

## 국가 바이오모니터링 프로그램을 위한 소변 중 금속류 동시분석법 개발 및 검증

조용민\* · 양민호\* · 임호섭\*† · 차상원\*\* · 이재익\*\*\* · 김기훈\*\*\* · 한상범\*\*\*\*

\*주식회사 스마트브 생명환경연구소, \*\*한국의국외대학교 화학과,  
\*\*\*한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터, \*\*\*\*중앙대학교 약학대학

### Development and Validation of the Simultaneous Analytical Method of Urinary Metals and Metalloids for the National Biomonitoring Programs

Yong Min Cho\*, Minho Yang\*, Hosub Im\*†, Sangwon Cha\*\*,  
Jaeick Lee\*\*\*, Ki Hun Kim\*\*\*, and Sang Beom Han\*\*\*\*

\*Institute for Life & Environmental Technology, Smartive Corporation

\*\*Department of Chemistry, Hankuk University of Foreign Studies

\*\*\*Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology

\*\*\*\*Department of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Chung-Ang University

#### ABSTRACT

**Objectives:** This study developed and validated an analysis method of urinary metals and metalloids that can be applied inductively with coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS).

**Methods:** 0.3 mL of urine was used to analyze 25 metal and metalloid compounds using ICP-MS. The validation of the analytical method included linearity, accuracy, precision, and the calculation of detection limits. In addition, a comparison test was performed with the graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS) method, which is the current standard method, with urine samples of 66 healthy subjects.

**Results:** The linearities ( $R^2$ ) of calibration curves of all 25 compounds were  $\geq 0.999$ . Of the 25 compounds, the intra-day and inter-day accuracy% of 17 and 20 met  $\leq 15\%$ , respectively. In addition, fifteen compounds showed  $\leq 15\%$  recovery% for certificated reference materials. Intraclass correlation coefficients of the comparison between the current methods and new methods in this study were 0.952 ( $p$ -value $<0.001$ ) and 0.911 ( $p$ -value $<0.001$ ) for urinary cadmium and mercury, respectively.

**Conclusion:** This study proposes an efficient simultaneous methodology that can analyze multi elements in smaller sample amounts. More reproduction experiments are needed in the future.

**Key words:** Urinary metals, ICP-MS, simultaneous analysis, biomonitoring

### I. 서 론

생체시료 중 환경유해물질 또는 그 대사산물의 농도를 측정하는 방법, 즉 인체 바이오모니터링은 환경유해물질에 대한 일반인구집단의 노출수준을 평가

하기 위한 효과적인 기법으로 널리 활용되고 있다.<sup>1-2)</sup> 환경유해물질의 직업적, 환경적 노출수준을 평가한 많은 연구들에서 인체 바이오모니터링이 적용되어 왔다. 또한 일반인구집단의 환경오염물질 노출수준 평가를 위한 국가적 조사에서도 인체 바이오 모니터

†Corresponding author: Institute for Life & Environmental Technology, Smartive Corporation, Dobong-ro 110 na-gil, Dobong-gu, Seoul, 01454, Korea, Tel: +82-2-911-2221, Fax: +82-2-911-2231, E-mail: hosublim@gmail.com

Received: 17 September 2019, Revised: 5 November 2019, Accepted: 6 November 2019

링이 이루어진다. 국가를 대표하는 일반인구집단의 인체 바이오모니터링은 국민들의 전반적인 환경유해물질 노출수준에 대한 공간적, 시간적 트렌드를 제시하며 인구집단 중 환경유해물질 노출수준이 높은 위험집단을 구분하는 참고 값(reference value) 산정의 근거가 되기도 한다.<sup>3-4)</sup>

우리나라를 비롯한 세계 각 국에서 국가단위의 바이오모니터링 프로그램이 이루어지고 있다. 프로그램마다 그 역사는 다르지만, 금속류는 우리나라를 비롯하여 대부분 국가의 바이오모니터링 프로그램에서 가장 오래전부터, 가장 많이 다루어진 항목이다.<sup>5-7)</sup> 체내 금속류 노출은 환경보건 분야의 전통적인 주제였으며, 현재까지도 공중보건 분야에서 가장 중요한 위험요인 중 하나로, 특히 우리나라와 같은 아시아 국가들에서 더욱 중요성이 강조될 수 있다.<sup>8)</sup>

생체시료 중 금속류 분석방법은 지난 수십년 동안 상당한 기술적 진화가 있었으며, 전통적인 불꽃원자흡수분광법(flame atomic absorption spectrometry)에서 전자열원자흡수분광법(electrothermal atomic absorption spectrometry)으로, 또 유도결합플라즈마(ICP, inductively coupled plasma) 방식으로 발전하였다.<sup>9)</sup> 한편 금속류 노출평가를 위한 생체시료로는 소변과 혈액 등이 사용되며, 비침습적이고 경제적인 방법으로 모발, 손톱 등이 활용되기도 한다. 소변은 개인에게 노출된 총 금속량을 평가하는데 적합한 바이오 마커이며,<sup>10)</sup> 식품 섭취 등을 통하여 노출되는 유기 성분보다는 환경이나 직업 등을 통하여 노출되는 무기성분의 금속원소를 평가하는데 보다 적합한 마커이다.<sup>11)</sup>

금속류는 다양한 환경 매체 중에 편재하므로, 다양한 항목에 대한 복합적 노출을 평가하여야 하는데, 특히 여러가지 물질들이 상호작용하여 건강영향을 야기하는 다항목 노출 접근방법(multipollutant approach)의 관점에서, 보다 많은 항목의 정량적 농도를 검출할 수 있는 분석방법의 개발이 필요하다.<sup>10-12)</sup> 특히 단일항목, 고농도 노출의 전통적 관점에서 다항목, 저농도, 만성노출의 중요성이 강조되는 최근 환경보건 연구 경향을 감안할 때, 다항목 동시분석이 가능하고 감도가 상대적으로 높은 유도결합플라즈마 질량분광법(ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry)이 효율적으로 활용될 수 있다.<sup>13-15)</sup> 이미 ICP-MS를 이용하여 금속류 다항목

동시분석이 이루어지고 있는 해외 바이오모니터링 프로그램과 달리,<sup>16-17)</sup> 국내에서는 여전히 원자흡수분광법(AAS, atomic absorption spectrometry)을 통한 일부 원소들의 개별분석이 이루어지고 있다. 분석법의 검증과 표준화가 상당 부분 이루어진 AAS법과 비교하여, ICP-MS를 이용한 생체시료 중 금속류 동시분석법에 대한 분석법 개발 및 검증은 국내는 물론이고 국외에서도 보고가 많지 않다. 특히 생산되는 데이터의 신뢰성과 표준화가 중요하게 여겨지는 국가 바이오모니터링 조사 사업에서 신규 분석법이 적용되기 위해서는 도전적인 분석기술의 개발과 함께, 기존에 보고된 분석결과를 재현할 수 있는 분석법의 개발과 엄격한 검증이 필요하다.

본 연구에서는 소변 시료 중 금속류 다항목을 검출, 평가하기 위한 ICP-MS 기반의 분석법을 개발하고 검증하였으며, 기존에 적용되던 분석법과의 비교를 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

본 연구에 사용한 시약은 분석용 특급시약을 구입하여 사용하였다. 다원소 Stock Solution은 Multi-Element Calibration Standard 3으로 10 mg/L (PerkinElmer, USA) 제품을 사용하였고, 수은 Stock solution은 Mercury standard solution Hg 10 mg/L (PerkinElmer, USA) 제품을 사용하였다. 또한 각 개별원소 표준물질 1,000 mg/L (SPEX CertiPrep, USA) 을 구매하여 사용하였다. 시료의 분해를 위해 사용한 시약 Nitric acid (HNO<sub>3</sub>, purity 70%, Dong Woo Fine Chem. Co. Ltd., Korea)는 반도체급을 사용하였다. 내부 정도관리 등을 확인하기 위한 인증표준물질(CRM, Certified Reference Materials)로는 미국 국립표준기술연구소(NIST, National Institute of Standards and Technology)의 Toxic Elements in Frozen Human Urine (NIST 2668)을 구입하여 사용하였다. 또한 상업적 표준물질인 ClinChek® Level 1 and 2 (Catalog no 8847, 8848 Recipe® Chemicals + Instruments GmbH, Munich, Germany)을 사용하였다.

분석을 실시한 ICP-MS 기기는 NexION 2000B (Perkin Elmer, Massachusetts, US)를 사용하였다. 동

중원소 방해요소를 제어하기 위한 시스템으로 DRC (dynamic reaction cell) 모드가 적용되었다. 현재 국내 바이오모니터링 프로그램에서 적용되고 있는 분석법을 병행하기 위한 후연로 원자흡광광도계 적용은 PinAAcle 900Z (Perkin Elmer, Massachusetts, US)를, 수은전용분석기로는 DMA-80 (Milestone, Sorisole, Italy)를 사용하였다.

## 2. 분석법 개발

ICP-MS를 통한 금속류 동시분석법 개발 대상 물질은 국내외 바이오모니터링 대상 물질을 포함하며, CRM 등을 통하여 검증이 가능한 물질을 대상으로 하였다. 특히 미국 질병관리본부의 바이오모니터링 프로그램인 NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey)의 분석법과 항목들을 참고하였으며, NHANES에서 제시한 분석항목들의 검출한계를 본 연구의 목표 검출한계로 설정하였다.<sup>18)</sup>

분석법의 개발은 분석법에 대한 이론적 검토, 표준물질 등 재료 확보, 기기 조건 및 질량분석기 조건 확립, 전처리 조건 확립, 최소 시료량 설정 등의 순서로 진행하였다. 100 mL volumetric flask를 준비하여 표준원액 1 mL를 넣은 후 1% 질산을 넣어 표선을 맞춰 사용하였으며, 최종 표준용액은 1차 표준용액을 희석하여 0.1-1,500 ng/mL의 농도사이에서 조제하여 검정곡선 작성용 최종 표준용액으로 사용하였다.

금속류 동시분석을 위한 시료로 소변 0.3 mL를 사용하였으며, ICP-MS는 DRC (dynamic reaction cell) 모드를 적용하여 최적화하였다. ICP-MS 조건 최적화를 위하여 사전에 다양한 범위에서 RF power 및 가스모드 설정 테스트를 진행하였다. 요약하면, RF power는 1,200-1,550 kW 범위에서 각각의 조건을 비교하여 최적화하였고, 가스모드는 암모니아, 산소, 헬륨, 아르곤의 조건을 비교하였다. 본 연구에서는 충돌반응장치 가스로 헬륨을 사용하였고 반응셀은 암모니아, 산소 가스를 사용하여 방해성분을 중성의 화학종 또는 분석 질량과 겹치지 않는 화학종으로 변환 간섭원을 제어하도록 하였다. 시료의 전처리는 1% 질산에 표준물질 및 분석샘플을 10배 희석하여 분석하도록 한다. 또한 Matrix Matching을 위하여 표준물 첨가법을 사용하여 분석진행 하였다.

## 3. 분석법 검증

시험방법의 유효성 검증을 위하여 견고성 시험과 비교시험이 필요하며, 이 중 견고성 시험 항목으로 선택성, 직선성, 감도, 범위, 검출한계, 정확도와 정밀도 검증을 수행하였다.<sup>19)</sup> 선택성은 분석하고자 하는 물질 외 다른 물질의 간섭을 확인하는 특이성 과정이다. 본 연구에서, 직선성에 대한 유효성 검증은 검정 표준농도 5개 이상이 되도록 하였다. 정확도는 NIST의 SRM 2668-Toxic Elements in Frozen Human Urine Level 1 and 2, Clinchek<sup>®</sup> 8847 Urine Control lyophilised/trace elemental level 1 and 8848 Level 2 등의 샘플을 분석하고 소변 시료에 최소 9 개 농도범위에서 검증하였으며 이는 국내외 바이오모니터링 프로그램에서 보고된 일반인구집단의 농도 범위를 참고로 하였다. 분석법 검증을 위한 시료로는 정상인들의 소변을 모아 -80°C에서 냉·해동의 과정을 3회 거친 후 0.45 μm 여과막에 통과시킨 소변의 pH를 조정하여 혼합소변(pooled urine)으로 사용하였다.

### 3.1. 정밀도 정확도

일내(intra-day)와 일간(inter-day) 정확도와 정밀도는 세가지 다른 농도의 샘플을 이용하였다. 일내, 일간 정확도는 5회씩 분석하도록 하며 정밀도 및 회수율을 평가하였으며, 상기 NIST 및 Clinchek<sup>®</sup> 표준물질 샘플을 분석하여 이를 통한 정확도를 평가하였다. 정밀도 실험은 3가지의 농도를 반복 측정하였으며, 일내와 일간 각각 5회의 측정을 수행하고 상대표준편차(RSD, relative standard deviation)를 산출하였다. 또한 방법검출한계는 검정곡선 중 제일 낮은 농도의 매질시료로 7회 반복측정하여 구하였다. 정확도와 정밀도의 기준은 산출된 결과의 ±15% 범위로 하였다.<sup>20)</sup>

비교시험은 현재 국립환경과학원의 바이오모니터링 프로그램에서 적용되고 있으며 표준화된 분석방법이 전해지고 있는 항목인 소변 중 카드뮴과 수은을 대상으로 하였다. 분석방법은 국민환경보건기초조사에서 적용되고 있는 방법인 생체시료 중 환경오염물질 분석매뉴얼<sup>21)</sup>을 참고하여, 카드뮴의 경우 후연로 원자흡광광도법(GF-AAS, graphite furnace atomic absorption spectrometry)을, 수은은 골드아말

감 수은전용분석법(DMA, direct mercury analysis)을 적용하였다. 인체유래물 시료의 채취와 전달, 분석에 대하여 중앙대학교 생명윤리위원회의 연구윤리 승인을 받은 후(IRB no. 1041078-201709-BR-179-01), 건강한 성인과 소아를 대상으로 20-50 mL의 소변 시료를 채취하였다. 최종적으로 66명의 소변 시료를 확보할 수 있었으며, 이 66개 시료를 분취하여 본 연구에서 개발한 ICP-MS 동시분석 방법 및 기존 분석방법(GF-AAS, DMA)에 각각 사용하였다. 즉, 동일한 시료를 대상으로 신규 개발 방법과 기존 방법에서 도출된 결과를 비교하였으며, 상관계수 및 급내상관계수(ICC, intra class correlation)를 산출하여 기존 분석법과 신규 분석법 간 분석결과와 상관성과

일치도를 산출하였다.<sup>22)</sup> 그 밖에, 두 분석결과에서 도출된 값들의 상관성을 검증하기 위하여 Pearson's 상관계수를 산출하였으며, 두 군간 차이를 비교하기 위하여 Paired t-test를 수행하였다. 통계분석에는 SPSS 프로그램(version 23, IBM Corp., NY, US)를 이용하였다.

### III. 결 과

#### 1. 개발된 분석법의 정확도 및 정밀도

소변 중 금속류 동시분석법 대상 원소는 25종을 포함하였으며 이는 베릴륨(Be, beryllium), 티타늄(Ti, titanium), 바나듐(V, vanadium), 크롬(Cr, chromium),

**Table 1.** Gas modes, linearities and LODs of 25 metals or metalloids in this study

Analyte	Mass	Gas mode	Linearity ( $r^2$ )	LOD (ng/mL)	Reference LOD* <sup>18)</sup> (ng/mL)
Beryllium (Be)	9	Standard	0.999	0.006	0.072
Titanium (Ti)	48	Ammonia	0.999	0.051	Not reported
Vanadium (V)	51	Helium	0.999	0.016	Not reported
Chromium (Cr)	52	Helium	0.999	0.009	Not reported
Manganese (Mn)	55	Helium	0.999	0.069	0.130
Cobalt (Co)	59	Helium	0.999	0.142	0.023
Nickel (Ni)	60	Helium	0.999	0.029	Not reported
Copper (Cu)	65	Helium	0.999	0.060	Not reported
Zinc (Zn)	66	Helium	0.999	0.449	Not reported
Total Arsenic (tAs)	75	Helium	0.999	0.099	0.260
Selenium (Se)	82	Ammonia	0.999	0.034	Not reported
Strontium (Sr)	88	Standard	0.999	0.012	2.340
Molybdenum (Mo)	98	Standard	0.999	0.010	0.800
Cadmium (Cd)	114	Standard	0.999	0.008	0.036
Indium (In)	115	Standard	0.999	0.019	Not reported
Tin (Sn)	118	Standard	0.999	0.035	0.090
Antimony (Sb)	121	Standard	0.999	0.022	0.022
Cesium (Cs)	133	Standard	0.999	0.008	0.086
Barium (Ba)	138	Standard	0.999	0.006	0.060
Tungsten (W)	184	Standard	0.999	0.059	0.018
Platinum (Pt)	195	Standard	0.999	0.002	0.009
Mercury (Hg)	202	Standard	0.999	0.013	0.130
Thallium (Tl)	205	Standard	0.999	0.016	0.018
Lead (Pb)	208	Standard	0.999	0.009	0.030
Uranium (U)	238	Standard	0.999	0.026	0.002

LOD, limit of detection (applied method detection limit)  
From CDC NHANES 13-14/15-16

Table 2. Accuracy and precision tests

Analyte	Spiked conc. (ng/mL)	Intra-day (n=5)		Inter-day (n=5)	
		Accuracy (%)	RSD (%)	Accuracy (%)	RSD (%)
Beryllium (Be)	0.5/2/8	119.3-124.4	0.9-2.2	99.7-116.4	8.2-9.3
Titanium (Ti)	40/160/640	117.1-125.7	1.4-4.4	86.8-96.5	3.9-22.5
Vanadium (V)	5/20/80	93.0-101.7	3.1-5.1	91.4-104.3	2.6-9.2
Chromium (Cr)	5/20/80	91.0-97.9	3.0-3.5	94.1-102.7	2.3-5.3
Manganese (Mn)	5/20/80	90.0-99.1	3.5-4.4	93.7-104.9	3.4-4.5
Cobalt (Co)	5/20/80	93.9-100.2	2.7-2.9	96.2-102.0	1.8-3.6
Nickel (Ni)	5/20/80	98.5-104.8	2.3-2.8	96.6-106.4	2.4-6.4
Copper (Cu)	10/40/160	94.3-101.3	2.5-3.8	94.9-104.0	2.4-5.7
Zinc (Zn)	75/300/1200	92.5-101.8	2.8-5.9	97.0-105.2	2.3-5.2
Total Arsenic (tAs)	20/80/320	96.2-104.2	2.3-5.7	96.5-103.7	2.4-4.1
Selenium (Se)	10/40/160	103.6-107.9	0.9-2.9	91.6-105.6	4.5-5.8
Strontium (Sr)	10/40/160	104.3-110.6	1.0-4.7	90.3-108.8	7.2-8.1
Molybdenum (Mo)	5/20/80	104.7-109.9	0.4-4.2	99.3-107.7	2.6-3.8
Cadmium (Cd)	1/4/16	107.3-111.3	1.0-2.0	97.2-108.9	4.6-4.7
Indium (In)	5/20/80	85.2-93.4	3.5-4.7	88.1-97.3	2.7-4.7
Tin (Sn)	5/20/80	89.9-98.6	3.5-4.7	93.5-99.9	2.5-2.9
Antimony (Sb)	5/20/80	91.1-100.8	3.9-4.9	95.3-103.5	2.9-3.5
Cesium (Cs)	5/20/80	88.9-97.1	2.5-4.6	92.5-101.9	3.7-3.9
Barium (Ba)	5/20/80	85.8-98.9	3.9-8.4	91.5-107.6	4.6-8.1
Tungsten (W)	5/20/80	82.4-94.9	5.2-6.5	87.7-112.7	7.8-10.5
Platinum (Pt)	0.5/2/8	79.0-98.7	5.6-12.7	88.1-102.9	4.6-9.4
Mercury (Hg)	5/20/80	68.7-78.4	5.5-6.6	73.0-88.9	6.2-8.7
Thallium (Tl)	5/20/80	83.4-97.0	4.9-7.1	89.4-101.4	4.9-5.1
Lead (Pb)	5/20/80	79.5-93.1	4.9-8.1	90.1-99.4	5.4-6.2
Uranium (U)	5/20/80	84.7-96.9	4.8-5.9	85.6-99.6	3.7-4.5

RSD, relative standard deviation

망간(Mn, manganese), 코발트(Co, cobalt), 니켈(Ni, nickel), 구리(Cu, copper), 아연(Zn, zinc), 총비소(tAs, total arsenic), 셀레늄(Se, selenium), 스트론튬(Sr, strontium), 몰리브덴(Mo, molybdenum), 카드뮴(Cd, cadmium), 인듐(Indium), 주석(Sn, tin), 안티몬(Sb, antimony), 세슘(Cs, cesium), 바륨(Ba, barium), 텅스텐(W, tungsten), 백금(Pt, platinum), 수은(Hg, mercury), 탈륨(Tl, thallium), 납(Pb, lead), 우라늄(U, uranium)을 포함한다. ICP-MS의 가스모드는 분석물질별로 표준, 암모니아, 헬륨 모드를 적용하였으며, 검정곡선 작성 시 각 물질의 직선성( $R^2$ )은 최소 0.999로 산출되었다(Table 1).

세 범위의 농도를 주입한 소변 시료를 이용하여

일내, 일간 정확도를 평가한 결과, 일내 실험의 경우 17개 항목(V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, tAs, Se, Sr, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba)에서, 일간 시험에서는 21개 항목(V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, tAs, Se, Sr, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, Pt, Tl, Pb, U)에서 각각 정확도 및 정밀도 기준( $\leq \pm 15\%$ )에 부합하였다(Table 2).

NIST의 인증표준물질과 상업적 표준물질인 ClinChek®을 이용한 분석은 두 개의 농도 범위에서 수행하였으며 (Level 1 and 2), NIST를 확보한 19개 물질 중 15개 물질(Be, V, Cr, Ni, Cu, tAs, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs, Pt, Tl, Pb, U)에서  $\pm 15\%$  이내의 정확도를 나타내었다(Table 3).

**Table 3.** Validations throughout quality control standard materials

Analyte	Level	CRM (NIST)		RM (ClinChek®)	
		CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)
Beryllium (Be)	1	10.5	96.0	8.4	140.3
	2	9.5	100.5	7.5	115.9
Titanium (Ti)	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
Vanadium (V)	1	8.9	102.7	2.0	94.5
	2	3.0	101.5	3.7	96.5
Chromium (Cr)	1	7.0	110.1	9.9	97.2
	2	1.2	99.9	13.2	99.1
Manganese (Mn)	1	24.8	131.5	10.4	95.3
	2	0.8	105.0	11.4	94.2
Cobalt (Co)	1	3.4	81.3	3.1	96.8
	2	3.4	99.4	3.8	101.7
Nickel (Ni)	1	12.3	99.4	1.7	101.5
	2	4.7	98.7	4.1	101.3
Copper (Cu)	1	4.9	89.5	1.9	109.9
	2	1.3	97.4	6.0	113.7
Zinc (Zn)	1	-	-	3.3	109.9
	2	-	-	6.5	113.7
Total Arsenic (tAs)	1	5.3	95.1	5.8	95.0
	2	2.4	99.2	7.7	98.8
Selenium (Se)	1	-	-	6.9	75.7
	2	-	-	7.8	76.4
Strontium (Sr)	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
Molybdenum (Mo)	1	5.6	87.5	1.6	94.6
	2	-	-	2.5	96.4
Cadmium (Cd)	1	10.4	100.3	6.8	107.1
	2	11.8	106.5	4.5	108.6
Indium (In)	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
Tin (Sn)	1	19.4	113.8	12.8	104.1
	2	6.7	90.3	11.6	98.3
Antimony (Sb)	1	6.4	95.7	4.0	104.6
	2	3.4	96.1	2.3	102.3
Cesium (Cs)	1	0.6	96.1	-	-
	2	6.5	101.8	-	-
Barium (Ba)	1	35.2	167.1	7.1	101.1
	2	1.3	95.6	8.9	99.7
Tungsten (W)	1	28.0	140.8	-	-
	2	16.7	121.4	-	-

Table 3. Continued

Analyte	Level	CRM (NIST)		RM (ClinChek®)	
		CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)
Platinum (Pt)	1	3.2	102.0	11.7	441.5
	2	4.1	96.3	13.2	184.4
Mercury (Hg)	1	-	-	27.4	73.3
	2	-	-	7.5	85.7
Thallium (Tl)	1	11.7	86.1	4.7	98.4
	2	4.1	88.7	2.7	98.0
Lead (Pb)	1	8.3	112.9	1.7	95.0
	2	1.6	92.2	2.9	103.1
Uranium (U)	1	22.5	85.8	-	-
	2	3.5	93.6	-	-

CRM, certificated reference material; RM, reference material; NIST, National Institute of Standards and Technology (US); CV, coefficient of variance

## 2. 기존 분석법과 신규 분석법의 비교

66건의 일반인 소변 시료를 이용하여 기존 분석법 (GF-AAS for Cd; DMA for Hg)과 신규 분석법 (ICP-MS)으로써 카드뮴 및 수은 분석을 수행하였다. 카드뮴의 경우, GF-AAS 방법과 ICP-MS 방법에서 측정된 분석농도 값의 상관관계수 (Pearson's correlation coefficient)가 0.928 ( $p$ -value<0.001)이었고, 급내상관관계수(ICC)가 0.952로 계산( $p$ -value<0.001)되었으며 두 군간 차이를 확인할 수 없었다( $p$ -value=0.220 by Paired t-test) (Fig. 1). 수은은 기존에 적용되고 있는 골드 아말감법과 본 연구에서 개발한 ICP-MS 방법을 비교하였으며, 0.844 ( $p$ -value<0.001)의 상관관계수와 0.911의 급내상관관계수( $p$ -value<0.001), 두 군간 차이가 없음을 확인할 수 있었다( $p$ -value=0.054 by Paired t-test).

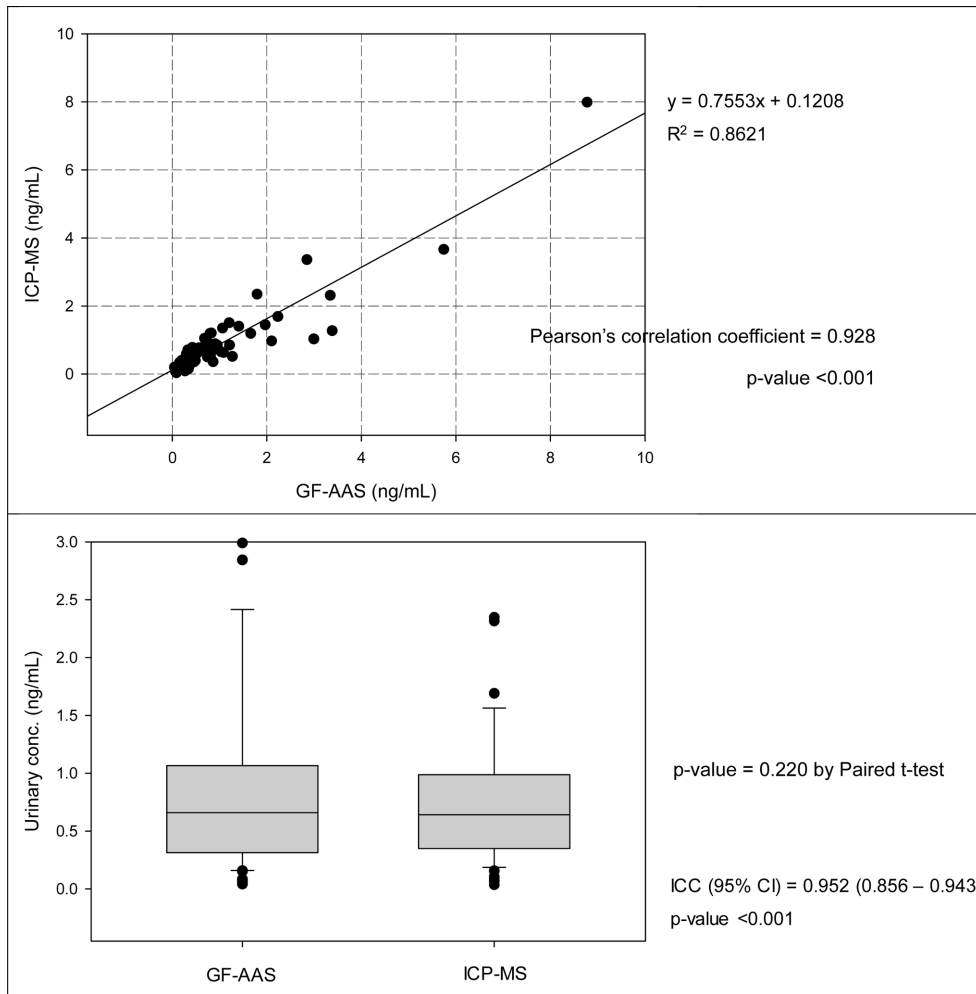
## IV. 고 찰

본 연구에서는 0.3 mL의 소변 시료를 이용하여 25종의 금속 원소를 동시분석할 수 있는 ICP-MS 기반의 분석법을 개발하고 검증하였으며, 그 결과 분석대상 물질 중 10개 항목(V, Cr, Ni, Cu, tAs, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs)에서 본 연구에서 제시한 기준에 부합하는 재현성과 정확도를 얻을 수 있었다. 본 연구에서 개발한 분석법의 검출한계는 미국과 독일에서 이루어지고 있는 바이오모니터링 프로그램에서의 검출한계와 유사한 수준을 나타내었다.<sup>18,23)</sup> 또한 일반

인 소변 시료를 이용하여 기존 분석법과 신규 개발 분석법으로 카드뮴과 수은을 분석한 결과 그 차이의 평균이 각각 14.4% (카드뮴)와 4.2% (수은)였다. 동일시료에 대한 분석법 비교 시 결과의 차이 수준이  $\pm 20\%$  이내일 때 일치도가 높은 것으로 보고 있으며,<sup>24)</sup> 본 연구에서 수행한 상관성과 급내상관관계수 결과 역시 두 방법 간 결과의 일치율이 높음을 보여 주었다.

ICP-MS를 이용한 생체시료 중 금속류 동시분석 방법은 이미 국외 바이오모니터링에서 적용되고 있으며,<sup>6,15-16)</sup> 국내에서도 일부 연구자들에 의하여 분석법이 개발, 검증된 바 있다.<sup>25-27)</sup> 본 연구에서 개발, 검증한 분석법은 보다 적은 시료량으로 많은 환경유해 금속류 분석이 가능하면서 일반인구집단의 저농도 범위에서 정량 가능하다는 장점을 가지고 있으며, 기존의 바이오모니터링 프로그램에서 알려진 농도 범위와의 일치도가 높다는 데 의미를 둘 수 있다.

생체시료 중 금속류를 분석하는 데 있어, ICP-MS는 GF-AAS 방법에 비하여 스펙트럼 간섭과 검출한계가 낮고, 신속한 분석이 가능하다는 장점을 가지고 있다. 특히 다원소 분석이 가능하고 민감도가 높다는 점은 ICP-MS가 가진 가장 큰 장점이라고 할 수 있다.<sup>14-15,28)</sup> 오늘날의 환경보건 연구에서, 생체시료 중 다원소 간의 상호작용 또는 통합 농도를 통하여 질환과의 관계를 규명하는 연구설계가 권장되며,<sup>29)</sup> 이를 위해서는 보다 효율적인 방법으로 다항목을 분석할 수 있는 분석법의 개발이 선행되어야



**Fig. 1.** Comparison of concentrations of urinary cadmium via old GF-AAS method and newly developed ICP-MS method. GF-AAS, graphite furnace atomic absorption spectrometry; ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry; conc., concentration; ICC, intraclass correlation coefficient; CI, confidence interval

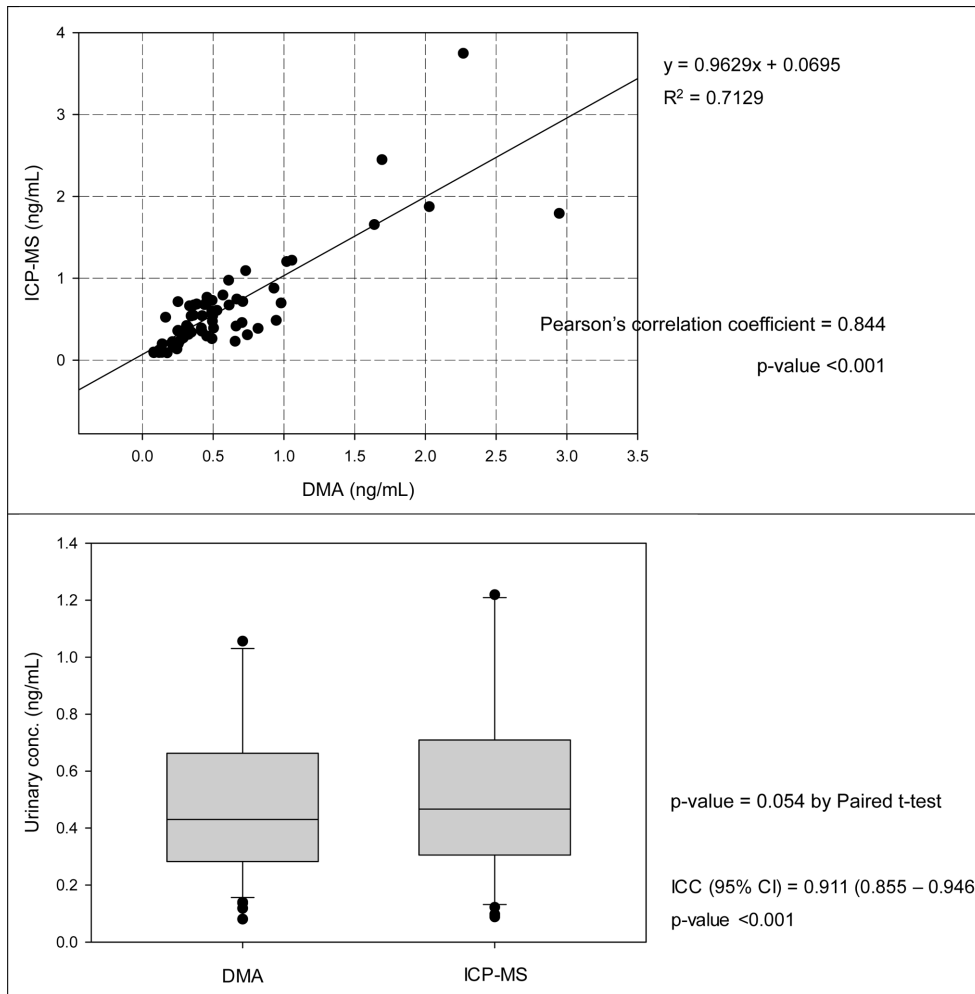
한다. 특히 국가 바이오모니터링 프로그램과 같은 대규모 조사 사업에서, 분석결과의 신뢰성 확보는 물론이고 대량의 시료를 경제적이고 안전하게 분석할 수 있는 분석법을 필요로 하는데, 경제성과 안전성은 시료량의 최소화도 포함한다. 또한 환경 바이오모니터링이 가지는 역할 중 국가 또는 지역사회 참고 값 제시의 측면에서 볼 때, 분석결과를 통해 도출된 수치의 일관성을 유지하는 것 역시 중요하다.

동일 시료를 이용하여 ICP-MS와 AAS 방법의 분석결과를 비교한 일부 선행연구들에서는 전반적으로 ICP-MS의 결과가 AAS에 비하여 낮은 것으로 보고

된 바 있다.<sup>10,30)</sup> 최근에 국내에서 수행된 한 연구에서는 두 방법 간 유의한 차이가 없었으며,<sup>14)</sup> 본 연구 역시 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서 ICP-MS와 GF-AAS의 검출한계는 카드뮴이 각각 0.008, 0.035 ng/mL, 수는 0.013, 0.035 ng/mL로, ICP-MS의 검출한계가 GF-AAS에 비하여 낮았다.

본 연구가 가진 제한점으로, 분석법의 검증 과정이 일개 실험실에서만 이루어져 실험실 간 교차검증이 이루어지지 못한 점, 즉 분석법 검증의 완전한 절차가 이루어지지 못한 점을 들 수 있다. 개발된 분석법을 바이오모니터링 프로그램에 적용하기 위해





**Fig. 2.** Comparison of concentrations of urinary mercury via old DMA method and newly developed ICP-MS method. DMA, direct mercury analysis (gold amalgam method), graphite furnace atomic absorption spectrometry; ICP-MS, inductively coupled plasma-mass spectrometry; conc., concentration; ICC, intraclass correlation coefficient; CI, confidence interval

서는 복수의 실험실을 대상으로 분석법을 검증하고 실험실간, 실험실내 교차검증을 통하여 분석결과의 재현성을 검증, 확보할 수 있도록 하여야 한다. 또한 표준물질뿐 아니라 보다 많은 수의 실제 시료를 활용하여야 하는데 이를 위해서는 보다 많은 실험과 장기간에 걸친 관찰이 필요하다.

아울러, 현재 국내 바이오모니터링에서 평가가 이루어지고 있는 카드뮴과 수은 항목을 대상으로 한 일반인구집단의 동일시료 반복실험에서 충분한 재현성을 나타내었으나 분석법 검증의 일부 항목에서 기

준을 벗어나는 결과가 산출되었다. 카드뮴의 경우, 충분한 일내, 일간 재현성, 인증표준물질을 이용한 정확도 평가에서 충분한 정확도를 나타냈던 반면, 수은은 기존 분석법과 비교하였을 때 분석결과의 재현성이 잘 유지됨에도 불구하고, 내부정도관리 상의 정확도와 정밀도 모두 기준에 부합하지 못하였는데, 이와 같은 현상을 감안할 때 금속류 동시분석법에 수은을 포함하는 것이 현 기술로는 어려울 것으로 예상된다. 현재 금속류 동시분석을 수행하고 있는 CDC NHANES 프로그램에서도 수은은 동시분석에서 제

외되고 있다.<sup>18)</sup>

현재 국내 바이오모니터링 프로그램 대상항목인 수은과 카드뮴 외에, 비소 등과 같은 항목도 환경보건평가 연구에서 많이 활용되고 있으며, 특히 ICP-MS를 이용한 중분리분석이 이루어지고 있는 바, 이에 대한 비교 평가 역시 향후에 이루어질 필요가 있다. 그 외의 항목들을 최대한 포함할 수 있는 동시분석 개발을 위해서는 물질의 성상과 특성, 표준물질 및 시료의 장기적 보관 안정성 등에 대한 고려가 필요하며, 무엇보다 반복적인 실험과 재현이 필요하다.

여러 제한점에도, 본 연구는 적은 양의 시료를 이용하여 많은 항목을 분석할 수 있는 분석법을 개발하였으며, 정확도와 정밀도를 확보함과 동시에 기존 분석법과의 일관된 결과를 도출할 수 있는 분석법을 제안하였다는데 의미를 둘 수 있다. ICP-MS를 이용한 금속류 다항목 분석법이 이미 국외 바이오모니터링 프로그램들에서 적용되고 있고, 국내에서도 연구가 진행되고 있지만 아직 국내 바이오모니터링 프로그램에서는 적용되고 있지 않다. 국가 대표 값을 제시한다는 관점에서, 분석법의 적용은 보다 엄격한 검증 기준을 필요로 하며, 기존 분석법과의 결과 재현성을 유지하는 것이 중요하다. 따라서 본 연구는 단순히 저용량 시료를 이용한 다항목 분석법을 이론적으로 개발한 것이 아니라, 보다 효율적이고 실험가능한 분석법을 제시한다는데 의의를 둘 수 있다. 일반인구집단을 대상으로 하는 다항목의 금속류의 저농도 만성노출 평가를 위하여, 향후 ICP-MS의 활용 및 지속적인 분석법 검증 연구가 필요하다.

## V. 결 론

본 연구에서는 유도결합플라즈마 질량분석기(ICP-MS)를 이용하여 소변 중 금속류 동시분석 방법을 개발하고 검증하였다. 25종의 금속류 항목들을 분석하기 위하여 0.3 mL의 소변시료를 사용하였다. 동일 시료를 이용하여 기존 국내 바이오모니터링 프로그램에서 이루어지고 있는 분석법과 신규 개발 분석법 결과를 비교한 결과, 충분히 재현성을 가진 결과가 도출되었다. 그러나  $\pm 15\%$  이내의 기준 하에서, 25종의 대상항목 중 상당 수의 물질들이 기준을 충족하지 못하는 경우가 많았으며 본 연구를 시작으로

보다 반복적인 실험법 검증과 검토가 필요하다.

## 감사의 글

본 연구는 환경부의 생활공감 환경보건기술개발사업에서 지원받았습니다(과제번호 2017001360003).

## References

1. Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(3-4): 201-228.
2. Angerer J, Aylward LL, Hays SM, Heinzow B, Wilhelm M. Human biomonitoring assessment values: approaches and data requirements. *Int J Hyg Environ Health* 2011; 214(5): 348-360.
3. Kim S. Application of biomonitoring to activities on environmental health and recommendations for Korean National Environmental Health Survey. *The Korean Journal of Public Health* 2015; 52(1): 59-74.
4. Lee JH, Lee CK, Moon CS, Choi IJ, Lee KJ, Yi SM, et al. Korea National Survey for environmental pollutants in the human body 2008: heavy metals in the blood urine of the Korean population. *Int J Environ Health* 2012; 215(4): 449-457.
5. Park C, Yu SD. Status and prospects of the Korean National Environmental Health Survey (KoNEHS). *J Environ Health Sci* 2014; 40(1): 1-9.
6. Becker K, Conrad A, Kirsch N, Kolossa-Gehring M, Schulz C, Seiwert M, et al. German Environmental Survey (GerES): human biomonitoring as a tool to identify exposure pathways. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(3-4): 267-269.
7. Haines DA, Saravanabhavan G, Werry K, Khoury C. An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian Health Measures Survey: 2007-2019. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220(2 Pt A): 13-28.
8. Awata H, Linder S, Mitchell LE, Delclos GL. Biomarker Levels of Toxic Metals among Asian Populations in the United States: NHANES 2011-2012. *Environ Health Perspect* 2017; 125(3): 306-313.
9. Butler O, Evans H, Fisher A, Hill S, Harrinton C, et al. Atomic spectrometry updates: a 25-year retrospective. *J Anal At Spectrom* 2010; 25(10): 1546-1566.
10. Fukui Y, Ohashi F, Sakuragi S, Moriguchi J, Ikeda M. Comparative evaluation of GFAAS and ICP-MS for analyses of cadmium in blood. *Ind Health* 2011;

- 49(3): 338-343.
11. Basu N, Tutino R, Zhang Z, Cantonwine DE, Goodrich JM, Somers EC, et al. Mercury levels in pregnant women, children, and seafood from Mexico City. *Environ Res* 2014; 135: 63-39
  12. Vriens A, Nawrot TS, Janssen BG, Baeyens W, Bruckers L, Covaci A, et al. Exposure to Environmental Pollutants and Their Association with Biomarkers of Aging: A Multipollutant Approach. *Environ Sci Technol* 2019; doi: 10.1021/acs.est/8b07141. [Epub ahead of print]
  13. Goullé JP, Saussereau E, Mahieu L, Guerbet M. Current role of ICP-MS in clinical toxicology and forensic toxicology: a metallic profile. *Bioanalysis* 2014; 6(17): 2245-2259.
  14. Kwon JY, Kim BG, Lim HJ, Seo JW, Kang MK, Kim YM, et al. Comparison of human blood cadmium concentrations using graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS) and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *J Environ Health Sci* 2018; 44(5): 491-501.
  15. Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, et al. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values. *Forensic Sci Int* 2005; 153(1): 39-44.
  16. Caldwell KL, Hartel J, Jarrett J, Jones RL. Inductively coupled plasma mass spectrometry to measure multiple toxic elements in urine in NHANES 1999-2000. *Atomic Spectroscopy* 2005; 26(1): 1-7.
  17. Haines DA, Saravanabhavan G, Werry K, Khoury C. An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian Health Measures Survey: 2007-2019. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220(2 Pt A): 13-28.
  18. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Laboratory Procedure Manual-Urine Multi-Element ICP-DRC-MS. CDC Method No. 3018.6-02 (15 element panel) and 3018A.4-02 (total arsenic). NHANES 2015-2016. P. 91.
  19. Kim K, Hong SY, Yoo EJ, Ko SH, Kim MO, Kim MJ, et al. Study on the validation of environmental test methods. *J Korean Society for Environmental Analysis* 2018; 21(2): 87-94.
  20. Ministry of Food and Drug Safety. Guideline on bioanalytical method validation. 11-1471000-000028-01; 2013. P. 40.
  21. National Institute of Environmental Research. A manual for analysis of environmental pollutants in the human specimen. NIER GOVP1200717001; 2006. P. 302.
  22. Kong KA. Statistical methods: reliability assessment and method comparison. *Ewha Med J* 2017; 40(1): 9-16.
  23. Becker K, Schulz C, Kaus S, Seiwert M, Seifert B. German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in the urine of the German population. *Int J Hyg Environ Health* 2003; 206(1): 15-24.
  24. Fukui Y, Ohashi F, Sakuragi S, Moriguchi J, Ikeda M. Comparative evaluation of GFAAS and ICP-MS for analyses of cadmium in blood. *Ind Health* 2011; 49(3): 338-343.
  25. Lee W, Hur YH, Park KS. 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. *Anal Sci Technol* 1998; 11(4): 281-291.
  26. Kim YH, Kim WI, Hwang SR, Song KB, Park JS, Kang YY, et al. Establishment of analytical methods for blood and urine using ICP/MS (II). Environmental Health Risk Research Department. NIER 2009-01-1057; 2009. P. 62.
  27. Lee SY, Oh HJ, Choi YH, Kim JW, Kim SH. Trace metal analysis using inductively plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Korean J Lab* 2004; 24: 362-370.
  28. Trzcinka-Ochocka M, Brodzka R, Janasik B. Useful and Fast Method for Blood Lead and Cadmium Determination Using ICP-MS and GF-AAS; Validation Parameters. *J Clin Lab Anal* 2016; 30(2): 130-139.
  29. DeBord DG, Carreón T, Lentz TJ, Middendorf PJ, Hoover MD, Schulte PA. Use of the “Exposome” in the Practice of Epidemiology: A Primer on -Omic Technologies. *Am J Epidemiol* 2016; 184(4): 302-314.
  30. Palmer CD, Lewis Jr ME, Geraghty CM, Barbosa Jr F, Parsons PJ. Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma-mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 2006; 61: 980-990.

#### <저자정보>

조용민(연구소장), 양민호(실장), 임호섭(대표), 차상원(교수), 이재익(책임연구원), 김기훈(책임연구원), 한상범(교수)