

바이오모니터링 프로그램을 위한 혈중 금속류 동시분석법 개발 및 확인 평가

차상원*  · 오은하****  · 오세림**  · 한상범***  · 임호섭**† 

*동국대학교 서울캠퍼스 화학과, **주식회사 스마트브 생명환경연구소,
중앙대학교 약학대학, *(재)씨젠의료재단 생명환경과학센터

Development and Verification of a Simultaneous Analytical Method for Whole Blood Metals and Metalloids for Biomonitoring Programs

Sangwon Cha*, Eunha Oh****, Selim Oh**, Sang Beom Han***, and Hosub Im**†

**Department of Chemistry, Dongguk University-Seoul Campus*

***Institute for Life & Environmental Technology, Smartive Corporation*

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

*****Life & Environment Science center, Seegene Medical Foundation*

ABSTRACT

Objective: Biological monitoring of trace elements in human blood samples has become an important indicator of the health environment. The purpose of this study was to detect and evaluate multiple metal items in blood samples based on ICP-MS, to perform comparative evaluation with the existing analysis method, and to develop and verify a new method.

Methods: 100 μ L of whole blood from 80 healthy subjects was used to analyze ten metals (Sb, tAs, Cd, Pb, Mn, Hg, Mo, Ni, Se, Tl) using ICP-MS. Verification of the analysis method included calculation of linearity, accuracy, precision and detection limits. In addition, a comparative test with the conventional graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GF-AAS) method was performed. In the case of Pb, Cd, and Hg in whole blood, cross-analysis between Pb, Cd, and Hg analysis methods was performed to confirm the difference between the existing method and the new method (ICP-MS).

Results: The coefficient of determination (R^2) was 0.999 or higher in seven items and 0.995 or higher in three items. The Pb result showed that Pearson's correlation coefficient was very high at 0.983, and the intraclass correlation coefficient was 0.966. The Cd result showed that Pearson's correlation coefficient was 0.917 between the existing method and the new analysis concentration value. Its intraclass correlation coefficient was 0.960, and there was no significant difference between the two groups. Hg had a low correlation at 0.687, and the intraclass correlation coefficient was 0.761, which was lower than that of Pb and Cd. The intra-day and inter-day accuracy of Pd and Cd were satisfactory, but Hg did not meet the criteria for both accuracy and precision when compared with the conventional analysis method.

Conclusion: This study can be meaningful in that it proposes a more efficient and feasible analysis method by verifying a blood heavy metal concentration experiment using multiple simultaneous analyses. All samples were processed and analyzed using the new ICP-MS. It was confirmed that the agreement between the two methods was very high, with the agreement between the current and new methods being 0.769 to 0.998. This study proposes an efficient simultaneous methodology capable of analyzing multiple elements with small samples. In

†Corresponding author: Institute for Life & Environmental Technology, Smartive Corporation, 155, Misagangbyeonhangang-ro, Hanam-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea, Tel: +82-2-911-2221, Fax: +82-2-911-2231, E-mail: hosublim@gmail.com

Received: 5 January 2021, Revised: 3 February 2021, Accepted: 3 February 2021

the future, studies of various applications and the reliability of ICP-MS analysis methods are required, and research on the verification of accurate, precise, and continuous analysis methods is required.

Key words: Whole blood metals, bio-monitoring, ICP-MS, multi-simultaneous analysis

I. 서 론

중금속은 일상생활에 널리 분포되어 있으며 산업 및 특수 환경에서 중금속을 취급하지 않아도 일반인들에게 자연스럽게 노출될 수 있어서 생물학적 모니터링의 미량 원소 분석에서 그 역할과 장단점에 대한 연구가 지속적으로 증가하고 있다.¹⁾

현재 질병 경향은 환경과 생활방식의 문제로 진화되고 있고, 직간접적 방법으로 노출을 모니터링하거나 지표물질 등을 이용한 생물학적 모니터링을 통하여 평가하고 있으며 인체모니터링을 통한 표준화되고 정확한 위해물질 노출평가에 대한 요구도가 증가되고 있다.²⁻³⁾ 이 같은 바이오모니터링은 인체 시료(혈액, 소변과 대변, 모발 및 모유 등)에서 지표물질 농도를 인체에서 측정하는 것으로 모든 노출의 경로와 노출원이 통합된, 개개인의 총 노출량과 내적 노출량에 대한 자료 제공을 하는 것 이외에도 개인 간, 개인 내의 신체활동과 대사과정의 차이뿐 아니라 흡수와 배설에 있어서의 차이를 반영한다.⁴⁻⁵⁾ 이들 인체 시료 중 혈액은 체혈량이 제한된다는 단점이 있지만, 인체 장기를 일정한 상태로 순환하며 균일하고 대표성 있는 농도를 나타내고, 신체의 생리적 상태 및 노출 정도를 예측하고 위험도를 평가하기에 많이 사용되고 있는 시료이다. 이에 임상적인 진단을 위해서 전혈 미량 원소 분석을 위한 신뢰성 있고 표준화된 방법을 확립해 오고 있다.⁶⁻⁸⁾

국내외에서 생체시료에 대한 미량 중금속 분석방법은 흑연로 원자흡광분석기(Graphite furnace-atomic absorption spectrometry, GF-AAS)를 이용한 분석이 오랫동안 사용되고 있으나 높은 검출한계와 분석시간, 재현성 문제, 조작의 문제 등으로 인해 모니터링 분석법으로 사용하기에는 부분적으로 한계가 있었다. 따라서 GF-AAS의 대안으로 낮은 검출한계와 다중항목 동시 분석이 가능한 유도결합 플라즈마 질량분석기(Inductively coupled plasma/mass spectrometry, ICP-MS)의 사용이 지속적으로 증가하고 있다.⁹⁾

금속류는 다양한 환경에 존재하기 때문에 많은 중

금속 항목에 대한 복합적인 다중 경로 노출을 평가해야 하는데 최근 들어, 특히 여러 중금속 등의 위해물질들이 상호작용하여 건강에 원인 및 영향을 야기하는 다중항목 노출 접근법(multi-pollutant approach)의 관점에서 정성/정량적 노출 중에서 특히 정량적 농도를 정확하게 검출할 수 있는 ICP-MS 기기를 이용한 소변과 혈액 중 중금속 분석방법에 대한 많은 연구들이 수행되고 있으며 이미 미국, 일본 및 EU 등에서는 모니터링 분석법으로 ICP-MS 분석법을 채택하여 GF-AAS 분석법과 병용하고 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 그러므로 우리도 선진기술을 대체하는 표준화되고 신뢰성 있는 새로운 분석방법 개발이 필요하다.

이미 오래전부터 ICP-MS 분석법을 이용하여 동시다발적으로 금속류 다중항목 분석법을 사용 중에 있는 선진국의 바이오모니터링 프로그램과 달리, 우리나라는 아직도 원자흡수 분광법(atomic absorption spectrometry, AAS)을 이용한 일부 원소들만의 개별적인 분석이 이루어지고 있는 실정이다.

특히 단일항목, 고농도 노출에 대한 전통적인 관점에서 다중항목, 저농도, 만성노출에 대한 중요성이 강조되고 있는 현재의 보건환경 연구 경향을 감안할 때, 다중항목 동시 분석이 가능하고 상대적으로 감도가 높은 ICP-MS 분석법이 효율적으로 활용될 수 있다.¹³⁻¹⁵⁾ 검증과 표준화가 상당 부분 이루어진 AAS 분석법과 비교하여, ICP-MS를 이용한 생체시료 중의 위해물질인 중금속 등에 대한 동시 분석법에 대한 신뢰성 있는 분석법 개발 및 확인에 대한 연구는 국내는 물론이고 선진국에서도 연구 및 보고가 아직 많지 않다. 특히 데이터의 신뢰성과 표준화가 매우 중요한 바이오모니터링 조사 사업에서 새로운 분석방법이 정착하고 적용되기 위해서는 도전적이고 신뢰성 있는 분석기술의 개발과 함께, 기존 확립되고 보고된 분석을 재현할 수 있는 재생성 있는 분석법의 개발과 정확한 확인 평가가 필요하다.

본 연구에서 표준물질(National Institute of Standards and Technology, NIST)이 있고, 다중항목 중에서 정확도, 정밀도 및 다중 분석 시 재현성이 좋은 항목

을 개발하고 확인 평가하였으며, 일부 항목은 현재 환경부의 국민환경보건 기초조사 바이오모니터링 사업에서 적용중인 분석법과의 비교평가를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

최근 회귀 진단, 임상, 법의학 및 독성학 등에 활용되며 미국 NIH에서 실시한 ECHO (Environmental influences on Child Health Outcomes) 프로그램에서 제시하는 환경성 질환 분류 등에서도 사용되는 베릴륨, 붕소, 리튬, 알루미늄, 바나듐, 망간, 크롬, 코발트, 니켈, 구리, 셀레늄, 몰리브덴, 은, 주석, 안티몬, 탈륨, 바륨, 비소 등의 미량 원소 중 7종과 Pb, Cd 및 Hg 등을 본 연구에서 ICP-MS를 이용하여 생체시료를 분석하는 항목으로 선정하였다.^{16,31)}

본 연구에 사용한 분석시약은 특급시약들을 구입하여 사용하였다. 각 개별원소 안티몬(Sb), 총 비소(tAs), 카드뮴(Cd), 납(lead, Pb), 망간(manganese, Mn), 수은(mercury, Hg), 몰리브덴(molybdenum, Mo), 니켈(Nickel, Ni), 셀레늄(selenium, Se), 탈륨(thallium, Tl) 표준물질 1,000 mg/L (SPEX CertiPrep, USA) 용액을 구매하여 사용하였다.

내부 표준물질은 로듐(Rhodium, Rh)과 이리듐(Iridium, Ir)을 적용하였고, 각각 1,000 mg/L (SPEX CertiPrep, USA) 용액을 구매하여 사용하였다. 시료 분해를 위한 질산(HNO₃, 순도 61-71%, 케미담, Korea)은 반도체급 시약을 사용하였다. 내부정도관리 등을 진행하기 위한 매질인증 표준물질(Certified Reference Materials, CRM)은 미국 국립표준기술연구소(National Institute of Standards and Technology, NIST) NIST SRM 955c를 사용하였고, 보조적으로 매질 표준물질(Reference Materials, RM)은 Clinchek 8840, 8841 (RECIPE사) 제품을 사용하였다. 시약조제 및 전처리에 사용된 모든 초자 등 기구는 metal-free를 위하여 20% 질산에 24시간 담근 후 초순수 증류수로 여러 번 세척하여 사용하였고, 모든 검정곡선용 표준용액 및 혈액 시료는 metalfree™ conical tube (PerkinElmer Inc., USA) 등의 용기에서 제조하였다.

무기 금속류 동시분석법 개발은 NeXION 2000B ICP-MS (PerkinElmer, Massachusetts, US)를 사용하

였다. 현재 국내 바이오모니터링 프로그램에서 적용되는 분석법과의 비교를 위한 GF-AAS로는 PinAAcle 900z (Perkin Elmer, Massachusetts, US) 장비를 이용하였고, 골드아말감 방식의 수는 전용 분석기로는 DMA-80 (Milestone, Sorisole, Italy)을 이용하여 연구하였다.

2. 분석법 개발

ICP-MS를 이용한 금속류 다중 동시 분석(multiple simultaneous analysis) 방법 개발 대상 물질은 국내외 바이오모니터링 대상 물질을 포함하되, CRM 및 RM 등을 이용하여 신뢰성 확인 평가가 가능한 물질로 하였다. 특히 미국 질병관리본부(CDC, Center for Disease Control and Prevention)의 바이오모니터링 프로그램인 NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey)의 분석법과 분석항목들 등을 참고하였으며, NHANES에서 공시한 분석항목들의 검출한계 수준을 본 연구에 개발목표로 설정하였다.¹⁸⁻¹⁹⁾

전체 연구디자인과 ICP-MS 분석법 개발 및 분석법 확인 평가는 A 기관에서, ICP-MS간 교차확인 평가 및 기존 분석법과의 교차확인 평가는 현재 국민환경보건 기초조사사업 분석기관인 B 기관에서 수행하였다.

본 연구에서는 미국 CDC에서 적용중인 ICP-MS 전처리법 중 희석법을 사용하였으며 산성과 알칼리 조건을 비교하면서 생산된 데이터 및 시험방법에 대한 확인 평가를 진행하였다.

전처리 방법의 최적화를 위하여, 전혈 100 µL에 1.0% 질산 100 µL 혹은 바탕 혈액(base blood) 100 µL, 희석제 4.8 mL를 넣어 기기분석용 시료를 준비하였고, 혈액의 높은 매질효과(matrix effect)를 보정해 주기 위해 모든 실험은 표준물질 첨가법(standard addition method)으로 진행하였다. 검정곡선용 1차 표준용액은 1.0% 질산에 희석하여 2,000 ppb로 제조하였다. 이후 0.5 ppb까지 1.0% 질산으로 단계적으로 희석, 제조하였다.

ICP-MS 분석용 전처리 방법의 종류에는 마이크로 웨이브(closed-vessel microwave) 또는 핫 블록(hot block)을 이용한 분해(digestion) 방법¹⁷⁾과 산성과 염기성 희석(dilution) 방법으로 구분되는데 후자의 방법으로 간단히 희석하여 분석할 수 있고, 시약의 오

염을 최소화하도록 할 수 있으며 미국 CDC에서 발행된 분석 메뉴얼¹⁸⁾을 기반으로 하여 염기성 희석제와 산성 희석제를 비교하였다.

그 구성성분과 조성은 3차 증류수에 tetramethylammoniumhydroxide (TMAH) 0.4%, ethanol 1%, ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) 0.01%, triton X-100 0.05%, 금(gold, Au) 200 ppb가 들어가고 로듐(Rh), 이리듐(Ir)을 각각 10 ppb의 농도로 첨가하여 내부표준물질로 사용하였다. 산성 희석제는 기존에 보고된 참고문헌¹⁹⁾을 기초로 하여 준비하였으며, 그 구성성분과 조성은 질산 0.5%, triton X-100 0.1%, 1-propanol 2%, Au 200 ppb에 Rh, Ir을 각각 10 ppb의 농도로 첨가하여 내부표준물질로 사용하였다. 그리고 시료의 희석배율을 평가 대상 원소 10종에서 상대오차 20% 이내로 나타난 50배를 최적 조건으로 설정하였다.

ICP-MS 분석 시 발생하는 동중원소에 의한 방해를 제어하고자 DRC (Dynamic Reaction Cell) 모드를 적용하였다. 그리고 ICP-MS 기기조건 최적화를 위해서 다양한 범위에서 RF (Radio Frequency) power와 DRC 가스모드 설정 테스트를 진행하였다. RF power는 1,500~1,600 kW 범위에서 조건에 따라 각각 비교하며 최적화하였고, 분석대상 원소 중 RM, CRM 총 4종의 상대오차 20% 이내에 들어오는 원소들을 선별하는 방식으로 셀 가스 종류와 유량을 최적화하였다. 사용된 가스모드는 총 4종으로 표준 모드(standard mode)에 Ar, DRC 모드에 메테인(CH₄)과 산소(O₂), KED (Kinetic Energy Discrimination) 모드에 헬륨(He)을 사용하였다.

본 연구에서는 충돌반응 장치의 가스로 He를 사용하였고 반응 셀은 NH₃와 O₂를 사용하여 방해 성분을 중성 화학종 또는 분석한 질량과 겹치지 않는 화학종으로 변환 간섭원(interference source)을 제어하였다.

3. 분석법 확인 평가

개발된 정량분석법의 신뢰성 및 재현성을 증명하고자 ISO, IUPAC, EURACHEM 등 국제기준에 준하여, 선택성, 직선성, 검출한계, 정밀도 및 정확도, 교차확인 평가 등을 포함한 분석법 확인 평가(method verification)를 수행하였다.²⁰⁻²¹⁾

본 연구에서는, 검정곡선 작성을 위한 표준용액의

농도 범위는 전체물질의 LOQ~2,000 ng/mL의 농도가 되도록 희석하여 표준용액을 만들어 동시 분석한 다음 각 원소별 검정곡선을 작성하였다. 정밀도와 정확도는 NIST SRM 955c를 사용하였고, 보조적으로 RM으로는 Clinchek® 8840, 8841을 사용하였다. 혈액의 높은 매질간섭 효과를 보정해주기 위해 모든 실험은 표준물질 첨가방법으로 진행하였다. 국내외의 바이오모니터링 프로그램들에서 보고한 일반 인구집단 농도 범위를 참고로 하여 정리하였다.

3.1. 정밀도, 정확도

바탕 매질시료에 표준물질을 세 가지 농도로 첨가한 각각 5개의 개별시료를 5일 간 반복 분석하여 일자 내(Intra-day)와 일자 간(Inter-day) 정밀도 및 회수율을 산출하였다. 그리고 CRM인 NIST의 SRM 및 RM인 Clinchek®을 사용하여 정확도를 평가하였다.

3.2. 직선성, 검출 및 정량한계

분석조건 최적화에 성공한 11종 원소에 대하여 검정곡선 작성용 1차 혼합표준물질을 제조하였고, 이를 각 농도별로 희석하여 직선성(linearity)을 평가하였다. 확인된 직선범위(dynamic range)를 토대로 시료 및 표준물질의 최적 희석배율을 50배로 설정하였다. 확정된 농도 구간에서 7개 항목은 결정계수(R²) 0.999 이상, 3개 항목은 0.995 이상의 좋은 상관성을 보였다(1.95-500 ng/mL). 그러나 Cu의 경우는 0.95 이하로 충분한 상관성을 확보하지 못하였고, 대부분의 연구에서는 Cu의 농도는 혈청 시료에서 분석하고 있음을 확인하여, 이후 평가에서는 제외하였다.

따라서 분석법 확인 평가는 총 10종을 대상으로 시행하였다. 그리고 검출한계(limit of detection, LOD)는 신호 대 잡음비(S/N비)에 근거하는 방법으로 신호 대 잡음비가 2-3배로 나타나는 분석대상물질 농도를 검출한계로 하였고, 정량한계(limit of quantification LOQ)는 10회 반복 측정된 표준편차의 10배로 하였다.²¹⁾

3.3. 상관성 분석

개발된 ICP-MS법과 기존 분석법의 차이를 확인하고자 비교시험을 진행하였다. 비교시험 대상항목은 현재 바이오모니터링 프로그램인 국민환경보건 기초

조사(Korean National Environmental Health Survey, KoNEHS)에서 혈액에서 분석 중인 Pb, Cd 및 Hg 이었고, 기존 분석법으로는 KoNEHS에서 적용되는 방법인 생체시료 중 환경오염물질 분석매뉴얼²¹⁾을 참고하여, Pb과 Cd의 경우 GF-AAS법을, Hg은 골드아말감 DMA법을 적용하였다.

인체 유래물에 대한 채취와 전달, 분석에 대하여 중앙대 생명윤리위원회의 연구 윤리 승인을 받은 후 (IRB NO. 1041078-201709-BR-179-01), 연구사업 수행을 위해 확보 및 보관하던 시료 중 폐기예정인 80명의 혈액시료를 확보할 수 있었으며, 동일 시료에 대한 GF-AAS와 ICP-MS와의 교차확인 평가와 실험실간 교차확인 평가를 실시하여 결과를 비교하였으며, 상관계수와 급내 상관계수(intra class correlation, ICC)를 산출하여 분석결과에 대한 상관성과 일치 정도를 산출하였다.²²⁾

그 밖에, 서로 다른 장비 간 분석결과에서 산출된 값들에 대한 상관성을 확인 평가하기 위하여 Pearson's 상관계수(Pearson Correlation Coefficient, PCC)를 산출하였으며, 두 군사이의 차이점을 비교하기 위하여 Paired t-test를 수행하였다. 이에 대한 통계분석으로는 SPSS 프로그램(version 23, IBM Corp., NY, US)를 이용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 신규 분석법의 확인 평가결과

혈액 중 금속류 동시 분석법 대상 원소는 안티몬(antimony, Sb), 총비소(arsenic, tAs), 카드뮴(cadmium, Cd), 납(lead, Pb), 망간(manganese, Mn), 수은(mercury, Hg), 몰리브덴(molybdenum, Mo), 니켈(Nickel, Ni), 셀레늄(selenium, Se), 탈륨(thallium, Tl) 등의 10종을 포함하였다.

일반적으로 ICP-MS 전처리 방법에 이용하는 마이크로웨이브(closed-vessel microwave) 또는 핫 블록(hot block)을 이용한 분해방법은 생체시료의 모든 유기물을 완전히 분해하며 휘발성 원소의 손실을 감소시켜 분석할 수 있지만, 마이크로웨이브 용기 오염의 가능성이 크고 대용량처리에 비용과 시간이 많이 소요되는 단점이 있으며 산과 염기 회석방법은 간단히 회석하여 분석할 수 있고, 시약의 오염을 최소화하도록 하고 질산을 첨가하면 단백질을 응고시킬 것으로 예상하며, 계면활성제를 첨가하면 세포막을 파괴하고 시료 균질성을 유지하는 데 도움이 되는 방법이다.

본 연구에 적용한 회석법 중 염기성과 산성 회석제 비교 결과, 염기성 회석제가 산성 회석제에 비해

Table 1. Results from the method verification: Gas mode, linearities and LODs of 10 metals

Analyte	Mass	Gas mode	Linearity (R ²)	LOD (ng/mL)	Reference LOD (ng/mL)		
					CDC ICP-MS* ¹⁸⁾	3rd KoNEHS**	Reference
Antimony (Sb)	121	Oxygen	0.9987	0.100	Not reported	Not reported	Not reported
Arsenic (As)	75	Helium	0.9994	0.404	Not reported	Not reported	Not reported
Cadmium (Cd)	114	Standard	1.0000	0.095	0.1-0.3	Not reported	0.02 ³⁰⁾ (GF-AAS)
Lead (Pb)	206	Oxygen	0.9997	0.182	0.7-3.0	3.0 (GF-AAS)	1.0 ³⁰⁾ (GF-AAS)
Manganese (Mn)	55	Standard	0.9955	0.072	0.99-1.06	Not reported	Not reported
Mercury (Hg)	202	Methane	0.9992	0.407	0.16-0.33	0.1 (DMA)	0.62 ³³⁾ (DMA)
Molybdenum (Mo)	98	Standard	1.0000	0.114	Not reported	Not reported	Not reported
Nickel (Ni)	60	Standard	0.9999	0.118	Not reported	Not reported	Not reported
Selenium (Se)	82	Standard	0.9985	0.215	24.5-30.0	Not reported	Not reported
Thallium (Tl)	205	Methane	1.0000	0.100	Not reported	Not reported	Not reported

*: CDC NHANES 13-14/15-16

** : 3rd Korean National Environmental Health Survey

금속 성분들을 안정시키고, 단백질을 잘 용해하며, 휘발되기 쉬운 수은 이온을 안정시켰으며, 세척 효과를 가짐으로 carry over를 감소시키는 등의 효과를 가지고 있어 전처리 방법으로 선택하였다.

ICP-MS의 가스모드는 분석물질별로 표준, NH₃, He 모드를 선택적으로 적용하였으며, 검정곡선 작성 결과 각 물질의 직선성(R²)은 최소 0.995로 산출되

었다(Table 1).

세 범위의 농도를 주입한 혈액 시료를 이용하여 일내, 일간 정밀도 및 회수율을 평가한 결과, 일내 실험의 경우 10개 항목에서, 일간 시험에서는 10개 항목에서 각각 회수율 86.1-132.9%이었고, 재현성은 모든 항목에서 100.0±15.0% 이내였다(Table 2).

NIST의 SRM인 NIST 955c 두 개 농도와 RM인

Table 2. Recovery and precision of the ICP-MS method of whole blood

Analyte	Mass	Spiked conc. [ng/mL]	Intra-day (n=5)		Inter-day (5 days)	
			Recovery (%)	Precision (% CV)	Recovery (%)	Precision (% CV)
Antimony (Sb)	121	5.0	90.8	2.5	100.8	7.3
		20.0	92.8	1.4	100.7	6.0
		150.0	93.8	1.8	99.4	4.0
Arsenic (As)	75	2.5	96.6	6.0	104.3	2.6
		10.0	98.8	1.9	101.5	1.7
		75.0	99.5	1.1	100.8	1.4
Cadmium (Cd)	114	2.5	91.9	2.1	100.4	8.5
		10.0	92.8	1.8	97.8	3.4
		75.0	94.3	3.3	98.9	3.8
Lead (Pb)	208	12.5	93.1	4.3	95.7	2.2
		50.0	97.5	2.7	97.6	0.6
		375.0	97.8	1.0	100.0	1.5
Manganese (Mn)	55	5.0	112.6	10.2	132.9	12.8
		20.0	108.2	2.1	107.6	5.3
		150.0	106.2	4.0	102.9	1.6
Mercury (Hg)	202	2.5	103.1	10.8	103.9	17.2
		10.0	102.3	1.5	101.0	4.6
		75.0	101.4	1.3	100.8	1.1
Molybdenum (Mo)	98	2.5	94.6	5.3	97.3	8.7
		10.0	99.3	0.7	100.1	3.5
		75.0	102.3	0.9	100.2	1.6
Nickel (Ni)	60	2.5	94.5	13.1	103.0	12.5
		10.0	99.6	7.0	99.1	4.6
		75.0	101.8	0.7	102.0	1.5
Selenium (Se)	82	12.5	92.28	8.0	86.1	12.3
		50.0	98.5	3.3	95.5	8.7
		375.0	96.5	1.4	99.7	2.4
Thallium (Tl)	205	2.5	97.1	1.2	98.5	2.0
		10.0	98.4	1.1	99.1	0.5
		75.0	100.1	1.1	100.3	0.7

CV, coefficient of variance.

Table 3. Accuracy between CRM (NIST) and RM (ClinChek®) values measured by ICP-MS and the NIST target values provided in the NIST SRM 955c and ClinChek® RM (n=3)

Analyte	CRM (NIST SRM 955c)				RM (ClinChek® 8840 & 8841)			
	Level II		Level III		Level I		Level II	
	CV (%)	Accuracy (%)	CV (%)	Accuracy (%)	CV (%)	Accuracy (%)	CV (%)	Accuracy (%)
Antimony (Sb)	-	-	-	-	3.3	105.5	6.5	105.2
Arsenic (As)	1.9	98.0	7.4	99.2	5.1	98.9	6.2	97.6
Cadmium (Cd)	5.1	105.5	2.1	105.7	4.3	118.3	5.7	117.6
Lead (Pb)	2.1	97.3	1.1	100.6	7.2	109.8	6.2	102.2
Manganese (Mn)	-	-	-	-	5.9	96.1	8.9	114.4
Mercury (Hg)	4.0	100.7	5.4	100.0	13.3	94.7	8.5	106.5
Molybdenum (Mo)	-	-	-	-	6.4	89.2	10.8	94.9
Nickel (Ni)	-	-	-	-	10.1	100.0	6.0	116.0
Selenium (Se)	-	-	-	-	1.4	99.8	1.1	100.8
Thallium (Tl)	-	-	-	-	5.3	100.0	3.1	99.0

CRM, certified reference material; RM, reference material; NIST, National Institute of Standard and Technology (US); CV, coefficient of variance.

ClinChek®을 이용하여 정확도를 평가하였으며, 그 결과 정확도는 각각 89.2-118.3%이었고, 재현성은 모든 항목에서 $\pm 15\%$ 이내의 정확도를 나타내었다 (Table 3).

2. 장비와 실험실 간 비교

혈중 Pb, Cd, 및 Hg의 경우 기존 연구들에서 많이 사용되었던 분석법(GF-AAS for Cd & Pb; DMA for Hg)과 신규 분석법(ICP-MS) 간의 결과 값 차이를 확인하고자 분석방법 간 교차분석을 진행하였다. 그 결과 Pb은 GF-AAS법과 ICP-MS법으로 측정된 분석농도 값의 Pearson's 상관계수(correlation coefficient)가 0.983로 매우 높았고, 급내 상관계수(ICC)는 0.966이었으며 두 군간 차이를 확인할 수

없었다($p=0.990$).

Cd은, GF-AAS법과 ICP-MS법으로 측정된 분석농도 값의 Pearson's 상관계수가 0.917이었고, ICC가 0.960이었으며 두 군간 유의한 차이를 확인할 수 없었다($p=0.895$).

Hg은 기존에 적용되고 있는 골드아말감법과 본 연구에서 개발한 ICP-MS 방법을 비교하였다. DMA와 ICP-MS 각각의 $GM \pm GSD$ 는 1.733 ± 0.902 와 1.201 ± 1.447 이었으며, $p=0.687$ 로 다소 낮은 상관성을 보였고, ICC도 0.761로 Pb과 Cd에 비해서는 낮았으나, 두 군간 유의한 차이는 없음을 확인할 수 있었다($p=0.439$).

분석 농도 수준으로 구분하여 보면 2.0 $\mu\text{g/L}$ 이하 저농도 구간에서는 DMA가 1.438 ± 0.382 , ICP-MS는

Table 4. Strength of agreement of the ICP-MS, GF-AAS and Mercury Analyzer method for each intraclass correlation coefficient (ICC) values (n=80)

Analyte	Analytical Method		ICC (95% CI)	Strength of agreement*
	Old	New		
Lead (Pb)	GF-AAS (PE)	ICP-MS (PE)	0.966 (0.947-0.978)	Excellent
Cadmium (Cd)	GF-AAS (PE)	ICP-MS (PE)	0.960 (0.938-0.975)	Excellent
Mercury (Hg)	DMA (MS)	ICP-MS (PE)	0.761 (0.556-0.872)	Excellent

*ICC<0.4: Poor, 0.4<ICC<0.59: Fair, 0.60<ICC<0.74: Good, 0.75<ICC<1.00: Excellent

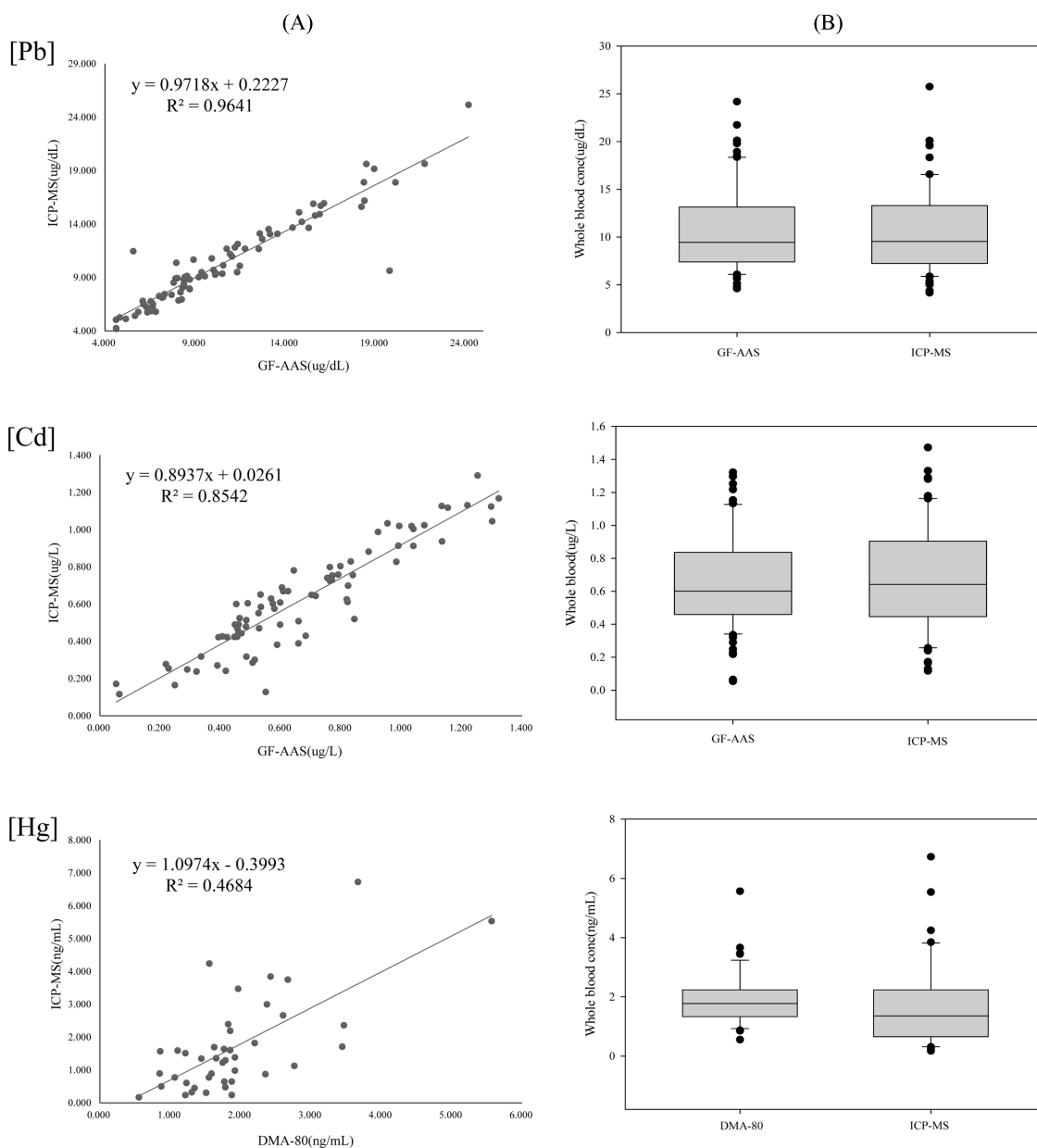


Fig. 1. A: Comparison of concentrations of whole blood GF-AAS, DMA method and ICP-MS method; B: Box plots corresponding to whole blood level by GF-AAS, DMA-80 and ICP-MS

0.827±0.518로 ICP-MS가 낮았으며, 2.0 µg/L 이상의 농도에서는 DMA는 2.475±0.975, ICP-MS는 2.935±1.421로 ICP-MS가 높게 평가됨을 알 수 있었다(Fig 1.).

본 연구에서는 100 µL의 전혈 시료를 이용하여 10

종의 금속 원소를 동시 분석할 수 있는 신규 ICP-MS 기반의 분석법을 개발하고 확인 평가하였으며 그 결과, 분석대상 물질 중 10개 항목에서 본 연구에서 제시한 기준에 적합한 재현성과 정확도를 얻을 수 있었다.

Table 5. Strength of agreement of the ICP-MS A and ICP-MS B method for each intraclass correlation coefficient (ICC) values (n=80)

Analyte	Comparison		ICC (95% CI)	Strength of agreement
	ICP-MS (A)	ICP-MS (B)		
Antimony (Sb)			0.998 (0.997-0.999)	Excellent
Arsenic (As)			0.995 (0.992-0.996)	Excellent
Cadmium (Cd)			0.985 (0.976-0.991)	Excellent
Lead (Pb)			0.979 (0.968-0.986)	Excellent
Manganese (Mn)	ICP-MS A (PE)	ICP-MS B (PE)	0.948 (0.921-0.966)	Excellent
Mercury (Hg)			0.991 (0.986-0.994)	Excellent
Molybdenum (Mo)			0.963 (0.943-0.976)	Excellent
Nickel (Ni)			0.769 (0.631-0.856)	Excellent
Selenium (Se)			0.994 (0.991-0.996)	Excellent
Thallium (Tl)			0.955 (0.923-0.974)	Excellent

본 연구에서 개발한 분석법의 ICP-MS 검출한계는 독일과 미국에서 이루어지고 있는 바이오모니터링 프로그램의 검출한계와 유사한 검출한계 수준을 나타내었고,^{23,25)} AAS의 검출한계는 매우 정확하고 민감하였다. 또한 일반인 혈액 시료를 이용하여 신규 및 기존 분석법으로 Pb, Cd 및 Hg을 분석한 결과 값의 평균 변이계수는 각각 7.0% Pb, 5.73% Cd, 6.4% Hg이었다.

동일 시료에 대한 분석법 비교 시 결과의 차이 수준이 $\pm 20\%$ 이내일 때 일치도가 높은 것으로 보고 있으며,²⁴⁾ 본 연구에서 수행한 상관성과 급내 상관관계 수 결과 역시 두 방법 간 결과의 일치율이 높음을 보여주었다(Table 4).

ICP-MS를 이용한 생체시료 금속류 다중 동시분석법은 이미 선진국의 바이오모니터링 프로그램에 적용되고 있으며,^{6,15-16)} 일부 국내에서도 연구자들에 의하여 새로운 분석방법으로 개발되고 확인 평가되고 있다.²⁵⁻²⁷⁾

본 연구에서 개발되고, 확인 평가한 분석법은 보

다 적은 생체 시료량으로도 많고 다양한 환경 유해 금속류 동시 분석이 가능하면서 일반 인구집단의 저농도 범위에서도 정량분석이 가능하다는 큰 장점이 있으며, 기존 분석법으로 바이오모니터링 프로그램에서 확인된 농도 범위(reference value)와의 일치도가 높다는 것에 의미를 둘 수 있다.³³⁾

생체시료 중 금속류를 분석하는 데 있어서, ICP-MS 분석법은 기존의 GF-AAS 방법에 비하여 스펙트럼 간섭 및 검출한계가 낮고, 신속한 분석이 가능한 장점을 가지고 있다. 특히 다중원소 분석이 가능하면서도 민감도가 높다는 점은 ICP-MS 분석법이 가진 큰 장점이라고 할 수 있다.^{14-15,28)}

현재 보건환경 연구에서, 생체시료 중 다중원소 간의 상호 작용과 통합 농도를 이용하여 질환과의 관계를 규명하는 연구가 권장되고 있으며,²⁹⁾ 이를 위해서는 기존보다도 신속하고 효율적인 방법으로 다중항목을 분석할 수 있는 새롭고 확인 평가된 분석법의 개발이 선행되어야 한다. 특히 국가 바이오모니터링 프로그램 같은 국가의 대규모 조사 사업에서,

분석결과의 신뢰성(reliability) 확보는 물론이고 대량의 수많은 시료를 신속하고, 안전하게 분석할 수 있는 새롭고 정확한 분석법을 필요로 하는데, 경제성과 안전성을 위하여 시료량 최소화도 이에 포함된다. 또한, 환경 바이오모니터링 프로그램이 가지는 역할 중 국가 또는 지역 사회에서의 참고 수치 제시 측면에서 볼 때, 분석결과에서 나온 수치에 대한 일

관성을 유지하는 것 역시 중요하다.

동일 시료를 이용하여 ICP-MS 분석과 AAS 분석의 분석결과를 비교한 일부 선행 연구들에서는 일반적으로 ICP-MS 분석의 결과가 AAS 분석에 비하여 낮은 것으로 보고된 바 있다.^{10,30} 최근 국내외에서 수행된 한 연구에서는 두 방법 사이의 유의한 차이가 없었으며,¹⁴⁾ 본 연구에서도 역시 유의한 차이를 나타

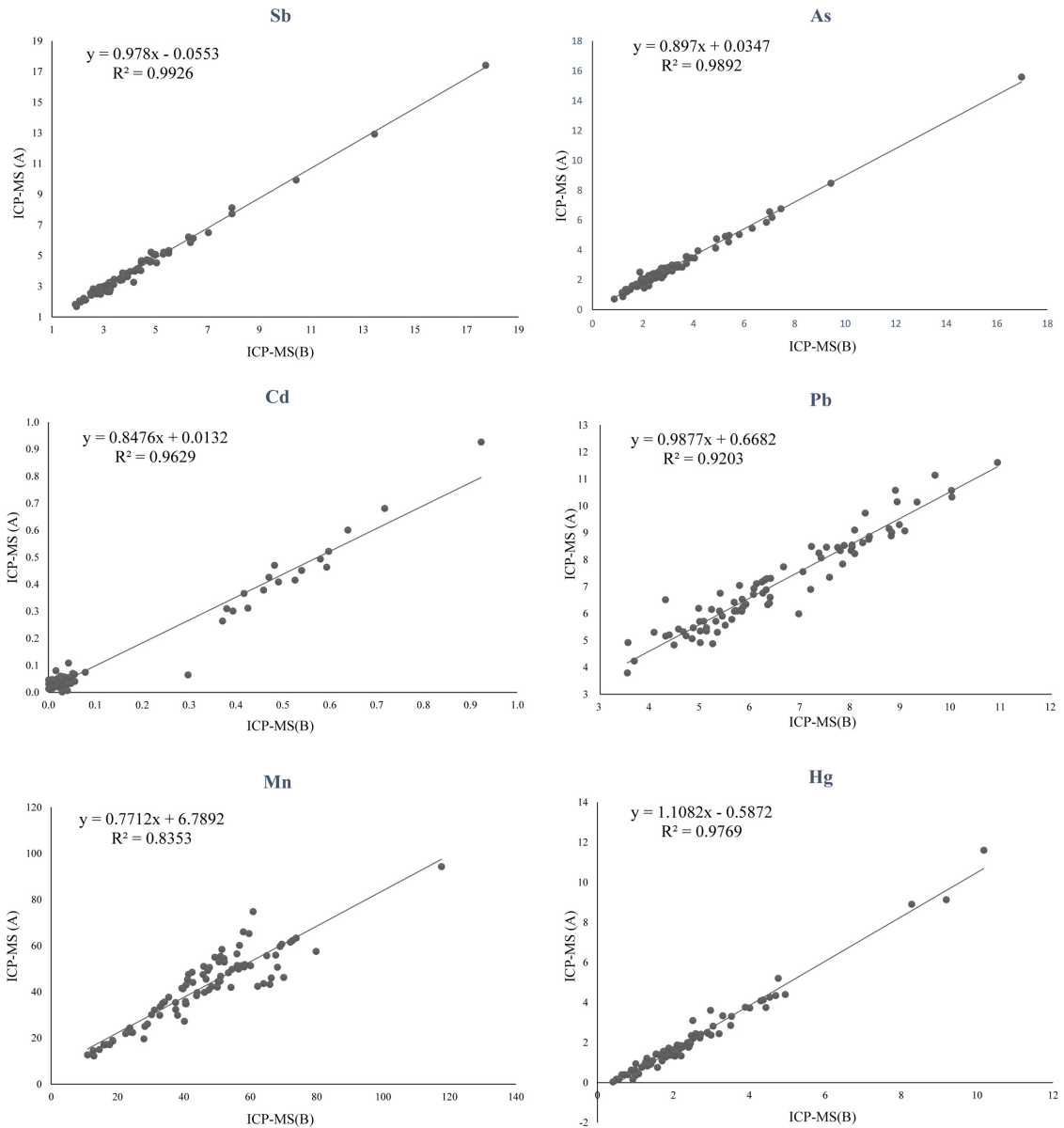


Fig. 2. Comparison of concentrations of whole blood ICP-MS A and ICP-MS B

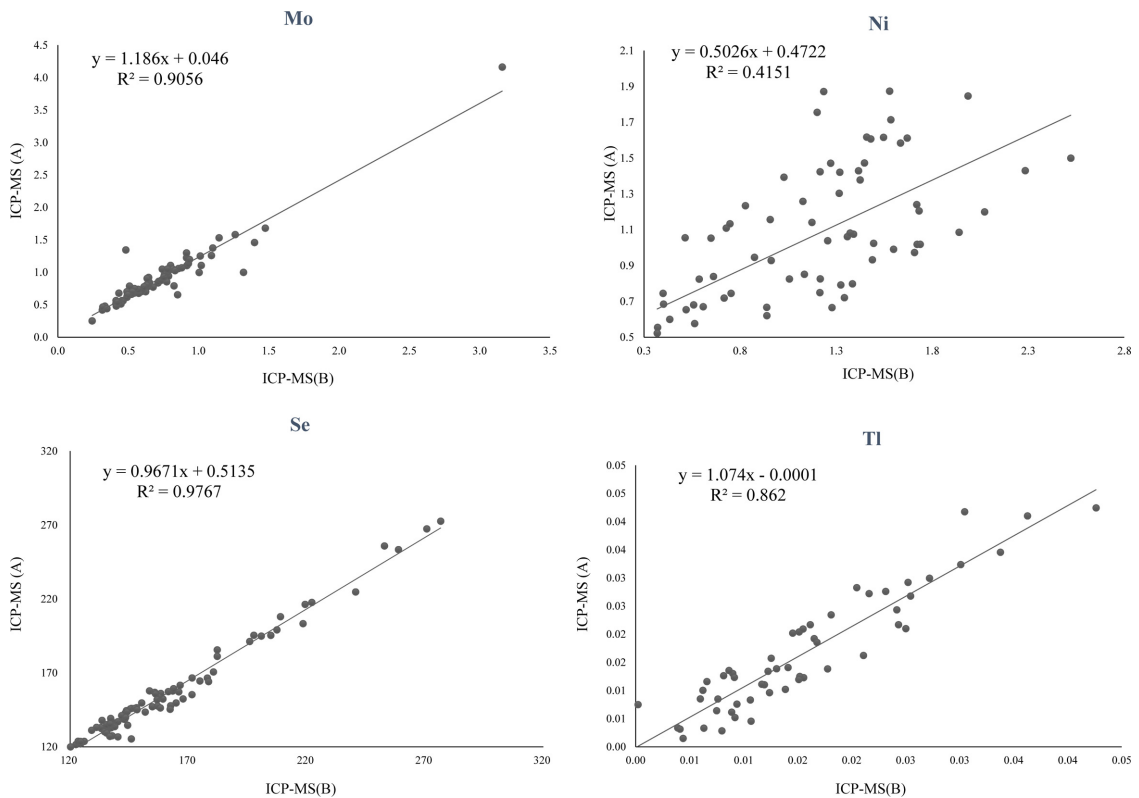


Fig 2. Continued

내지는 않았다.

본 연구에서 개발한 ICP-MS법을 두 개 기관에서 동일한 시료와 동일한 방법을 적용하여 분석하여 개별시료 분석 값으로 산출된 ICC를 확인한 결과 0.769~0.998로 매우 우수한 상관성을 가짐을 확인했다 (Table 5). 니켈(Ni)의 경우 ICP-MS에 장착되어있는 Nickel skimmer cone이 니켈 소재로 되어 있어서 상관성 0.769로 다소 낮게 평가되었다. 니켈의 경우 이후 백금(Pt) 소재로 된 Nickel skimmer cone을 사용한 확인 평가가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

본 연구가 가진 제한점으로는 분석법의 확인 평가를 한 모델의 ICP-MS로만 개발기관(A)과 기존 분석기관(B) 두 곳에서만 수행되어 다양한 모델의 ICP-MS를 보유한 여러 실험실 간에 대한 교차확인 평가가 이루어지지 못한 점이며 즉, 분석법 확인 평가의 완벽한 절차가 이루어지지 못한 점을 아쉬움으로 들 수 있다.

개발된 신규 분석법을 바이오모니터링 프로그램에

적용하기 위해서는 여러 복수의 실험실을 대상으로 신규 분석법을 확인 평가하고 실험실 간, 실험실 내 교차확인 평가를 통해서 분석결과에 대한 재현성을 평가, 확보할 수 있도록 해야 한다. 또한, 표준물질뿐 아니라 실제 현장에서 보다 다양하고 많은 수의 실제 생체시료를 활용하여야 하며 이를 위해서는 보다 많은 다양한 실험과 장기간에 걸친 연구, 관찰 및 비교 확인 평가가 필요하다.

아울러, 현재 국내외 바이오모니터링에서 평가가 이루어지고 있는 Pb, Cd과 Hg을 대상으로 한 일반 인구집단의 동일한 시료에 대한 반복 실험에서 충분히 확인 평가된 재현성을 나타내었다. 이들 항목의 경우, 충분한 일자 내 재현성과 일자 간 재현성, 인증된 표준물질을 이용한 정확도 평가에서 충분한 정확도를 나타내고, 결과의 재현성이 잘 유지되었다.

그러나 Hg의 경우에는 장비 간 비교 검사에서 휘발성으로 인해 상관성이 다른 항목에 비해 다소 낮게 평가되었다. 현재 국내외 바이오모니터링 프로그

램 대상 항목인 Pb, Cd, Hg 외에, As도 보건환경 평가에서 많이 연구되면서 활용되고 있으며, 특히 LC-ICP-MS를 이용한 중 분리분석이 다양하게 이루어지고 있는 상황에서 이에 대한 비교평가 역시 차후에 꾸준히 지속적으 이루어질 필요가 있다.

본 연구 대상 이외의 항목들도 최대한 많이 포함할 수 있는 동시 분석 개발을 위해서는 시료 확인 평가물질에 대한 성상과 특성, 표준물질 및 시료의 장기 안정적 보관에 대한 안정성(stability) 등에 대한 고려가 필요하며, 지속적이며 반복적인 실험으로 확인 평가한 정확성과 재현성(reproducibility)을 필요 한다.²⁾

여러 가지의 제한점에도, 본 연구에서는 적은 양의 생체시료를 이용하여 많은 다중항목을 정확하고 정밀하게 분석할 수 있는 새로운 ICP-MS 분석법을 개발하였으며, 정확성과 정밀성을 확보하였고 동시에 기존 분석법에 비교하여 유사하고도 일관된 결과를 도출할 수 있는 새로운 분석방법을 비교, 확인 평가하여 제안하였다는데 의미를 둘 수 있다.

ICP-MS 분석을 이용한 금속류 다중항목 분석법이 이미 해외 선진국 바이오모니터링 프로그램들에 적용되고 있으며, 국내에서도 일부 부분적 연구가 진행되고 있지만 아직까지 대규모 국내의 바이오모니터링 프로그램에서는 적용되지는 않고 있다. 한 국가의 대포값을 제시한다는 점에서, 새로운 분석법의 적용은 보다 엄격한 확인 평가와 관리기준 적용이 필요하며, 기존 분석방법과의 결과와 연계성과 재생성을 확보하는 것이 무엇보다도 중요하다.

따라서 본 연구는 단순히 저용량 생체시료를 이용한 다중항목 분석법을 이론적으로 개발한 것이 아니라, 실험으로 확인 평가함으로써 보다 효율적이고 실현 가능한 새로운 분석방법을 제시하였다는데 의의를 둘 수 있다. 일반인구집단을 대상으로 하는 다중항목의 금속류에 대한 저농도 만성노출 평가를 위하여, 차후 ICP-MS 분석법 적용한 바이오모니터링 조사의 확대와 분석법 고도화를 위한 관련 연구의 확대가 필요하다고 생각된다.

IV. 결 론

본 연구에서는 유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS)를 이용하여 혈액 중 금속류 동시 분석 방법을

개발하기 위해 전처리 및 기기 조건을 최적화하였고, 개발된 분석법의 직선성, 정확도, 정밀도, 검출한계, 정량한계 및 상관성을 확인 평가하였다.

각각의 항목을 검출하기 위하여 분석시스템을 최적화하여 100 µL 전혈 시료를 가지고 분석을 진행하였다. 또한, 일부 생체시료를 가지고 GF-AAS, DMA-80과 ICP-MS로 비교 분석하여 상관관계를 비교하여 일치도가 높음을 확인하였다.

모든 실험항목을 대상으로 ICP-MS법으로 산출된 분석결과와 신뢰도 확인 평가과정으로 본 연구 설계를 한 개발기관(A)과 직접 본 연구를 수행하였던 ICP-MS를 운영 중인 실험기관(B)간의 긴밀한 확인, 교차확인 평가를 시행하였고, 이를 통하여 10종의 금속류 항목들은 두 방법 간 일치도가 0.769~0.998로 일치도가 매우 높음을 확인하였다.

동일 중금속류와 생체시료를 이용하여 기존 국내 바이오모니터링 프로그램에서 이루어지고 있는 기존의 분석법(GF- for Pb & Cd; DMA for Hg)과 신규 개발 분석법(ICP-MS) 결과를 비교한 결과, 충분한 재현성을 가진 결과가 도출되었다.

본 연구는 저용량 혈중시료를 이용한 다중항목 분석법을 실험으로 확인 평가함으로써 효율적이고 실현 가능한 새로운 분석방법을 제시하였다는데 의의를 둘 수 있으며, 앞으로 다중항목의 금속류에 대한 저농도 만성노출 평가를 위하여, 새로운 ICP-MS 분석법의 현장적용 확대와 더불어 분석법 고도화를 위한 관련 연구의 확대가 필요하다고 생각된다.

감사의 글

본 연구는 환경부의 생활 공감 환경보건기술개발 사업에서 지원받았습니다(과제번호: 2017001360003).

References

1. Nico Laur, Ralf Kinscherf, Karolina Pomytkin, Lars Kaiser, Otto Knes, Hans-Peter Deigner. ICP-MS trace element analysis in serum and whole blood. *PLoS ONE*. 2020; 15(5): e0233357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233357>.
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 GF-AAS and ICP-MS for analyses of cadmium in blood. *Ind Health*. 2011; 49(3): 338-343.
11. Deanna RJ, Jeffery M, Denis ST, Melanie F, Neva JM, Kristen LW, C.Derrick QJ, Kathleen LC, Robert LJ. Analysis of whole human blood for Pb, Cd, Hg, Se and Mn by ICP-DRC-MS for biomonitoring and acute exposures. *Talanta*. 2017; 1(162): 114-122.
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. McShane WJ, Pappas RS, Wilson-McElprang V, Paschal D. A rugged and transferable method for determining blood cadmium, mercury, and lead with inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B: At. Spectrosc*. 2008; 63: 638-644.
19. Caldwell KL, Mortensen ME, Jones RL, Caudill SP, Osterloh JD. Total blood mercury concentrations in the US population: 1999-2006. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2009; 212: 588-598. [PubMed: 19481974]
20. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Laboratory Procedure Manual-Cadmium, Lead, Manganese, Mercury, and Selenium. Blood Metals Panel 3 (BMP3) ICP-DRC-MS. CDC Method NO. DLS 3016.8.04
21. National Institute of Environmental Research. Environmental test/inspection QA/QC handbook. 2011. NIER NO. 2011-08-1294.
22. Ministry of Food and Drug Safety. Guideline on bioanalytical method validation. 11-1471000-000028-01; 2013. P.40.
23. National Institute of Environmental Research. A manual for analysis of environmental pollutants in the human specimen. NIER GOVP1200717001; 2006. P.302.
24. Kong KA. Statistical methods: reliability assessment and method comparison. *Ewha Med J*. 2017; 40(1): 9-16.
25. Becker K, Schulz C, Kaus S, Seiwert M, Seifert B. German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in the urine of the Ger-

- man population. *Int J Hyg Environ Health*. 2003; 206(1): 15-24.
26. Fukui Y, Ohashi F, Sakuragi S, Moriguchi J, Ikeda M. Comparative evaluation of GF-AAS and ICP-MS for analyses of cadmium in blood. *Ind Health*. 2011; 49(3): 338-343.
 27. 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.
 28. 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.
 29. 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.
 30. 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.
 31. 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.
 32. 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.
 33. Lee JY, KIM JH, Choi DW, Lee DW, Park JH, Yoon HJ, Pyo HS, Kwon HJ, Park KS. The Association of Heavy metal of Blood and Serum in the Alzheimer’s Diseases. *Official Journal of Korean Society of Toxicology*. 2012; 28(2): 93-98.

<저자정보>

차상원(교수), 오은하(이사대우), 오세림(실장),
한상범(교수), 임호섭(대표이사)