
Fe	1.52 \pm 0.98	1.62 \pm 0.82	1.13 \pm 0.43	1.58 \pm 0.50	1.16 \pm 0.47
K	186 \pm 53	237 \pm 52	176 \pm 26	198 \pm 49	192 \pm 29
Na	3614 \pm 744	3110 \pm 122	3017 \pm 93	3115 \pm 200	3189 \pm 274
Rb	0.20 \pm 0.06	0.17 \pm 0.01	0.18 \pm 0.03	0.17 \pm 0.03	0.22 \pm 0.03
Se	0.14 \pm 0.04	0.11 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01	0.11 \pm 0.01	0.11 \pm 0.02
Zn	1.04 \pm 0.22	0.90 \pm 0.11	0.90 \pm 0.12	0.93 \pm 0.10	0.95 \pm 0.14

The data with asterisk(*) is in the unit of $\mu\text{g/L}$.

3.2 혈청시료의 분석결과 및 비교 평가

우리나라 성인여성으로부터 채집한 63개의 혈청시료를 분석한 결과는, 냉동건조 된 고체시료의 각 원소에 대한 분석값을 액체상태의 각 혈청시료에 대하여 측정, 기록된 냉동건조시의 무게를 고려하여 혈청시료의 부피에 대한 원소 무게로 환산하여 나타내었다. 주 원소인 Na와 Cl의 평균농도는 각각 3365 mg/L, 3533 mg/L를 나타냈으며, K 191 mg/L, Ca 96 mg/L, Br 6.5 mg/L, Fe 1.4 mg/L, Zn 0.98 mg/L, Rb 0.2 mg/L, Se 0.13 mg/L, Co 1.12 $\mu\text{g/L}$, Cr 6.8 $\mu\text{g/L}$, Cs 0.74 $\mu\text{g/L}$ 의 농도수준을 보였으며 Table 3 에 정리하였다. Co와 Cs

을 제외한 10개의 원소는 63개의 시료에서 모두 검출되었으며 Cr은 40개의 시료에서, Cs는 60개의 시료에서 검출되었다. 특히 Cr의 실제적인 평균 농도수준은 훨씬 낮은 수준임을 알 수 있다. 또한 Co, Cr, Fe와 같은 원소들은 50% 이상의 큰 상대표준편차를 보여 개 인간의 농도차이가 크다는 것을 알 수 있었다. 이에 비하여 Br, Na, Cl, Ca, Zn,와 같은 원소들은 20% 이하의 작은 상대표준편차를 나타냈다. 시료의 연령대에 따른 원소별 농도수준을 비교하기 위하여 Table 4에 평균값과 표준편차로서 나타내었다. 표에서 보면 몇가지 원소의 평균값은 차이가 있으나 표준편차를 고려하

면 유의한 차이가 없음을 알 수 있으며 통계적인 의미를 갖기 위해서는 더 많은 연령별 데이터가 필요하다.

Table 5는 본 연구결과와 국외에서 보고된 연구결과를 비교한 것이다. 보고값 1과 2는 각각 정상적인 성인의 혈청에 대한 서양과 일본의 연구 결과값으로서 Co, Cr, Rb 농도수준이 일본과 우리의 결과값에서 높게 나타났다. 그러나 Co와 Cr은 매우 극 미량으로서 크게 유의한 차이가 없다고 볼 수 있으나 Rb의 경우에는 현격한 차이를 보였다. 이들을 제외한 원소들은 비슷한 농도수준을 나타내고 있다.

Table 5. Comparison between our values and reported values. (Unit : mg/L)

Elements	Reported Value 1 ⁷⁻¹¹	Reported Value 2 ¹²	This Work
Br	3.0 ~ 6.0	4.9 ~ 26.3	6.46
Ca	92 ~ 109	—	96.4
Cl	—	2830 ~ 4940	3533
Co	0.0001 ~ 0.0003	0.0269 ~ 0.208	0.00112
Cr	0.0001 ~ 0.0002	0.0196 ~ 1.46	0.0068
Cs	0.001 ~ 0.002	0.0009 ~ 0.001	0.00074
Fe	0.8 ~ 1.2	2.06 ~ 8.79	1.41
K	160 ~ 211	—	191
Na	3130 ~ 3370	2840 ~ 4240	3365
Rb	0.0001 ~ 0.0003	0.06 ~ 0.963	0.20
Se	0.075 ~ 0.12	0.057 ~ 0.19	0.13
Zn	0.8 ~ 1.1	—	0.98

4. 결 론

기기 중성자 방사화 분석법으로 63개의 혈청시료 중 무기질 원소를 분석하여 12종의 원소를 분석할 수 있었으며 화학적 분리법을 통해 Na과 Cl의 간섭을 제거하면 좀 더 많은 원소를 분석할 수 있을 것이다. 분석된 원소들의 농도수준은 대부분 보고된 연구결과의 농도범위 내에 포함되었으며 국내 성인여성의 혈청중의 12개 원소에 대한 농도수준과 범위를 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력 중장기사업의 일환

으로 수행되었습니다.

참고 문헌

1. WHO, "Trace Elements in Human Nutrition and Health", Geneva, World Health Organization, Belgium, 1996.
2. W. Maenhaut, 4th International Conference on Nuclear Methods in Environment and Energy Research, Coulombia, MO, USA, 14 Apr., 1980.
3. Hiraguchi, Hiroki, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **72**(6), 1163-1186(1999).
4. I. Harrison, D. Littljohn, G. S. Fell, *Analyst* (England), **121**(2), 189-194(1996).
5. L. M. Marco, E.D. Greaves, J. Alvarado, *Spectrochimica Acta Part B*, **54**, 1469 - 1480 (1999).
6. L. A. Currie, *Anal. Chem.*, **40**, 586-593(1968).
7. G. V. Iyengar, "Elemental Analysis of Biological Systems", Vol. 1, Boca Raton, FL, CRC Press, USA, 1989.
8. J. Versieck, R. Cornelis, "Trace Elements in Human Plasma or Serum", Boca Raton, FL, CRC Press, USA, 1979.
9. G. V. Iyengar, *Biological Trace Element Research*, **12**, 263-295(1987).
10. K. Heydorn, "Neutron Activation analysis in clinical trace element analysis", Boca Raton, FL, CRC Press, USA, 1984.
11. H. Haraguchi 저, 김영상, 성혁제 번역, "ICP-방출분광법의 기초와 응용" 자유아카데미, 한국, 1990.
12. H. Nakahara, Y. Nagame, Y. Yoshizawa, H. ODA, S. Gotoh, Y. Murakami, *Journal of Radioanalytical Chemistry*, **54**(1-2), 183-190(1979).