

유도결합 플라즈마 질량분석기를 이용한 동물사료중의 극미량원소의 분석

박정화 · 김효진*
동덕여자대학교 약학대학
(Received March 26, 1992)

Determination of Trace Elements in Animal Feed by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

Jeoung Hwa Park and Hyo Jin Kim*
College of Pharmacy, DongDuck Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract—The trace elements in animal feed were analyzed by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS, VG-PlasmaQuad Co.) to find possible sources of heavy metals accumulation in rat organ. The study about spectral interference was performed by analysis of a background spectrum of ICP-MS. Recovery test using standard of Cd and Se (100 ppb) was found to be better than 90%. Twenty elements (Ca, Fe, Mg, Ti, Cr, Ni, Cu, Zn, Ba, Al, Mn, Pb, B, Ce, Bi, U, V, Cd, and W) are determined.

Keywords □ Trace elements, inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS), animal feed.

음식물중의 미량원소분석은 미량원소가 인체에 미치는 독성과 영양학적측면의 연구나 오염원의 추적등 때문에 연구가 되고 있다. 1975년 Hugunin¹⁾ 등은 인체에 수은 중독의 오염원은 음식물이라고 보고하였으며, Marletta 등은 차량 배기가스에 의한 곡물중 납의 축적에 관한 연구,²⁾ Clarkson 등은 환경변화로 인하여 미량원소의 섭취나 노출이 공중보건에 미치는 영향 등에 관한 연구³⁾가 되어왔다. 또한 중금속에 오염된 음식물의 섭취에 따른 중금속의 인체내 축적 문제는 환경오염이 심각해짐에 따라 시료를 신속, 정밀, 정확하게 분석할 수 있는 방법에 관한 연구를 요구하게 되었다.

원자흡수분광법은 불꽃⁴⁾이나 그라파이트법,⁵⁾ 수소화물생성법⁶⁾에 의하여 미량원소까지 정확하게 분석할 수 있다. 그러나 원자흡수분광법의 가장 큰 단점은

비록 Fourier transform⁷⁾이나 다원소 속빈음극선 램프를 이용⁸⁾하여 여러 원소를 동시에 분석할 수 있는 방법이 있었지만 보편화되지 못하였으며 한번에 한 원소만을 분석할 수 있기 때문이다. 여러 원소를 동시에 분석할 수 있는 방법으로는 원자방출분광법⁹⁾이나 질량분석법¹⁰⁾이 있다.

원자방출법이 일반적으로 널리 사용되게 된 이유 중의 하나는 온도가 매우 높은(약 5000~7000 K) 유도결합 플라즈마(Inductively Coupled Plasma)나 직류플라즈마(Direct Current Plasma) source가 개발되었기 때문이다. 전 처리된 시료를 고온의 source에 주입후 monochromator나 polychromator로 한번에 여러 원소를 분석할 수 있을 뿐만 아니라, 검출한계도 ppb수준이며, 농도에 대한 신호의 직선성이 5 승이 되며 상대적으로 원소간의 간섭이 적다.

ICP를 질량분석기와 연결하려는 시도는 1980년 Houk¹¹⁾ 등에 의하여 이루어졌으며 1983년 Pittsburgh

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

conference에서 Sciex사가 최초로 상업용 ICP-MS를 내어 놓은 이후 많은 기기업체에서 개발 판매하거나 개발 중에 있다. 이러한 짧은 개발 및 상업화 역사에도 불구하고 ICP-MS는 다른 분광분석기와 비교하여 높은 감도, 깨끗한 바탕 스펙트럼 및 ppt(part per trillion)이하의 낮은 검출한계 등의 장점으로 광물탐사, 환경보호, 소재분석, 의학, 식품분석 등에 널리 사용되고 있다.

1985년 Boorn¹²⁾은 NBS wheat flour(SRM 1567), NBS rice flour(SRM 1568), NBS citrus leaves(SRM 1572) 등을, Munrol¹³⁾ 등은 NBS oyster tissue(SRM 1566), NBS bovine liver(SRM 1577a) 등을, Hutton¹⁴⁾ 등은 NBS bovine liver(SRM 1577a) 등의 표준품을 ICP-MS로 분석하였는데 공인된 값과 잘 일치하였다. 비록 이온원의 불안정성 및 다원자에 의한 방해등의 문제점도 발견되었으나 내부 표준물법 등으로 개선될 수 있다고 보고하였다.

본 연구에서는 최근 전세계적으로 여러 분야에서 많은 연구가 되고 있는 ICP-MS를 이용하여 실험용 동물사료에 함유되어 있는 미량 및 극미량 원소를 분석하기 위하여 시료 전처리 방법 및 바탕 스펙트럼에 의한 방해현상에 대하여 연구하였다.

실험방법

기기 및 시약—본 실험에 사용된 유도결합플라즈마 질량분석기는 PlasmaQuad Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer(VG Elemental, Winsford, Cheshire, UK)이며, 기기의 대략적인 구조는 Fig. 1과 같다. 자동 시료주입기에서 concentric nebuliser에 시료용액을 삽입하는 peristaltic pump의 유속은 0.8 ml/min이며, 생성된 에어로졸은 냉각된 double-pass Scott spray chamber(6C)를 통하여 석영 plasma torch로 이동한다. 고온의 플라즈마에서 생성된 이온들은 냉각수가 순환하는 구리판에 부착된 sampling cone을 통하여 질량분석기 안으로 압력차이에 의하여 빠른 속도로 이동한다. 플라즈마와 질량분석기 interface에 입구로 쓰이는 sampling cone의 재질은 nickel이며 구멍의 크기는 0.5 mm이다. 대기압에서 10^{-5} 에서 10^{-6} torr의 질량 분석기안의 압력을 유지하기 위하여 차등 펌핑 시스템을 사용하며 이때 사용하는 skimmer cone의 재질은 sampling cone과 동일한 nickel이나 구멍의 크기는 1.0 mm이다. 추출된 이온에 함께 주입되는 광자나 중성원자를 제거하기 위하여 skimmer cone 안쪽에 photon stop을 사용하였다.

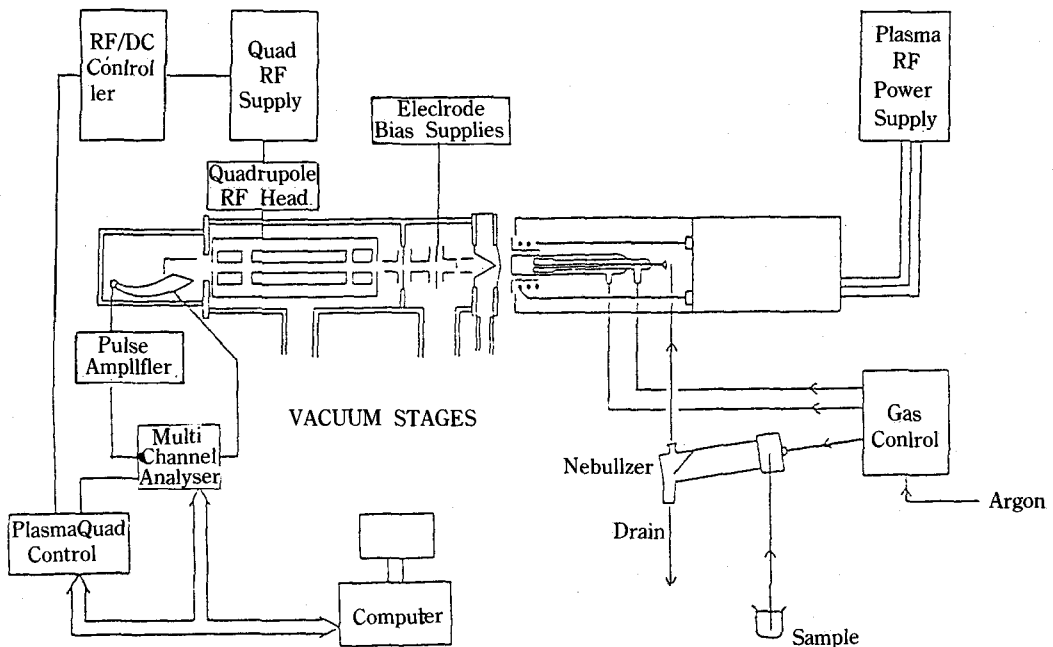


Fig. 1—Schematic diagram of VG PlasmaQuad ICPMS.

Table I—ICP Mass Spectrometer and Operation Conditions

Carrier gas	0.8 ml/min
Plasma gas	15 L/min
Support gas	0.5/min
RF Power	1350 W(27.2 MHz)
Sampling cone hole size	0.5 mm
Skimmer cone hole size	1.0 mm
Vacuum system	2torr(First stage) 2×10 ⁻⁵ torr (Second stage) ~10 ⁻⁶ torr (Third stage)
Sampling depth	10 mm

이온을 분리하기 위하여 quadrupole mass filter를 사용하며 이온 검출 시스템은 channel electron multiplier과 적절한 증폭 및 분리 회로를 사용하였다. 검출된 펄스는 컴퓨터로 조절되는 데이터 acquisition system(multichannel analyzer)에 의하여 전기적인 신호로 바뀐 후 컴퓨터에 저장된다. 본 실험에 사용한 기기의 조건은 기기회사에서 정해준 조건과 실제 시료분석에서 얻어진 경험에 의하여 최적화된 실험조건을 구하였으며 그 조건은 Table I에 나타내었다.

모든 시약은 GR급 이상을 사용하였으며 물은 1차 증류수를 초 순수제조기(ELGASTAT UHQ PS)를 통과 시킨 후 사용하였다. 검량곡선을 작성하기 위하여는 AA용 표준품을 희석하여 사용하였다.

Data Acquisition—측정 가능한 질량범위는 1.5에서 256까지 이며 총 2048 channel은 software program을 사용하여 1 channel당 1000 μs의 dwell time으로 신호를 포착 하였다. 정량 분석시에는 동일질량범위를 120회 반복scan하여 적분된 값을 사용하였다.

시료 전처리—시료 1.0g을 250 ml 파이렉스 비이커에 넣고 파이렉스 시계접시로 덮은 후 시료를 적실 정도의 진한황산 5 ml를 넣고 가열판상에서 300~600 °C로 탄화시킨다. 다음 비이커를 가열판 가장자리로 옮겨 식힌 후 기벽을 따라 진한 질산 수 적을 흘리고 시료 용액이 미황색 또는 무색으로 맑아질 때까지 이 과정을 반복한다. 시계접시를 반쯤열어 300~400°C로 가열하여 시료 용액을 마른상태로 만드는데 이때 Si, Pb가 존재시 백색의 침전이 생기기도 한다. Si등의 침전을 녹이기 위하여 CH₃NOONa 1g, HNO₃ 1 ml 및 물을 최종 부피의 절반정도로 넣고 용액으로 한다. 침전물이 있는 경우 여과하고 그 여액을 용량플라스

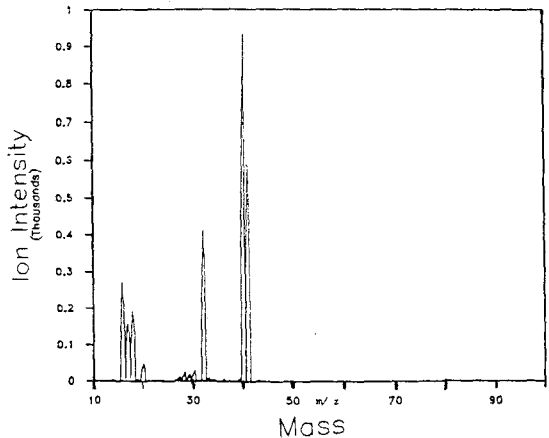


Fig. 2—ICP-MS background spectrum of distilled water.

크에 넣고 물로 최종 부피를 만든 후 시료로 한다. 시료량과 최종부피는 ICP-MS의 검출기의 검출한계 및 과부하(over load)되지 않도록 조절하였다. 내부 표준물질로는 In, Tm 등을 사용하였으며 시료 10개 마다 바탕용액을 넣고 측정하였다.

결과 및 고찰

바탕스펙트럼—탈이온수를 플라즈마에 넣었을 때 나오는 바탕스펙트럼은 스펙트럼 방해를 확인할 수 있기 때문에 매우 중요하다. Fig. 2는 3차 증류수를 ICP-MS에 주입하여 나온 바탕스펙트럼이다. 검출기를 보호하기 위하여 감도를 내려 최대 counts/s가 백만을 넘지않게 하였고 10에서 85 dalton까지의 질량 스펙트럼을 channel 당 dwell time이 2 ms로 50번 scan한 것을 합한 것이다. 따라서 Fig. 2의 바탕스펙트럼은 52초만에 얻어졌고 channel당 ion counts를 초당 counts로 환산하여 나타내었다. Fig. 2에는 ICP-MS의 전형적인 주요 피이크인 O⁺, OH⁺, OH₂⁺, O₂⁺, Ar⁺, ArH⁺가 각각 16, 17, 18, 32, 40 그리고 41 dalton에서 나타난다. 특이할 만한 사항은 Ar이 이중체를 형성하여 80 dalton에서 피이크가 나타나며, 2가이온으로 분해하여 20 dalton에서도 피이크가 나타난다는 점이다. Ar²⁺이 피이크로 나타나는 것은 sampler orifice에서의 이차방전이 일어나고 있다는 것을 말해준다.

회수율—시료전처리 및 분석시의 손실정도를 알아

Table II—Recovery Test

Elements	Mass	Recovery(%) (n=10)
Cd	114	96±7
Se	77	92±5

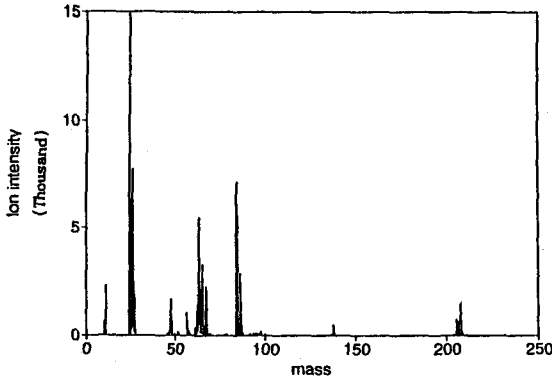


Fig. 3—ICP-MS background spectrum of blank solution.

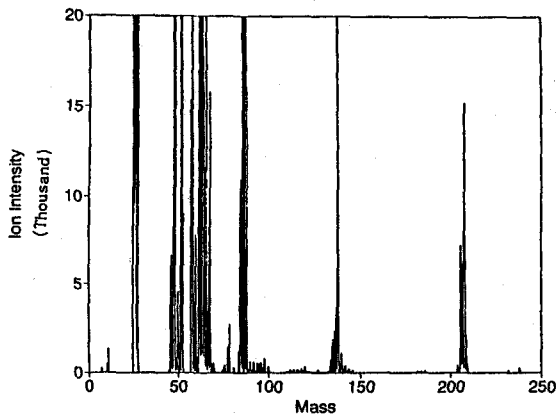


Fig. 4—ICP-MS spectrum of animal feed (full mass range).

보기위하여 회수율 실험을 하였다. Table II는 100 ppb의 Cd과 Se을 이용하여 ICP-MS로 측정한 결과 각각 96±7%, 92±5%로 좋은 회수율을 나타내었다.

질량스펙트럼—시료를 전처리할때 사용되는 산의 불순물을 알아보기위하여 바탕용액을 시료와 동일한 방법으로 전처리를 하여 Fig. 3와 같은 질량스펙트럼을 얻었다. 바탕스펙트럼에서 나타나는 피이크이외에 질량 46, 54, 64 등에서 피이크가 나타났는데 이는 NO₂, ArN, SO₂ 때문이다. 또한 3차 증류수 및 G.R급 이상의 H₂SO₄ 및 HNO₃을 사용하였지만 mass 208 부분에서 Pb가 검출되었다.

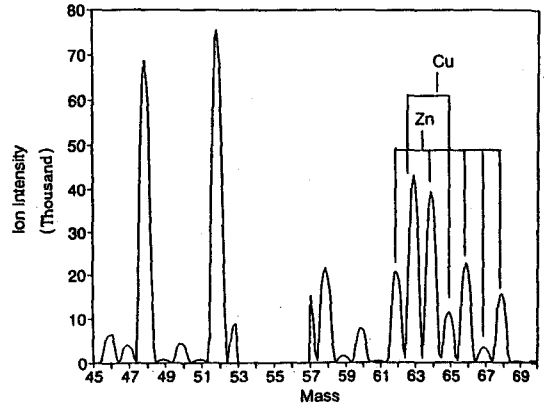


Fig. 5—ICP-MS spectrum of animal feed (transition elements).

Fig. 4는 사료의 질량스펙트럼으로 대부분의 피이크는 질량 100 이하에서 나타나는데 주로 바탕스펙트럼 및 여러가지 원소들 때문에 매우 복잡한 양상을 보여준다. 그리고 질량 113에서 138까지 Ba의 동위 원소들이 나타나고 있으며 질량 204부터 208에는 Pb의 동위원소 등의 피이크 등이 나타나고 있다. Fig. 5는 Fig. 4를 질량 45~70에서 확대한 것으로 주로 전이 금속에 대한 스펙트럼이다. 스펙트럼을 분석하여 보면 Cu의 경우 질량 63~65에서 피이크의 면적을 고려해 볼때 자연에 존재하는 동위원소 비율 69 : 31과 일치하고 Zn도 질량 64, 66, 67, 68에서 48.9 : 27.8 : 4.1 : 18.6 : 0.62로 자연에 존재하는 동위 원소 비율과 일치하는 것을 알 수 있다. 이는 비록 질량스펙트럼이 복잡하지만 이 질량범위에는 방해현상이 없는 것을 보여준다. 질량 53에서 57사이에는 Fe의 동위원소가 존재하는 범위이나 사료 중 철의 농도가 1000 ppm 이상이 검출되므로 질량분석기의 검출기를 보호하기위하여 이 질량범위를 생략하였다. Fig. 6는 Fig. 4를 질량 200~270의 범위에서 확대한 스펙트럼으로 Pb의 동위원소들이 질량 206, 207 및 208에서 면적비가 24.1 : 22.1 : 52.4로 자연에 존재하는 동위원소 비율과 일치하게 나타났다.

원자 질량분석법의 또 하나의 장점은 동위원소비율을 정확히 측정함으로써 각 피이크에서 방해 현상의 유무를 알아낼 수 있고 생체시료에 방사성 동위원소를 라벨링하여 생체내 대사과정을 추적할 경우 매우 유익한 정보를 얻을 수 있다. 또한 Fig. 4를 질량범위 226에서 250까지 확대하였을 때 사료중에 극미량으로

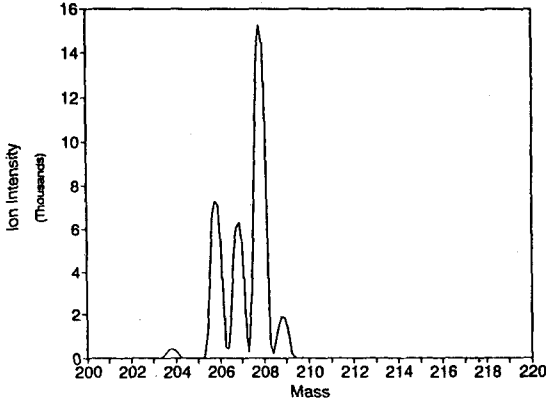


Fig. 6-ICP-MS spectrum of animal feed (Pb).

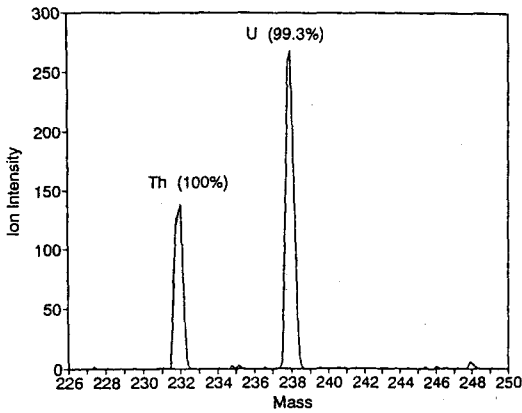


Fig. 7-ICP-MS spectrum of animal feed (U).

존재하는 질량 232에서 Th가 질량 238에서 U이 Fig. 7에서 처럼 검출되었다.

검량곡선-사료중에 존재하는 원소들을 정량분석하기 위하여 표준액을 조제하여 최적조건에서 이온 신호세기를 측정하여 검량곡선을 작성하였다(Fig. 8). 질량수가 적은 Al($m/z=27$) 원소인 경우 Fig. 8-a에서 처럼 여러가지 방해현상으로 직선성이 떨어지나 질량수가 큰 원소들인 In(Fig. 8-b, $m/z=115$), Pb(Fig. 8-c, $m/z=208$), U(Fig. 8-d, $m/z=238$) 경우 상당히 직선성이 양호하였다.

각 원소별로 작성한 검량곡선을 이용하여 사료에 함유되어 있는 미량중금속을 분석한 결과를 Table III에 나타내었다. Na, K, Ca 등은 과량 검출되어 ICP-MS의 검출기를 과 부하시킴으로 검출시 해당 질량 범위를 검출하지 않았다. Al, Cu, Zn 등은 ppm 정도의 농도가 검출되었으며 Pb나 Mg 등은 수백 ppb 그리고

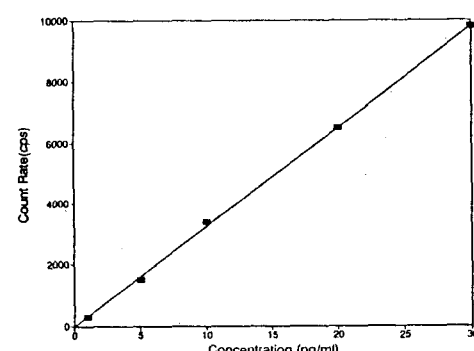
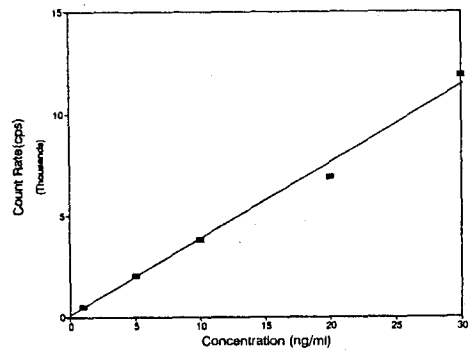
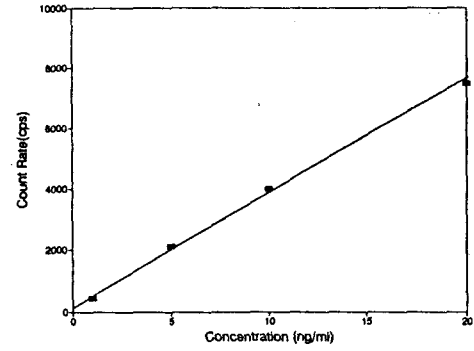
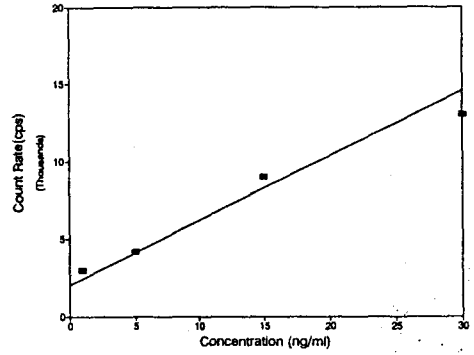


Fig. 8-Calibration curves in 1% HNO₃ solution.
(a) Al ($m/z=27$) (b) In ($m/z=115$)
(c) Pb ($m/z=208$) (d) U ($m/z=238$)

Table III—Concentration of Trace Elements in Animal Feed

Elements	Mass	Concentration (ppb)
Mg	24	436±20
Al	27	3650±120
Co	59	56±5
Cu	63	2080±100
Zn	66	2610±130
Cd	111	13±0.4
Sn	120	18±0.5
W	182	6±0.5
Hg	202	0.1±0.05
Pb	208	580±13
Bi	209	35±1.0
U	238	4±0.4

유해중금속인 Cd, Hg등도 검출되었으나 Cho¹⁵⁾ 등이 ICP와 AAS로 사료중의 유해중금속을 검출한 결과와 비교할 때 보다 낮은 농도가 검출되었다. 특이한 것은 비록 4 ppb 수준이었지만 U이 검출되었는데 출처를 밝히는 연구는 더욱 진행이 되어야 할 것 같다.

결 론

ICP-MS를 이용하여 실험동물 사료 중의 미량 원소 분석을 실시한 결과 유해중금속인 Pb, Cd 등이 검출되었으며 U, Th 등의 극미량 함유된 방사성 원소가 검출되었다. 또한 각 동위원소들의 양을 정확히 측정함으로써 환취를 실험동물로 사용하여 여러 원소들의 대사 등을 연구할때 ICP-MS를 이용한 분석은 가장 적합한 분석방법이라 생각된다.

문 헌

- 1) Hugunin, A.G. and Bradley R.L.: Exposure of man to mercury. *J. of Milk Food Tehmol.*, **38**, 354 (1983).
- 2) Marletta, G.P., Gabrielli, L.F. and Favertto, L.: Lead in grapes exposed to automobile exhaust gases. *J. Sci. Food Agric.*, **24**, 249 (1973).
- 3) Clarkson, T.W., Weiss, B. and Cox, C.: Public health consequences of heavy metals in dump sites. *Environ. Health Persp.*, **48**, 113 (1983).
- 4) Evans, W.H. and Reed, J.: I. Determination of lithium, rubidium and strontium in foodstuffs. *Analyst* **110**, 619 (1985).
- 5) Olayinka, K.A., Haswell S.J. and Grzeskowiak, R.:

Development of a slurry technique for the determination of cadmium in dried foods by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1**, 297 (1986).

- 6) Tam, G.K.H. and Lacroix, G. Dry ashing, hydride generation atomic absorption spectrometric determination of arsenic and selenium in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **65**, 647 (1982).
- 7) Thorne, A.: High-resolution fourier transform atomic spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2**, 89 (1987).
- 8) De Galan, L.: A physicist's view on current questions in atomic spectrometry., *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **2**, 89 (1987).
- 9) Wolnik, K.A., Fricke, F.L., Hahn, M.H. and Caruso, J.A.: Sample introduction system for simultaneous determination of volatile elemental hydrides and other elements in foods by inductively coupled argon plasma emission spectrometry. *Anal. Chem.*, **53**, 1030 (1981).
- 10) Hilpert, K. and Waidmann, E.: Multi-element determination of environmental samples by mass spectrometry isotope dilution analysis using thermal ionization: Part 1: Pine needles, *Fresenius Z.: Anal. Chem.*, **325**, 141 (1986).
- 11) 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).
- 12) Boorn, A.W., Fulford, J.E. and Wagscheider, W.: Determination of trace elements in organic material by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Mikrochim. Acta* **2**, 171 (1985).
- 13) Munro, S., Ebdon, L. and McWeeny, D.J.: Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry for trace metal determination in foods. *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **1**, 211 (1986).
- 14) Hutton, R.C.: *Technical Information PQ 704*, V.G. Isotopes Ltd, Winsford, Cheshire, UK. (1987).
- 15) 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* **3**, 103 (1987).