

## 유도결합 플라즈마 질량분석기를 이용한 흰쥐 장기중의 극미량원소의 분석

강종성<sup>#</sup> · 김효진<sup>\*</sup>

충남대학교 약학대학, \*동덕여자대학교 약학대학

(Received September 9, 1993)

### Determination of Trace Elements in Organic Tissues of Rat by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

Jong Seong Kang<sup>#</sup> and Hyo Jin Kim<sup>\*</sup>

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

\* College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

**Abstract**—The trace elements in liver, kidney and testicle of rats were analysed by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer(ICP-MS). Ten elements(Cr, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Pb, Bi, Th, U) were determined simultaneously and the detection limit of each elements was lower than ppb level.

**Keywords** □ Trace elements, inductively coupled plasma-mass spectrometry(ICP-MS), rat, biological samples.

생체내에서의 미량원소의 분석은 생리활성이 있는 원소 또는 중금속과 관련한 연구 등에 있어서 필수적이다. 근래에는 유해한 미량원소, 특히 환경오염 문제에서 큰 비중을 차지하는 중금속의 생체내 축적 여부, 그리고 생물의 이에 대한 노출정도의 측정 등을 위해 생체시료를 신속, 정확하게 분석할 수 있는 방법에 관한 연구가 요구된다.

동물의 장기, 혈액, 뇨, 변 등의 생체시료중에서 Cu, Co, Zn, Li, Br, Fe 등의 미량원소들에 대한 분석이 Parsley를 비롯한 몇몇 연구자들에 의해 이루어졌으며,<sup>1-5)</sup> 점점 심각해지는 환경오염과의 연관성으로 인하여 인체에 유해한 중금속 또는 방사성원소 등이 연구대상으로서 관심을 모으고 있다.<sup>6-11)</sup> 이들 연구는 동물의 사료, 축산용수, 음식물 그리고 가축, 동물의 배설물, 장기 등의 생체시료 중의 미량원소들을 대상으로 하고 있다.

이러한 연구에 주로 사용되어온 원자흡수분광법은

미량분석이 가능하나, 이에 대한 다원소 동시분석법이 보편화 되지 못하여, 한번에 한 원소밖에 분석할 수 없다는 단점이 있다. 여러 원소를 동시에 분석할 수 있는 가장 일반적인 방법으로는 원자방출분광법이 있다. 원자방출분광법은 고온의 유도결합 플라즈마(Inductively Coupled Plasma, ICP)나 직류플라즈마(Direct Current Plasma)에 시료를 주입하였을 때 방출되는 빛을 분석하는 방법으로 원소간의 간섭이 적어 검출한계가 ppb수준이며, 농도에 대한 신호의 직선성도 좋다.

1980년 Houk<sup>12)</sup> 등이 ICP와 질량분석기를 연결시키는 시도를 하였고, 그 이후 ICP-MS는 다른 분광분석기와 비교하여 높은 감도, 깨끗한 바탕스펙트럼 그리고 ppt에 이르는 낮은 검출한계 등의 장점을 가짐으로써 광범위한 분야에서 널리 이용되고 있다.

본 연구에서는 최근 여러 분야에서 많이 이용되고 있는 ICP-MS를 이용하여 실험용 쥐의 장기에 함유되어 있는 미량원소를 분석함으로써 생체시료중의 미량원소분석법을 확립하고자 하였다.

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

## 실험방법

**기기 및 시약**—본 실험에 사용된 기기는 Plasma Quade Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer(VG Elemental, Winsford, Cheshire, UK)이며, 실험에 사용된 기기의 조건은 Table I에 나타난 바와 같다. 모든 시약은 GR급 이상을 사용하였으며 물은 1차 증류수를 초순수 제조기(ELGASTAT UHQ PS)에 통과시킨 후 사용하였다.

**Data Acquisition**—측정가능한 질량범위는 1.5에서 256까지이며 총 2,048 channel에 대해 1 channel당 100  $\mu$ s의 dwell time으로 신호를 포착하였다. 정량분석을 위해 동일질량범위를 120회 반복 scan하여 적분값을 사용하였다.

**자료처리**—내부표준물질로서 In과 Tm을 사용하였고, 내부표준물질을 이용한 두점 검량선법으로 정량분석하였다. 각 원소의 질량수로는 동위원소중 자연계에 분포가 가장 많은 것을 채택하였고, 타원소나 방해물질과 겹치는 경우는 부득이 분포량이 그 다음인 질량수를 이용하였다. Table II에 사용 원소와 자연계에 5% 이상 존재하는 동위원소의 질량수를 나타내었다.

**시료의 전처리**—14주령의 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐 3마리를 희생시켜 간, 신장, 고환을 각각 1g씩 취해 파이렉스 비이커에 넣고 파이렉스 시계접시로 덮은 후 진한 황산 5 ml를 넣고 가열판상에서 8시간 동안 300~600°C에서 탄화시켰다. 그다음 비이커를 가열판 가장자리로 옮겨 식힌 후 진한 황산수 적을 기벽을 따라 천천히 넣었다. 시료용액이 미황색 또는 무색으로 맑아질 때까지 이 과정을 반복하였다. 시

**Table I**—ICP-MS operation conditions

Carrier gas	0.8 ml/min
Plasma gas	15 l/min
Support gas	0.5 l/min
RF Power	1,350W(27.2 MHz)
Sampling cone hole size	0.5 mm
Skimmer cone hole size	1.0 mm
Vacuum system	2 torr(First-stage) 2 $\times 10^{-5}$ torr(Second stage) $\sim 10^{-6}$ torr(Third stage)
Sampling depth	10 mm

**Table II**—Mass numbers and relative abundance of elements

Elements	Mass number <sup>a)</sup>	(relative abundance)		
Cr	*52(83.8)	53( 9.6)		
Ni	58(67.9)	*60(26.2)		
Cu	*63(69.1)	65(30.9)		
Zn	*64(48.9)	66(27.8)	68(18.6)	
Mo	92(15.8)	94( 9.0)	*95(15.7)	96(16.5)
	97( 9.5)	98(23.8)	100( 9.6)	
Cd	110(12.4)	*111(12.8)	112(24.1)	113(12.3)
	114(28.9)	116( 7.6)		
In <sup>b)</sup>	113( 4.3)	*115(95.7)		
Tm <sup>b)</sup>	*169(100)			
Pb	206(23.6)	207(22.6)	*208(52.3)	
Bi	*209(100)			
Th	*232(100)			
U	*238(99.3)			

<sup>a)</sup> Selected mass numbers for this experiment are marked with an asterisk(\*)

<sup>b)</sup> Internal standards

료용액이 건조될 때까지 시계접시를 반쯤 열어 300~400°C로 가열하였다. 이때 생성되는 Si, Pb 등의 침전을 녹이기 위해 CH<sub>3</sub>COONa 1g, HNO<sub>3</sub> 1ml 및 물을 최종 부피의 절반정도로 넣어 용액으로 하였다. 침전물이 있는 경우, 여과하고 그 여액을 50 ml 용량플라스크에 넣고 표선까지 물을 채워 시료로 하였다.

## 결과 및 고찰

Fig. 1은 신장, 간, 고환 시료의 ICP-MS 스펙트럼으로 공통적으로 바탕스펙트럼에서 나타나는 peak 외에 질량 63, 65에서의 Cu, 61~68의 Zn, 85, 87의 Rb, 204-208의 Pb 동위원소 peak를 볼 수 있어 이들 원소들이 타원소들에 비해 비교적 높은 농도로 시료에 함유되어 있음을 보여준다.

Fig. 2는 신장, 간, 고환시료의 스펙트럼을 질량수 50~70과 200~215 사이를 확대하여 나타낸 것인데, 이로부터 Cr, Ni, Cu, Zn, Pb, Bi의 양을 장기별로 상대적으로 확인할 수 있다. Zn의 경우는 세가지 장기에서의 함량이 비슷하지만 그외 원소의 경우 간에서의 함량이 신장이나 고환에 비해 상당히 낮은 것을 볼 수 있다. 이들 원소에 대한 동위원소의 비율은

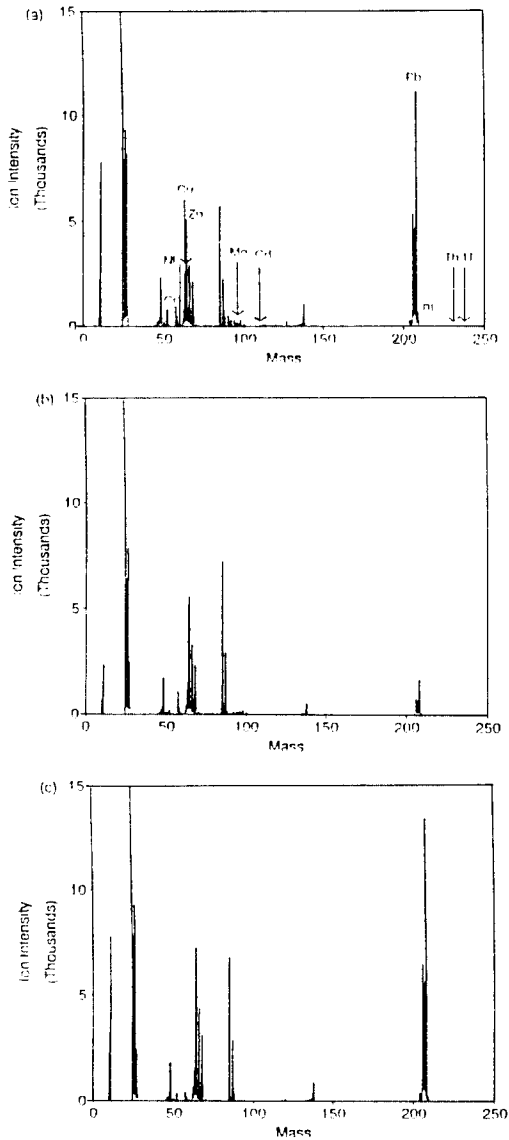


Fig. 1—ICP-MS spectrum of organic tissues of rat. (a) Kidney (b) Liver (c) testicle

문헌상의 동위원소 자연존재비(Table II참조)와 거의 일치하였다. Fig. 3은 질량수 90~140사이를 확대한 것으로 이로부터 Mo과 Cd을 확인할 수 있으며, 분석대상은 아니지만 Sn(동위원소 질량수 및 자연존재비 116; 14.3%, 117; 7.6%, 118; 24.0%, 119; 8.6%, 120; 32.6%, 124; 5.9%, I(127), Ba(동위원소 질량수 및 자연존재비 135; 6.6%, 136; 7.8%, 137; 11.3%,

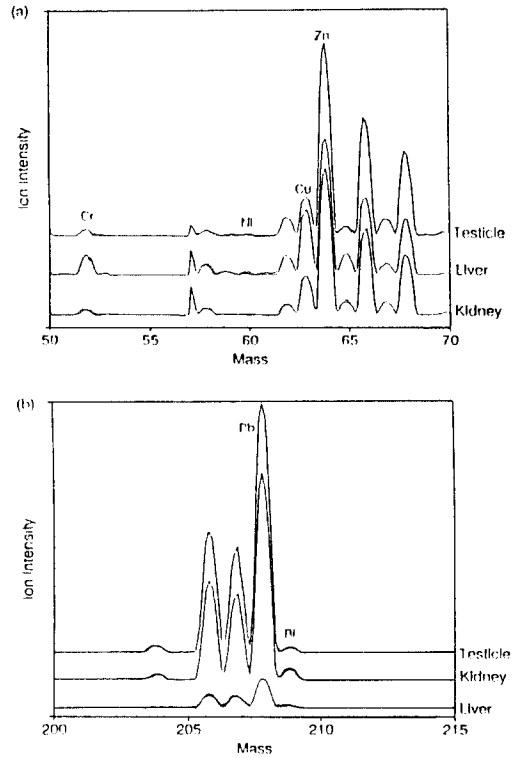


Fig. 2—Extended spectrum of kidney, liver and testicle for the elements. (a) Cr, Ni, Cu, Zn (b) Pb, Bi

Table III—Concentration of trace elements in organic tissues of rat

Elements	liver	Kindecy	testicle
Cr	10± 1 <sup>a)</sup>	33± 3	33± 12
Ni	6± 1.9	16± 3.5	12± 2.7
Cu	807± 198	5345± 1374	4583± 1246
Zn	963± 77	872± 120	878± 79
Mo	20± 1.1	17± 5.6	2.7± 0.2
Cd	0.9± 0.2	4.3± 1.8	n.d.
Pb	13± 1.0	158± 30	165± 34
Bi	n.d. <sup>b)</sup>	2.3± 0.8	3.2± 0.7
Th	n.d.	n.d.	n.d.
U	n.d.	n.d.	n.d.

<sup>a)</sup> In ppb. Each value is the average of three independent determinations.

<sup>b)</sup> Not determined or below quantitative detection limits.

138; 71.7%)등의 동위원소도 확인할 수 있다.

흰쥐의 각 장기시료에 함유되어 있는 미량중금속을

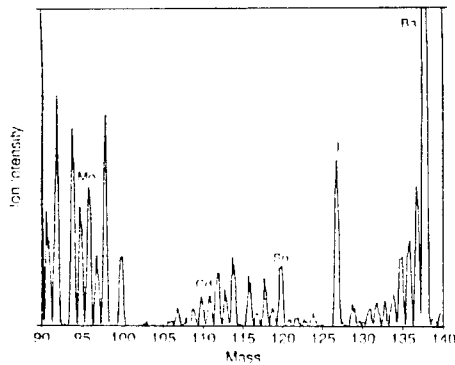


Fig. 3—Expended spectrum of testicle for the elements Mo, Cd, Sn, I and Ba.

정량적으로 분석한 결과는 Table III과 같다. Cu, Zn, Pb등은 ppm내지 수백 ppb정도의 농도로, Cr, Ni, Mo등은 수십 내지 수 ppb 정도의 농도로 검출되었으며, Cd, Bi등도 검출되었다. 방사성원소인 Th와 U는 검출되지 않았다. 장기별로는 Mo와 Zn을 제외하고는 간에서의 중금속 함량이 다른 장기의 중금속 함량보다 월등히 낮았다.

## 결 론

ICP-MS를 이용하여 흰쥐의 장기중 10가지의 미량 원소를 검출한계 ppb이하로 동시분석하였다. 장기내 미량원소의 분포량은 ppm내지 ppb 수준이었고, 장기별로는 간에서의 중금속 함유량이 신장이나 고환에서의 중금속 함유량에 비해 월등히 낮았다. 본 분석에 사용된 시료의 전처리법이나 기기의 조건은 생체시료중의 미량원소를 정량하는데 적용이 가능함을 보여주었다.

## 문 헌

- 1) Parsley, D.H.: Determination of copper, cobalt, selenium and molybdenum in liver by flame and electrothermal atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **6**, 289 (1991).
- 2) Serfass, R.E., Thompson, J.J. and Houk, R.S.: Isotope ratio determinations by inductively coupled plasma/mass spectrometry for zinc bioavailability studies. *Anal. Chim. Acta*, **188**, 73 (1986).

- 3) Sun, X.F., Ting, B.T.G., Zeisel, S.H. and Janghorbani M.: Accurate measurement of stable isotopes of lithium by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst*, **112**, 1223 (1987).
- 4) Janghorbani, M., Davis, T.A., Ting, B.T.G.: Measurement of stable isotopes of bromine in biological fluids with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst*, **113**, 405 (1988).
- 5) Ting, B.T.G. and Janghorbani, M.: Inductively coupled plasma mass spectrometry applied to isotopic analysis of iron in human fecal matter. *Anal. Chem.*, **58**, 1334 (1986).
- 6) Park, J.H. and Kim, H.J.: Determination of trace elements in animal feed by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Yakhak Hoeji*, **36**, 199 (1992).
- 7) Cho, T.H., Chung, G.S. and Park, K.S.: Trace element levels in farm water and waste water from cattle, swine and poultry farm in Kyung-Ki area. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.*, **12**, 19 (1988).
- 8) Cho, T.H., Chung, G.S., Son, S.W., Park, J.M. and Park, K.S.: Residue of harmful heavy metals in swine tissue and feedstuff. *Kor. J. Food Hygiene*, **12**, 103 (1987).
- 9) Shiraishi, K., Takaku, Y., Yoshimizu, K., Igarashi, Y., Masuda, K., McInroy, J.F. and Tanaka, G.: Determination of thorium and uranium in total diet samples by inductively coupled plasma spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **6**, 335 (1991).
- 10) Mulligan, K. J. Davidson, T.M. and Caruso, J.A.: Feasibility of the direct analysis of urine by inductively coupled argon plasma mass spectrometry for biological monitoring of exposure to metals. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **5**, 301 (1990).
- 11) Gé linas, Y., Youla, M., Bé liveau, R. and Schmit, J.P.: Multi-element analysis of biological tissues by inductively coupled plasma mass spectrometry: healthy Sprague Dawley rats. *Anal. Chim. Acta*, **269**, 115 (1992).
- 12) Houk, R.S., Fassel, V.A., Flesch, G.D., Svec, H.J., Gray, A.L. and Taylor, C.E.: Inductively coupled argon plasma as an ion source for mass spectrometric determination of trace elements. *Anal. Chem.*, **52**, 2283 (1980).