

연구보고서

혈청 중 인듐 분석방법 검토 및 표준시료 개발

원용림, 이미영

산업재해예방

안전보건공단

산업안전보건연구원



요약문

- 연구기간 2021년 3월 ~ 2021년 11월
- 핵심단어 인뿔, 생물학적 노출평가, 표준시료, 균질성, 안정성
- 연구과제명 혈청 중 인뿔 분석방법 검토 및 표준시료 개발

1. 연구배경

2020년에 인뿔의 생물학적 노출평가를 위한 KOSHA GUIDE 「인뿔의 생물학적 노출지표물질 분석 기술지침(H-209-2020)」이 제정되었으나 분석결과의 신뢰성을 높이기 위한 보완이 요구된다.

노출평가에 활용되는 생체시료의 종류와 채취방법의 수정이 필요하고, 분석장비의 오염을 최소화하기 위한 시료의 전처리 방법을 검토하여 희석액에 포함된 산의 농도, 희석배율 등을 수정해야한다. 정량방법의 검토도 필요한데, 외부표준물법과 표준물첨가법에 의한 분석값을 비교하여 적절한 방법을 제안하고, 내부표준물의 적용도 고려해야한다.

특수건강진단기관 인뿔 분석결과의 신뢰성을 높이기 위한 표준시료의 개발도 필요하다.

2. 주요 연구내용

○ 혈청 중 인듐 분석방법 개선

KOSHA GUIDE의 분석방법을 따를 경우 분석을 반복할수록 농도가 상승하였다. 시료 내 유기물에 의한 장비 오염의 영향을 최소화하기 위해 내부표준물에 의한 보정을 실시하였다. 또한 희석액의 질산농도를 0.1%에서 0.5%로 높이고 희석배율을 20배에서 50배로 높였다.

분석방법 개선 후 내부표준물의 회수율은 -5.6% ~ +2.3% 수준이었다. 검량선의 R^2 는 0.999이상이었고 검출한계는 0.002~0.009 $\mu\text{g/L}$, 정밀도는 3.1%, 일간 정밀도는 0.9%이었다. 농도를 알고 있는 시료의 회수율은 평균 99.7%이었다.

외부표준물법과 표준물첨가법에 따른 분석 값은 의미 있는 차이가 없었다.

○ 혈청 중 인듐 표준시료 개발

4종류의 동물혈청을 이용해 각각 3가지 농도수준으로 시료를 조제하였다.

시료의 균질성 평가 결과 각 시료의 농도는 의미 있는 차이를 보이지 않아 균질한 것으로 판단하였다.

안정성 평가를 위해 23℃, 4℃, -20℃, -80℃에 7일, 30일 보관 후 분석한 결과를 시료조제 즉시 분석한 결과와 비교하였고, 모든 분석결과는 의미 있는 차이를 보이지 않아 안정성이 좋은 것으로 판단하였다.

외부 실험실과 분석 값을 비교한 결과 상대표준편차는 1.3~4.2%로 양호하였다.

시료의 안정성, 외부기관과의 비교결과, 구매편의성과 가격 등을 고려했을 때 혈청 중 인듐의 표준시료 조제는 소 또는 송아지 혈청이 적절한 것으로 사료된다.

3. 연구 활용방안

분석방법 개선내용은 KOSHA GUIDE에 반영할 예정이며, 균질성과 안정성이 확인된 표준시료는 특수건강진단기관의 분석정도관리에 활용할 수 있다.

4. 연락처

- 연구책임자 : 산업안전보건연구원 직업건강연구실 차장 원용립
 - ☎ 052) 7030. 857
 - E-mail herhand@kosha.or.kr

목 차

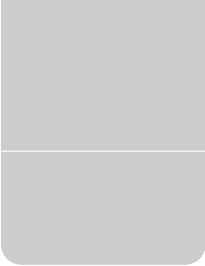
I. 서론	1
1. 연구배경	3
2. 연구목적	5
II. 연구방법	7
1. 시료 조제	9
2. 시약 및 장비	9
3. KOSHA GUIDE에 따른 분석	10
1) 시약 조제	10
2) 시료 및 표준용액 전처리	11
4. 분석방법 개선 과정	11
1) 내부표준물(Internal standard, I.S.) 보정	11
2) 희석액 농도 변경	12
3) 희석비율 변경	12
4) 변경 후 분석방법의 신뢰도 확인	13
5. 정량방법 비교	14
6. 표준시료의 신뢰도 평가	15
1) 균질성 평가	15
2) 안정성 평가	15
3) 외부 실험실 분석결과 비교	15
7. 통계분석	15

목 차

Ⅲ. 연구결과	17
1. 분석방법 개선	19
1) KOSHA GUIDE에 따른 분석 결과	19
2) 내부표준물 보정	20
3) 희석액의 농도 변경	22
4) 희석배율 변경	23
5) 분석방법 신뢰도 확인 결과	26
2. 정량방법 비교	27
3. 시료의 신뢰도 평가	28
1) 균질성 평가	28
2) 안정성 평가	29
3) 외부 실험실 분석결과 비교	31
Ⅳ. 고찰 및 결론	33
참고문헌	39
Abstract	43

표 목차

〈표 II-1〉 ICP-MS 장비 설정	10
〈표 II-2〉 KOSHA GUIDE에 따른 시료 전처리 방법	11
〈표 II-3〉 내부표준물보정을 위한 시료 희석 방법	12
〈표 II-4〉 희석액 농도 변경 후 시료 희석 방법	12
〈표 II-5〉 희석비율 변경 후 시료 희석 방법	13
〈표 II-6〉 표준용액과 시료의 희석 방법	13
〈표 II-7〉 표준물첨가법의 시료 희석 방법	14
〈표 III-1〉 KOSHA GUIDE에 따른 분석결과의 변화	20
〈표 III-2〉 내부표준물 회수율 변화의 회귀분석 결과(1)	21
〈표 III-3〉 내부표준물 보정 전후의 인듐 분석 값 비교(1)	22
〈표 III-4〉 내부표준물 회수율 변화의 회귀분석 결과(2)	23
〈표 III-5〉 내부표준물 회수율 변화의 회귀분석 결과(3)	24
〈표 III-6〉 내부표준물 보정 전후의 인듐 분석 값 비교(2)	25
〈표 III-7〉 내부표준물 보정 전후의 일간 정밀도	27
〈표 III-8〉 정량방법에 따른 분석 값 비교	28
〈표 III-9〉 균질성 평가 결과	29
〈표 III-10〉 안정성 평가 결과	30
〈표 III-11〉 농도그룹별 상대표준편차(%)	31
〈표 III-12〉 외부 실험실 분석결과 비교	31
〈표 IV-1〉 KOSHA GUIDE 개정안	38



그림목차

[그림 III-1] KOSHA GUIDE에 따른 분석 결과의 변화	19
[그림 III-2] 내부표준물의 회수율 변화(1)	21
[그림 III-3] 내부표준물 보정 전후의 인듐 분석 값 비교	22
[그림 III-4] 내부표준물의 회수율 변화(2)	23
[그림 III-5] 내부표준물의 회수율 변화(3)	24
[그림 III-6] 혈청 중 인듐 분석을 위한 검량선	26

I. 서론

.....

I. 서론

1. 연구배경

인듐주석산화물타겟(Indium-Tin Oxide Target)은 LCD등 디스플레이 제조의 핵심소재이다. 2001년 일본에서 인듐주석산화물타겟 연마공정의 근로자가 간질성 폐질환의 합병증인 양측성 기흉으로 사망하는 사건이 발생하였고 역학조사결과 인듐화합물이 원인인 것으로 밝혀졌다(Homma 등, 2003). 이후 미국, 일본, 중국 등에서 유사 사례가 보고되었다(Homma 등, 2003; Homma 등, 2005, Taguchi 등, 2006; Nakano 등, 2007; Takeuchi 등, 2008; Cummings 등, 2010; Xiao 등, 2010). 우리나라에서도 2012~2013년 국내 인듐노출 근로자 301명을 대상으로 실시된 연구에서 인듐으로 인한 폐의 간질성 변화가 확인된 근로자 10명과 간질성 변화가 의심되는 근로자 8명을 확인하였다(원용립 등, 2013).

산업안전보건법의 개정으로 2021년 1월부터 인듐 취급 근로자의 노출평가를 위해 특수건강진단 생물학적 노출평가 1차 항목으로 혈청 중 인듐이 추가 되었으며, 노출기준은 $1.2 \mu\text{g/L}$ 이하로 정하였다. 한국산업안전보건공단에서는 2020년에 인듐의 생물학적 노출지표물질 분석 기술지침(KOSHA GUIDE H-209-2020)을 제공하였다.

그러나 KOSHA GUIDE에 몇 가지 보완과 재검토가 요구되는 부분이 있는데, 첫째, 분석용 시료의 재검토가 필요하다. 인듐의 생물학적 노출평가를 위해 소변, 전혈, 혈장, 혈청 등의 시료에서 인듐을 분석하는 연구가 진행되었으며, 혈청 또는 혈장 중 인듐의 분석 신뢰성이 가장 높고 인듐노출 및 임상증상과 가장 연관성이 높다고 보고되었다(Koichi et al., 2003; Harvey et al., 2016). 그러나 KOSHA GUIDE에는 전혈을 시료로 제시하였다.

둘째, 시료의 전처리 방법에 대한 검토가 필요하다. 생체시료 중 인듐의 분석 장비는 농도와 검출한계를 고려했을 때 유도결합플라즈마질량분석기(Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, ICP-MS)가 적절하다고 보고되었는데 (Wilschefski & Baxter, 2019), ICP-MS로 분석하기 위한 생체시료의 전처리 방법은 희석법과 마이크로파 분해법이 대표적이다. 희석법은 미국, 유럽 등 많은 국가에서 생체시료 중 미량금속의 분석을 위한 전처리 방법으로 제안되고 있으며(CDC, 2004), 마이크로파 분해법은 일본에서 인듐분석 시 사용 중인 방법이다(일본 후생노동성, 2010). KOSHA GUIDE에서는 희석법을 제안하였는데, 다량의 시료를 분석할 때 발생할 수 있는 유기물에 의한 분석 장비의 오염과 그로 인한 분석결과의 변화가능성을 고려할 필요가 있다.

셋째, 정량방법에 대한 검토가 필요하다. 2013년 연구보고서 「난용성 인디움 화합물에 의한 폐질환 예방 연구(II)」와 KOSHA GUIDE에서 제안한 방법은 시료와 검량선 작성용 표준용액을 동일한 물질로 희석하는 외부표준물법(External standard method)으로 시료의 전처리가 간단하여 분석시간이 비교적 짧으나 매질에 의한 간섭의 우려가 있다(원용립 등, 2013). 생체시료 처럼 매질이 복잡한 시료의 검량선 작성은 표준물첨가법(Standard addition method)의 사용이 권고되는 이유이다(Bader, 1980). 시료 전처리 또는 분석 과정에서 손실될 수 있는 목표물질의 보정을 위해 내부표준물법(Internal standard method)의 적용 또한 고려가 필요하다.

생체시료 중 인듐 분석은 기존 생체시료 중 중금속보다 1/10 이하 농도를 분석해야 하므로 분석이 어렵고, 인듐 분석이 가능한 ICP-MS를 보유한 기관은 특수건강진단기관 중 5개 기관뿐으로 이 기관들의 분석 신뢰성을 확보할 수 있는 방안의 모색이 필요하다. 연구를 통해 생체시료 중 인듐 분석을 위한 표준 분석방법을 개선하고 분석신뢰성 확인을 위한 표준시료를 개발하고자 하였다.

2. 연구목적

본 연구의 목적은 생체시료 중 인뿔의 분석방법을 개선하여 특수건강진단 기관에서 참고할 수 있도록 하고 신뢰성 있는 표준시료를 개발하는 것이다.

Ⅱ. 연구방법



II. 연구방법

1. 시료 조제

인듐 표준시료는 상용화된 동물혈청을 사용하여 조제하였다. 시중에서 쉽게 구할 수 있는 소 혈청(Sigma-Aldrich, MO, USA), 송아지 혈청(Gibco, Auckland, New Zealand), 소 태아 혈청(Sigma-Aldrich, MO, USA), 말 혈청(Sigma-Aldrich, MO, USA)을 활용하였으며, 인듐의 생물학적 노출기준인 $1.2 \mu\text{g/L}$ 수준(농도2), 1/2배 농도인 $0.6 \mu\text{g/L}$ 수준(농도1), 2배 농도인 $2.4 \mu\text{g/L}$ 수준(농도3)으로 조제하였다.

조제한 시료는 Simport사(QC, Canada)의 멸균 1.2 mL Cryovial에 1.1 mL 이상 소분한 후 즉시 분석하거나 실험 목적에 맞게 보관 후 분석하였다.

2. 시약 및 장비

인듐 표준시약과 내부표준물(Rhodium, Rh)은 Inorganic ventures사(VA, USA)의 $10 \mu\text{g/mL}$ 제품을 구매하여 사용하였다. 시료 희석은 ACS reagent 70% 질산(Sigma-Aldrich, MO, USA)과 Laboratory grade 트리톤 X-100(Sigma-Aldrich, MO, USA)을 사용하였다. 탈이온수는 Milli-Q 초순수제조기(Millipore\, MA, USA)를 사용하여 제조하였다.

시료 희석용 튜브는 15 mL Centrifuge Tube(Corning, NY, USA)를 사용하였다.

분석은 iCAP RQ ICP-MS(Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany)를 이용하였고, 오토샘플러는 ASX-560(TELEDYNE, NE, USA)을 사용하였다. 모든

분석은 분석 장비 제조사에서 제안한 방법에 따라 튜닝과정을 거친 후 실시하였으며, 실험실 내 온도 유지를 위해 항온장치를 상시 가동하였다. ICP-MS의 장비 설정은 <표 II-1>과 같다.

<표 II-1> ICP-MS 장비 설정

Nebulizer	MicroMist Nebulizer (400 μ L/min)
Interface cones	Ni-tipped sample and skimmer
Skimmer cone insert	high matrix, 3.5 mm
Spray chamber	Cyclonic quartz
Injector	Quartz, 2.5 mm ID
Nebulizer flow	1.10 L/min
RF power	1550 W
Number of replicates	3
Spray chamber temp.	2.7°C
Dwell time	0.1 s

3. KOSHA GUIDE에 따른 분석

1) 시약 조제

희석액은 1 L 용량플라스크에 70% 질산 1 mL, 트리톤 X-100 1 mL을 넣은 후 탈이온수로 표선까지 채워 조제하였다. 오토샘플러의 세척액은 희석액과 동일하게 조제하였다.

인듐이 10 mg/L의 농도로 함유된 복합 표준용액 1 mL를 100 mL 용량플라스크에 취하고 희석액으로 표선을 채워 100 μ g/L 표준용액을 조제하였다. 100 μ g/L 용액 0.2, 1.0, 2.0, 3.0 mL를 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액으로 표선을 채워 0.2, 1.0, 2.0, 3.0 μ g/L의 검량선 작성용 표준용액을 조제하였다.

2) 시료 및 표준용액 전처리

분석용 시료는 소 혈청으로 조제한 것을 사용하였으며, 거품이 발생하지 않도록 10분 이상 롤러믹서기에서 혼합하였다. 시료 희석을 위해 표준용액 또는 분석용 시료를 15 mL 튜브에 0.5 mL 넣고 희석액을 9.5 mL 넣은 후 마개를 닫고 거품이 발생하지 않도록 10분 이상 롤러믹서기에서 혼합하였다<표 II-2>.

〈표 II-2〉 KOSHA GUIDE에 따른 시료 전처리 방법

희석액	0.1% HNO ₃ , 0.1% 트리톤 X-100
전처리	20배 희석(시료 또는 표준용액 0.5 mL, 희석액 9.5 mL)
정량방법	외부표준물법

4. 분석방법 개선 과정

분석방법의 개선을 위해 내부표준물법적용, 희석액의 농도 변경, 희석비율 변경 및 표준물첨가법 적용 등을 시도하였다.

1) 내부표준물(Internal standard, I.S.) 보정

내부표준물질은 10 mg/L 로뎀 표준시약을 1 μ g/L 수준으로 희석하여 사용하였다. 10 mg/L 농도의 로뎀 표준용액 1 mL를 100 mL 용량플라스크에 취하고 희석액으로 표선을 채워 100 μ g/L 내부표준용액을 조제하였다. 100 μ g/L 용액 1 mL를 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액으로 표선을 채워 1 μ g/L의 내부표준용액을 조제하였다.

분석용 시료는 소 혈청으로 조제한 것을 사용하였으며, 시료의 희석배수는 내부표준용액 100 μ L를 포함하여 최종 20배로 하였다. 그 외 전처리 방법과 장비설정은 이전과 동일하였다<표 II-3>.

〈표 II-3〉 내부표준물보정을 위한 시료 희석 방법

희석액	0.1% HNO ₃ , 0.1% 트리톤 X-100
내부표준물	1 µg/L 로듐(Rhodium, 원자량 102.9)
전처리	20배 희석(시료 또는 표준용액 0.5 mL, 희석액 9.4 mL, I.S. 0.1 mL)
정량방법	외부표준물법 + 내부표준물법

I.S., Internal standard

2) 희석액 농도 변경

혈청 내 유기물로 인한 장비의 오염을 최소화하기 위해 희석액의 질산 농도를 0.1%에서 0.5%로 조정하였다. 오토샘플러의 세척액도 동일한 비율로 조제하였다. 그 외 전처리 방법과 장비설정은 이전과 동일하였다(표 II-4).

〈표 II-4〉 희석액 농도 변경 후 시료 희석 방법

희석액	0.5% HNO ₃ , 0.1% 트리톤 X-100
내부표준물	1 µg/L 로듐(Rhodium, 원자량 102.9)
전처리	20배 희석(시료 0.5 mL, 희석액 9.4 mL, I.S. 0.1 mL)
정량방법	정량 안함(내부표준물만 분석)

I.S., Internal standard

3) 희석비율 변경

유기물에 의한 오염과 매질의 간섭을 최소화하기 위해 희석비율을 20배에서 50배로 변경하였다. 그 외 전처리 방법과 장비설정은 이전과 동일하였다(표 II-5~6).

〈표 II-5〉 희석비율 변경 후 시료 희석 방법

희석액	0.5% HNO ₃ , 0.1% 트리톤 X-100
내부표준물	1 µg/L 로듐(Rhodium, 원자량 102.9)
전처리	50배 희석(시료 또는 표준용액 0.2 mL, 희석액 9.7 mL, I.S. 0.1 mL)
정량방법	외부표준물법 + 내부표준물법

I.S., Internal standard

〈표 II-6〉 표준용액과 시료의 희석 방법

(단위: mL)

	Blank	Std.1	Std.2	Std.3	Std.4	Std.5	Sample
희석액	9.9	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7
시료	-	-	-	-	-	-	0.2
표준용액	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-
내부표준물	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

4) 변경 후 분석방법의 신뢰도 확인

▪ 직선성

인듐 0.2 ~ 3.0 µg/L 범위에서 검량선을 작성하고 인듐 농도와 검출신호의 강도(intensity)의 상관계수로부터 검량선의 직선성을 확인하였다.

▪ 검출한계

Blank 시료를 3회 반복 측정하고 그 강도의 표준편차를 3배하여 기울기로 나눈 농도 값을 검출한계로 하였다.

$$LOD = 3 \times \sigma_B / \kappa$$

(σ_B : Blank의 표준편차, κ : 검량선의 기울기)

▪ 정밀도

검량선 범위 안에서 3개 농도의 시료를 3회 반복 분석하여 당일 정밀도를 산출하고, 다음 날 구한 당일 정밀도를 이용하여 일간 정밀도를 산출하였다.

▪ 정확도

혈청 원료 시료에 인슐린을 첨가한 시료를 3회 이상 분석하여 구한 회수율로부터 정확도를 산출하였다.

5. 정량방법 비교

정량방법에 따른 분석 값의 변화를 확인하기 위해 외부표준물법과 표준물 첨가법에 따른 결과를 비교하였다. 소 혈청으로 조제한 시료를 사용하였고 외부표준물법의 표준용액과 시료 희석 방법은 <표 II-6>과 동일하며, 표준물 첨가법에 따른 표준용액과 시료의 희석 방법은 <표 II-7>과 같다. 표준물첨가법에 사용한 Pooled serum은 조제시료와 동일한 소 혈청과 사람혈청 두 가지를 적용하였다. 표준물첨가법을 활용한 검량선은 매 시료마다 작성하지 않았으며, 최초 1회만 작성하였다.

〈표 II-7〉 표준물첨가법의 시료 희석 방법

(단위: mL)

	Blank	Add.0	Add.1	Add.2	Add.3	Add.4	Sample
희석액	9.9	9.7	9.5	9.5	9.5	9.5	9.7
Pooled serum	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-
시료	-	-	-	-	-	-	0.2
표준용액	-	-	0.2	0.2	0.2	0.2	-
내부표준물	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

6. 표준시료의 신뢰도 평가

1) 균질성 평가

균질성 평가를 위한 시료는 4종류의 혈청에 대해 3농도수준 별로 매 10개마다 1개씩 총 10개의 바이알을 취하였다($4 \times 3 \times 10 = 120$ 개). 바이알당 2회씩 반복 분석한 후 분석 값 간 평균을 비교하였다.

2) 안정성 평가

보관 온도와 기간에 따른 분석결과의 안정성을 평가하였다. 보관 온도는 23°C , 4°C , -20°C , -80°C 로 하였으며, 각각 실험실 내, 냉장고, 냉동고, 초저온 냉동고에 보관하였다. 보관기간은 시료 조제 후 7일과 30일로 하였다. 조제 직후 분석한 결과 값과 각 보관온도에 따라 일정기간 경과 후 분석한 결과 값을 비교하였다.

3) 외부 실험실 분석결과 비교

조제한 시료의 실험실간 분석 값 비교를 위해 혈청 중 인덱스를 분석하고 있는 외부 실험실에 분석을 의뢰하여 결과를 비교하였다.

7. 통계분석

분석 자료의 정규성 검정을 위해 Kolmogorov-Smirnov Test를 실시했으며, $p > 0.05$ 인 경우 정규분포를 가정하는 것으로 판단하였다.

정규성을 만족하는 3그룹이상 분석 값의 비교는 One-way ANOVA를, 정규성을 만족하지 않으며, 표본 수가 30개 미만인 3그룹이상 분석 값의

비교는 비모수검정방법인 Kruskal Wallis Test를 사용하였다.

내분표준물질 분석 값이 반복되는 분석에 따라 일정한 경향성을 갖고 증가 또는 감소하는지에 대한 판단을 위해 회귀분석을 사용하였다.

내분표준물질 보정 전과 후 결과 값의 비교는 Paired samples t-test를 사용하였다.

정규성을 만족하지 않는 두 그룹 간 결과 값의 비교는 Mann-Whitney U Test를 사용하였다.

자료 분석은 SPSS Statistics 18.0 for Windows(IBM Co., NY, USA)를 사용하였으며, 통계적 유의성은 0.05미만으로 하였다.

Ⅲ. 연구결과



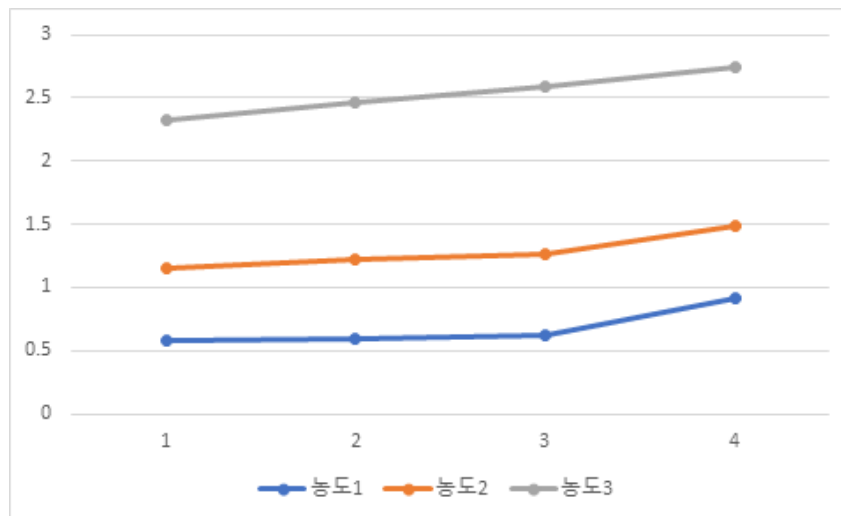
Ⅲ. 연구결과

1. 분석방법 개선

1) KOSHA GUIDE에 따른 분석 결과

소 혈청을 활용하여 농도1($0.6 \mu\text{g/L}$ 수준), 농도2($1.2 \mu\text{g/L}$ 수준), 농도3($2.4 \mu\text{g/L}$ 수준)의 세 가지 시료를 각각 12개씩 조제하였으며, 각 농도별로 3개씩 한 그룹으로 묶어 분석을 실시하였다(농도1 3개 → 농도2 3개 → 농도3 3개 → 농도1 3개 → ……).

시료분석결과 각 그룹의 평균농도는 분석이 반복될수록 상승하는 것을 확인하였으며, 통계적으로 의미 있는 차이를 보였다($p>0.05$)[그림 Ⅲ-1]〈표 Ⅲ-1〉.



[그림 Ⅲ-1] KOSHA GUIDE에 따른 분석 결과의 변화(단위: $\mu\text{g/L}$)

〈표 III-1〉 KOSHA GUIDE에 따른 분석결과와 변화

(단위: $\mu\text{g/L}$)

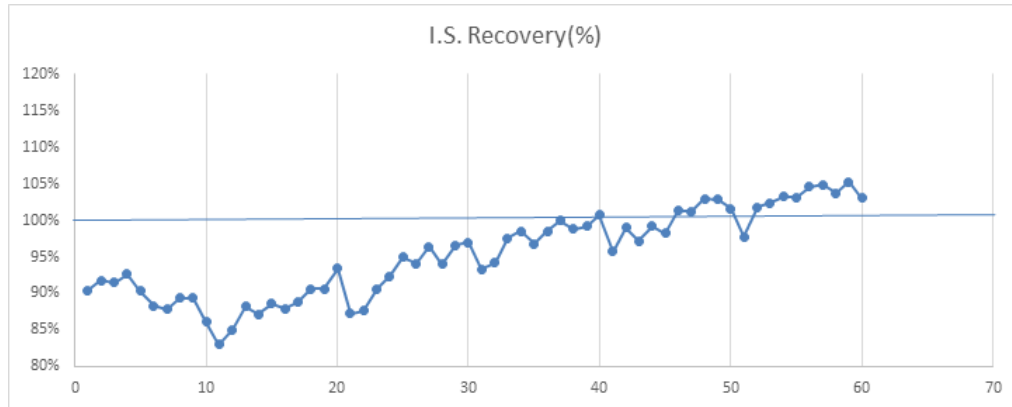
	그룹1	그룹2	그룹3	그룹4	p-value [†]
농도1	0.598	0.608	0.639	0.822	
	0.569	0.571	0.612	0.985	
	0.575	0.586	0.606	0.947	
평균 ± 표준편차	0.581 ± 0.015	0.588 ± 0.019	0.619 ± 0.018	0.918 ± 0.085	0.031
농도2	1.145	1.227	1.258	1.591	
	1.171	1.214	1.266	1.432	
	1.151	1.227	1.282	1.436	
평균 ± 표준편차	1.156 ± 0.014	1.223 ± 0.008	1.269 ± 0.012	1.486 ± 0.091	0.015
농도3	2.338	2.412	2.551	2.713	
	2.339	2.477	2.626	2.731	
	2.288	2.487	2.588	2.781	
평균 ± 표준편차	2.322 ± 0.029	2.459 ± 0.041	2.588 ± 0.038	2.742 ± 0.035	0.016

[†]Kruskal Wallis Test

2) 내부표준물 보정

▪ 내부표준물의 회수율

내부표준물 로덤의 회수율은 -17.0% ~ +5.3% 수준으로 변동되며, 내부표준물의 일반적인 회수율 허용범위 $\pm 20\%$ 를 만족하나 분석을 진행할수록 회수율의 증가가 관찰되었다(그림 III-2). 회귀분석결과 내부표준물의 회수율은 일정한 경향성을 갖는 것으로 확인되었다($y=0.003x+0.859$)〈표 III-2〉.



[그림 III-2] 내부표준물의 회수율 변화(1)

〈표 III-2〉 내부표준물 회수율 변화의 회귀분석 결과(1)

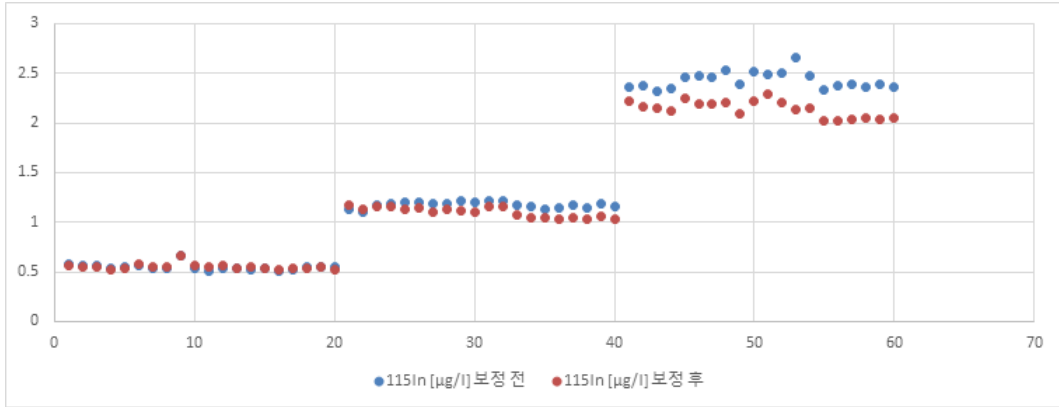
	기울기(B)	표준오차	표준화된 B값(β)	t값
상수(Constant)	0.859	0.007		129.709 [†]
분석횟수	0.003	0.000	0.907	16.401 [†]
R ²	0.823			
F비	268.994 [†]			

종속변수: I.S. Recovery(%), [†]p<0.05

■ 시료분석결과

세 농도의 시료를 각각 20회씩 반복 분석하고 내부표준물로 보정 후 외부 표준물법에 의해 정량하였다. 정규성 검정결과 $p>0.05$ 로 정규성을 만족하였으며, 보정 전후 분석 값의 비교를 위해 Paired sample t-test를 실시하였다.

농도1(0.6 $\mu\text{g/L}$ 수준)의 시료는 내부표준물에 의한 보정 전후 농도차이를 보이지 않았으나($p=0.312$), 농도2(1.2 $\mu\text{g/L}$ 수준)와 농도3(2.4 $\mu\text{g/L}$ 수준)의 시료는 의미 있는 차이가 확인되었다($p=0.000$)[그림 III-3]〈표 III-3〉.



[그림 Ⅲ-3] 내부표준물 보정 전후의 인듐 분석 값 비교(단위: $\mu\text{g/L}$)

〈표 Ⅲ-3〉 내부표준물 보정 전후의 인듐 분석 값 비교(1)

(단위: $\mu\text{g/L}$)

그룹	보정여부	N	평균 $\pm$ 표준편차	p-value [†]
농도1	보정 전	20	0.547 $\pm$ 0.031	0.312
	보정 후	20	0.551 $\pm$ 0.030	
농도2	보정 전	20	1.173 $\pm$ 0.031	0.000
	보정 후	20	1.102 $\pm$ 0.051	
농도3	보정 전	20	2.429 $\pm$ 0.084	0.000
	보정 후	20	2.139 $\pm$ 0.081	

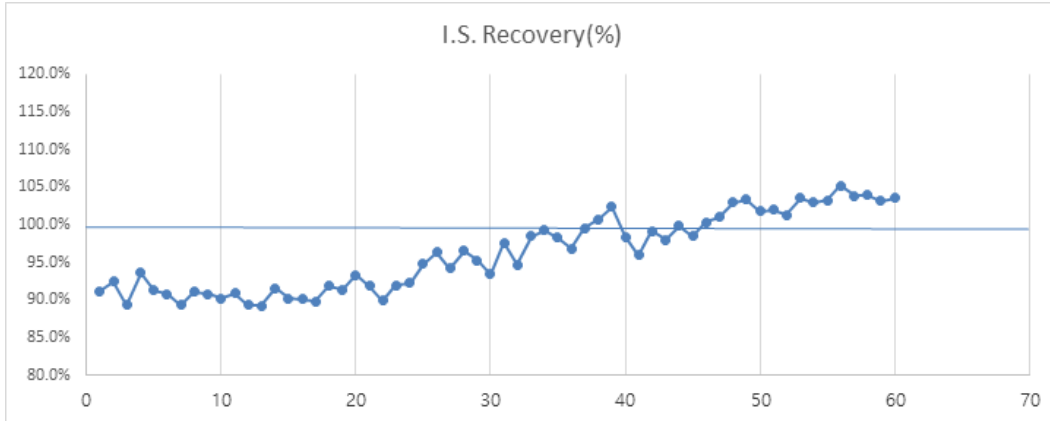
정규성 검정: Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk, $p > 0.05$ 로 정규분포를 가정

[†]Paired samples t-test

3) 희석액의 농도 변경

▪ 내부표준물의 회수율

희석액의 질산 농도를 0.1%에서 0.5%로 변경한 후 내부표준물의 회수율은 -10.8% ~ +5.2% 수준으로 변동 폭은 이전보다 완화 되었으나, 분석을 진행 할수록 회수율이 증가하는 현상은 동일하게 확인되었다($y=0.003x+0.879$) [그림 Ⅲ-4]〈표 Ⅲ-4〉.



[그림 III-4] 내부표준물의 회수율 변화(2)

〈표 III-4〉 내부표준물 회수율 변화의 회귀분석 결과(2)

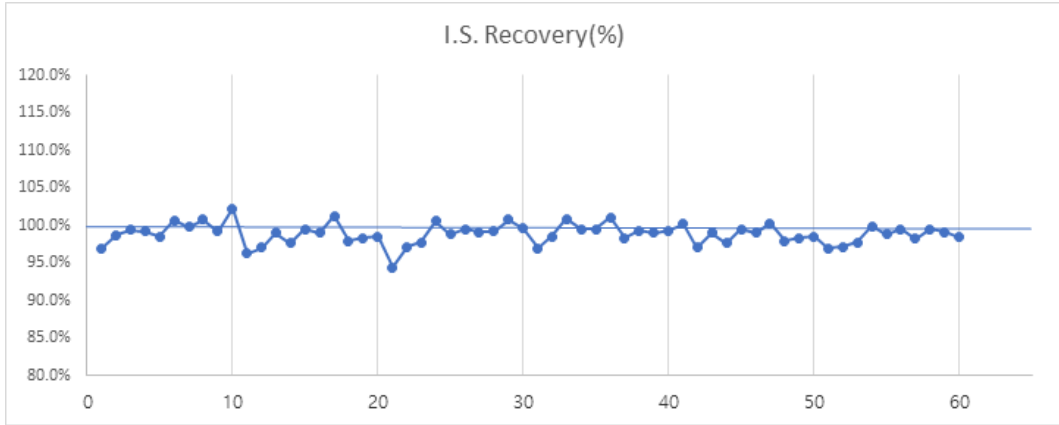
	기울기(B)	표준오차	표준화된 B값(β)	t값
상수(Constant)	0.879	0.005		179.154 [†]
분석횟수	0.003	0.000	0.931	19.411 [†]
R ²	0.867			
F비	376.802 [†]			

종속변수: I.S. Recovery(%), [†]p<0.05

4) 희석배율 변경

▪ 내부표준물의 회수율

검량선 작성을 위한 표준용액과 시료의 희석배율을 20배에서 50배로 변경한 후 내부표준물의 회수율은 -5.6% ~ +2.3% 수준으로 감소하였으며, 회귀분석 결과에서도 반복분석에 따른 증가 또는 감소경향이 확인되지 않았다(p>0.05) [그림 III-5]〈표 III-5〉.



[그림 III-5] 내부표준물의 회수율 변화(3)

〈표 III-5〉 내부표준물 회수율 변화의 회귀분석 결과(3)

	기울기(B)	표준오차	표준화된 B값(β)	t값
상수(Constant)	1.020	0.004		285.774 [†]
분석횟수	-0.00004	0.000	-0.057	-0.433
R ²	0.003			
F비	F=0.187			

종속변수: I.S. Recovery(%), [†]p<0.05

■ 시료분석결과

세농도(0.6 $\mu\text{g/L}$, 1.2 $\mu\text{g/L}$, 2.4 $\mu\text{g/L}$)의 시료를 각각 20개씩 분석하고 내부표준물로 보정 후 외부표준물법에 의해 정량하였다. 일간 변동 확인을 위해 다음 날 동일한 방법으로 분석을 반복하였다.

내부표준물 보정 전과 후에 분석 값의 상대표준편차는 분석 1일차에 각각 평균 4.7%와 3.3%이었고, 분석 2일차에 각각 3.5%와 2.8%로 보정 후에 감소함을 확인하였다(표 III-6).

내부표준물 보정 전과 후에 0.6 $\mu\text{g/L}$, 1.2 $\mu\text{g/L}$, 2.4 $\mu\text{g/L}$ 세농도 시료에 대한 분석 값의 회수율은 분석 1일차에 각각 96.5%와 99.6%이었고, 분석 2일차에 각각 95.4%와 99.8%로 보정 후에 증가함을 확인하였다<표 III-6>.

〈표 III-6〉 내부표준물 보정 전후의 인돔 분석 값 비교(2)

(단위: $\mu\text{g/L}$)

		N	보정 전			보정 후			p-value [†]
			평균 ± 표준편차	RSD (%)	회수율 (%)	평균 ± 표준편차	RSD (%)	회수율 (%)	
1 일 차	농도1	20	0.574 ± 0.035	6.1	95.7	0.593 ± 0.023	3.9	98.9	0.016
	농도2	20	1.152 ± 0.051	4.4	96.0	1.213 ± 0.031	2.5	101.1	0.000
	농도3	20	2.345 ± 0.084	3.6	97.7	2.370 ± 0.081	3.4	98.8	0.291
1일차 평균				4.7	96.5		3.3	99.6	
2 일 차	농도1	20	0.590 ± 0.030	5.1	98.4	0.607 ± 0.025	4.2	101.2	0.046
	농도2	20	1.140 ± 0.038	3.3	95.0	1.195 ± 0.011	0.9	99.6	0.000
	농도3	20	2.230 ± 0.049	2.2	92.9	2.369 ± 0.081	3.4	98.7	0.000
2일차 평균				3.5	95.4		2.8	99.8	
전체 평균				4.1	95.9		3.1	99.7	

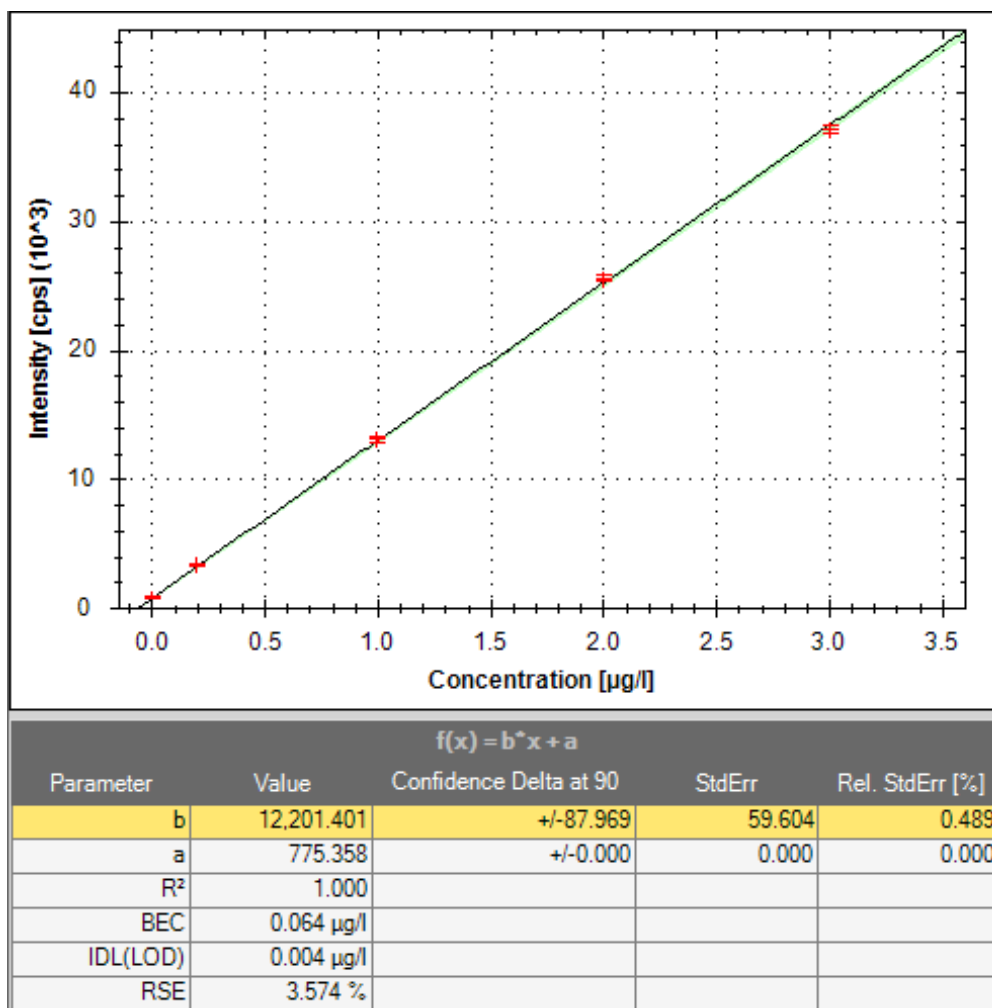
정규성 검정: Kolmogorov-Smirnov, $p>0.05$ 로 정규분포를 가정

[†]Paired samples t-test

5) 분석방법 신뢰도 확인 결과

▪ 직선성

인듐 0.2 ~ 3.0 $\mu\text{g/L}$ 농도범위에서 작성한 검량선의 R^2 는 0.999이상으로 양호한 직선성을 나타내었다[그림 III-6].



[그림 III-6] 혈청 중 인듐 분석을 위한 검량선

■ 검출한계

검출한계는 분석할 때 마다 변화가 있었으나 0.002~0.009 $\mu\text{g/L}$ 범위로 계산되었다.

■ 정밀도

혈청 중 인듐 3개 농도 시료를 각각 20회 분석하고 내부표준물로 보정한 분석 값의 정밀도는 0.9~4.2%(평균 3.1%)이었다. <표 III-6>으로부터 계산된 일간 정밀도는 내부표준물 보정 후 0.9%이었다<표 III-7>.

〈표 III-7〉 내부표준물 보정 전후의 일간 정밀도

	보정 전(%)	보정 후(%)
농도1	1.9	1.6
농도2	0.7	1.1
농도3	3.5	0.0
평균	2.1	0.9

■ 정확도

혈청 원료 시료에 인듐을 첨가한 3개 농도 시료를 각각 20회 분석하고 내부표준물질로 보정한 분석 값의 회수율은 98.7~101.2%(평균 99.7%)이었다.

2. 정량방법 비교

정량방법의 차이에 따른 분석 값의 차이를 비교하였다. Kolmogorov-Smirnov Test에서 분석 값들은 정규성을 만족하였으며($p>0.05$), 그룹별 분석 값의 평균은 외부표준물법을 적용한 경우 가장 낮았으나 통계적으로 의미 있는 차이는 아니었다($p>0.05$)<표 III-8>.

〈표 III-8〉 정량방법에 따른 분석 값 비교

(단위: $\mu\text{g/L}$)

	N	평균 $\pm$ 표준편차	최소값	최대값
외부표준물법	30	1.216 $\pm$ 0.021	1.184	1.250
표준물첨가법(동물)	30	1.231 $\pm$ 0.034	1.189	1.323
표준물첨가법(사람)	30	1.225 $\pm$ 0.057	1.109	1.324
Total	90	1.224 $\pm$ 0.040	1.109	1.324

정규성검정: Kolmogorov-Smirnov, $p>0.05$ 이므로 정규성 만족

ANOVA, $p=0.330$

3. 시료의 신뢰도 평가

1) 균질성 평가

시료의 분석 값들이 정규성을 만족하지 못하므로($p<0.05$) 비모수검정방법인 Kruscal-Wallis Test를 실시하였다. 검정통계량인 χ^2 는 〈표 III-9〉와 같았으며, 모든 결과가 통계적으로 유의미하지 않은 것으로 나타났다. 즉, 각 시료의 농도는 차이를 보이지 않는다고 할 수 있다.

〈표 III-9〉 균질성 평가 결과

(단위: $\mu\text{g/L}$)

구분		N	평균 ± 표준편차	최소값	최대값	χ^2	p-value [†]
농도 1	A	20	0.596 ± 0.009	0.581	0.612	4.876	0.845
	C	20	0.614 ± 0.012	0.599	0.645	4.922	0.841
	F	20	0.605 ± 0.022	0.571	0.655	7.727	0.562
	H	20	0.612 ± 0.019	0.570	0.647	12.419	0.191
농도 2	A	20	1.213 ± 0.020	1.184	1.249	4.625	0.866
	C	20	1.196 ± 0.015	1.173	1.233	4.650	0.864
	F	20	1.098 ± 0.088	0.980	1.218	8.600	0.475
	H	20	1.174 ± 0.053	1.062	1.234	7.600	0.575
농도 3	A	20	2.357 ± 0.037	2.304	2.424	4.696	0.860
	C	20	2.368 ± 0.045	2.299	2.451	4.714	0.858
	F	20	2.133 ± 0.110	1.883	2.278	9.493	0.393
	H	20	2.283 ± 0.116	2.035	2.456	8.257	0.508

정규성 검정: Kolmogorov-Smirnov, $p < 0.05$ 로 정규성을 가정할 수 없음[†]Kruskal Wallis Test

A, 소 혈청; C, 송아지 혈청; F, 소 태아 혈청; H, 말 혈청

2) 안정성 평가

소 혈청, 송아지 혈청, 소 태아 혈청, 말 혈청 등 4가지 혈청에 대해 세 농도로 조제된 시료를 보관 온도와 보관 기간에 따라 분석한 결과는 〈표 III-10〉과 같다. 즉시 분석한 결과와 보관 온도 및 기간에 따라 분석한 결과가 의미 있는 차이를 보이는지 Mann-Whitney U 검증을 실시한 결과 유의확률은 모두 $p > 0.025$ 로 분석결과가 다르다고 할 수 없었다.

농도그룹별 상대표준편차는 소 태아 혈청의 농도2($1.2 \mu\text{g/L}$ 수준)가 30.4%로 가장 컸으며, 다음으로 소 태아 혈청의 농도3($2.4 \mu\text{g/L}$ 수준)이 17.5%로 컸다. 상대표준편차의 평균은 송아지 혈청이 가장 낮았다(표 III-11).

〈표 III-10〉 안정성 평가 결과

(단위: $\mu\text{g/L}$)

농도1					
보관조건		소 혈청	송아지 혈청	소 태아 혈청	말 혈청
즉시		0.596 $\pm$ 0.009	0.614 $\pm$ 0.012	0.605 $\pm$ 0.022	0.612 $\pm$ 0.019
7일	23℃	0.592 $\pm$ 0.010	0.620 $\pm$ 0.009	0.598 $\pm$ 0.028	0.620 $\pm$ 0.021
	4℃	0.599 $\pm$ 0.002	0.598 $\pm$ 0.025	0.581 $\pm$ 0.043	0.637 $\pm$ 0.016
	-20℃	0.595 $\pm$ 0.013	0.622 $\pm$ 0.021	0.574 $\pm$ 0.043	0.624 $\pm$ 0.026
	-80℃	0.592 $\pm$ 0.012	0.591 $\pm$ 0.006	0.573 $\pm$ 0.047	0.611 $\pm$ 0.021
30일	23℃	0.594 $\pm$ 0.010	0.601 $\pm$ 0.005	0.614 $\pm$ 0.008	0.600 $\pm$ 0.026
	4℃	0.577 $\pm$ 0.008	0.607 $\pm$ 0.010	0.646 $\pm$ 0.019	0.576 $\pm$ 0.021
	-20℃	0.573 $\pm$ 0.024	0.609 $\pm$ 0.002	0.603 $\pm$ 0.017	0.563 $\pm$ 0.033
	-80℃	0.559 $\pm$ 0.015	0.610 $\pm$ 0.012	0.621 $\pm$ 0.019	0.586 $\pm$ 0.023
농도2					
즉시		1.213 $\pm$ 0.020	1.196 $\pm$ 0.015	1.098 $\pm$ 0.088	1.174 $\pm$ 0.053
7일	23℃	1.220 $\pm$ 0.025	1.176 $\pm$ 0.017	1.093 $\pm$ 0.002	1.225 $\pm$ 0.010
	4℃	1.213 $\pm$ 0.010	1.201 $\pm$ 0.033	1.014 $\pm$ 0.013	1.213 $\pm$ 0.016
	-20℃	1.210 $\pm$ 0.045	1.179 $\pm$ 0.027	1.003 $\pm$ 0.026	1.174 $\pm$ 0.026
	-80℃	1.197 $\pm$ 0.007	1.176 $\pm$ 0.007	1.016 $\pm$ 0.045	1.116 $\pm$ 0.017
30일	23℃	1.220 $\pm$ 0.021	1.202 $\pm$ 0.008	1.204 $\pm$ 0.017	1.198 $\pm$ 0.012
	4℃	1.176 $\pm$ 0.017	1.196 $\pm$ 0.028	1.194 $\pm$ 0.025	1.117 $\pm$ 0.014
	-20℃	1.178 $\pm$ 0.008	1.179 $\pm$ 0.011	1.067 $\pm$ 0.062	1.028 $\pm$ 0.028
	-80℃	1.193 $\pm$ 0.016	1.193 $\pm$ 0.014	1.119 $\pm$ 0.045	1.093 $\pm$ 0.027
농도3					
즉시		2.357 $\pm$ 0.037	2.368 $\pm$ 0.045	2.133 $\pm$ 0.110	2.283 $\pm$ 0.116
7일	23℃	2.432 $\pm$ 0.013	2.361 $\pm$ 0.043	2.150 $\pm$ 0.059	2.021 $\pm$ 0.031
	4℃	2.379 $\pm$ 0.019	2.384 $\pm$ 0.041	2.023 $\pm$ 0.027	2.331 $\pm$ 0.012
	-20℃	2.401 $\pm$ 0.020	2.373 $\pm$ 0.050	1.951 $\pm$ 0.059	2.287 $\pm$ 0.020
	-80℃	2.317 $\pm$ 0.022	2.335 $\pm$ 0.041	1.943 $\pm$ 0.037	2.161 $\pm$ 0.049
30일	23℃	2.327 $\pm$ 0.023	2.482 $\pm$ 0.008	2.162 $\pm$ 0.096	2.201 $\pm$ 0.065
	4℃	2.332 $\pm$ 0.027	2.445 $\pm$ 0.036	2.263 $\pm$ 0.013	2.215 $\pm$ 0.033
	-20℃	2.291 $\pm$ 0.058	2.321 $\pm$ 0.023	2.244 $\pm$ 0.002	2.035 $\pm$ 0.010
	-80℃	2.377 $\pm$ 0.047	2.314 $\pm$ 0.013	2.161 $\pm$ 0.091	2.053 $\pm$ 0.004

〈표 III-11〉 농도그룹별 상대표준편차(%)

	소 혈청	송아지 혈청	소 태아 혈청	말 혈청
농도1	3.0	2.4	5.6	5.0
농도2	2.4	1.6	30.4	5.6
농도3	2.3	2.6	17.5	5.8

3) 외부 실험실 분석결과 비교

안정성 평가결과 상대표준편차가 가장 컸던 소 태아 혈청을 제외하고 세 가지 혈청의 분석결과를 외부 실험실의 분석결과와 비교하였다(표 III-12). 상대표준편차는 모두 $\pm 5\%$ 이내였으며, 소 혈청 시료가 가장 낮았다.

〈표 III-12〉 외부 실험실 분석결과 비교

(단위: $\mu\text{g/L}$)

	구분	소 혈청	송아지 혈청	말 혈청
농도1	기관1	0.612	0.625	0.625
	기관2	0.596	0.614	0.612
	기관3	0.581	0.594	0.570
	상대표준편차(%)	2.1	2.1	3.9
농도2	기관1	1.200	1.195	1.185
	기관2	1.213	1.196	1.174
	기관3	1.148	1.131	1.077
	상대표준편차(%)	2.4	2.6	4.2
농도3	기관1	2.398	2.357	2.337
	기관2	2.357	2.368	2.283
	기관3	2.321	2.260	2.401
	상대표준편차(%)	1.3	2.1	2.1

IV. 고찰 및 결론



IV. 고찰 및 결론

2012~2013년 진행된 인듐 화합물에 의한 폐질환 예방연구에서 연구당시 우리나라의 인듐취급 사업장 환경이 과거 일본에서 인듐으로 인해 폐질환이 발생하던 환경과 유사함을 확인하였다. 인듐분진은 간질성폐질환을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있으며, 국내 인듐취급 근로자의 혈청 중 인듐농도는 최대 125.8 $\mu\text{g/L}$ 까지 보고되기도 하였다(원용림 등, 2012).

인듐의 생물학적 노출기준은 인듐을 취급하는 우리나라 근로자의 폐의 간질성변화율 등을 고려하여 일본의 3 $\mu\text{g/L}$ 보다 낮은 1.2 $\mu\text{g/L}$ 로 정하였다. 2021년 인듐취급근로자의 특수건강진단이 시작되었는데 1차 검사에서 인듐노출을 객관적으로 확인할 수 있는 유일한 검사항목은 혈청 중 인듐농도이다. 따라서 인듐 분석방법을 표준화하기 위해 2020년에 KOSHA GUIDE 「인듐의 생물학적 노출지표 물질분석 기술지침」을 제정하였으나 분석방법에 대한 추가 검토가 필요한 상황이다.

현재 대부분의 특수건강진단기관에서 생체시료 중 중금속 분석은 흑연로원자 흡광광도계를 활용하고 있다. 흑연로원자흡광광도계를 이용하여 생체시료 중 인듐을 분석한 사례도 있으나 전처리 방법이 복잡하고 마이크로파 분해 장치 등의 전처리 장비가 추가로 요구되며, 검출한계와 정량한계가 높고 재현성은 낮다(Koichi 등, 2003). 따라서 생체시료 중 인듐의 분석 장비는 혈청 중 농도와 검출한계를 고려했을 때 ICP-MS가 적절하다고 보고되었으며(Wilschefski & Baxter, 2019), 본 연구에서도 ICP-MS만을 고려하였다.

표준시료의 조제는 상용화된 동물혈청을 구매하여 활용하였다. 시판되는 동물혈청은 세포배양, 배지제작 등을 위한 용도로 판매되는 것들이나 사람 혈청을 시료조제에 활용하기 어렵고, 고양이, 돼지 등의 혈액을 표준시료 제작에 활용하는 사례가 있으므로(Surekar 등, 2020) 충분히 활용 가능할 것으로 판단하였다.

다만 동물혈청의 조성성분이 사람과 차이가 있어 사람혈청과 다른 매질효과를 보일 가능성, 혈청마다 보관안정성이 다를 가능성 등을 고려하여 다양한 혈청으로 표준시료를 조제하였다.

인듐의 생물학적 노출평가를 위한 시료로 혈장, 혈청, 전혈(whole blood), 소변 등이 연구되었다. 혈장 중 인듐은 인듐의 누적노출과 좋은 상관관계를 보인다고 하였고(Comings 등, 2016), 전혈 중 인듐은 혈장이나 혈청에 비해 높은 농도로 분석되지만 변이가 심하여 생물학적 노출지료로서 효용성이 떨어 지므로 혈장 또는 혈청이 추천된다고 하였다(Harvey 등, 2016). 소변 중 인듐은 혈액 중 농도의 1/7~1/8 수준이며, 변이가 큰 것으로 보고되었다(Koichi 등, 2003). KOSHA GUIDE의 시료채취 요령은 항응고제가 포함된 전혈을 설명하고 있으므로 수정이 필요한데, 채혈 후 시료처리의 편의성을 고려하면 혈장보다는 혈청이 적절할 것으로 사료된다.

KOSHA GUIDE에 따른 시료분석 결과 각 농도그룹의 평균농도는 분석이 반복될수록 상승하였는데, 가능한 원인으로 유기물에 의한 장비의 오염 및 매질 효과가 의심되었다. 분석방법 개선을 위해 내부표준물법을 적용한 결과 0.6 $\mu\text{g/L}$ 수준의 시료는 내부표준물에 의한 보정 전과 후에 의미 있는 농도차이가 없었으나, 1.2 $\mu\text{g/L}$ 수준과 2.4 $\mu\text{g/L}$ 수준의 시료는 의미 있는 차이가 있었다. 원인은 인듐의 Intensity가 일정하더라도 로듐의 Intensity가 증가하므로 분석이 진행 될수록 보정 후 농도가 낮아지는 것으로 파악되었다. 이는 내부표준물의 회수율이 안정적이지 못하면 보정의 의미가 없다는 것을 의미한다. 이후 희석액의 질산 농도 조절, 희석배율의 증가를 통해 내부표준물이 안정적으로 분석되는 것을 확인하였고, 보정 후 혈청 중 인듐의 회수율은 높아지고 상대표준편차와 일간 변동률은 작아지는 것으로 분석되어 내부표준물에 의한 보정은 반드시 필요한 것으로 판단하였다. 일본 등에서 매질간섭과 장비오염을 최소화하기 위해 전 처리에 사용하는 마이크로파 분해법도 고려하였으나 희석법과 내부표준물법 적용만으로도 회수율이 99.6%이상으로 안정적인 분석결과를 보여주며, 시료 전 처리 과정에서 발생할 수 있는 오염의 최소화 및 단시간 내에 많은 시료를

분석해야하는 업무특성 등을 고려했을 때 마이크로파 분해법의 사용은 불필요할 것으로 판단된다.

혈액처럼 시료의 매질이 복잡하거나 알 수 없는 경우 정량법으로 표준물 첨가법이 권고되고 있으나 연구에서 외부표준물법에 의한 정량결과와 표준물 첨가법에 의한 정량결과는 의미 있는 차이를 보이지 않았다. 혈청은 전혈이나 혈장에 비해 간섭물질이 적으며, 시료희석배수를 20배에서 50배로 올리면서 매질에 의한 간섭이 줄어드는 것으로 판단된다. 그러나 CDC등에서는 ICP-MS를 활용한 중금속 분석은 표준물첨가법을 적용하도록 권고하고 있으며(CDC, 2004), 1회 실험결과 만으로 두 정량법의 차이가 없다고 단정하기 어려우므로 추가 검토가 필요하다고 판단된다.

소분 후 일정 간격으로 뽑은 시료들의 분석결과가 통계적으로 유의한 차이가 없다면 시료는 균질하게 소분되었다고 할 수 있으며, 보관 온도와 기간에 상관없이 분석결과가 통계적으로 유의한 차이가 없다면 안정성이 있다고 판단할 수 있다. 균질성과 안정성 확인 결과 의미 있는 차이는 없었으나 안정성 평가에서 소 태아 혈청 시료의 상대표준편차가 다른 시료에 비해 컸으며, 소 혈청과 송아지 혈청은 안정성 평가뿐만 아니라 다른 실험실과의 분석결과 비교에서 말 혈청보다 상대표준편차가 작았다.

본 연구를 통해 KOSHA GUIDE에 제시된 혈청 중 인듐 분석방법을 개선하였으며, 개정안을 <표 IV-1>에 제시하였다. 또한 시료의 안정성, 외부기관과의 비교결과, 구매편의성과 가격 등을 고려했을 때 혈청 중 인듐의 표준시료 조제는 소 혈청 또는 송아지 혈청이 적절한 것으로 사료되며, 개발된 표준시료는 특수 건강진단기관 분석정도관리 항목으로 운영 할 것을 제안한다.

〈표 IV-1〉 KOSHA GUIDE 개정안

	변경 전	변경 후
시료채취 요령	① 근로자의 정맥혈을 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 또는 헤파린 처리된 튜브와 일회용 주사기 또는 진공채혈관을 이용하여 채취한다. 채취 용기는 유리 용기를 사용하고, 시료는 용기의 90 % 이상 채취한다. ② 채취한 시료는 바로 4 ℃(2~8 ℃)에서 보관하고, 채취 후 5일 이내에 분석한다.	① 근로자의 정맥혈을 주사기로 채취하여 응고용 튜브에 옮기거나 응고촉진제가 처리된 진공채혈관을 이용하여 채취한다. ② 30분간 응고시킨 후 1,000g(약 3,000 rpm)로 10분간 원심분리하여 상층액을 분리한다. ③ 분리한 시료는 바로 4 ℃(2~8 ℃)에서 보관하고, 채취 후 5일 이내에 분석한다.
내부표준물	-	로듐 표준용액
시약조제	① 표준용액희석: 0.1% 질산으로 희석 ② 희석액: 1000 mL 용량플라스크에 트리톤 X-100 1 mL, 질산 1 mL를 넣은 후 탈이온수로 표선을 채워 0.1% 트리톤 X-100, 0.1% 질산을 포함한 희석액을 만든다.	① 표준용액희석: <u>희석액으로 희석</u> ② 내부표준물: <u>원액을 1 µg/L 수준으로 희석하여 사용한다.</u> ③ 희석액: 1000 mL 용량플라스크에 트리톤 X-100 1 mL, 질산 5 mL를 넣은 후 탈이온수로 표선을 채워 0.1% 트리톤 X-100, 0.5% 질산을 포함한 희석액을 만든다. <u>오토샘플러를 사용하는 경우 rinse solution은 희석액과 동일하게 조제한다.</u>
시료 및 표준용액 전처리	표준용액과 시료는 희석액으로 20배 희석하여 분석용 검액을 만든다.	표준용액과 시료에 <u>내부표준물을 넣고 희석액으로 50배</u> 희석하여 분석용 검액을 만든다.
주의사항		<u>시간당 2도 이상의 온도변화는 결과에 영향을 줄 수 있으므로 항온장치 가동을 확인한다.</u> <u>최소 10개의 시료마다 blank시료를 분석하여 오염에 의한 신호 값의 상승을 방지한다.</u>

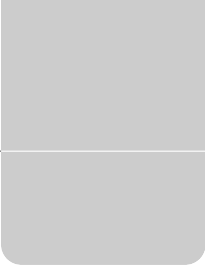
참고문헌

- 원용림, 김은아, 김현영, 이미영, 최성렬. 난용성 인듐 화합물에 의한 폐질환 예방 연구(I). 산업안전보건연구원. 2012.
- 원용림, 이광용, 최성렬, 이미영, 최윤정, 김은아. 난용성 인듐 화합물에 의한 폐질환 예방 연구(II). 산업안전보건연구원. 2013.
- 일본 후생노동성. The Technical Guideline for Preventing Health Impairment of Workers Engaged in the Indium Tin Oxide Handling Processes. 2010.
- 한국산업안전보건공단, 인듐의 생물학적 노출지표물질 분석 기술지침. KOSHA GUIDE H-209-2020. 2020.
- Bader MA. systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis. Journal of Chemical Education 1980;57(10):703.
- CDC. Laboratory Procedure Manual: Blood Lead, Cadmium, Mercury. ICPDRCMS. 2004:1-25.
- Cummings KJ, Donat WE, Ettensohn DB. Pulmonary alveolar proteinosis in workers at an indium processing facility. Am J Respir Crept Care Med 2010;181(5):458-464.
- Cummings KJ, Virji MA, Park JY, Stanton ML, Edwards NT, Trapnell BC, Kreiss K. Respirable indium exposures, plasma indium, and respiratory health among indium-tin oxide (ITO) workers. American journal of industrial medicine 2016;59(7):522-531.

- Harvey RR, Virji MA, Edwards NT, Cummings KJ. Comparing plasma, serum and whole blood indium concentrations from workers at an indium-tin oxide(ITO) Production Facility. *Occup Environ Med* 2016;73(12):864-867.
- Homma S, Miyamoto A, Sakamoto S et al. Pulmonary fibrosis in an individual occupationally exposed to inhaled indium-tin oxide. *Eur Respir J* 2005;25(1):200-204.
- Homma T, Ueno T, Sekizawa K et al. Interstitial pneumonia developed in a worker dealing with particles containing indium-tin oxide. *J Occup Health* 2003;45(3):137-139.
- Koichi M, Kanae H, Miyuki H et al. Biological Monitoring of Indium by means of Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry in Workers Exposed to Particles of Indium Compounds. *J Occup Health* 2003;45:228-230.
- Nakano M, Kamata H, Saito F et al. A case of indium lung disclosed in health checkup [in Japanese]. *Occup Health J* 2007;30:25-29.
- Surekar B, Kutscher D. Fast and accurate determination of essential and toxic elements in whole blood using ICP-MS for clinical research. Technical note 44453. Thermo Fisher Scientific. 2020.
- Taguchi O, Chonan T. Three cases of indium lung [in Japanese]. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 2006;44(7):532-536.
- Takeuchi K. Pulmonary toxicity of indium [in Japanese]. *Respiration* 2008;27:599-603.

Wilschefska SC, Baxter MR. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. Clin Biochem Rev 2019;40(3):115-133.

Xiao YL, Cai HR, Wang YH et al. Pulmonary alveolar proteinosis in an indium-processing worker. Chin Med J(Engl) 2010;123(10):1347-1350.



Abstract

Review of indium analysis in serum and development of biological reference material

Objectives: The study aimed to improve the analysis of indium in biological samples as a benchmark for special health examination institutions and to develop reliable reference materials.

Method: ICP-MS was used to analyze serum indium. To improve its analysis, correction via internal standard, alteration of the diluent concentration, and increase in dilution ratio were performed. The samples, prepared using four animal serum types, were tested for homogeneity and stability.

Results: After improving the analytical method, the recovery rate of the internal standard was -5.6% to +2.3%. The R² of the calibration curve was 0.999 or more. The detection limit was 0.002–0.009 $\mu\text{g/L}$. The precision was 3.1%, and the daily precision was 0.9%. The average recovery rate of samples with known concentrations was 99.7%. There were no significant differences in the analysis values according to the external standard and standard addition methods. Based on the homogeneity test, there was no significant difference in the concentrations of each sample. To test the stability, the analysis results

after storage at 23°C, 4°C, -20°C, and -80°C for 7 days and 30 days were compared with the analysis results immediately after sample preparation. All analysis results showed no significant difference.

Conclusion: The nitric acid concentration of the diluted solution was 0.5%, and the dilution ratio was 50. Calibration using an internal standard was essential. The homogeneity and stability of the serum indium reference material were confirmed. Bovine or calf serum was the most appropriate serum.

Key words: indium, biological exposure index, reference material, homogeneity, stability

연구진

연구기관 : 산업안전보건연구원

연구책임자 : 원용림 (차장, 직업건강연구부)

연구원 : 이미영 (연구위원, 직업건강연구부)

연구기간

2021. 3. 4. ~ 2021. 11. 30.

본 연구보고서의 내용은 연구책임자의 개인적 견해이며,
우리 연구원의 공식견해와 다를 수도 있음을 알려드립니다.

산업안전보건연구원장

혈청 중 인돌 분석방법 검토 및 표준시료 개발
(2021-산업안전보건연구원-741)

발 행 일 : 2021년 11월 30일

발 행 인 : 산업안전보건연구원 원장 김은아

연구책임자 : 직업건강연구부 차장 원용림

발 행 처 : 안전보건공단 산업안전보건연구원

주 소 : (44429) 울산광역시 중구 종가로 400

전 화 : 052-703-0857

팩 스 : 052-703-0335

Homepage : <http://oshri.kosha.or.kr>

I S B N : 979-11-92138-23-7