

Study of improving precision and accuracy by using an internal standard in post column isotope dilution method for HPLC-ICP/MS

Mingyu Joo, Myungsun Park and Yong-Nam Pak[★]

Department of Chemistry Education, Korea National University of Education Cheng-Won,
Chung Buk 363-791, Korea

(Received April 8, 2014; Revised June 9, 2014; Accepted June 9, 2014)

후 컬럼 동위원소 희석법을 적용한 HPLC-ICP/MS에서의 정량분석에서 내부 표준물을 이용한 정확도와 정밀도의 개선연구

주민규 · 박명순 · 박용남[★]

한국교원대학교 화학교육학과

(2014. 4. 8. 접수, 2014. 6. 9. 수정, 2014. 6. 9. 승인)

Abstract: An internal standard was used in PCID (post column isotope dilution) to improve the accuracy and precision in quantification of various chemical species. The error occurring in the column was the largest in HPLC-ICP/MS (high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma/mass spectrometry) when PCID and other traditional quantification methods were compared with each other. Internal standard was effective in correcting the loss of sample in the column to improve accuracy and precision. When applied to SeMet, using MeSecys or Se⁴⁺ as an internal standard, relative errors were reduced from 31% and 13% to less than 1%, while standard deviations were reduced from 5.1% and 6.9% to 1.5% and 0.2%, respectively. Positive aspects of using an internal standard in PCID were compared with other quantitative techniques and discussed in detail.

요 약: 후 컬럼 동위원소 희석법(PCID, post column isotope dilution)을 HPLC-ICP/MS (high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma/mass spectrometry)에 적용한 정량법에서 내부 표준물을 동시에 사용하여 정확도와 정밀도를 개선하였다. 전통적인 여러 정량법과 후 컬럼 동위원소 희석법을 비교하여 볼 때에 PCID의 경우에 컬럼내에서 발생하는 오차가 가장 큰 요인으로 작용하였음을 알 수 있었다. PCID에서 내부 표준물을 사용하여 컬럼내에서의 손실에 대한 오차를 효과적으로 보정하고 정확도와 정밀도를 개선할 수 있었다. 셀레늄 화학종인 SeMet을 시료로 사용하고 내부 표준물로 MeSecys 또는 Se⁴⁺를 이용한 결과, 사용하지 않은 경우와 비교하면 상대오차는 각각 31%와 13%에서 모두 1% 대로 낮아져 정확도가 크게 개선되었으며, 상대 표준편차는 5.1%와 6.9%에서 각각 1.5%와 0.2% 로 정밀도 또한 크게 개선되었다. PCID에서 내부 표준물을 사용하였을 때의 정량분석법의 장점을 다른 분석법과 비교 토의하였다.

Key words: internal standard, post column isotope dilution, species unspecific ID, HPLC-ICP/MS

[★] Corresponding author

Phone : +82-(0)43-230-3732 Fax : +82-(0)43-232-7176

E-mail : pakyn@knue.ac.kr

1. 서 론

동위원소 희석 질량 분석법(IDMS, isotope dilution mass spectrometry)은 시료중의 특정 원소를 측정하기 위하여 현재까지 알려진 중에 가장 정확한 방법이다.¹ IDMS는 질량만 다르고 물리적, 화학적 성질이 동일한 동위원소의 특성을 이용하여 하나의 내부 표준물로 활용하여 분석하는 방법이다. 이 방법은 안정된 동위원소 2 개를 가지는 원소에 대해 분석할 수 있으며 주기율표에 나타난 원소 중 약 80% 정도가 분석이 가능하다. ID법은 시료 취급 중이나 혹은 분석 전에 발생하기 쉬운 원소의 손실, 또한 분석 시 matrix 효과에 의한 오차, 기기 drift 효과에 대한 오차를 보정할 수 있다는 장점이 있어 정확한 정량분석에서는 필수적인 방법이라고 할 수 있다. 하지만 다음과 같은 응용에서 일부 제한성을 갖게 된다.

현대 분석에서 분리기술인 HPLC (high performance liquid chromatography)나 GC (gas chromatography), 또는 CE (capillary electrophoresis)가 발달하면서 ID법을 분리 분석에 적용하기 시작하였는데 이 때 측정하고자 하는 원소를 포함하는 동위원소 화합물 또는 분자가 반드시 필요하기 때문에 인공적으로 동위원소로 표지된 화합물을 합성하지 않으면 안 된다.² 하지만 모든 화합물에 대하여 동위원소로 표지된 표준물이 다 존재하지 않으므로 미지의 새로운 화합물이나 합성이 어려운 시료물질에 대하여서는 ID법의 적용이 가능하지 못하다.

이를 해결하기 위한 방안으로 사용되는 후 컬럼 동위원소 희석법 (PCID, post column isotope dilution)이 개발되었으며 이 방법은 컬럼 뒤에서 지속적으로 동위원소 용액을 넣어 주는 방법³으로서 동위원소로 표지된 표준물이 없이도 가능하다. 후 컬럼 동위원소 희석법에서는 기존의 동위원소 희석법처럼 신호의 세기 대신 동위원소의 비를 사용하므로 기기의 불안정과 매트릭스 효과에 의한 오차에 관계없이 정확한 정량 분석이 가능한 동위원소 희석법의 장점과 또한 동시에 여러 화학종을 한꺼번에 정량 할 수 있는 장점이 있다.^{4,5} Sanz-Medel⁶은 이러한 장점을 이용한 여러 분석법을 수행하였고 현재 PCID는 여러 화학종들을 HPLC로 분리하고 ICP/MS (Inductively Coupled Plasma/MS)로 정량하는 HPLC-ICP/MS⁷⁻¹² 또는 CE-ICP/MS^{13,14}와 같은 기법에 매우 넓게 활용되고 있다.

PCID는 화학종에 관계없이 동위원소 희석법이 가능하므로 species unspecific ID라고 불리기도 한다. 최

근의 연구 동향을 보면 동위원소 희석법으로 정량함에 있어 species-specific ID가 species-unspecific ID보다 많이 사용됨을 볼 수 있다.⁶ 이것은 표지된 동위원소 화합물을 합성하는 기술이 늘고 또한 species-unspecific 동위원소 희석법은 동위원소 용액의 농도, HPLC의 흐름속도 및 동위원소 용액의 흐름에 따른 많은 오차의 요인들을 포함하고 있기 때문이기도 하다.⁴ 동위원소 희석법은 본질적으로 내부 표준물보다 더 우수하지만 여러 화학종들을 한꺼번에 (HPLC로 분리한 뒤에) 분석하게 되므로 후 컬럼 동위원소 희석법을 사용할 수 밖에 없으며 이에 따라 새로운 오차의 원인이 발생하게 된 것이다. 따라서, 본 연구에서는 species-unspecific 또는 PCID에서의 정밀도를 개선하기 위한 방법으로 내부 표준물을 동시에 사용하였다. 크로마토그래피법에서는 컬럼에서의 시료의 손실은 매우 빈번히 일어날 수 있으며 큰 오차의 원인이 될 수 있으므로 컬럼내에서의 오차를 보정할 수 있는 내부 표준물은 PCID의 정밀도를 개선하는데 큰 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 내부표준물을 이용한 PCID법의 장점과 한계를 토론하고 앞으로의 개선점에 대하여서 토의하고자 한다. 비록 PCID 방법이 여러 연구에 잘 사용되고 있으며 때로는 내부 표준물을 사용하여 보정하기도 하지만 본 연구에서처럼 내부표준물을 사용한 계통적인 연구는 아직 보고되지 않았으므로 본 연구의 의의는 크다고 할 수 있다.

2. 실험

PCID 방법은 HPLC 컬럼 뒤에서 분리된 시료에 표준물 동위원소를 흘려 넣어주는 방법이다. Fig. 1은 HPLC-ICP/MS에서 후 컬럼 동위원소 희석법을 적용한 모식도이다. 개략적으로 살펴보면 먼저 시료내의 여러 화학종들을 모두 추출하여 HPLC에 주입한다. 주입된 여러 화학종들은 컬럼 내에서 분리된 뒤에 ICP/MS에 의해 검출된다. 정량적인 분석을 위하여 동위원소 표준물이 컬럼과 ICP/MS 사이에서 연동펌프를 통하여 연속적으로 주입되는데, 본 실험인 셀레늄화학종의 연구에는 무기 셀레늄 동위원소를 사용하였다.

2.1. 기기 및 시약

팔중극자 반응셀이 장착 되어 있는 7500 ce Model ICP/MS (Agilent Technologies)를 사용하였다. HPLC는 세 개의 용매를 혼합할 수 있는 Hitachi의 L-6200A Intelligent pump (Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

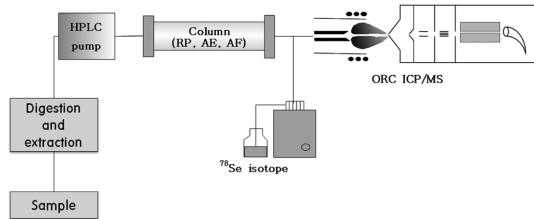


Fig. 1. Schematic diagram of the instrumental set-up for post column isotope dilution in HPLC-ICP/MS. internal standard (Se^{4+}) by AE-HPLC-ICP/MS

화학종을 분리하기 위한 컬럼은 역상인 경우에는 Nova Pac C_{18} (3.9×150 mm, Waters), 음이온 교환 크로마토그래피에서 PRP-X100 ($10 \mu\text{m}$ 4.6×250 mm PEEK, HAMILTION)을 사용하였다. 연동펌프는 Gilson Miniplus 2 연동펌프 (Gilson, Middleton, USA)를 사용하였고, 분무기는 동축형 분무기 (Agilent, Lake forest, USA)를 사용하였으며 분무상자는 Scott 분무상자 (Agilent, Lake forest, USA)를 사용하였다.

실험에서는 셀레늄 화학종을 대상으로 하였는데 동위원소는 ^{78}Se 동위원소 용액(U. S. Service Inc.)을 사용하였으며 제조된 용액의 농도를 검정곡선법으로 측정하여 사용하였다. 시약 제조나 용기의 세척에 사용된 물은 Millipore direct-Q System에서 얻은 18.2 MO cm^{-1} 이상의 초순수 물을 사용하였다. 셀레늄 화학종 표준용액은 Sigma-Aldrich (MO, USA)에서 구입한 sodium selenite (SeIV), seleno-DL-methionine (SeMet), seleno-L-cystine (SeCys), 및 Se-(methyl)selenocystein (MeSecys)을 초순수에 묽혀 $50 \mu\text{g g}^{-1}$ 농도로 제조하여 4°C 에 냉장 보관했고 필요에 따라 묽혀서 사용하였다. 보관기간은 한 달간을 넘지 않게 하였다. 실험에 사용된 시료는 위의 표준용액을 함께 혼합하고 제조하여 사용하였고 시료의 농도는 계산으로 정확히 구할 수 있다.

컬럼은 강 이온성 음이온 교환수지인 PRP-X100을 사용하였고, SeMet와 MeSecys 또는 SeMet와 Se^{4+} 의 AE-HPLC 분리는 기존의 연구¹⁵에서의 조건을 기초로 하여 사용하였으며 다음과 같다. 역상 크로마토그래피인 경우, 이동상은 5% methanol와 이온쌍 시약인 0.05% NFPA (nanofluoropentanoic acid)를 탈 이온수에 혼합하고 pH는 2.5로 맞추어 사용하였고 흐름속도는 1.00 mL min^{-1} 로 흘려주었다.¹⁶ 음이온 교환 크로마토그래피에서는 이동상 A는 0.5 mM ammonium citrate와 2% MeOH를 탈 이온수에 혼합하여 만들고 (pH 3.7) 이동상 B는 100 mM ammonium citrate와

2% MeOH를 탈 이온수에 혼합한 후 pH를 8.0에 맞춘 뒤 이동상 A는 0.97 mL min^{-1} , 이동상 B는 0.03 mL min^{-1} 로 각각 흘려주었다.

2.2. 실험방법

먼저 외부 검정곡선법은 표준용액을 사용하여 HPLC를 사용하지 않고 ICP/MS만으로 검정곡선을 만들었다. 시료의 경우, HPLC-ICP/MS에서 얻은 신호는 피크의 크기를 사용하여 검정곡선에서 농도를 결정하였다. 검정곡선법은 표준 용액을 HPLC-ICP/MS에 주입하여 얻은 신호 즉, 피크의 면적을 이용하여 검정곡선을 제작하고 시료의 경우에서도 피크의 면적을 얻은 후 검정곡선에서 농도를 결정하였다. 표준물 첨가법은 시료 1.000 g씩을 4 개의 15 mL conical tube에 각각 넣고 표준용액을 다르게 넣은 후, 총 9.000 g로 2% HNO_3 을 채운 후 측정하였다. 시료는 구입한 표준 시료들을 이용하여 실험실에서 제조하여 사용하였다. $100 \mu\text{L}$ 을 주입하였고 최소 3 회 이상의 chromatogram을 얻었다. 후 컬럼 동위원소 회석법은 내부 표준물을 사용한 후 컬럼 동위원소 회석법의 정량에서는 시료를 SeMet으로 사용하고 내부 표준물로는 유기셀레늄인 MeSecys 또는 무기셀레늄인 Se^{4+} 를 사용하였다. 후 컬럼 동위원소 회석법은 컬럼에서 분리된 셀레늄 화학종과 후에 첨가된 셀레늄 동위원소의 혼합으로 동위원소비가 변화하며 이 것으로 농도를 결정하는 방법으로 이에 대한 설명은 기존의 연구¹⁵에 잘 설명되어 있다.

3. 결과 및 고찰

HPLC-ICP/MS에서 여러 정량법을 통한 SeMet의 농도 결정에 대하여 실험한 결과를 다음의 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 볼 때에 외부 검정곡선을 이용한 정량법은 2.3%의 오차를 보여주며 좋은 결과를 나타낸다고 할 수 있다. 하지만 이 방법은 컬럼을 배제한 정량이므로 엄밀한 의미에서의 크로마토그래피 정량법으로는 사용될 수 없다. 컬럼을 사용하여 검정곡선을 만드는 경우에는 외부 검정곡선법에 비해 훨씬 더 큰 오차를 보여주고 있다. 이는 단적으로 HPLC-ICP/MS에서의 오차는 주로 HPLC에서 기인하며 결국 컬럼이 오차의 가장 큰 요인임을 보여주고 있다. 즉, 컬럼내에서의 시료의 손실 또는 한 화학종에서 다른 화학종으로 변하는 시료간의 전환으로 인한 오차가 큰 결과

Table 1. Comparison of different quantification methods for HPLC-ICP/MS

	Ref ^a	Exterior cal. curve	Cal. curve	STD ADD	Post column ID
Concentration	126.3	129.2	109.2	130.0	128.6
± SD		± 2.9	± 1.5	± 3.6	± 8.1 or 2.2 ^b
% error		2.3	13.6	3.0	1.8

Average ± SD, concentration in ng g⁻¹ (n=3 samples, 3 runs for each sample)

^aSeMet prepared in the lab.

^bwhen an out-lier is removed.

를 주는 것으로 보인다. 표준물 첨가법은 외부검정곡선법과 비슷한 결과를 보여주는데 이는 실험실에서 순수하게 제조된 용액을 시료로 사용하여 농도를 결정하였기 때문에 매트릭스 효과가 적기 때문으로 해석될 수 있다.

후 컬럼 동위원소 회석법을 사용하여 농도를 결정하면 외부검정곡선법이나 다른 방법에 비해서 가장 좋은 결과를 얻을 수 있었다. HPLC-ICP/MS에서 PCID를 사용하면 정확도는 비교적 높은 결과를 보여주나 때로 좋지 않은 정밀도(8.1% RSD)를 보여줄 때가 있다. 물론 의외의 값을 보여주는 결과는 제외한다면 %RSD는 2.2%로 내려가지만 이러한 의외의 값이 가끔 나타나는 이유는 컬럼내에서의 시료의 손실 또는 변화로 인한 불확실성으로 보인다. 이러한 현상은 컬럼을 잘 씻지 않거나 오래된 컬럼일 경우 더 자주 나타나며 시료가 “더러울”때에는 더욱 자주 나타난다. 따라서 PCID에서의 정확도와 정밀도를 개선시키려면 컬럼에서 일어나는 의외의 변화에 대하여 보정하여야만 가능할 것이다.

따라서 이러한 컬럼내부에서의 손실이나 컬럼 내부에서의 시료간의 전환에 대한 보정이 필요하며 후 컬럼 동위원소 회석법에서도 내부표준물을 사용하는 것이 더 정확한 결과를 보여줄 수 있을 것으로 생각된다.

3.1. HPLC-ICP/MS에서 PCID를 이용한 정량

먼저 자주 사용되는 역상 크로마토그래피를 이용하여 셀레늄 화학종을 분리한 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다.

몇 개의 화학종들(Se⁴⁺, MeSecys, SeMet)을 혼합하여 시료를 제조한 뒤에 HPLC-ICP/MS에서 후 컬럼 동위원소 회석법으로 정량분석하였는데 그 결과를 보면 매우 좋지 않다. Table 2에 보인 것처럼 SeMet는 나쁘지 않지만 나머지 Se⁴⁺와 MeSecys는 매우 부정확한 결과를 보여준다. 이는 컬럼내에서 손실이 생겼기

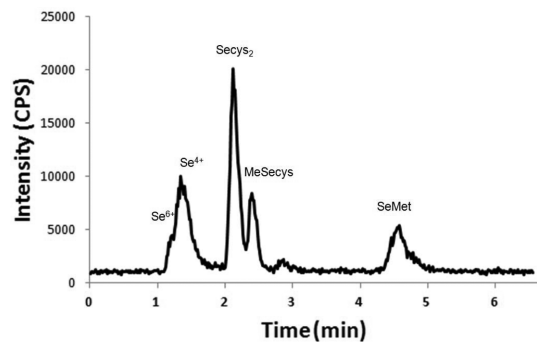


Fig. 2. Separation of selenium standards mixture by RP-HPLC-ICP/MS.

Table 2. Quantification of synthesized Se sample with PCID HPLC-ICP/MS

	Conc. measured	Conc. given
SeMet	27.2 ± 2.1	29.1
MeSecys	13.2 ± 2.4	19.3
Se ⁴⁺	18.8 ± 3.1	30.3

Average ± SD (n=3 runs), concentration in ng g⁻¹

나 또는 시료간 전환이 일어난 것으로 추정된다. PCID는 시료용액과 동위원소 용액이 컬럼 뒤에서 혼합되므로 컬럼 이후의 변화에 대하여서는 동위원소비가 변하지 않으며 어떤 변수이던지 관계없이 정확한 결과를 보여주지만 컬럼 내부와 이전의 변화에 대하여서는 전혀 보정할 수 없다. 따라서 이러한 컬럼 내부에서 생기는 오차를 보정하기 위해서는 내부 표준물질이 필요성이 나타나게 된다.

3.2. 후 컬럼 동위원소 회석법 HPLC-ICP/MS에서 MeSecys를 내부 표준물질로 사용한 연구

HPLC ICP/MS에서 PCID법으로 정량할 때에 정확도와 정밀도를 개선하기 위하여 내부표준물을 사용하

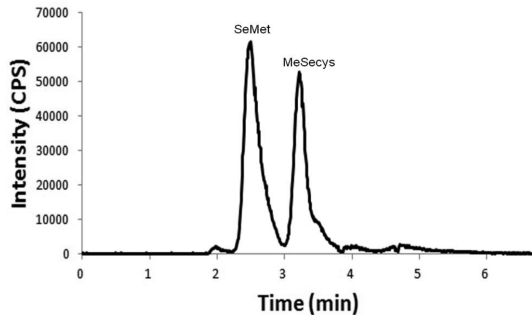


Fig. 3. Separation of SeMet (sample) and MeSecys (internal standard) by AE-HPLC-ICP/MS.

Table 3. Improvement of precision and accuracy in AE-HPLC-ICP/MS PCID by using an internal standard

	Calculated value	PCID + no Int. Std	PCID + Int. Std (MeSecys)
SeMet	53.6	35.9±5.1	53.1±1.5
Error, %		33.0	0.9

었다. AE-HPLC를 이용하여 SeMet와 MeSecys를 분리한 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었다. 이 때 MeSecys를 내부 표준물질로 사용하여 SeMet 시료의 농도를 구하였다.

HPLC-ICP/MS에서 후 컬럼 동위원소 희석법으로 SeMet의 농도를 구할 때 MeSecys를 내부 표준물질을 이용하는 경우와 이용하지 않을 경우의 결과를 Table 3에 비교하여 나타내었다. SeMet를 PCID법으로 정량하였을 때 결과값은 35.9±5.1 ng g⁻¹으로서 실제값인 53.6 ng g⁻¹과 비교하면 33%의 오차를 보여주며 %RSD는 14.2%로서 정밀도 또한 좋지 않음을 보여준다. 그러나 PCID법에 내부표준물질 MeSecys를 함께 사용하면 컬럼에서의 손실 등을 보정할 수 있다. 내부표준물질의 사용은 컬럼에서의 손실률을 구할 수 있게 되는데 손실률은 PCID법에서 구한 농도와 넣어준 실제 농도를 비교하면 얻을 수 있다. 그리고 그 손실률을 다시 시료에 적용하여 보정된 결과값을 얻게 된다. 즉, 넣어준 내부표준물질 MeSecys의 농도는 40.0 ng g⁻¹이었으나 실험에서 얻은 값은 25.5 ng g⁻¹이므로 손실률은 36.3%이며 이것을 시료인 SeMet의 실험값(33.8 ng g⁻¹)에 적용하면 보정치 53.1 ng g⁻¹을 얻게 된다.

내부 표준물질을 이용하지 않을 때와 사용하였을 때를 비교하면 오차는 약 33%에서 0.9%로 줄어들어 정확도는 크게 개선됨을 볼 수 있다. 정밀도를 비교하

면 %RSD는 5.1%에서 1.5%로 매우 낮아짐을 볼 수 있다. 따라서 내부 표준물질을 이용하여 PCID를 보정하면 컬럼 내부에서의 변화를 보정할 수 있게 되어서 정밀도와 정확도를 개선할 수 있음을 알 수 있다.

3.3. 후 컬럼 동위원소 희석법 HPLC-ICP/MS에서 Se⁴⁺를 내부 표준물질로 사용한 연구

내부 표준물질을 선택하는데 있어서의 기준은 내부 표준물질의 화학적 물리적 거동이 시료의 행동과 일치하거나 매우 비슷해야 한다. 따라서 SeMet를 측정하는데 일차적으로는 유기 셀레노 아미노산이 유리하겠지만 무기셀레늄도 적용하여 보았다. 또한 오차의 원인이 컬럼 이전, 예를들어 시료의 처리에서 발생한다면 마찬가지로 내부표준물질은 정확한 값을 줄 수 있을 것이다. 무기셀레늄인 Se⁴⁺를 내부표준물질로 사용하여 SeMet 시료의 농도를 구하여 보았다. Fig. 4에서 보여주듯 SeMet는 평형으로 인하여 두 개의 피크로 나타나게 되는데 정량에서는 두 개의 피크를 모두 사용하였다. 이러한 평형에 의한 화학종들의 분리는 다른 연구에서도 보고된 바 있다.¹⁷

HPLC-ICP/MS에서 후 컬럼 동위원소 희석법으로 SeMet의 농도를 구할 때 Se⁴⁺를 내부 표준물질을 이용하는 경우와 이용하지 않을 때의 결과를 Table 4에 비교하였다. 내부 표준물질을 이용하지 않을 때에는 13.4%의 상대 오차와 6.9%의 상대 표준편차를 보여

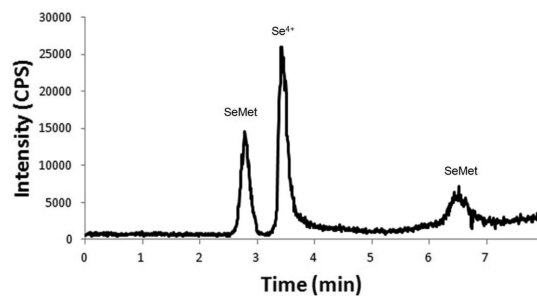


Fig. 4. Separation of selenium sample prepared (SeMet) and internal standard (Se⁴⁺) by AE-HPLC-ICP/MS.

Table 4. Improvement of precision and accuracy in HPLC-ICP/MS PCID by using inorganic internal standard

	Calculated value	PCID + no Int. Std	PCID + Int. Std (Se ⁴⁺)
SeMet	114.2	98.9±6.9	114.4±0.2
error, %		13.4	0.2

Average ± % RSD (n=5 runs), concentration in ng g⁻¹

Table 5. Summary of characteristics of species specific ID, species unspecific ID, and species unspecific + internal STD ID techniques

	Species Specific ID	Species unspecific (post column ID)	Internal STD + post column ID
Conversion in sample preparation	O	X	X
Loss in sample preparation	O	X	△
In column loss + conversion	O	X	△
Spike flow rate	O	X	O
Applicable to all species	X	O	O

O : applicable, X : not applicable, △ : partly applicable

주었고, 내부 표준물질을 이용할 때는 상대 오차와 상대표준편차가 각각 약 0.1%와 0.2%로 낮아졌다. 따라서 무기 셀레늄으로 내부 표준물질을 사용하여 HPLC ICP/MS PCID에서 SeMet을 구하여도 충분히 정밀도와 정확도를 보정할 수 있었다.

비록 PCID에서의 내부 표준물질을 적용하는 것이 일반적인 내부 표준물법과 비슷하게 보이기 는 하지만 들은 다르다. 내부 표준물법과 PCID에서의 내부 표준물법의 차이를 비교하면 일반적인 내부표준물법은 시료와 내부표준물 화학종들이 검출기에 감응하는 정도가 같아야만 내부 표준물의 신호 대 농도관계를 시료들에 대하여도 적용할 수 있지만 PCID에서의 내부 표준물법에서는 그럴 필요가 없이 농도 대 신호의 감응계수가 다르다 하여도 적용에 문제가 없다. 즉, 내부표준물이나 시료화학종이나 모두 다 동위원소 회석법에 의하여 결정되기 때문이다.

또한, 일반적인 내부 표준물법에서는 크로마토그래피에서 분리 도중에 검출기의 감응도가 변한다면 정량에 오차를 가져오지만 PCID와 내부표준물법을 함께 사용하는 경우에는 신호대신에 동위원소비의 변화를 이용하므로 검출기가 시간에 따라 변한다던가 (within a run) 하여도 문제없이 적용할 수 있다. 그 이유는 후 컬럼 동위원소 회석법에서의 정량은 기본적으로 동위원소 회석법과 마찬가지로 첨가하는 동위원소에 의한 시료의 동위원소비의 변화만 측정하기 때문에 검출기의 감도가 변한다 해도 신호의 세기만 변할 뿐이며 동위원소의 비는 일정하기 때문이다.

시료 내에 존재하는 여러 화학종을 분석하는 연구에 있어서 무엇보다도 가장 큰 오차의 원인은 첫 번째 단계인 시료 전처리 과정에서의 손실이나 전환이다. PCID법은 이 단계의 보정이 전혀 불가능하지만 내부표준물을 사용한 PCID법은 이 단계에서도 보정이 일부 가능하다. 즉, 내부 표준물과 시료의 화학적

행동이 동일하다면 시료 준비과정에서의 손실에 대한 보정은 일부 가능하다. 시료의 손실이 화학적이 아닌 물리적 손실이라면 보정이 더욱 용이하다. 또한 두 번째 단계인 컬럼 내에서의 손실과 시료간의 전환에 대하여서도 많은 부분 보정가능하게 되는데 물리적 손실이라면 완전히 보정이 가능하다. 하지만 화학적 손실로서 화학종에 따라 손실률이 다르다면 일부만 가능할 수 있을 것이다. 컬럼 내에서의 시료간의 전환은 보정이 불가하다.

따라서 내부 표준물질을 이용한 PCID은 시료준비 과정에서 일부, 그리고 컬럼에서의 손실에 대한 보정이 가능할 수 있을 것이다. 또한, PCID법에서는 HPLC의 용리액과 동위원소 표준용액과의 혼합이 잘 이루어져 하며 이 두 용액의 흐름이 변화하지 않고 일정해야 한다.⁶ 그러나 크로마토그래피의 흐름속도와 연동펌프로 첨가하는 표준용액의 흐름은 항상 일정한 것이 아니므로 당연히 농도의 절대값 측정에 오차를 가져오게 된다.¹⁸ 그렇지만 내부 표준물 PCID를 사용하면 흐름량의 변화에 따른 오차를 제거할 수 있는 장점을 가질 수 있게 된다. 이러한 여러 장단점들을 다음의 Table 5에 요약하여 나타내었다.

이 연구에서는 HPLC-ICP MS를 적용하여 여러 화학종을 정량을 하기 위하여 PCID를 사용함에 있어 내부 표준물을 함께 사용하여 정밀도와 정확도를 개선하고자 하였다. 후 컬럼 동위원소 회석법은 나날이 그 응용 범위가 넓혀지고 있으며 내부 표준물을 사용하였을 때에 정확도와 정밀도를 개선할 수 있음을 보여 주었고 이 기술이 더 널리 사용될 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단의 일반연구(2010-0010880)의 도움으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. C. Swart, O. Rienitz and D. Schiel, *Talanta*, **83**, 1544-1551 (2011).
2. K. G. Heumann, *Int. J. Mass. Spectrom. Ion Process.*, **118/119**, 575-592 (1992).
3. L. Rottmann, K.G. Heumann, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **350**, 221-228, (1994).
4. M. Fernanda Giné and A. Paula Packer, *J. Braz. Chem. Soc.*, **21**, 575-589 (2010).
5. H. A. Meyer, B. Hollenbach, C. Stephan, T. Endermann, N. G. Morgenthaler, H. Cammann, J. Köhrle, K. Jung and L. Schomburg, *Cancer Epidemiol Biomarker Prev.*, **18**(9), 2386-2390 (2009).
6. P. Rodriguez-Gonzalez, J. M. Marchante-Gayon, J. I. Garcia-Alonso and A. Sanz-Medel, *Spectrochimica Acta*, **60B**, 151-207 (2005).
7. H. G. Infante, K. V. Campenhout, R. Blust and F. C. Adams, *J. Chromatogr. A*, **184**, 1121-1129 (2006).
8. A. Rodríguez-Cea, M. R. Fernández, E. B. Gonzalez, B. A. Fernández and A. Sanz-Medel, *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**, 1357-1362 (2003).
9. K. V. Campenhout, H. G. Infante, G. Goemans, C. Bel-paire, F. C. Adams, R. Blust and L. Bervoets, *Sci. Total Environ.*, **194**, 379-386 (2008).
10. A. Rodríguez-Cea, M. R. Fernández, J. I. García-Alonso and A. Sanz-Medel, *J. Anal. At. Spectrom.*, **21**, 270-278 (2006).
11. H. G. Infante, K. V. Campenhout, D. Schaumlöfel, R. Blust and F. C. Adams, *Analyst*, **128**, 651-660 (2003).
12. J. Jeong, J. Lee and Y. Pak, *Bull. Kor. Chem. Soc.*, **34**, 3817-3824 (2013).
13. K. Polec-Pawlak, D. Schaumlöfel, J. Szpunar, A. Prange and R. Lobinski, *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**, 908-913 (2002).
14. D. Schaumlöfel, A. Prange, G. Marx, K. G. Heumann and P. Bräter, *Anal. Bioanal. Chem.*, **55**, 372-378 (2002).
15. H. Jang, H. Min, J. Lee and Y. Pak, *Anal Sci and Technol.*, **26**, 182-189 (2013).
16. E. Kim, M. Joo, H. Kwon and Y. Pak, *Anal Sci and Technol.*, **26**, 307-314, (2013).
17. M. Kotrebai, J. Tyson, E. Block and P. C. Uden, *J. of Chromatography A*, **866** 51-63, (2000).
18. O. Rienitz A. Pramann and D. Schie, *International Journal of Mass Spectrometry*, **289**, 47-53 (2010).