

## 실시간 모드의 유도결합플라즈마 질량분석기술을 이용한 금속나노입자의 분석

김현아<sup>1</sup> · 나소영<sup>1</sup> · 이병태<sup>1,†</sup> · 김경웅<sup>1</sup> · 이우춘<sup>2</sup> · 김순오<sup>2</sup> · 이병천<sup>3</sup>

<sup>1</sup>광주과학기술원 환경공학부, <sup>2</sup>경상대학교 지구환경과학과 및 기초과학연구소,

<sup>3</sup>국립환경과학원 환경건강연구부 위해성평가연구과

### Metal-Nanoparticle Analysis using Realtime Single Particle Mode Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (RTSP-ICP-MS)

Hyun-A Kim<sup>1</sup>, So-Young Na<sup>1</sup>, Byung-Tae Lee<sup>1,†</sup>, Kyoung-Woong Kim<sup>1</sup>, Woo Chun Lee<sup>2</sup>,  
Soon-Oh Kim<sup>2</sup>, and Byoung-Chun Lee<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Environmental Science and Engineering, Gwangju Institute of Science and Technology (GIST),  
Gwangju, 500-712, Korea

<sup>2</sup>Department of Earth and Environmental Science and Research Institute of Natural Science (RINS),  
Gyeongsang National University (GNU), Jinju, 660-701, Korea

<sup>3</sup>Division of Risk Assessment, Department of Environmental Health Research,  
National Institute of Environmental Research, Incheon, 404-170, Korea

Received October 28, 2013/Revised November 11, 2013/Accepted November 29, 2013

Significant concern has been laid on the environmental safety of nanoparticles due to their exposure and toxicity to human and ecosystems. Among the research topics, detection and analysis of nanoparticles in the environmental matrix is regarded as the most important and pressing work. Owing to its precise and accurate analytical power to inorganics, inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is a very promising tool to detect metal nanoparticles in the environmental samples. Here, we introduced the principles and procedures of on Realtime Single Particle mode ICP-MS (RTSP-ICP-MS) technique and evaluated its applicability to citrate-coated silver nanoparticles (AgNPs). RTSP-ICP-MS determined AgNPs of 60 nm and 100 nm to 53.0 ± 7.4 nm and 103.6 ± 13.8 nm, respectively, which were the number-weighted average sizes. Comparative measurements suggested that sizes by Transmission Electron Microscopy (TEM) were 60.1 ± 3.7 nm and 96.8 ± 9.5 nm and z-averages by Dynamic Light Scattering (DLS) were 59.1 ± 0.2 nm and 95.3 ± 0.8 nm, respectively. The results prove the feasibility of RTSP-ICP-MS for metal-nanoparticles. We have many challenges to be overcome for detection and measurement of metal nanoparticles in environmental samples such as fresh water, wastewater, sludges, sediments and soils.

**Key words:** Realtime single particle mode ICP-MS (RTSP-ICP-MS), Metal nanoparticles, Particle size, Size distribution

### 1. 서 론

나노물질은 적어도 한 차원(dimension)의 크기가 1~100 nm인 물질로서, 비표면적이 매우 크며 반응성, 광학성, 확산성 등 기능이 뛰어나 의학, 소재, 환경 및 에너

지 등 다양한 분야에서 활용 및 사용이 증가하고 있다.<sup>1)</sup> 미국 국립과학재단(US National Science Foundation, NSF)은 나노기술의 발전과 수요의 증가에 의해 나노관련 산업분야는 2015년에 1조 달러 이상에 달할 것으로 예측하였으며, 이러한 전망에 맞추어 나노물질의 개발

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

및 활용에 대한 연구는 활발히 진행되고 있다.<sup>2)</sup> 나노물질 사용의 증가로 인해 지구환경(물, 토양 및 대기)으로의 나노물질 유출 및 위해성 증가에 대한 우려가 제기되고 있으며, 많은 연구자들에 의해 나노물질의 환경 내 순환과 유출 및 그에 따른 거동특성 파악 등의 연구가 진행되고 있다.<sup>3)</sup>

미국의 국가나노기술개발전략(NNI) 보고서<sup>4)</sup>에 따르면 나노입자를 위한 생물 매질, 환경 및 작업장 내에서 나노입자의 탐지 및 분석기술을 가장 시급한 기술개발 연구과제를 강조하고 있다. 또한 Alvarez 등(2009)에 따르면, 환경 내 나노물질의 탐지 및 분석기술은 가장 중요도가 높은 연구이나 현재까지의 기술수준이 매우 낮은 기술로서 연구개발이 우선순위에서 가장 상위에 있다고 분석하였다.<sup>5)</sup> 유럽위원회(EC)의 보고서에 따르면 환경 시료 내 존재하는 나노물질 분석을 위해서는 나노물질의 구성성분, 입자 수에 의한 평균 크기 및 입자 수를 기준으로 한 입도 분포 정보를 제공할 수 있는 기술을 적용해야 한다고 명시하고 있다.<sup>1)</sup> 나노물질의 환경 내 유출에 관한 예측 연구에서 보고된 은나노입자의 환경 내 노출 예상 농도는 은이온 기준인 3.2 ppb를 초과할 것으로 보고되었으며<sup>6)</sup>, 실제로 도심의 하수처리장 유출수에서 90 nm 이하의 은나노입자가 총은의 농도로 약 20 ppt 수준으로 검출되었음이 보고된 바 있다.<sup>7)</sup> 그러나, 이러한 연구결과는 환경 내 나노물질의 분석 기술에 대한 신뢰성이 확보되지 않아, 실제 환경에서의 노출 농도는 이를 크게 상회할 가능성을 배제할 수 없다. 환경 내에 존재하는 나노물질의 농도, 크기에 대한 모니터링 및 노출평가 등의 연구에는 환경매질 내에서의 나노물질을 정성·정량적으로 평가할 수 있는 기술의 개발이 가장 중요하다. 현재까지 나노물질의 분석 기술은 재료공학적인 이용목적으로 개발된 것으로서, 실제 수 환경과 같은 다양한 매질 특성과 응집·침전, 흡착, 용해 등 나노물질의 다양한 거동을 고려한 환경분석기술로의 활용에는 매우 제한적이다. 따라서, 다양한 환경 매질 내 나노물질의 특성 및 거동, 그리고 노출평가를 위한 분석 기술로서, 기존의 나노물질 분석 방법들의 적용 가능성을 평가하고 새로운 분석기술을 개발하는 것이 최우선 과제이다.

본 연구에서는 기술의 원리에 따른 다양한 나노물질 분석기술을 살펴보고, 환경 내 나노물질의 분석 적용에 대한 장단점을 살펴보고, 또한 실시간 단일입자 모드의 유도결합플라즈마 질량분석기술(RTSP-ICP-MS)을 이용한 금속 나노입자의 정성·정량적 분석 원리 및

절차를 상세히 설명하였다. 이 기술을 이용하여 은나노입자의 크기 및 크기분포에 대한 결과를 제시하였고, 기존의 분석방법인 전자투과현미경 및 동적광산란기 분석 결과와의 비교를 통하여 RTSP-ICP-MS 기술의 적용성을 평가하였다.

## 2. 기존의 나노물질 분석기술

기존의 나노물질의 물리화학적 특성분석을 위해 적용되는 기술(Table 1)은 마이크로미터 크기의 입자 측정에 효과적이던 방법들로 나노크기 입자의 분리나 분석에서 많은 오류를 나타낼 수 있다. 특히, 나노입자 분석에 가장 보편적으로 적용되는 광산란법 및 전자현미경법의 경우 단일 크기 정보만을 제공하며 복잡한 매질에 대해서는 사용이 불가능한 단점을 지니며, 농도 또는 나노입자의 수에 대한 정량적인 정보를 제공하지 못한다. 또한 대부분의 기존 기술을 통한 분석은 정량 또는 정성의 단일 특성만을 확인할 수 있는 제한적 기술로써 나노입자의 인체 및 환경적 위해성을 효과적으로 예측하고 평가하기 위해서는 크기분포, 입자 농도, 성분 등 복합적인 나노입자의 특성분석이 요구된다.

### 2.1. 분리기술(Separation technique)

분리기술에는 크게 크로마토그래피(chromatography), 장-흐름 분리(field flow fractionation), 전기영동(electrophoresis) 및 원심분리(centrifugation) 등이 있다. 분리기술은 경제적으로 저렴하고 비교적 간편하여 입자 및 고분자 등의 분리에 널리 이용되고 있으며, 분자량 및 확산계수 등 입자의 특성을 분석하는 기술로도 사용되고 있다. 그 중 장-흐름(field-flow) 분리기술은 유체의 흐름이 있는 장(field)에 주입된 시료성분들이 운반용매에 의해 이동되면서 생기는 시료 성분간의 이동 속도 차이를 이용하여 크기를 분리하는 기술로써<sup>8)</sup>, 시료의 유속은 채널 벽쪽의 경우 점성 끌림으로 인해 느려지고 가운데로 갈수록 빨라져 포물선형 흐름이 형성된다. 이러한 시료 흐름에 수직 방향으로 외부장(external field)이 분리의 추진력으로써 작용하게 되며, 외부장은 시료 성분과의 상호작용을 통해 성분의 이동속도를 조절한다. 이때 외부장과 강하게 상호작용하는 성분은 약하게 상호작용하는 성분보다 늦게 용리되어 분리가 얻어진다. 이 방법은 입자의 확산계수 차이를 이용하여 크기가 다른 입자를 분리하며, 일반적으로 0.1 nm에서 2 μm까지의 입자에 적용이 가능한 것으로 알려져 있다. 분리기술

**Table 1.** Physicochemical analysis techniques for nanoparticles

Analysis techniques		Advantages	Limitations	Reference
Scanning Electron Microscopy	- size - morphology	high resolution image	surface charge effect, wet samples, coating process	Liu et al., 2010; Levard et al., 2011
Transmission Electron Microscopy	- size - morphology	high resolution image	surface charge effect, wet samples, coating process	Badawy et al., 2010; Liu et al., 2010; Lee et al., 2011
Scanning Transmission Electron Microscopy	- size - morphology	high resolution image	surface charge effect, wet samples, coating process	Choi et al., 2008; Benn et al., 2008; Seney et al., 2009
Atomic Force Microscopy	- size - morphology	3D surface image	tip types, wet samples	Hyning et al., 2001
Dynamic Light Scattering	- hydrodynamic size - surface charge	non-contact, size distribution	polydisperse samples	Levard et al., 2011; Kittler et al., 2010
UV-VIS spectrometry	- size - concentration	non-contact	turbidity interference	Guzman et al., 2008; Cheng et al., 2011
ICP-OES	- element - concentration	several element analysis, high sensitivity	acid digestion	Levard et al., 2011; Jin et al., 2010; Stebounova et al., 2011
ICP-MS	- element - concentration	several element analysis, high sensitivity	acid digestion	Navaarro et al., 2008; Zhang et al., 2011
Field Flow Fractionation	- hydrodynamic size	long analysis time	coupled detector	Nowack et al., 2007; Klaine et al., 2008; Lee et al., 2011
Atomic Absorption Spectrometry	- concentration	high sensitivity	acid digestion	Kulthong et al., 2010; Zhang et al., 2009
Energy Dispersive Spectrometry	- element	single particle analysis	high concentration	Fabrega et al., 2009; Miao et al., 2009; Kulthong et al., 2010
X-ray Diffraction	- structure - element	crystal structure	high concentration (1~3% wt)	Lee et al., 2011; Guzman et al., 2008; Zhang et al., 2011

후단부에 광학 검출기(UV-Vis, dynamic light scattering)와 함께 ICP-MS를 결합할 경우, 수리학적 크기와 입자의 구성에 대한 정보를 동시에 얻을 수 있다는 장점이 있다. 이러한 분리기술은 운반용매의 조성, 유체 흐름 속도 등에 의한 영향이 크며 시스템 내 체류시간이 길어 이동상에서 입자의 응집이나 용해 등의 반응이 일어날 가능성이 크다는 단점이 있다.

## 2.2. 산란기술(Light scattering technique)

빛의 산란을 이용한 기술은, 미립자가 브라운 운동을 할 때 입자의 운동 속도는 입자의 크기에 관계하여 작은 입자는 빨리, 큰 입자는 느리게 움직이는 원리를 이용한 분석 기술이다. 브라운 운동을 하는 입자에 빛을 조사하면 운동 속도에 따라 위상이 다른 빛의 산란이 생기는데 이를 도플러 현상(Doppler Shift)이라 하며, 이

때 산란되는 빛을 측정하여 입자의 크기를 산출한다. 일반적으로 나노물질의 특성분석에 가장 널리 사용되는 동적광산란기술(DLS; dynamic light scattering)이 이에 해당한다. 이 기술은 빛의 강도에 기반한 입자의 평균 수리학적 크기를 측정하며 보통 0.1 nm 이상, 6 μm 이하의 입자에 대해 측정이 가능한 것으로 알려져 있다. 또한 단일크기의 입자로 존재하는 시료에 대해 측정 속도가 매우 빠르고 분석 정확도가 높은 장점을 지니고 있으나, 측정 대상 입자가 액상에서 브라운 운동을 해야 하고 시료 내에 대상 입자보다 큰 입자가 존재하는 경우, 큰 입자의 농도가 상대적으로 작더라도 빛의 산란이 크게 일어나 작은 입자에서 발생하는 빛의 산란을 왜곡하여 결과에 오차가 발생할 가능성이 매우 크다는 단점이 있다. 통상 시료 내 입자의 다분산지수(polydisperse index)는 0.3 이하여야 하므로 동적광산란기술의 적용은

입도분포가 매우 좁은 경우로 제한된다.

### 2.3. 현미경 기술(Microscopic technique)

현미경을 이용한 나노물질 분석기술은 원자힘현미경 (AFM; atomic force microscopy), 투과전자현미경 (TEM; transmission electron microscopy), 주사전자현미경(SEM; scanning electron microscopy) 등이 대표적이다. 이 중 나노물질의 특성 분석에 가장 일반적으로 사용되는 방법은 투과전자현미경법으로, 편광 전자선을 시료에 투과시킨 후 투과한 전자선을 전자렌즈로 확대, 관찰하는 원리를 갖는다. 통상 100배에서 100만 배 가량의 직접 배율이 가능하며 확대된 상을 형광관에 투영하여 관찰하는데, 이때 전자선이 시료를 투과할 때 생기는 산란대조와 위상대조를 통해 상의 대조가 얻어진다. TEM은 시료를 이미지로 표현함으로써 나노물질의 크기 뿐만 아니라 형태까지 관찰할 수 있으며, 입자의 응집, 결정상을 판독할 수 있고 EDS 기법을 적용하여 화학적 조성비를 확인할 수 있다. TEM 관찰을 위해서는 시료의 준비과정이 매우 중요하며, 통상 미세입자를 포함하는 현탁액 일정량을 격자망(grid) 위에 떨어뜨리고 수분을 건조시켜 위에 남아 있는 입자를 관찰한다. 이 외에

도 용매-반용매 원리를 이용하거나 원심분리 등의 방법을 통해 격자망 위에 분석하고자 하는 대상 입자를 위치시켜 관찰할 수 있다. 적절한 시료준비 과정이 수행되지 못할 경우에는 시료의 농도가 낮아 대표성을 갖지 못하거나 시료의 농도가 높아 겹침이 발생하는 등의 오차가 발생할 수 있다.

### 3. 실시간 단일입자모드의 유도결합 플라즈마 질량분석기술(RTSP ICP-MS)

RTSP-ICP-MS 기술은 유도결합플라즈마 질량분석기(ICP-MS)의 응용 기술이다. 2000년대 초반 Deguelder 연구팀에 의해 처음으로 수환경 내 존재하는 금속 콜로이드 분석에 적용되었으며<sup>9-11)</sup>, 입자의 크기와 입자 수 농도를 위한 데이터 처리가 체계화되었다(Table 2). Pace 등(2011)은 데이터 처리 시 이송효율의 개념을 도입함으로써 단일입자의 정량적 측정과 계산의 정확성을 높이 고자 하였으며<sup>12)</sup>, Mitrano 등(2012)과 Olesik 등(2012)은 나노입자 분석을 위한 최적의 쪼갬시간(dwell time), 입자 수 농도 및 검출한계 등에 대한 연구결과를 발표 하였다<sup>7,13)</sup>. 또한 Reed 등(2012)은 실제 환경에서 존재

**Table 2.** Trend of research for real time single particle mode inductively coupled plasma mass spectrometry (RTSP-ICP-MS)

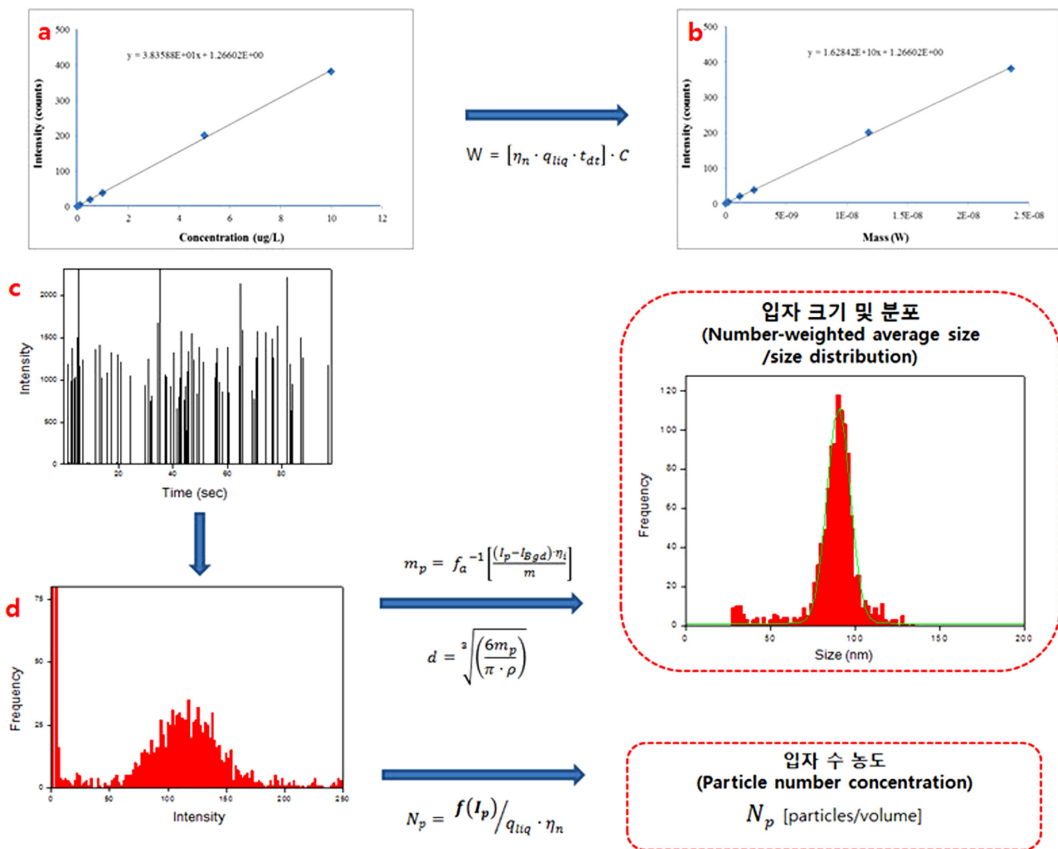
Ref.	Main results
Degueldre et al. (2002)	• Applicability and validity of the RTSP-ICP-MS analysis technique for colloid single particles (80~250 nm) in the water
Degueldre et al. (2004)	• Propose the equations to calculate the particle number concentration and particle size
Degueldre et al. (2005)	• Detection limit: 30~200 nm
Mitrano et al. (2012)	• Study on the effect of pre-treatment such as acid digestion, filtering in RTSP-ICP-MS analysis • It proved to be a signal that the signal of particles are separated from the background signal has been derived by nanoparticles actually.
Pace et al. (2011)	• By introducing the transport efficiency for data processing, increase the accuracy of the calculation and measurement of a single particle • Presents 3 methods in transport efficiency calculation • Need for lowering the detection limit of particle size • Difficulty of environmental sample analysis
Pace et al. (2012)	• Study on the RTSP-ICP-MS in comparison with the nanoparticle analysis methods such as DLS, DCS, and NTA • Investigation the possibility of RTSP-ICP-MS analysis in the environmental samples using algae
Olesik et al. (2012)	• Evaluation of the optimum conditions (dwell time, sensitivity, particle number concentration, sample flow rate) of RTSP-ICP-MS • To enhance the detection limit of the particle size, various instrumental and sample conditions shall be considered.
Reed et al. (2012)	• Study on the factors (dissolution of nanoparticles, background signal, mass interference, and metal ratio in nanoparticles) of RTSP-ICP-MS analysis • Evaluation the RTSP-ICP-MS analysis of nanoparticles in environment by measuring the polydisperse, non-spherical samples

가능한 다분산 금속나노입자에 대한 RTSP-ICP-MS 기술의 분석가능성을 확인하는 연구를 수행하였다.<sup>14)</sup>

RTSP-ICP-MS 기술은 금속으로 구성된 나노입자의 분석에 널리 활용되고 있으며 환경 내 시료, 식품 등 저농도로 존재하는 금속 나노입자에 대한 분석이 가능하여 가장 실용적인 기술로 평가받고 있다. 기존 ICP-MS의 실시간 분석모드를 이용하여 신호와 질량에 대한 상관관계를 얻고, 이를 통해 입자의 크기 및 입자 수 농도를 산출하는 분석 기술로서, 분석의 원리는 다음과 같다. 입자를 포함하고 있는 시료가 시료도입부를 통해 플라즈마로 이동될 때, 입자는 이동하는 시료 내에서 불연속적인 흐름을 갖게 된다. 플라즈마에서 입자상 물질은 이온화가 되며, 검출기로 이동하는 과정에서 이온화된 층 역시 불연속적인 흐름을 유지하게 되며 검출기에서는 이러한 불연속적 흐름이 피크의 형태로 나타나게 된다. 이때 나타나는 신호의 세기는 이론적으로 입자의 질량에 비례하게 되며, 미리 획득한 질량과 신호에 대한

검량선 결과를 이용하여 각 피크에 해당하는 단일입자의 질량과 크기를 계산하게 된다. 분석시간 내에 획득한 피크의 수는 입자의 수에 해당하는 것이며, 피크의 크기는 입자의 질량 또는 크기에 해당하는 정보이므로 이를 이용하여 입자의 평균 크기 및 입도분포를 산출한다.

RTSP-ICP-MS 기술을 이용한 나노물질의 분석과정은 Fig. 1과 같다. 먼저 표준나노입자를 이용하여 기기의 이송효율을 확인하고, 표준용액을 이용하여 검량선을 작성한 후 미지의 시료를 분석하여 얻어지는 신호로부터 입자의 정성·정량적 정보를 계산한다. RTSP-ICP-MS의 분석은 일반적인 용존상 이온의 분석과 달리, 검량선의 작성 시 시료도입부에서 시료의 배출 및 플라즈마 유입에 대한 이송효율의 산출과정이 필요하다. 또한, 검출기의 신호 수집 조건에 해당하는 쪼갬시간, 시료 내 입자수 농도 등 분석 조건에 따라 입자신호와 배경신호의 분리 또는 입자의 겹침 등에 의한 분석결과의 오류가 발생할 수 있다. 분석의 최적화를 위해서는 분석 과



**Fig. 1.** Analytical procedures of realtime single particle mode inductively coupled plasma mass spectrometry (RTSP-ICP-MS). a: Calibration curve of intensity vs, concentration, b: Calibration curve of intensity vs. mass, c: Raw data of nanoparticle suspension from RTSP-ICP-MS, d: Frequency vs. intensity of nanoparticle suspension.

정에 대한 이해가 필요하며 따라서, 분석 절차에 따라 원리 및 데이터 처리 방법을 상세히 설명하였다.

### 3.1. 이송효율(Transport efficiency)

가장 첫 번째 단계는 기기의 이송효율 산출이다. 나노입자를 포함하고 있는 액상시료는 분사기(nebulizer)를 통해 혼합실(spray chamber)로 분무되어, 일부는 플라즈마로 유입되고 나머지는 배출되게 된다. 여기에서, 분무된 시료 중 플라즈마를 통과하여 검출기까지 도달하는 시료의 양을 이송효율(transport efficiency,  $\eta_n$ )로 나타낸다. 일반적인 ICP-MS에서 용존 이온을 분석하는 경우 검출기에 도달하는 분석대상원소의 질량은 금속 농도와 주입된 용액의 부피에 비례한다. 그러나 RTSP-ICP-MS에서 나노입자를 포함하는 시료를 분석하는 경우, 주입된 입자가 플라즈마를 통하여 검출기에 도달하는 흐름에서 분석대상원소의 농도는 일정한 흐름을 유지하지 않는다. 이때 흐름 내 원소의 농도(또는 질량)은 입자에 의한 것으로써 검출기에 도달하는 금속의 질량은 입자의 크기에 따라 영향을 받으며, 용액의 부피와는 관계가 없다. 따라서 검출기에서 발생하는 나노입자의 펄스 신호를 질량으로 변환하기 위해서는 주입된 나노입자 중 검출기까지 도달한 양의 비인 이송효율을 알아야 한다.<sup>12)</sup> 이송효율은 분사기 및 혼합실의 구성 등 기기구성에 의한 영향이 지배적이며, 분사기 가스 유량, 시료의 점성 및 유입 속도 등 시료주입 조건에 영향을 받는다. 따라서 이송효율은 기기의 구성에 따라 다를 수 있으며, 시료의 종류, 기기상태 및 운전 조건 등에 따라 변할 수 있다. ICP-MS의 이송효율은 일반적으로 1~5% 수준이며, 분사기 및 혼합실의 구성을 고효율 시스템으로 적용할 경우 이송효율을 향상시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.<sup>15)</sup>

크기를 알고 있는 구형의 표준나노입자를 RTSP-ICP-MS 기술을 이용하여 이송효율을 간접적으로 산출할 수 있다. 표준나노입자의 크기와 밀도를 식 (1)에 적용하여 나노입자 한 개의 질량( $m_p$ )을 계산한다.

$$m_p = \frac{\pi d^3}{6} \cdot \rho \quad (1)$$

$m_p$  = 나노입자의 질량,  $\mu\text{g}$

$d$  = 나노입자의 직경, nm

$\rho$  = 입자의 밀도,  $\mu\text{g}/\text{nm}^3$

RTSP-ICP-MS를 이용해 표준나노입자를 분석하고, 검

출기로부터 얻어진 피크에 해당하는 신호, 즉 입자신호의 평균값을 구한다. 이때, 입자신호의 평균값은 표준나노입자 한 개의 질량에 해당하는 값이다. 바탕시료(blank) 분석 시의 배경신호와 입자신호의 평균값에 대해 질량 대 신호에 대한 선형회귀를 적용하여 식 (2)와 같은 수식으로 나타낸다. 여기에서, 기울기( $m_{NP}$ )는 입자 한 개의 질량과 신호값의 관계를 나타낸다.

$$Y = m_{NP}(W) + b \quad (2)$$

$Y$  = 입자의 평균 신호, counts/dwell time

$m_{NP}$  = 나노입자 검량선의 기울기

$W$  = 각 쪼갬시간 당 신호의 질량,  $\mu\text{g}/\text{events}$

$b$  = 바탕시료의 신호, counts/dwell time

다음단계로, 표준나노물질의 구성원소에 대해 표준용액을 이용하여 용존이온농도와 신호에 대한 검량선을 작성하여, 용존이온 검량선의 기울기( $m_{diss}$ )를 구한다. 용존이온을 이용한 검량선은 이송효율이 고려되지 않았으므로, 플라즈마를 통과하는 질량으로 나타내기 위해서는 용존 검량선에서 질량값을 이송효율로 나눠주어야 한다. 이를 통해 식 (3)과 같은 수식을 작성할 수 있다.

$$Y = \frac{m_{diss}}{\eta_n}(W_{diss}) + b \quad (3)$$

$m_{diss}$  = 용존이온 검량선의 기울기

$\eta_n$  = 이송효율

$W_{diss}$  = 각 쪼갬시간 당 용존이온의 질량,  $\mu\text{g}/\text{events}$

플라즈마로 유입된 나노입자의 이온화율이 100%이고 분석 대상원소의 입자 내 분율(fraction)이 100%일 때, 입자상과 용존상 시료의 이송효율은 동일하므로 식 (2)와 식 (3)의 기울기 역시 같아야 한다. 따라서 이송효율은 식 (4)와 같이  $m_{NP}$ 에 대한  $m_{diss}$ 의 비로 구할 수 있다.

$$\eta_n = \frac{m_{diss}}{m_{NP}} \quad (4)$$

기기의 이송효율에 영향을 미칠 수 있는 인자는 분무기의 가스 유량, 시료의 유입유량 및 시료 내 입자의 크기 등이 있다. 기기의 이송효율 확인을 위한 표준나노물질은 1) 입자가 구형이거나 구형에 가까워야 하며, 2) 입도분포가 균일하고 크기가 일정하여야 하며, 3) 용존이온이 없어야 하며 분석 중 시료의 용해가 일어나지 않

아야 한다.

### 3.2. 검량(Calibration)

ICP-MS의 실시간 단일입자모드에서 분석하고자 하는 원소의 표준용액(standard)을 분석하고, 표준용액의 농도(concentration)와 분석된 신호(intensity) 간의 검량선을 작성한다. 이후 식 (5)를 이용해 농도를 질량(mass)으로 변환하여 표준용액의 질량과 신호에 대한 검량선을 획득한다.

$$W = [\eta_n \cdot q_{liq} \cdot t_{dt} \cdot C] \quad (5)$$

$W$  = 표준물질의 질량,  $\mu\text{g}/\text{event}$

$q_{liq}$  = 시료의 유량,  $\text{mL}/\text{ms}$

$t_{dt}$  = 쪼갬시간,  $\text{ms}/\text{event}$

$C$  = 표준용액의 농도,  $\mu\text{g}/\text{mL}$

### 3.3. 입자 크기 및 입자 수 농도(Particle size distribution and particle number concentration)

표준용액 분석과 동일한 RTSP-ICP-MS 분석 조건에서 미지의 나노입자를 분석하여 피크신호를 획득한다. 미지의 나노입자가 단일 금속일 경우 입자 내 해당 원소의 분율과 입자의 이온화율은 100%의 값을 갖는다. 획득된 피크신호는 배경신호와 유효 입자신호로 분리되며, 유효 입자신호는 식 (6)에 따라 입자의 질량으로 변환된다.

$$m_p = f_a^{-1} \left[ \frac{(I_p - I_{Bgd}) \times \eta_i}{m_{diss}} \right] \quad (6)$$

$m_p$  = 해당 입자의 질량,  $\mu\text{g}$

$f_a$  = 입자 내 대상 원소의 질량 분율

$I_p$  = 유효 입자신호

$I_{Bgd}$  = 평균 배경신호

$\eta_i$  = 입자의 이온화율

$m_{diss}$  = 표준용액의 신호와 질량에 대한 기울기

미지의 나노입자가 구형일 때, 획득된 유효 입자신호에 대한 질량을 이용하여 각 신호에서의 입자 직경을 계산한다(식 (7)). 획득된 각 유효 입자신호의 입자 직경으로부터 입자의 평균 크기 및 입도분포를 산출한다.

$$d = \sqrt[3]{\frac{6m_p}{\rho\pi}} \quad (7)$$

$m_p$  = 나노입자의 질량,  $\mu\text{g}$

$d$  = 나노입자의 직경,  $\text{nm}$

$\rho$  = 입자의 밀도,  $\mu\text{g}/\text{nm}^3$

또한, 식 (8)을 이용하여 RTSP-ICP-MS 분석을 통해 획득된 유효 입자신호의 빈도수를 시료 내 포함된 입자 수 농도로 환산한다.

$$N_p = \frac{f(I_p)}{q_{lip} \times \eta_n} \quad (8)$$

$N_p$  = 입자 수 농도,  $\text{particles}/\text{mL}$

$f(I_p)$  = 입자의 빈도수,  $\text{no. of pulses}/\text{ms}$

## 4. 실시간 단일입자모드의 유도결합 플라즈마 질량분석기술 적용 예

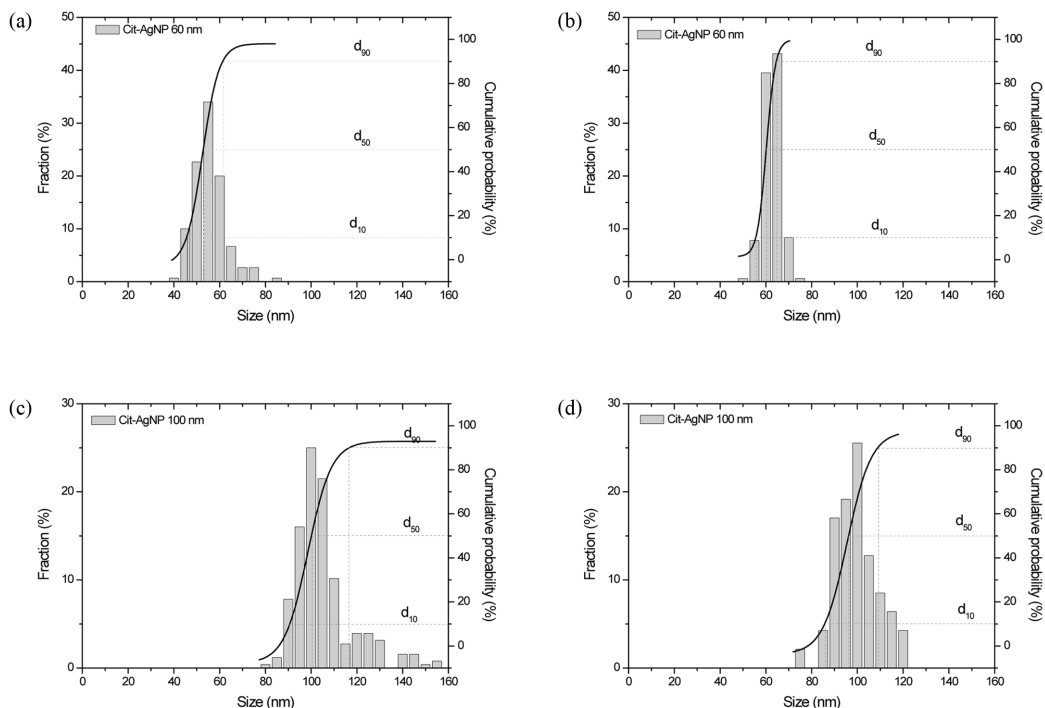
앞서 제시한 RTSP-ICP-MS 기술의 기본 원리 및 분석 조건, 절차 등을 이용하여 금속나노입자의 분석 가능성을 알아보기 위한 실험을 실시하였다. 분석 전 표준 금 나노입자를 이용하여 기기의 이송효율을 측정하였으며, 구연산으로 코팅된 은나노입자를 구매하여 분석을 수행하였다.

### 4.1. 실험방법

뛰어난 항균작용으로 소비재 물품에 가장 많이 사용되는 은나노입자를 대상 금속 나노입자로 선정하여 실시간 단일입자모드의 유도결합 플라즈마 질량분석기술의 적용 가능성을 평가하였다. 구연산(citrate)으로 코팅된 60 nm와 100 nm 크기의 은나노입자를 미국 Nanocompositix사에서 구입하여 크기, 표면전하, 입도분포 등 물리·화학적 특성을 분석하였다. 기기분석 전 나노물질은 약 10초 간 80 W 출력으로 초음파분산(DIGIT/SONIFI 450, BRANSON)하였다.

미국 NIST (National Institute of Standards and technology) 사에서 구매한 60 nm의 표준 금 나노입자를 이용하여 기기의 이송효율을 확인한 결과 약 4.9%의 값을 보였으며(식 (1)~(4)), 운반기체의 분사유량은 기기의 튜닝 과정에서 설정된 값으로 1.45 L/min의 속도로 분사기로 유입되었다.

금속 나노입자의 RTSP-ICP-MS 분석은 ICP-MS (DRC Elan, PerkinElmer)를 실시간 모드(Real time mode)로 적용하여 10 ms의 쪼갬시간으로 200초 동안 수행되었다. 시료의 평균 주입속도는 0.8 L/min이었으며, 주입된 나노입자 시료의 농도는  $5 \times 10^3$  particles/mL



**Fig. 3.** Particle size distributions of citrate-coated silver nanoparticles measured by realtime single particle mode inductively coupled plasma mass spectrometry (RTSP-ICP-MS) and transmission electron microscopy (TEM). (a), (c): Particle size distribution of 60 and 100 nm silver nanoparticles using RTSP ICP-MS, (b), (d): Particle size distribution of 60 and 100 nm silver nanoparticles using TEM.

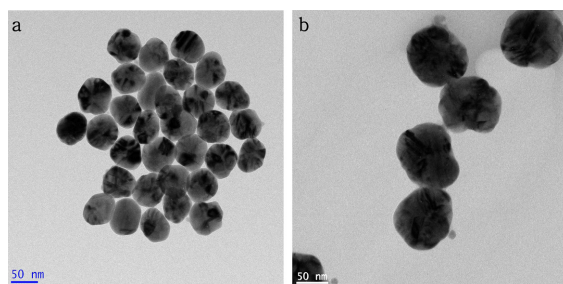
이었다. 분석 데이터의 검증을 위하여 전자투과현미경 (TEM; TEXNAI G2 F30 S-TWIN, FEI) 및 동적광산란기(DLS; Zetasizer nano ZS, Malvern)를 이용해 대상 은나노입자의 크기 및 입도분포를 확인하였다.

#### 4.2. 결과 및 고찰

구연산으로 코팅된 은나노입자의 물리·화학적 특성 분석을 위하여 DLS를 이용하여 입자 크기 및 표면전하를 측정된 결과, 입자의 z-average는 60 nm와 100 nm

가 각각  $59.1 \pm 0.21$  nm,  $95.3 \pm 0.77$  nm로 측정되었다. 또한, pH를 2~10 범위로 조절하여 대상 나노입자의 제타전위를 측정된 결과, 측정된 모든 pH 영역에서 음의 제타전위값을 보였으며 특히 pH 4 이상에서 제타전위값이  $-15$  mV 이하로 전기적으로 안정한 상태로 존재하였다.

RTSP ICP-MS 분석기술 및 TEM을 이용하여 60 nm, 100 nm의 은나노입자를 측정된 결과는 Fig. 2, 3과 같다. 분석한 데이터를 이용해 히스토그램을 작성한 후 가우시안 피팅(Gaussian fitting)을 적용하여 입자의 최빈 크기 및 입도 분포를 확인하였다. 실시간 단일입자 모드의 유도결합 플라즈마 질량분석기술을 적용하여 입자의 크기를 확인한 결과, 60 nm, 100 nm 입자의 평균 크기는 각각  $53.0 \pm 7.4$  nm와  $103.6 \pm 13.8$  nm로 측정되었으며 최빈값은 각각 53.3 nm, 99.3 nm로 측정되었다. 입자의 평균값과 최빈값이 다르지 않기 때문에 은나노입자는 정규분포를 따르는 것으로 판단된다. 입자의 크기에 따른 누적분포도를 작성한 결과, 60 nm의 경우 총 입자들 중 10%에 해당하는 입자 직경( $d_{10}$ )였으며,  $d_{50}$ 은 52.8 nm,  $d_{90}$ 이 61.0 nm로 확인되었다. 100 nm의 경우에는  $d_{10}$ 이



**Fig. 2.** TEM images of citrate-coated silver nanoparticles. a: 60 nm, b: 100 nm.

**Table 3.** Sizes of citrate-coated silver nanoparticles measured by dynamic light scattering (DLS), transmission electron microscopy (TEM), and real time single particle mode inductively coupled plasma mass spectrometry (RTSP-ICP-MS)

Citrate-AgNP	DLS	TEM	RTSP-ICP-MS
	Z-average	Mean	Mean
60 nm	59.1±0.21 nm	60.1±3.7 nm	53.0±7.4 nm
100 nm	95.3±0.77 nm	96.8±9.5 nm	103.6±13.8 nm

91.5 nm,  $d_{50}$ 이 100.0 nm,  $d_{90}$ 이 122.7 nm로 확인되었다. 입자의 분포를 나타내는 SPAN ( $(d_{90}-d_{10})/d_{50}$ )값은 60 nm 및 100 nm 은나노입자가 각각 0.29 및 0.31로 계산되었으며, 이는 60 nm의 은나노입자 시료가 100 nm의 은나노입자 시료에 비해 좁은 범위에서 입자가 분포하고 있음을 의미한다.

RTSP ICP-MS 분석결과와 검증에 위해 TEM을 이용하여 은나노입자를 측정된 결과, 입자의 평균 크기는 60 nm, 100 nm가 각각 60.1±3.7 nm, 96.8±9.5 nm로 측정되었으며 최빈값은 각각 61.2 nm, 96.0 nm로 측정되었다. TEM을 이용한 경우도 마찬가지로, 입자의 평균값과 최빈값이 유사하므로 입자의 크기 분포가 평균에 밀집해 있음을 확인할 수 있었다. 또한 누적분포도를 작성한 결과, 60 nm 입자의  $d_{10}$ ,  $d_{50}$ ,  $d_{90}$ 은 각각 55.4 nm, 60.2 nm, 64.8 nm로 확인되었으며 100 nm 입자의 경우에는 각각 85.7 nm, 96.6 nm, 110 nm로 확인되었다. SPAN 값은 60 nm 입자가 0.16, 100 nm 입자가 0.25로 확인되었으며, 따라서 RTSP-ICP-MS와 마찬가지로 60 nm 은나노입자가 좀 더 좁은 범위에서 분포하고 있음을 확인하였다.

분석한 데이터들을 토대로 RTSP-ICP-MS와 DLS, TEM으로 측정된 입자의 크기를 비교한 결과를 Table 3에 나타내었다. 비교 결과, 각각의 입자 평균 크기가 오차 범위 내로 동일함을 확인하였다. TEM과 RTSP ICP-MS를 이용하여 계산된 누적분포도를 통해 입도 분포를 비교해 본 경우 역시, 두 방법 모두 비슷한 분포 양상을 보임을 확인하였다. 이를 통해 RTSP-ICP-MS가 금속 나노입자의 탐지 및 분석에 적용될 수 있음을 확인하였다.

## 5. 결 론

유도결합플라즈마 질량분석기의 실시간 분석모드를 이용하여 입자의 크기 및 입자 수 농도를 산출하는 RTSP-ICP-MS 기술은 저농도의 금속원소별 분석이 가능하며, 금속 나노물질의 분석에 있어 가장 실용적인 기술로 평

가받고 있다. 본 연구에서는 RTSP-ICP-MS 기술을 통해 은나노입자의 크기 및 입자 크기 분포를 관찰 하였으며, 분석의 검증을 위해 기존의 나노입자 분석기술인 TEM 결과와 비교하였다. 그 결과, 각각의 분석 방법을 통해 측정된 입자의 크기 및 분포가 유사하게 나타났으며, 따라서 RTSP-ICP-MS 기술을 금속 나노입자의 탐지 및 분석에 적용할 수 있음을 확인하였다.

그러나 현재 RTSP-ICP-MS 분석을 실제 환경 중 나노입자의 분석에 적용하기에는 크기 검출한계 평가와 그에 따른 이송효율의 변화, 다양한 매질에 따른 분석 오차 등 많은 개선점들을 갖고 있으며, 이를 위한 정확한 지침이 제시되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 RTSP-ICP-MS 기술을 자연환경에서의 나노물질 분석에 적용하기 위해서는 분석결과에 영향을 줄 수 있는 기기조건 및 시료·운반기체 유입조건 등 최적의 분석 조건을 확보하는 것이 선행되어야 한다.

## 요 약

나노입자의 환경 유출에 따른 인체 및 생태계에 미치는 독성 문제가 제기됨에 따라 나노입자의 환경 안정성에 대한 우려가 증대되고 있다. 다양한 나노 연구분야 중에서도 환경 시료 내 나노입자의 검출 및 분석에 대한 연구가 최우선과제로 인식되고 있다. 유도결합플라즈마 질량분석기(ICP-MS)는 무기물질에 대한 정확하고 정밀한 분석기술로서, 환경 시료 내에 존재하는 금속나노입자의 검출을 위한 유망한 분석기술이다. 이에, 본 연구에서는 실시간 모드의 유도결합플라즈마 질량분석기(RTSP-ICP-MS)의 원리 및 분석절차를 소개하였으며, 구연산(citrate)으로 코팅된 은나노입자를 대상으로 분석 기술의 적용 가능성을 평가하였다. RTSP-ICP-MS 분석 결과, 60 nm와 100 nm 은나노입자의 입자수 기준(number-weighted) 평균 크기는 53.0±7.4 nm와 103.6±13.8 nm였다. RTSP-ICP-MS 분석결과를 검증하기 위해 전자투과현미경(TEM) 분석을 실시한 결과 입자의 평균 크기는 각각 60.1±3.7 nm와 96.8±9.5 nm였고, 동적산

란기(DLS) 분석을 통한 z-average 값은  $59.1 \pm 0.2$  nm와  $95.3 \pm 0.8$  nm로 나타났다. 다양한 기술을 적용한 은나노입자의 크기분석 결과를 통해 RTSP-ICP-MS 기술을 이용한 금속나노입자의 분석가능성을 검증하였다. 향후, 다양한 환경 매질(담수, 폐수, 슬러지, 퇴적물 및 토양 등) 내에 존재하는 금속나노입자의 검출 및 분석을 위한 향후 연구가 필요하다.

## 감사의 글

본 논문은 2013년 환경부 국립환경과학원과 한국연구재단(NRF-2013R1A1A1007708)의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

## 참고문헌

1. T. Linsinger, G. Roebben, D. Gilliland, L. Calzolari, F. Rossi, N. Gibson, and C. Klein, "JRC Reference reports: Requirements on measurements for the implementation of the European commission definition of the term 'nanomaterial'", **2012**, 5-6, European Commission, EU.
2. C. O. Robichaud, A. E. Uyar, M. R. Darby, L. G. Zucker, and M. R. Wiesner, "Estimates of upper bounds and trends in nano-TiO<sub>2</sub> production as a basis for exposure assessment", *Environmental Science & Technology*, **2009**, 43(12), 4227-4233.
3. K. A. D. Guzman, M. P. Finnegan, and J. F. Banfield, "Influence of surface potential on aggregation and transport of titania nanoparticles", *Environmental Science & Technology*, **2006**, 40(24), 7688-7693.
4. The national nanotechnology initiative (NNI), "Strategy for nanotechnology-related environmental, health, and safety research", **2008**, 16-18.
5. P. J. J. Alvarez, V. Colvin, J. Lead, and V. Stone, "Research priorities to advance eco-responsible nanotechnology", *ACS Nano*, **2009**, 3(7), 1616-1619.
6. T. M. Benn and P. Westerhoff, "Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics", *Environmental Science & Technology*, **2008**, 42(11), 4133-4139.
7. D. M. Mitrano, E. K. Lensher, A. Bednar, J. Monserud, C. P. Higgins, and J. F. Ranville, "Detecting nanoparticulate silver using single-particle inductively coupled plasma-mass spectrometry", *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2012**, 31(1), 115-121.
8. 음철현, 강동영, 이승호, "흐름 장 흐름 분획법에 의한 지하수 중 입자들의 크기 분포 결정", *한국환경분석학회지*, **2006**, 9(4), 243-249.
9. C. Degueldre and P. Y. Favarger, "Colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry: A feasibility study", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2003**, 217, 137-142.
10. C. Degueldre, P. Y. Favarger, and C. Bitea, "Zirconia colloid analysis by single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 518, 137-142.
11. C. Degueldre, P. Y. Favarger, and S. Wold, "Gold colloid analysis by inductively coupled plasma-mass spectrometry in a single particle mode", *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 555(2), 263-268.
12. H. E. Pace, N. J. Rogers, C. Jarolimek, V. A. Coleman, C. P. Higgins, and J. F. Ranville, "Determining transport efficiency for the purpose of counting and sizing nanoparticles via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry", *Analytical Chemistry*, **2011**, 83(24), 9361-9369.
13. J. W. Olesik and P. F. Gray, "Considerations for measurement of individual nanoparticles or microparticles by ICP-MS: determination of the number of particles and the analyte mass in each particle", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2012**, 27, 1143-1155.
14. R. B. Reed, C. P. Higgins, P. Westerhoff, S. Tadjiki, and J. F. Ranville, "Overcoming challenges in analysis of polydisperse metal-containing nanoparticles by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry", *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2012**, 27, 1093-1100.
15. W. A. H. Van Borm, J. A. C. Broekaert, R. Klockenkamper, P. Tschoepel, and F. C. Adams, "Aerosol sizing and transport studies with slurry nebulization in inductively coupled plasma spectrometry", *Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy*, **1991**, 46(6-7), 1033-1049.
16. H. E. Pace, N. J. Rogers, C. Jarolimek, V. A. Coleman, E. P. Gray, C. P. Higgins, and J. F. Ranville, "Single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry: A performance evaluation and method comparison in the determination of nanoparticle size", *Environmental Science & Technology*, **2012**, 46(22), 12272-12280.