

유도결합 플라즈마 질량분석법에 의한 모발의 다원소 분석

차명진 · 강준모 · 박창준**

메디넥스(주) 부설연구소

*한국표준과학연구원 물질량표준부
(2002. 5. 3 접수)

Multi - elemental Analysis of Hair by Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry

Myung Jin Cha, Jun Mo Kang, Chang Joon Park**

Medinex. Co. Ltd

Korea Research Institute of Standards and Science*

(Received May 3, 2002)

요 약 : 유도결합 플라즈마 질량분석법 (ICP-MS)을 이용하여 모발 중 다원소 동시 정량법을 확립하였다. 0.05 g의 모발 시료에 내부표준물질인 In을 가하고 질산 1.5 mL와 함께 테플론 가압분해 용기에 넣어 마이크로파를 이용하여 분해하는 시료전처리법을 사용하였다. 측정값의 정확도 및 신뢰도를 확인하기 위하여 모발 인증표준물질인 GBW 09101을 반복 분석하였는데 측정값은 인증값과 불확도 범위 내에서 잘 일치하는 결과를 얻었다.

Abstract : An analytical method has been developed to determine multi-elements in human hair samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). 0.05 g of hair sample was added to the Teflon digestion bomb together with 1.5 mL of nitric acid and an appropriate amount of In as an internal standard. The sample was then decomposed in the microwave digestion system. The hair certified reference material, GBW 09101, was analyzed for the validation of the analytical method. The determined values were in good agreement with the certified values within the uncertainty range.

Key words : human hair, ICP-MS, multi-elemental analysis, microwave digestion, internal standard

1. 서 론

생체시료는 인체의 건강상태, 영양상태, 환경오염, 약물중독, 그리고 병리학의 기초연구 등에 많이 이용된다. 산업이 고도화 되어감에 따라 환경오염에 의한 중금속 오염은 날로 심화되고 있다. 토양에서 자란 식물이나 그 식물을 먹은 동물을 섭취함으로써 인체에

유입되는 영양원소와 중금속은 체내의 간, 근육, 뼈, 치아, 혈액, 그리고 여러 장기에 분포되어 저장되며, 각종 생리기능에 필요한 필수원소들이 식품 섭취를 통해 원활하게 공급되지 못하면 신체의 각 조직에 존재하는 원소 성분까지도 사용하게 되어 각종 질병을 일으키게 된다.^{1,2,3}

생체내의 미량원소의 측정은 매우 급격하게 증가하고 있는 추세이다.⁴ 첨단과학의 발달로 세포 내에 있는 미량원소의 종류와 그것이 인체의 생명현상에 미치는 기전이 계속 밝혀지고 있으며, 철분, 아연 등의 영양원

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)42-868-5362 Fax : +82+(0)42-868-5042

E-mail : cjpark@kriss.re.kr

소에 대한 연구가 세계보건기구 (WHO) 등 국제적인 기구를 통하여 활발하게 연구되고 있다. 그러나, 혈액, 뇨 등의 전통적인 검사방법은 부족한 점을 드러내고 있다. 혈액은 일정한 농도 이상의 영양원소 및 중금속이 혈액 속으로 유입되면 이 과도한 성분의 원소를 혈액 밖으로 배출시키는 속성이 있으므로 혈액검사만으로는 독성 중금속 오염의 진행 상태를 완전하게 파악할 수 없으며 혈장 농도는 사람의 기분, 혈액 채취 시간 또는 표본 채취 전의 음식 섭취에 따라 변동이 있을 수 있는 단점이 있다. 또한 소변검사는 당분 및 여러 성분의 원소들의 배설상태 등을 알아보는 데는 도움이 되나 체외로 배출되는 것만 측정되므로 현재 체내에 존재하는 성분들의 진행 상태를 알기에는 부족하다.⁵

As, Cd, Hg, Pb 등의 유해 원소 및 Ca, Cu, Mn, Zn 등의 필수 영양원소가 인체에 섭취되면 이러한 원소들은 혈액을 경유하여 원소에 따라 그 차이는 있지만 모발, 뼈, 손톱, 발톱과 같은 경조직에 비교적 많이 축적되는 것으로 알려져 있다. 따라서 모발 중의 미량원소 함량은 그 원소의 이상섭취를 나타내는 하나의 지표가 될 수 있다.⁶ 생체 시료 중에서 모발 시료는 아직까지 생체 시료로서 이용이 보편화되고 있지 않지만 다른 신체 조직보다 물리화학적으로 안정하여 장기간 보관이 가능하며 1개월에 약 1 cm 정도 자라기 때문에 주어진 환경에 장기간 노출된 정도의 분석에 적합하다.^{7,8} 뿐만 아니라, 소변이나 혈액시료보다 원소의 함량이 높아 미량원소의 정량에 유리하고 시료수집이 용이하다.

생체 시료 중에 존재하는 미량 원소들의 분석방법들은 정확도와 함께 고감도와 선택성을 가져야 하며 또한 신속하게 할 수 있어야 한다. 현재 일반적으로 사용되는 생체시료의 분석법으로는 원자 흡수 분광법, 원자 방출 분광법, 질량분석법 그리고 중성자 방사화 분석법 등이 있다. 이 중에서 유도결합 플라즈마 질량분석법 (ICP-MS)은 유도결합 플라즈마 원자 방출 분광법 (ICP-AES)과 마찬가지로 다원소 동시분석, 분석의 자동화, 넓은 농도범위 분석, 그리고 빠른 분석속도의 장점을 갖는다. 또한 ICP-AES에 비해 10-100배 정도까지 검출한계가 낮아서 대부분의 원소들에 대해 수 ppt (part-per-trillion) 농도의 측정이 가능하다.⁴ 그러나 ICP-MS 분석 또한 다른 분석법과 마찬가지로 microwave digestion과 같은 전처리가 요구되는 문제점도 있다. 중성자 방사화 분석법은 시료의 처리나 오염, 파괴 없이 직접 분석할 수 있는 것으로 알려져 있으며

여러 개의 원소를 동시에 측정할 수 있는 고감도 분석법이다. 그러나 거대 시설인 원자료를 사용해야 하므로 이용에 많은 제약이 따르며 분석대상 원소 중 반감기가 오랜 원소가 포함되어 있으면 분석기간이 오래 걸리는 어려움이 있다. 또한 인체에 치명적인 Pb와 필수 영양소인 P를 분석하지 못하는 단점이 있다.⁹ 본 연구에서는 신속하고 정확한 모발시료의 분석을 위한 ICP-MS 분석법을 확립하였다. 21 개의 분석 대상 원소를 세 그룹으로 나누었고 측정 중에 발생 가능한 매트릭스와 신호체계의 변동을 보정하기 위하여 In을 내부표준원소로 사용하였다. 측정값의 정확도 및 신뢰도를 확인하기 위하여 모발 인증표준물질을 분석하였다.

2. 실험

2.1 시약 및 시료

모발을 분해하기 위한 산은 반도체용 질산 (동우반도체약품, 전자급, 70%)을 사용하였으며 시약의 조제나 용기의 세척에는 Milli-Q Element water purifier (Millipore, Bedford, MA, USA)를 이용하여 얻은 탈이온수 (비저항 > 18 M Ω)를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 각 원소의 표준용액은 한국표준과학연구원의 1000 mg/kg의 표준용액을 일련의 희석과정을 거쳐 사용하였다. 분석의 정확도 평가를 위하여 중국 상하이 핵연구소의 GBW 09101 모발 인증표준물질 (CRM)을 분석하였다.

2.2 기기 및 장치

본 실험에 사용한 유도결합플라즈마 질량분석기 (ICP-MS)는 영국의 Thermo Elemental사에서 제작한 VG PQ ExCell 이다. 시료 소모량을 최소화하고 분무효율은 향상시키기 위해 고효율의 Micromist nebulizer (Glass Expansion, 호주)를 사용하였으며 spray chamber는 Thermo Elemental사의 impact-bead type을 사용하였다. 시료의 안정적인 주입을 위해 연동펌프를 사용하였다. 본 연구에서는 고농도의 질산이 포함된 시료 용액을 분석하므로 일반적인 재질인 니켈, 구리, 알루미늄 cone은 orifice 크기가 쉽게 커져서 급방 사용이 불가능하게 된다. 따라서 cone의 꼭지 부분이 백금으로 만들어진 sampler와 skimmer cone을 사용하였다. 또한, cone 재질의 background 이온이 존재할 수 있으므로 Cu 측정 원소가 속한 원소그룹 분석의 경우에는 Ni cone을 장착하여 분석하고 Ni 측정원소가 포함된 그룹의 분석에서

는 Pt cone이나 Cu cone을 사용하여 분석하였다. ICP-MS의 작동조건과 측정조건은 Table 1과 같다. 모발 시료의 세척을 위해 Jeio Tech사에서 구입한 Platform Shaker를 이용하였고, 시료 분해를 위해 12개의 position rotor가 들어갈 수 있는 마이크로파 분해장치(Milestone MLS-1, Bergamo, Italy)를 사용하였다. 시료의 분취, 작업표준용액의 제조는 주위환경에서 오는 오염을 최소화하기 위해 clean bench 안에서 수행하였다.

Table 1. Operating conditions and data acquisition parameters for ICP-MS

| ICP- | |
|---------------------------|---------------------------|
| Rf power (W) | 1350 |
| Argon gas flow rates | |
| Coolant | 13.0 L/min |
| Auxiliary | 0.7 L/min |
| Carrier | 0.9 L/min |
| Torch | VG quartz torch |
| Nebulizer | Micromist nebulizer |
| Spray chamber | Impact bead spray chamber |
| Sampler and skimmer cones | Platinum cones |
| Data acquisition | |
| Sweeps | 100 |
| Channels per Mass | 3 |
| Channel spacing | 0.02 |
| Dwell time/s | 0.01 |

2.3 시료의 전처리

모발중의 미량원소는 혈액을 통하여 모발 조직 내에 정착된 것 외에 대기 및 외부 환경에 따른 오염이 있을 수 있다. 이러한 오염성분을 제거하기 위해 IAEA의 추천 방법에 따라 아세톤-조순수-조순수-조순수-아세톤의 과정으로 세척수를 교체하면서 각 세척수 당 10분 씩 shaker를 이용하여 전 과정을 2회 반복하여 세척하였다. IAEA 추천방법에 의해 모발시료를 세척하였을 때 대기분진 등의 외부오염성분을 어느 정도 제거할 수 있었지만 세척시 지속적으로 용출이 되는 Na, K등의 원소에 대해 보다 정확한 분석결과를 얻기 위해 Triton X-100을 이용하는 캐나다의 Anamol 연구소의 세척 방법을 병행하여 사용하였다. 각 방법의 세척 단계는 Table 2에 나타내었다. 약 50 mg의 모발 시료를 취하여 0.1 mg까지 정확히 질량을 측정된 다음에 깨끗이 세척한 용기에 분취한 모발을 넣었다. 여기에 질산 1.5 mL와 내부표준물질 In을 적당량 가하여 마이크로파 오븐 안에서 분해하였다. 마이크로파 분해 조건은 Table 3과 같다. 분해한 시료는 깨끗이 세척된 폴

리에틸렌 병에 옮겨 최종 부피가 약 15 mL가 되도록 희석시켰다. 농도가 높은 일부 원소에 대해서는 한차례의 희석 과정을 더 거친 후 ICP-MS로 분석하였다. 각 시료 및 바탕 용액에 대해서도 위와 같이 처리한 후 ICP-MS를 이용하여 측정하였다. 시료의 분해 절차는 Fig. 1에 나타내었다.

Table 2. Decomposition time and power of microwave digestion procedure

| Step | Time | Power |
|------|-------|-------|
| 1 | 2 min | 250 W |
| 2 | 2 min | 0 W |
| 3 | 5 min | 250 W |
| 4 | 5 min | 400 W |
| 5 | 5 min | 650 W |
| 6 | 5 min | 0 W |

Table 3. Washing procedure for human hair samples

| Method | Operation | Washing solution |
|-------------------|-----------------------------|--|
| IAEA only | shaking at 10 min intervals | Acetone → Water → Water → Water → Acetone ; 2 times |
| IAEA +Anamol lab. | shaking at 10 min intervals | TRITON X-100 → Water → (Acetone → Water → Water → Water → Acetone ; 2 times) |

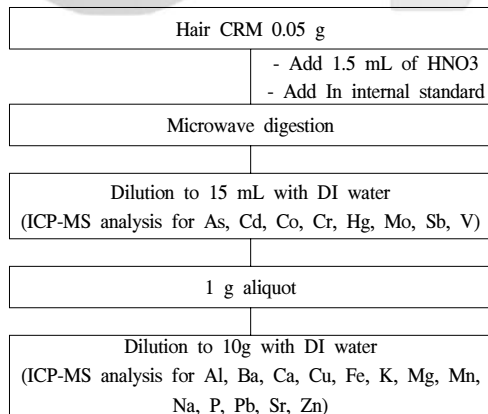


Fig. 1. Digestion procedure of hair CRM

2.4 분석 절차

다량의 유기물 및 무기물을 포함한 생체시료의 경

우 분해가 끝난 시료용액 중에는 상당량의 무기물이 존재하여 분광간섭이나 매질효과를 일으킬 수 있다. 이러한 간섭을 최소화하기 위해서는 매질 분리나 표준물 첨가법을 사용하여 해결할 수 있지만 본 연구에서는 다원소 동시 측정을 해야만 하기 때문에 정확성을 유지하면서 전체 분석에 소요되는 시간을 최소화 하는 방법을 사용하였다. 우선, 21 개의 다원소 동시 측정을 위해 산 용액에서의 침전이나 불용성 상태가 될 수 있는 화학종 상태를 고려하면서 모발시료에 존재하는 측정원소의 농도 범위를 구분하여 희석배수를 세 그룹으로 나누어서 각 그룹에 대해 따로 표준용액을 제조하고 분석하였다. 본 연구에서 최적화된 측정원소의 구분은 Table 4와 같다. 전처리한 시료의 산도와 같은 산도의 표준용액을 사용하여 검정곡선을 구하고 측정값을 얻도록 하였다. 이 때 분석시간 동안 발생할 수 있는 기기의 감도 변화를 조사하고 보정하기 위해서 시료와 표준용액에 각각 같은 양의 내부표준원소를 첨가하여 측정하였다. 또한 shield torch를 장착하여 낮은 forward power, 높은 carrier argon flow rate의 cool plasma 조건에서 argon 분자이온에 의한 간섭을 제거하여 Na, K, Fe를 낮은 수준까지 측정하였다.

Table 4. Three groups of analytes and their analytical conditions

| Group No. | Dilution factor | Plasma condition | Element |
|-----------|-----------------|------------------|---------------------------------------|
| 1 | 3000 | cool plasma | Na, K, Fe |
| 2 | 3000 | normal plasma | Al, Ba, Ca, Cu, Mg, Mn, P, Pb, Sr, Zn |
| 3 | 300 | normal plasma | As, Cd, Co, Cr, Hg, Mo, Sb, V |

3. 결과 및 고찰

3.1 모발의 세척 방법에 따른 농도 변화

모발의 분석에서 시료의 전처리 과정은 매우 중요하다. 특히 외부 오염으로부터의 영향을 최소화하기 위하여 본 연구에서는 IAEA에서 추천하는 방법으로 고순도의 아세트산과 초순수를 이용하여 세척을 한 후 분석을

하였다. 대부분의 측정원소는 세척단계를 거치면서 더 이상 용출되지 않지만 Na, K 등은 계속해서 검출되므로 IAEA에서 추천하는 세척방법과 IAEA 세척방법에 Canada의 Anamol Lab의 세척방법을 첨가한 것을 비교함으로써 측정결과의 정확성을 확인하고자 하였다.

임의의 모발시료 2개에 대해 IAEA에서 추천하는 10단계 방법 중 세척을 마친 2, 4, 7, 9 단계의 세척수에 대한 분석을 실시하였고 분석결과는 Table 5에 나타내었다. Na은 세척단계에 따라 지속적으로 용출되는 경향을 보였다. 세척방법에 따른 Na, K 분석결과는 Table 6에 나타내었다. Na와 K는 Canada Anamol lab에서 실시하는 Triton X-100을 병행한 것이 다소 낮게 나타났다. 21개 분석원소 중 Na, K를 제외한 19개 원소의 분석값은 다른 세척방법 (Triton X-100 병행방법과 IAEA 세척법)에 따라 차이를 보이지 않았지만, Na, K의 경우 많게는 두배 가량 차이가 있는데 이는 IAEA방법으로는 모발의 오염정도가 심할 경우 충분히 제거되지 않는 것으로 생각된다.

Table 5. Amount of Na effluent in washing solutions at four different steps

| Sample | Wash method | Amount of Na in wash solution ($\mu\text{g/g}$) | | | |
|--------|-------------|---|-------|-------|-------|
| | | 2nd | 4th | 7th | 9th |
| Hair 1 | IAEA+Anamol | 0.210 | 0.117 | 0.078 | 0.044 |
| | IAEA | 0.743 | 0.235 | 0.116 | 0.058 |
| Hair 2 | IAEA+Anamol | 0.255 | 0.098 | 0.086 | 0.031 |
| | IAEA | 1.030 | 0.292 | 0.236 | 0.098 |

Table 6. Effect of washing procedure for the determination of K and Na in two arbitrary hair samples

| Sample | Element | Determined concentration ($\mu\text{g/g}$) | |
|--------|---------|--|---------------|
| | | IAEA | IAEA + Anamol |
| Hair 1 | K | 69.4 | 63.3 |
| | Na | 64.1 | 49.9 |
| Hair 2 | K | 66.2 | 41.5 |
| | Na | 65.5 | 36.2 |

3.2 모발 인증표준물질의 분석결과

앞에서와 같은 분석조건에 의해 GBW 09101 모발 표준물질 중 21 개의 원소에 대해 5회 분석한 결과를 인증

값과 비교해 보았다. 이 표준물질은 상하이 핵연구소에서 제조 시에 이미 세척하여 분말의 형태로 만든 것이므로 여기에서는 세척과정 없이 분석하였다. 대부분의 원소에 대한 분석값이 인증값과 일치하였으나 Cr의 경우 낮은 측정값을 보였다. 이것은 질산만으로는 완전하게 분해가 이루어지지 않기 때문인 것으로 여겨진다. 질산 외에 염산을 첨가해 주어야 정확한 Cr 값을 얻을 것으로 예상되나 염산을 첨가하면 As과 V 측정에서의 염소 분자이온 간섭 때문에 염산을 첨가하지 않았다. Hg 및 Mn의 경우 인증값보다 다소 낮게 나왔으나 한국원자력연구소의 중성자 방사화 분석법을 실시하였을 때 각각 1.57±0.16과 2.59±0.15를 보임으로써⁶ 인증표준물질 자체의 변질로 보인다. 대부분의 원소에 대해서는 분석값이 인증값과 불확도 범위 안에서 잘 일치하므로 최적화된 분석조건에서 ICP-MS의 분석법의 정확성 및 분석결과 신뢰성을 확인할 수 있었다. 모발 인증표준물질에 대한 ICP-MS 분석값을 인증값과 비교한 결과를 Table 7에 나타내었다.

Table 7. Analytical results^a for GBW 09101 human hair powder CRM

| Element | Certified value ± uncertainty | Determined by ICP-MS (Mean ± SD) |
|---------|----------------------------------|-------------------------------------|
| Al | 13.3±2.3 | 11.3±2.2 |
| As | 0.59±0.07 | 0.56±0.05 |
| Ba | (5.41) | 5.70±0.67 |
| Ca | 1090±72 | 985.9±96.7 |
| Cd | 0.095±0.010 | 0.090±0.013 |
| Co | 0.135±0.008 | 0.104±0.009 |
| Cr | 4.77±0.38 | 2.36±0.45 |
| Cu | 23.0±1.4 | 22.9±4.3 |
| Fe | 71.2±6.6 | 77.0±7.3 |
| Hg | 2.16±0.21 | 1.53±0.33 |
| K | (11.8) | 8.0±1.9 |
| Mg | 105±6 | 100.6±10.0 |
| Mn | 2.94±.20 | 2.48±0.34 |
| Mo | (0.58) | 0.33±0.05 |
| Na | 266±12 | 280.2±26.9 |
| P | (184) | 179.8±16.8 |
| Pb | 7.2±0.7 | 7.5±1.0 |
| Sb | (0.21) | 0.19±0.01 |
| Sr | 4.19±0.14 | 4.48±0.83 |
| V | (0.069) | 0.064±0.009 |
| Zn | 189±8 | 204.1±30.1 |

^aAll values are in µg/g
(): Values in parentheses are for information only

4. 결론

모발 시료의 ICP-MS 분석 전에 시료의 표면 오염을 제거하기 위하여 IAEA에서 추천하는 10 단계 세척방법과 IAEA 세척법에 Triton X-100을 세척용액으로 추가하여 세척하는 방법을 비교한 결과 표면오염이 심한 시료의 경우 IAEA 세척법 만으로는 Na, K 농도가 표면오염 정도에 따라 다르게 나옴을 확인하였다. 따라서 모발 시료의 경우 IAEA 세척법에 캐나다의 Anamol 실험실에서 사용하는 Triton X-100 세척용액을 추가하는 세척법을 사용하는 것이 필요하였다. Cr 분석값은 질산 만으로 시료를 분해할 경우 실제보다 훨씬 낮게 나오는 것을 확인하였다. 그러나 나머지 20개 측정원소에 대해서는 모발 인증표준물질을 분석한 결과 분석값은 인증값과 잘 일치하였다. 따라서 질산을 사용하여 마이크로파 오븐에서 시료를 신속히 분해하고 ICP-MS를 사용하여 정량하는 분석법은 모발 시료 중에 존재하는 ppm 수준의 영양원소 및 낮은 ppb 수준의 중금속 원소를 정확하게 분석함으로써 모발 분석에 의한 인체의 중금속 오염 평가에 ICP-MS 분석법이 유용하게 이용될 수 있음을 확인하였다.

참고 문헌

1. J. D. Campbell, *Journal. of Orthomolecular Psychiatry*, **61**(4), 1985
2. D. W. K. Cotton, J. E. Porters, D. Spruit, *Dermatologica*, **152**, 60-62(1996).
3. S. P. Moo, K. K. S. Pillay, *Journal. of Radioanalytical. Chemistry*, **77**(1), 141-147(1983).
4. C. J. Park, K. H. Cho, J. K. Suh, *Kor. J. Occup. Med.* **7**(2), 235-248(1995).
5. D. J. Fletcher, *Postgraduate Medicine*, **72**(5), 79-88(1982).
6. Y. S. Chung, S. H. Kang, et al., *Anal. science & tech.*, **14**(2), 131-139(2001).
7. G. Gisela and H. Bernd, "Trace Elements in Environmental History", 113, S. Verlag, New York, U.S.A. (1988).
8. S. Y. Cho, O. D. Awh, Y. S. Chung and Y. J. Chung, *Journal. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **217**(1), 107-109(1997).

9. M. D. Glascock, "An Overview of Neutron Activation Analysis", Missouri University Research Reactor, February 2 (1998).

K C I