

Validation of ICP-MS method for trace level analysis of Pb in plasma

Sung-Bae Lee^{1,★}, Yong-Soon Kim¹, Yong-Hoon Lee¹, Byung-Joon Ahn¹,
Nam-Soo Kim², Byung-Kook Lee³ and Ho-Sang Shin⁴

¹Chemicals Safety & Health Center, Occupational Safety & Health Research Institute, Daejeon 34122, Korea

²Institute of Environmental and Occupational Medicine, Soonchunhyang University, Asan,
Chungcheongnam-do 31538, Korea

³Chungju Medical Center, Chungju, Chungcheongbuk-do 27486, Korea

⁴Department of Environmental Education, Kongju National University, Kongju, Chungcheongnam-do 32588, Korea

(Received February 15, 2015; Revised September 14, 2015; Accepted September 30, 2015)

혈장 중 극미량 납 분석을 위한 ICP-MS 분석법 검증

이성배^{1,★} · 김용순¹ · 이용훈¹ · 안병준¹ · 김남수² · 이병국³ · 신호상⁴

¹산업안전보건연구원 화학물질센터, ²순천향대학교 환경산업의학연구소,

³충주의료원 건강관리과, ⁴공주대학교 환경교육과

(2015. 2. 15. 접수, 2015. 9. 14. 수정, 2015. 9. 30. 승인)

Abstract: The analytical method of lead in plasma by ICP-MS was validated after securing environment within class 1,000 classification. We tested specificity and accuracy of within-run and between-run. According to measurement of the amount of suspended particulates in a clean room, 0.3~62 particles were detected in 0.3 μm size while 0.0~28.3 particles were observed in 0.5 μm size. Total suspended particulates met required environment with up to 90.3 particles. The MDL (Method detection limit) of the sample which has been fabricated using fetal bovine serum (FBS) blank was 1.77 ng/L, and LOQ (Limit of quantification) was 5.55 ng/L. The slope, intercept and correlation coefficient of the calibration curve were $y=1.09 \times 10^{-3}x+4.88 \times 10^{-2}$ and $r=0.9999$, which showed good correlation. The specificity, within-run and between-run accuracy satisfied the standard at more than 50 ng/L. The average lead concentration in plasma of the general people, current workers and retired workers was 55.4 ng/L, 440 ng/L, and 132 ng/L.

요 약: 본 연구에서는 ICP-MS의 혈장 중 극미량의 납 분석법을 검증하기 위하여 Class 1,000 이 내의 환경조건을 확보한 후 특이성, 일내 및 일간 정확도, 정밀도, 검정곡선 등을 확인하였다. 청정실의 부유 분진량을 측정 한 결과, 0.3 μm 크기는 0.3~62개, 0.5 μm 크기는 0.0~28.3 개로 총 부유 분진량이 최대 90.3개로 요구 환경에 부합하였다. 우태아 혈청 공시료로 조제한 시료의 MDL (Method detection limit)은 1.77 ng/L이고, LOQ (Limit of quantification)값은 5.55 ng/L 이었다. 검정곡선은 $y=1.09 \times 10^{-3}x+4.88 \times 10^{-2}$ 이었고, 상관계수 $r=0.9999$ 이었다. 분석법 확립을 위한 특이성, 일내 및 일간

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)42-869-0333 Fax : +82-(0)42-863-9003

E-mail : sblee@kosha.or.kr

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

정확성, 정밀성, 그리고 검정곡선을 확인한 결과 50 ng/L 이상에서 분석법 확인 기준에 적합하였다. 이를 토대로 분석한 일반인의 혈장 중 납 농도 평균은 55.4 ng/L이었으며, 현지 근로자는 440 ng/L 이었고, 퇴직 근로자는 132 ng/L 이었다.

Key words: validation, lead, plasma, inductively coupled plasma-mass spectrometry

1. 서 론

1960년대 후반부터 전혈 중 납 농도를 분석하여온 이후로 점차 전혈 중 납 농도가 감소하고 있다. 이러한 원인은 자동차 연료의 무연화, 통조림에 납땀 사용 억제, 산업장의 각종 규제 강화, 그리고 실험실 분석 기술의 향상에 기인한다.^{1,4} 이에 따라 최근에는 산업장의 환경적 모니터링 결과와 근로자의 생물학적 모니터링 결과 대부분이 기준치 이하로 측정되고 있다. 이에 따라 납 재해자는 줄어들고 있는 추세이나 제조업 분야에서는 산업재해가 꾸준히 발생하고 있는데, 대부분 납 노출 사업장에서 장기간 근무경력이 있는 근로자에게서 발생하고 있다.⁵ 장기간 근무하다가 퇴직한 근로자의 경우 추적조사를 하지 않거나, 만약 추적조사를 한다고 해도 앞으로 현재의 모니터링 방법 및 규제로는 원인규명이 어려워 적절하지 못하다. 왜냐하면 납 노출 사업장에서 근무하다가 퇴사하여 납 노출이 더 이상 없다고 하더라도 낮은 칼슘 섭취, 골다공증, 갑상선과다증 같은 내분비 질환, 위장질환, 골수질환 등이 빈번한 고령의 퇴직자의 경우 인체에 90% 이상이 뼈에 축적된 납이 장기간 동안 혈장을 통하여 생체에 뇌, 신장 등으로 이동하여 독성을 나타내어 사망에도 이를 수 있기 때문이다.^{2,6,7} 즉, 전혈 중의 납 농도는 기준치 이하로 측정된다고 하지만, 뼈에서 용출된 납이 혈장을 통하여 꾸준히 인체 조직에 장기적으로 영향을 주어 납 독성에 의한 건강장애를 일으키며, 중국에는 사망에도 이를 수도 있다.^{2,8} 이를 산업재해로

인정하기 위한 확실한 근거도 있어야 할 것이다. 따라서 전혈이 아닌 혈장 중에 있는 극미량의 납 분석을 통하여 장기적 또는 만성적인 납 독성에 대한 생물학적 모니터링이 필요하며, 이를 위하여 기존의 원자흡수분광법(AAS, Atomic absorption spectrometry) 보다는 유도 결합 플라즈마 질량 분석법(ICP-MS, Inductively coupled plasma-mass spectrometry)이 적합하다.

ICP-MS는 낮은 검출한계와 질량선택을 이용한 선택성이 우수하며, 분석법이 간단하고 정밀한 방법임에 따라 혈장 중 극미량의 납 분석에 활용도가 높음에도 불구하고,^{9,10} 현재까지 혈장 중 납 분석을 위한 국내·외적으로 통일된 표준분석법이 확립되어 있지 않다. 따라서 본 연구는 생물학적 모니터링에 ICP-MS를 활용하기 위하여 청정실 환경 조건에서 혈장 또는 혈청 중의 납 분석법을 검증하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 청정실 부유 분진량 측정

Class 1,000 (US FED STD 209E Cleanroom Standards ISO class 6) 수준의 청정실의 가동 전과 후의 부유 분진량은 0.1 CFM (cubic feet per minute)의 유량속도로 분진량을 측정하는 레이저 입자 계수기 (Laser particle counter, HACH사, MetOne Model: 227B, China)를 이용하였다. 청정 시스템을 가동하여 10 분 후의 결과를 보게 되면 Table 1과 같이 0.30 크기는 0.30~62 개/ft³, 0.5 크기는 0.0~28.3 개/ft³ 이었다. 총

Table 1. The amount of total suspended particulate in the clean room

Position	Size	Clean room						
		0.3 μm (Count/ft ³)			0.5 μm (Count/ft ³)			Total (Count/ft ³)
		Max.	Min.	Mean	Max.	Min.	Mean	
1		4.00	10.0	6.70	0.00	0.00	0.00	6.70
2		64.0	59.0	62.0	36.0	22.0	28.3	90.3
3		5.00	1.00	3.30	2.00	0.00	1.30	4.60
4		1.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.30
5		25.0	6.00	17.0	7.00	1.00	4.70	21.7

1: Center of cleanroom, 2: Over the ICP-MS, 3: Over the working table, 4: Within the clean bench, 5: Entrance of clean room, flow rate: 0.1 CFM

부유 분진량이 가장 많은 곳은 ICP-MS 장비 위로 평균 90.3 개/ft³ 이었으며, 가장 적은 곳은 무균 실험대 내로 총 부유 분진량이 평균 0.30 개/ft³로 거의 발생하지 않아 시료의 전처리시 오염이 최소화될 수 있었다. ICP-MS 위의 부유 분진량이 가장 많았으나, 시료의 경우 총 부유 분진량 평균이 4.30 개/ft³에 불과한 작업대의 시료보관 장치로부터 자동 주입되었다. 분석자도 무진복, 두건, 마스크, 청정장갑 그리고 청정화 등을 착용하고 실험하기 때문에 분석결과에 거의 영향을 주지 않았으며, 실험기간 동안 Class 1,000 청정실 수준의 환경을 유지하였다.

2.2. 표준품 및 시약

2.2.1. 기구

용량 플라스크는 폴리메틸펜텐, 시약용기는 폴리프로필렌 재질을 사용하고 피펫 팁 등 소모품 역시 폴리에틸렌 재질을 사용하여 용기 재질에 납이 함유되어 있지 않은 기구를 사용하였다.

2.2.2. 시약

Ammonium hydroxide solution, disodium Ethylene Diamine Tetraacetic acid (Na₂-EDTA), Triton X-100, Nitric acid (Aldrich, USA) 특급시약을 구매하였고, Fe 표준시약(Kanto chemical, Japan)은 1,000 µg/mL 용액을 구매하였다. Pb (1 µg/mL), Rh (1 µg/mL)는 AccuStandard 사(USA) 제품을 구매하였으며, Fetal bovine serum은 HyClone (USA) 제품을 사용하였다. 18 M 초순수 탈이온수는 Milli-Q(Millipore사, USA)를 사용하여 실험실에서 조제하였다.

이동 가스로는 아르곤(99.999%)를 사용하였으며, 이외의 시약은 고순도 분석급으로 사용하였다.

2.3. 시료의 전처리

혈장 시료는 사용 전까지 2 mL 튜브에 넣어서 -80 °C의 초저온 냉동고에 보관하였으며, 실험에 사용하는 실험기구들은 5% v/v HNO₃에서 24시간, 10% v/v HNO₃에서 24시간 동안 보관 하였다. 이후 Milli-Q로 제조한 18 M 초순수 탈이온수로 5번 이상 세척하여 깨끗하게 한 다음 수직 총류가 흐르는 Class 1,000 청정실 내의 무균 실험대 안에서 건조시켰다.^{11,12} ICP-MS 자동시료주입기 세척용액은 탈이온수와 70%의 99.999+% 전자급(EG: Electronic Grade) HNO₃을 희석하여 1% v/v HNO₃로 제조하여 사용하였다.¹³

시료의 전처리는 Triton X-100, Na₂EDTA, 28% 암

모니아수와 미리 제조한 내부표준용액(internal standard solution)인 Rh 1 µg/L 탈이온 희석용액과 혼합하였으며, 분석할 혈장시료는 위에서 제조한 희석용액과 1:9 비율로 혼합하였다.^{13,14} 검정곡선을 그리기 위한 표준용액은 위와 동일한 방법으로 제조한 뒤 각각의 혈장시료로부터 용혈 정도를 확인하기 위하여 혈장내의 철 수준을 분석하였다.^{15,16} 시료의 전처리 작업은 오염을 막기 위하여 청정실 안의 무균 실험대 내(부유분진량은 1 이하: Table 1 참조)에서 수행하였다. Table 2와 같이 표준용액은 표준 우태아 혈청을 사용하여 표준물 첨가법으로 20, 50, 100, 200, 500, 1,000, 그리고 2,000 ng/L를 사용하였다.^{13,14}

2.4. 기기 및 분석조건

분석 기기는 ICP-MS (Agilent Technologies, Model: 7500ce, 미국)를 사용하였다. ICP 및 mass detector의 분석 조건은 Table 2와 같다. RF power는 1,600 W이었으며, 분석대상 원소인 납은 m/z 208, 내부표준물질인 Rh은 m/z 103, Fe는 m/z 56을 측정하였다. 특히 납을 정량하기 위한 Pb²⁰⁸은 Pb²⁰⁴, Pb²⁰⁶, Pb²⁰⁷과 비교하였을 때 자연 존재비가 가장 크기 때문에 감도가 가장 좋으며 다른 원소의 동위원소와 겹침이 없어 간섭현상이 거의 없음¹⁷으로 선택하였다. 표준 우태아 혈청을 이용하여 시험분석한계를 측정하였으며 모든 분석값은 3 회 반복 측정치의 평균값으로 산정하였다.

2.5. 분석법 검증

혈장 중의 납 농도 분석의 경우 표준시료가 없기 때문에 정해진 품질 프로그램이 없다.¹⁸ 따라서 분석결과를 채택하기 위해서는 분석법 검증기준에 적합해

Table 2. ICP-MS parameters for the analysis of Pb in plasma

	Parameters	Unit	Value
ICP	RF Power	W	1,600
	Sampling depth	mm	8.00
	Torch-H	mm	-0.40
	Torch-V	mm	0.40
	Carrier gas	L/min	0.70
	Makeup gas	L/min	0.50
	S/C temp.	°C	2.00
	He gas	mL/min	5.00
	Mass spectrometer	Pb (m/z)	-
Fe (m/z)		-	56
Rd (m/z)		-	103

- m/z: Mass to charge ratio

야 하고 분석법에 대한 검증이 선행되어야 한다. 생체 시료중의 분석물질을 정량 분석함에 있어서 분석법 검증은 중요하며, 검증 단계는 분석법이 믿을만하고 재현성 있다는 것을 증명하는 모든 과정이라고 할 수 있다. 이러한 검증(validation)을 위해 여러 가지 절차가 있고 모든 인자를 확인해야하는 것은 아니지만 기본적으로 정확도, 정밀도, 선택성, 감도, 재현성과 안정성 등¹⁹이 일반적인 권장사항이며, 이러한 과정을 통하여 분석법 검증을 수행하였다.

2.5.1. 특이성

분석법의 특이성은 생체시료 내 다른 물질의 공존 시 해당 분석물질을 분리하고 정량하는 분석 능력이다. 혈장시료를 구하는 것이 어렵고, 혈장 중 납과 혈청 중 납은 비슷한 결과를 보여주기 때문에²⁰ 본 연구에서는 혈장과 유사하여 생체시료로 많이 사용되고 있는 우태아 혈청으로 조제한 공시료(blank)를 10 회 반복하여 간접시험을 수행하였다.

2.5.2. 정확도와 정밀도

분석법의 정확도란 분석물질의 농도에 대하여 분석법에 의해 얻어진 평균 실험결과의 근접도이다. 이 정확도는 알고 있는 양의 분석물질을 함유한 시료를 반복적으로 분석하여 구할 수 있다. 대체표준물(surrogate standard)을 이용하여 표준용액(working solution)을 만드는 방법과 동일한 방법으로 만든 임의의 시료 40 ng/L, 400 ng/L, 그리고 1,700 ng/L에 대하여 10 회 반복 실험을 실시하였다.

정밀도는 하나의 균질화된 생체시료의 동일한 양을 반복 분석하였을 때 분석물질 측정치의 근접도를 의미한다. 이에 따라 공시료, 20 ng/L, 50 ng/L, 100 ng/L, 200 ng/L, 500 ng/L, 1,000 ng/L, 그리고 2,000 ng/L에 대하여 일간(between-run) 분석을 6 회에 걸쳐서 실시하였으며, 각 농도마다 3 회 반복 실험한 결과를 평균값으로 취하였다. 각 농도별로 측정된 정밀도는 상대 표준편차(relative standard deviation: RSD) 값이 15% 이내에 있어야 한다.

2.5.3. 검정곡선

검정곡선은 기기의 반응과 농도를 알고 있는 분석물질과의 관계를 나타내는 것으로 시료중의 분석물질에 대하여 작성되는 것이다. 표준물질은 Table 3과 같으며, 표준물질 8 개 전체를 사용한 검정곡선과 1,000 ng/L 미만의 하위 5 개 농도와 2,000 ng/L까지의 상위 5개

Table 3. Working solution method into fetal bovine serum

No	Pb solution concentration (unit: ng/L)	Volume (mL)		
		Pb 10 µg/L Stock solution (Rh 1 µg/L)	FBS	Diluting solution (Rh 1 µg/L)
1	Blank	0.00	5.00	45.0
2	20	0.10	5.00	44.9
3	50	0.25	5.00	44.8
4	100	0.50	5.00	44.5
5	200	1.00	5.00	44.0
6	500	2.50	5.00	42.5
7	1,000	5.00	5.00	40.0
8	2,000	10.0	5.00	35.0

Surrogate Standard : HyClone fetal bovine serum (FBS)
Dilution solution: NH₄OH, Triton X-100, Na₂EDTA, Internal std. Rh

농도에 대한 검정곡선을 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 결과

3.1.1. 특이성

우태아 혈청 공시료를 10 회 반복 분석한 간접시험 결과는 Table 4에 나타내었다. 평균값은 4.91 ng/L이었으며 표준편차는 0.56이었다. 공시료를 10 회에 걸쳐 일내(within-run) 측정된 데이터의 신호-대-잡음비를 통하여

Table 4. Interference of Surrogate Standard*

No	Surrogate Standard	Pb concentration (ng/L)
1	Fetal bovine serum	4.38
2	Fetal bovine serum	4.99
3	Fetal bovine serum	4.72
4	Fetal bovine serum	3.70
5	Fetal bovine serum	5.13
6	Fetal bovine serum	5.20
7	Fetal bovine serum	5.57
8	Fetal bovine serum	5.20
9	Fetal bovine serum	5.47
10	Fetal bovine serum	4.74
Mean	-	4.91
SD	-	0.56
RSD	-	11.3
MDL	3.14×SD	1.76
LOQ	10×SD	5.55

*HyClone fetal bovine serum (FBS)

Table 5. Precision and accuracy of lead in FBS (within-run)

No	Conc. (ng/L)		
	40 ng/L	400 ng/L	1,700 ng/L
1	42.1	385.8	1,734
2	40.2	405.3	1,703
3	38.5	399.2	1,680
4	40.4	405.5	1,692
5	40.1	400.9	1,716
6	40.9	400.5	1,715
7	40.9	399.5	1,702
8	40.4	397.2	1,720
9	40.8	403.2	1,683
10	38.5	405.3	1,718
Mean	40.3	400	1,706
SD	1.09	5.85	17.4
RSD(%)	2.71	1.46	1.02
Recovery(%)	100.7	100.1	100.4

계산한 시험분석한계(MDL: method detection limit)은 1.76 ng/L, 정량한계(LOQ: limit of quantification)는 5.55 ng/L이었다.

3.1.2. 정확도와 정밀도

임의로 만든 시료 40 ng/L, 400 ng/L, 그리고 1,700 ng/L에 대하여 10회 반복 실험을 실시하여 정확도와 일내(within-run) 정밀도를 Table 5에 나타내었다. 40 ng/L 시료의 평균은 40.3 ng/L, 표준편차는 1.09, 그리고 상대표준편차(relative standard deviation: RSD)는 2.71%이었으며, 400 ng/L 시료의 경우에는 평균은 400 ng/L, 표준편차는 5.85, 그리고 RSD는 1.46%이었고, 1,700 ng/L 시료의 경우에 평균은 1,706 ng/L, 표준편차는 17.4, 그리고 RSD는 1.02%이었다. 모든 시료의 RSD값은 생체시료분석법 검증 기준 이론값의 $\pm 15\%$ 이내의 정밀도를 나타내었으며, 정확도는 각각

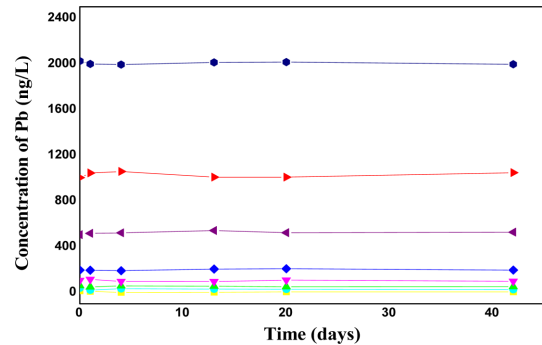


Fig. 1. Reproducible a test result graph of working solution method by using fetal bovine serum.

100.7%, 100.1%, 그리고 100.4%이었다.

또한 공시료로부터 2,000 ng/L 까지의 농도에 대하여 일간(between-run) 6회(0, 1, 4, 13, 20, 42일)에 걸쳐서 분석을 실시하였으며, 각 농도마다 3 회 반복 시험한 결과를 Table 6과 Fig. 1에 나타내었다. 각 농도 별로 측정된 정밀도는 표준시료 이론값의 $\pm 15\%$ 이내를 모두 만족하였으며, 정확도도 20 ng/L 를 제외하고 98.4~105.5% 범위였다. 다만, 20 ng/L의 경우 최저정량한계(LLQ: low limit of quantification)에서 $\pm 20\%$ 이 내이어야 하나 RSD값이 22.6%로 한도를 벗어났다.

3.1.3. 검정곡선

표준물질 8 개 전체를 사용한 검정곡선과 1,000 ng/L 미만의 하위 5 개 농도와 2,000 ng/L 까지의 상위 5 개 농도 검정곡선을 Table 7과 Fig. 2에 비교하여 나타내었다. 하위 5 개 농도의 검정곡선은 $Y=1.07 \times 10^{-3}X + 4.91 \times 10^{-2}$, 상관계수는 0.9998, 그리고 검출한계는 1.94 ng/L 이었으며, 상위 5 개 농도의 검정곡선은 $Y=1.09 \times 10^{-3}X + 4.80 \times 10^{-2}$, 상관계수는 0.9999, 그리고 검출한계는 1.91 ng/L이었고, 표준물질 8 개 전체에

Table 6. Precision and accuracy of lead in FBS (between-run)

Working Solution	1	2	3	4	5	6	Mean \pm SD	RSD (%)	Recovery (%)
Blank	12.5	7.6	0.00	0.30	4.10	3.30	4.60 \pm 4.74	102	-
20 ng/L	37.3	19.0	30.8	28.1	26.4	23.9	27.6 \pm 6.22	22.6	138
50 ng/L	59.2	47.0	56.8	53.4	49.5	50.7	52.8 \pm 4.61	8.75	106
100 ng/L	105	113	95.2	93.8	106.6	97.5	102 \pm 7.53	7.40	102
200 ng/L	194	194	189	203	207	194	197 \pm 6.87	3.49	98.4
500 ng/L	504	516	521	541	523	527	522 \pm 12.5	2.39	104
1,000 ng/L	1,004	1,044	1,058	1,008	1,008	1,047	1,028 \pm 24.1	2.34	103
2,000 ng/L	2,024	2,000	1,993	2,012	2,016	1,996	2,007 \pm 12.3	0.61	100

Table 7. Comparison of the standard calibration of each lead working solution

	r	Y=aX+b	DL (ng/L)	BEC (ng/L)
Low	0.9998	$Y=1.07 \times 10^{-3}X+4.91 \times 10^{-2}$	1.94	45.9
High	0.9999	$Y=1.09 \times 10^{-3}X+4.80 \times 10^{-2}$	1.91	44.2
All	0.9999	$Y=1.09 \times 10^{-3}X+4.88 \times 10^{-2}$	1.91	45.0

- DL: Detection limit

- BEC: Background equilibrium concentration

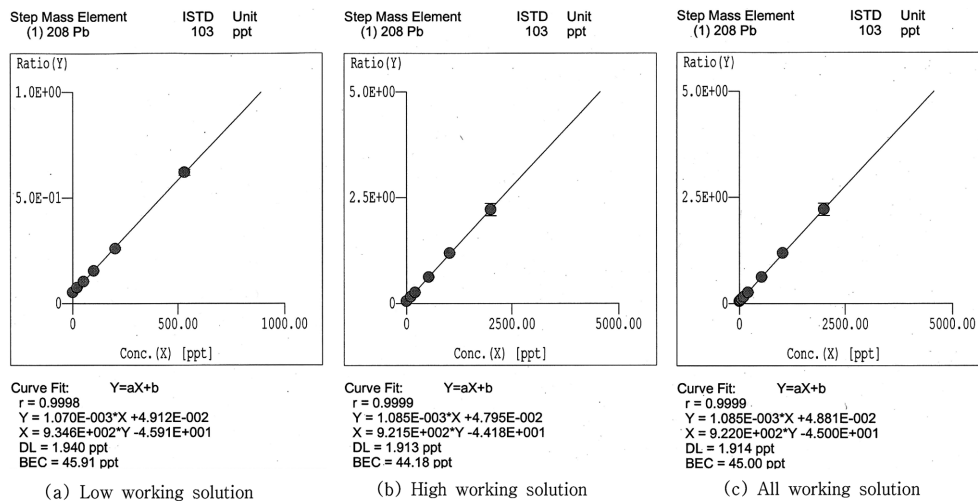


Fig. 2. Comparison of the calibration curves of each working solution.

대한 검정곡선은 $Y=1.09 \times 10^{-3}X+4.88 \times 10^{-2}$, 상관계수는 0.9999, 그리고 검출한계는 1.91 ng/L 이었다.

3.2. 고찰

국내·외에서 최근까지 전혈을 분석함에 있어서 원자흡수 분광법을 주로 활용하고 있다.²¹⁻²⁴ 일반적으로 AAS를 사용하여 미량분석이 가능하지만, 검출한계가 높으며 전처리과정에서 균일한 용액으로 만들기 어려울 뿐만 아니라 시료마다 손실 및 오염 등으로 인하여 회화 정도가 달라 재현성이 낮고 매트릭스의 영향을 크게 받는 단점이 있다.^{10,25} 이에 따라 비록 고가이지만 분석법이 비교적 간단하고, 낮은 검출한계와 정밀하고 정확한 분석이 가능한 ICP-MS의 활용이 점차 늘어가고 있으며,^{9,23,26-29} 특히 혈장 또는 혈청 중 납 농도는 전혈 중 납 농도의 0.27~4.0% 수준으로 10^{-9} 단위(ng/L)의 극미량까지 분석해야 하기 때문에 ICP-MS를 활용하는 것이 필요하다. 이전 연구¹³와 같이 US FED STD 209E 청정실 등급기준 ISO 6을 만족하는 청정실 설비를 갖추고 전처리시 오염의 최소화, 납이 함유되지 않은 초자기구와 고순도 시약 사용, 그리

고 높은 감도와 재현성이 좋은 ICP-MS를 사용함으로써 검출한계를 낮출 수 있었다. 또한 광범위한 생물학적 모니터링을 위해서는 신속하고 간단한 분석 방법이 필요하였으며 이러한 필요충분조건을 가지고 있는 ICP-MS가 적절하다고 판단하였다.

ICP-MS 분석의 신뢰도 검증을 위해서 먼저 생체시료의 간섭실험을 하였으며, 실험결과 MDL은 1.76 ng/L, LOQ는 5.55 ng/L로 10 ng/L 이하까지 정량분석이 가능하였다. Bárány 등의 연구에 따르면 혈청 중 검출한계는 100 ng/L이었으나,²⁹ 본 연구에서는 50 배 이상 더 낮은 검출한계를 얻었으며 이는 장비의 우수성도 있겠지만 청정 분석 환경과 최적 기기조건의 확립이 크게 작용한 것으로 판단된다.

분석물질의 일정 농도에 대한 ‘정확도’와 ‘정밀도’를 확인하기 위해 임의로 조제한 시료에 대하여 일내(within-run) 및 일간(between-run) 값을 분석하였다. 정확도는 회수율(recovery)을 통하여 비교하였으며, 정밀도는 상대표준편차(RSD)를 이용하여 비교하였다. 일내 정확도(100.1~100.7%)와 정밀도(1.02~2.71%)는 매우 우수하였으나, 일간 정확도와 정밀도의 경우에는

20 ng/L 에서 생체시료 확인 지침 표준시료 이론값의 $\pm 15\%$ 이내를 충족시키지 못하였다. 하지만, 50 ng/L 이상부터 2,000 ng/L 까지 모든 시료에 대하여 0일에서 42일까지 6 회에 걸쳐 측정된 정확도(98.4~105.5%) 및 정밀도(0.61~8.75%)는 생체시료 확인 지침 표준시료 이론값의 $\pm 15\%$ 이내를 모두 만족하였다. 20 ng/L 의 경우에 있어서 생체시료 확인 지침 최저정량한계 $\pm 20\%$ 를 벗어난 이유는 매우 낮은 농도이기 때문에 생체시료의 영향(matrix effect)을 많이 받은 결과로 판단된다. 따라서 이러한 한도를 벗어나기 때문에 설정된 모델을 변경시키지 않는 한 제외할 수 있음에 따라 20 ng/L는 제외하였다.¹⁸

검정곡선을 검증한 결과 모든 농도군을 활용한 검정곡선의 직선성은 모두 $r=0.9998$ 이상으로 우수하였으며, 상위 농도군을 활용한 검정곡선의 경우 직선성이 하위 농도군을 활용한 검정곡선보다 더 좋은 결과를 나타내었다. 이는 위에서도 언급하였듯이 표준시료 20 ng/L가 매우 낮은 농도이기 때문에 생체시료영향을 크게 받게 되어 정밀도가 떨어진 것이다. 3 종류의 검정곡선을 비교한 결과 생체시료영향을 많이 받은 20 ng/L를 제외한 상위 농도군의 직선성이 더 우수하였으며, 분석한계와 배경평균농도 또한 더 좋은 결과를 얻을 수 있었다.

상기와 같이 분석법을 검증하고 시료분석을 위하여 S대학교 환경산업의학연구소의 혈액은행으로부터 일반인, 현직근로자, 그리고 퇴직근로자의 혈장시료를 제공받아 분석하였다. 분석한 시료는 연구 참여에 동의한 연구대상자의 혈장시료만 사용하였으며, 분석한 결과를 Table 8에 나타내었다. 일반인의 경우 혈장 중 납 농도 평균은 55.4 ng/L (중앙값 63.0 ng/L) 이었으며, 납 노출 사업장에 근무하는 현직 근로자의 혈장 중 납 농도 평균은 441 ng/L (중앙값 423 ng/L) 이었고, 납 노출 사업장에 근무 경력이 있는 퇴직 근로자의 혈장 중 납 농도 평균은 132 ng/L (중앙값 133 ng/L) 이었다. 따라서 본 분석법으로 일반적으로 분석하는 일반인, 현직근로자, 그리고 퇴직근로자의 혈장 중 납

농도 분석이 가능함을 확인하였다.

본 연구는 혈장 중 납 분석을 위한 국내·외에 정도 관리 프로그램이 없기 때문에 상기와 같이 분석법 검증을 수행하였으며, 납에 노출되지 않은 일반인의 경우 혈장 중 납 농도 평균이 90 ng/L~200 ng/L임을 감안하면,^{13,30-32} 예상되는 농도 전 범위가 포함되어 있기 때문에 ICP-MS를 혈장 중 납 농도 분석에 적용이 가능하다고 판단된다. 다만, 50 ng/L 미만의 극미량 농도를 분석하기 위해서는 생체시료의 영향을 줄일 수 있는 방법을 모색해야 할 것이다.

5. 결 론

본 연구에서는 혈장 중 납의 극미량 분석법 확립을 위하여 필요한 환경조건을 갖춘 후 검증을 수행하였다. 본 분석방법은 사용법이 비교적 간단하고 높은 감도, 낮은 정량한계, 우수한 직선성, 일내 재현성과 일간 재현성은 4% 이하로 기준 값 이내로 정밀성이 확인되었고 정확성도 우수하였다. 상기와 같이 ICP-MS 분석법 검증을 수행하여 10 ng/L 단위의 혈장 중 납 농도 측정이 가능함을 확인하였다. 다만, 본시험에서 50 ng/L 미만의 농도를 분석함에 있어서 신뢰성을 확보하기 위하여 생체시료 영향을 더 줄일 수 있는 추가적인 연구가 필요하다. 현재 ICP-MS를 사용하는 분야가 점차 확대되어 가고 있으며, 본 연구에서 검증한 ICP-MS를 이용한 혈장 및 혈청 중 납 분석법은 머지않아 납의 생물학적 모니터링으로 활용함에 있어서 AAS를 대체할 것으로 판단된다.

References

1. B. K. Lee, J. J. Kim, K. H. Woo and H. S. Kim, Health Care Technology Research and Development Annual Report, Ministry of Health and Human Services, 2002.
2. H. Hu, M. Rabinowitz and D. Smith, *Environ. Health Perspect.*, **106**(1), 1-8 (1998).
3. R. Cornelis, B. Heinzow, R. F. M. Herber, J. Molin Christensen, O. M. Paulsen, E. Sabbioni, D. M. Templeton, Y. Thomassen, M. Vahter, and O. Vesterberg, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (Nos 8/9), 1575-1608 (1995).
4. J.-W. Choi, N.-S. Kim, K.-S. Cho, J.-O Ham and B.-K. Lee, *J. Korea Soc. Occup. Environ. Hyg.*, **20**(1), 10-18 (2010).
5. Korea Occupational Safety & Health Agency (KOSHA),

Table 8. Lead in the plasma sample by of subjects ICP-MS

Group	N	Mean \pm SD (ng/L)	Median (ng/L)	SE
General person	10	55.4 \pm 36.4	63.0	11.5
Current worker	10	441 \pm 158	423	49.8
Retired worker	10	132 \pm 26.1	133	8.20

SD: Standard deviation, SE: Standard error

- Industrial Accident Statistics, <http://eip.kosha.or.kr/jsp/Main.jsp?On=OPEN>, Assessed 29 Oct 2014.
6. M. M. Telléz-Rojo, M. Hernández-Avila, H. Lamadrid-figueroa, D. Smith, L. Hernández-Cadena, A. Mercado, A. Aro, J. Schwartz and H. Hu, *American J. Epidemiology*, **160**, 668-678 (2004).
 7. F. Barbosa Jr., I. Ramires, M. H. C. Rodrigues, T. D. Saint' Pierre, A. J. Curtius, M. R. Buzalaf, R. F. Gerlach and J. E. Tanus-Santos, *Environ. Res.*, **102**, 90-95 (2006).
 8. M. Hernández-Avila, D. Smith, F. Meneses, R et al., *Environ. Health Perspect.*, **106**(8), 473-477 (1998).
 9. F. J. Roberts, L. Ebdon and S. J. Hill, *J. Trace Elements Med. Biol.* **14**, 108-115 (2000).
 10. S. S. Choi, and S. H. Lee, *J. Korean Soc. Environ. Adm.*, **8**(4), 331-337 (2002).
 11. G. R. C. Almeida, C. F. Freitas Tavares, A. M. Souza, T. S. Sousa, C. A. R. Funayama, F. Barbosa Jr., J. E. Tanus-Santos and R. F. Gerlach, *Sci. Total Environ.*, **408**, 1551-1556 (2010).
 12. G. A. K. Koyashiki, M. M. B. Paoliello, T. Matsuo, M. M. B. Oliveira, L. Mezzaroba, M. Fátima Carvalho, A. M. Sakuma, C. Turini, M. T. O. Vannuchi, and C. S. D. Barbosa, *Environ. Res.*, **110**, 265-271 (2010).
 13. S.-B. Lee, J.-S. Yang, S.-B. Choi and H.-S. Shin, *Anal. Sci. Technol.*, **25**(3), 190-196 (2012).
 14. S.-B. Lee, J.-S. Yang, S.-B. Choi, N.-S. Kim, B.-K. Lee and H.-S. Shin, *J. Korean Soc. Occup. Environ. Hyg.*, **23**(2), 65-74 (2013).
 15. M. F. Montenegro, F. Barbosa Jr., V. C. Sandrim, R. F. Gerlach, J. E. Tanus-Santos, *Arch Toxicol.*, **80**, 394-398 (2006).
 16. V. B. Rezende, J. H. Amaral, R. F. Gerlach, F. Barbosa Jr., and J. E. Tanus-Santos, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **24**, 147-151 (2010).
 17. K. S. Park and S. T. Kim, *Anal. Sci. Technol.*, **10**(4), 240-245 (1997).
 18. F. Barbosa Jr., J. E. Tanus-Santos, R. F. Gerlach and P. J. Parsons, *Environ. Health Perspect.*, **113**(12), 1669-1674 (2005).
 19. Ministry of Food and Drug Safety, Guideline for the Validation of Bioanalytical Method, 2010.
 20. I. A. Bergdahl, L. Gerhardsson, I. E. Liljelind, L. Nilsson and S. Skerfving, *Am. J. Ind. Med.*, **49**, 93-101 (2006).
 21. N.-S. Kim, J.-H. Kim, B.-K. Jang, H.-S. Kim, K.-D. Ahn and B.-K. Lee, *J. Korean Soc. Occup. Environ Hyg.*, **17**(1), 43-52 (2007).
 22. M. F. Montenegro, F. Barbosa Jr, V. C. Sandrim, R. F. Gerlach and J. E. Tanus-Santos, *Arch Toxicol.*, **80**, 394-398 (2006).
 23. C. D. Palmer, M. E. Lewis Jr., C. M. Geraghty, F. Barbosa Jr., and P. J. Parsons, *Spectrochim. Acta B*, **61**, 980-990 (2006).
 24. N.-S. Kim, K.-S. Jung and B.-K. Lee, *J. Korean Soc. Occup. Environ. Hyg.*, **21**(4), 193-200 (2011).
 25. K. S. Park and S. T. Kim, *Anal. Sci. Technol.*, **10**(4), 240-245 (1997).
 26. D. Smith, M. Hernandez-Avila, M. M. Téllez Rojo, A. Merado and H. Hu, *Environ. Health Perspect.*, **110**(3), 263-268 (2002).
 27. J. A. Nunes, B. L. Batista, J. L. Rodrigues, N. M. Caldas, J. A. Neto, and F. Barbosa Jr, *J. Toxicol. Environ. Health A.* **73**(13-14), 878-887 (2010).
 28. G. R. Almeida, C. F. Freitas Tavares, A. M. Souza, T. S. Sousa, C. A. R. Funayama, F. Barbosa Jr, J. E. Tanus-Santos, and R. F. Gerlach, *Sci. Total Environ.*, **408**, 1551-1556 (2010).
 29. E. Bárány, I. A. Bergdahl, L.-E. Bratteby, T. Lundh, G. Samuelson, A. Schütz, S. Skerfving and A. Oskarsson, *Sci. Total Environ.*, **286**, 129-141 (2002).
 30. A. Schütz, I. A. Bergdahl, A. Ekholm and S. Skerfving, *Occup. Environ. Med.*, **53**, 736-740 (1996).
 31. I. A. Bergdahl, A. Schütz, L. Gerhardsson, A. Jensen and S. Skerfving, *Scand. J. Work Environ. Health*, **23**(5), 359-363 (1997).
 32. I. A. Bergdahl, M. Vahter, S. A. Counter, A. Schütz, L. H. Buchanan, F. Ortega, G. Laurell and S. Skerfving, *Environ. Res. Sect. A*, **80**, 25-33 (1999).