

## 불꽃원자 흡수광법에 의한요중 카드뮴 배설량 측정의 지적조건

중앙대학교 의과대학 예방의학교실  
최 호 춘 · 정 규 철

=Abstract=

### Measurement conditions for cadmium in urine by flame atomic absorption spectrophotometry.

Ho-Chun Choi and Kyou-Chull Chung

*Dept. of Preventive Medicine and Community Health  
College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul 151, Korea*

The optimum conditions for measuring cadmium content of less than 0.2ppm by flame atomic absorption spectrophotometry were investigated. The cadmium in urine was extracted by APDC-MIBK for the analysis by atomic absorption spectrophotometry after ashing them by a wet method.

1. Optimum conditions by APDC-MIBK and DDTC-MIBK extractions.

The acidic aqueous solution was prepared with appropriate amount of 0.1N nitric acid, 5ml of 25% (W/V) sodium potassium tartarate, 10ml of saturated ammonium sulfate, and 2ml of 2% APDC(or 1 ml of 5% DDTC) chelating agent. The total volume of solution was adjusted to 55 ml and pH to 2~10 (or 7~10). The aqueous solution was extracted with 10ml MIBK.

Concentration of Triton X-100 did not effect the absorbance for APDC-MIBK extraction of cadmium, but absorbance decreased as the concentration increased for DDTC-MIBK extraction.

The sensitivity and detection limits for the cadmium determination from APDC-MIBK extraction were 0.0038ppm and 0.0102, 0.0022ppm and 0.0116 for DDTC-MIBK, and 0.0132ppm and 0.0034 for 0.1N nitric acid. APDC-MIBK and DDTC-MIBK extractions were 3 times higher than 0.1N nitric acid for the sensitivity.

2. Excretion of cadmium in 24-hour urine by APDC-MIBK extraction.

Determination of cadmium in urine by atomic absorption spectrophotometry of A.A. (Cd=2 mA) mode and B.C. (Cd=4 mA) mode and B.C. (Cd=4mA, D<sub>2</sub>=20mA) mode showed some difference ( $p < 0.05$ ).

The difference of cadmium determination and recovery according to method of standard additions and standard calibration curve method in urine was not significant ( $p > 0.05$ ,  $93.48 \pm 11.78\%$ ,  $94.83 \pm 22.00\%$ ).

Excretion of cadmium in 24-hour urine collection from normal person and variance analysis within measurement variation was not significant ( $p > 0.05$ ), but between interindividual was significant (0.05).

Determination of cadmium content by two different methods of flame atomic absorption spectro-

hotometry and dithizone colorimetry showed that the results from the two methods can be described by a regression line with a good correlation ( $y=1.0153x-0.2927$ ,  $x=Cd$  by D.C.,  $y=Cd$  by A.A.S.,  $r=0.8651^*$ ,  $p<0.01$ ).

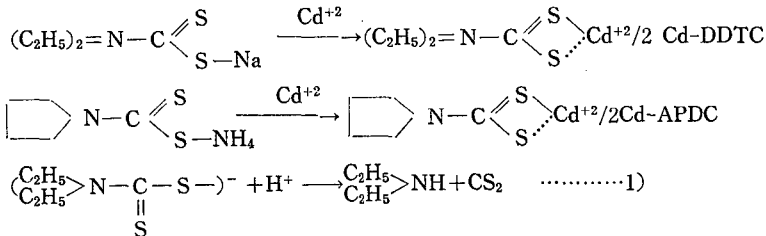
## I. 서 론

카드뮴 정량에 있어서 과거의 비색법에 의한 분광분석법은 특이적인 시약의 선택과 추출조건이 여러 실험 단계 및 시약의 사용때문에 복잡하며 오염문제로 인한 실험오차가 염려되었다.<sup>10)</sup> 그러나 1955년 Walsh에 의하여 원자흡수분광기가 고안 제작되어 미량중금속을 분석하기가 용이하게 되었다. 원자흡수분광법은 측정하기에 간편할 뿐 아니라, 극미량을 분석할 수 있고, 또한 재현성이 좋아 현재에 이르러 중금속을 측정하는데 가장 널리 이용되고 있다. 측정조건은 많은 원소가 공존하여도 목적원소만을 선택적으로 정량할 수 있으며, 비색법과는 달리 특이성이 적어 DDTC나 APDC에 의한 킬레이트시약을 사용하여 간편하게 용매추출할 수 있으며, 또한 수용액 상태로 분무하여 측정할 수 있는 장점이 있다.

그러나 생체시료 중에는 각종 유기물질이 섞여 있어서 미량의 중금속을 분석하기는 그리 쉽지 않다. 유기물질의 분해 및 정제, 용매추출에 있어 각종 중금속의 특이성, pH등 화학적인 방해작용과 기화나 점성에 의한 물리적인 방해작용으로 많은 문제점이 있다.<sup>14)</sup>

여러학자들은 유기물질을 분해하는데 있어서, 건식회화의 기화 및 불안정한 분해상태로 말미암아 습식회화하는 것이 보다 더 좋은 방법이라 하였다.<sup>15)</sup>

Ikebe et al. (1972)<sup>7)</sup>은 원자흡수분광분석조건 중 기기의



Cd-DDTC나 Cd-APDC의 킬레이트화물의 pH에 대한 영향에 있어서 Bode(1954)<sup>4)</sup>는 DDTC용액의 반감기는 pH 4 이하에서 30초 미만이며 pH 5일 때 4.9분, pH 6일 때 51분, pH 7일 때 8.3시간 그리고 pH 8일 때 3.5일로 되어 있으며, APDC용액의 반감기는 pH 3일 때 270분이라 하였다.

또한 APDC나 DDTC 킬레이트시약의 농도에 대하여 Akiyama et al. (1971)<sup>11)</sup>은 5% DDTC 1ml를 사용하여

버너높이, slit, lamp 전류 등 최적상태에 대하여 연구하였으며, 유기용매추출에 있어서 MIBK와 수용액 부피의 비, pH의 영향, APDC나 DDTC킬레이트시약의 영향 등 측정조건에 대한 여러 의견차이가 있었다.<sup>1, 2, 9, 10, 14, 25, 26, 28)</sup>

0.0~6.0 $\mu$ g의 카드뮴을 측정하기 위하여 용매추출시 MIBK와 수용액의 부피를 Akiyama et al. (1971)<sup>11)</sup>은 각각 2ml와 55ml로 하였으며, Koizumi et al.(1979)<sup>9)</sup>은 5ml와 55ml, Amore(1974)<sup>21)</sup>는 3ml와 6ml, 高島英伍·葛原由章(1972)<sup>25)</sup>은 5ml와 50ml, 그리고 堤忠一(1972)<sup>26)</sup>, 장성길(1983)<sup>28)</sup> 등은 10ml와 55ml로 하였다. 그리고 DDTC-MIBK 용매 추출시 수용액의 pH를 Akiyama et al.(1971)<sup>11)</sup>, Koizumi et al.(1977)<sup>9)</sup> 그리고 장성길(1983)<sup>28)</sup> 등은 BTB 지시약의 변색범위인 6.0~7.6으로 조절하였으며, 堤忠一(1972)<sup>26)</sup>은 DDTC-MIBK와 APDC-MIBK용매추출시 수용액의 pH를 모두 BPB 지시약의 변색범위인 pH 3.5~4.6으로 하였다. Mansell(1965)<sup>10)</sup>은 APDC-MIBK 용매추출시 수용액의 pH가 2~4일때 만족스러운 카드뮴 측정치를 얻으며, pH 1, 5, 6에서도 측정된다고 하였다. Price(1979)<sup>14)</sup>는 카드뮴의 APDC-MIBK추출시 pH범위는 0~11, 그리고 황산암모늄 완충용액을 포함한 DDTC-MIBK추출시 pH 9.5가 지적조건이라고 하였다.

Cd-DDTC와 Cd-APDC의 킬레이트화물의 구조식과 DDTC용액의 H<sup>+</sup>이온농도에 의한 분해식은 다음과 같다.

Amore(1974)<sup>21)</sup>는 2% DDTC 5% Triton X-100 혼합용액 1ml, Koizumi et al.(1979)<sup>9)</sup>, 장성길(1983)<sup>28)</sup> 등은 1% DDTC 5ml, 堤忠一(1972)<sup>26)</sup>은 1% DDTC 5ml나 2% APDC 2ml, 그리고 高島英伍·葛原由章(1972)<sup>25)</sup>은 1% APDC 10ml를 사용하였다.

본인은 불꽃원자흡수분광기를 이용하여 카드뮴을 측정하는 경우의 최적 분석조건을 제시할 목적으로, 우선 카드뮴 표준용액을 사용하여 유기용매 추출에 의한

카드뮴 측정조건을 알아보았다. 그리고 이 최적측정조건을 요 중 카드뮴배설량을 측정하는데 적용하여 불꽃원자흡수분광법에 의한 카드뮴 측정의 정확성을 검토하였고, 아울러 dithizone 비색법에 의한 측정치와 비교해 보았다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시 약

(i) 본 연구에서는 탈이온시킨 재증류수를 사용하였다.

(ii) 카드뮴 표준원액(日本和光試藥): 원자흡광분석용 카드뮴 1,000ppm (Factor=1.01, 20°C)을 50ml 취해서 증류수를 가하여 500ml로 한 용액을 표준원액(100 $\mu$ g/ml)으로 하였다.

(iii) 카드뮴 표준용액: 위의 표준원액을 25ml를 취해서 0.1N 질산수용액으로 500ml로 하였다(5 $\mu$ g/ml).

이 용액 2, 5, 10, 20, 30 및 40ml를 각각 100ml 메스플라스크에 취하고 0.1N 질산수용액으로 100ml로 하였다.

각각 1ml 중에는 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 및 2 $\mu$ g이 포함된 용액을 표준용액으로 하였다.

(iv) 1% (W/V) DDTC (Sodium Diethyldithiocarbamate): DDTC(Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan) 1g을 증류수에 녹여 100ml로 하였다.

(v) 2% (W/V) APDC (Ammonium Pyrrolidithiocarbamate): APDC(Aldrich Chemical Company, Inc., U.S.A.) 2g을 증류수에 녹여 100ml로 하였다.

(vi) MIBK(Methyl isobutyl ketone): MIBK(Hayashi Pure Chemical Industries, Ltd., Japan) 900ml에 증류수 100ml를 첨가시켜 5분간 세차게 흔들어 준 후, 1시간 동안 방치하여 물층은 분리하여 버리고 MIBK층만을 취하였다.

(vii) 25% (W/V) Sodium potassium tartarate: 25g을 증류수 75ml에 녹였다.

(viii) Ammonium Sulfate 포화용액: 53.1g을 증류수에 녹여 100ml로 하였다.

### 2. 시료 및 전처리

(i) 요: 24시간 동안에 배뇨한 건강인의 요 전량을 polyethylene병에 모아, 여기에 0.5ml 농질산을 첨가시켜 4°C 냉장고에 보관하였다. 카드뮴분석은 보관일로부터 2~3일을 넘지 않도록 하였다.

(ii) 요의 전처리: 요의 전처리회화는 高島英伍·葛原由章(1972)<sup>25)</sup>에 의한 방법으로 하였다. 즉, 요 100ml를 kjeldahl flask에 넣고 회화액으로 농질산 20ml

를 첨가시켜 hotplate에서 약하게 가열하였다. 시료가 거의 건조될 때까지 가열한 후 잔존물이 무색이나 맑은 노란빛이 아닐 때는 농질산 4~6ml를 더 첨가하여 회화를 반복하였다. 질산용액을 완전히 기화시킨 후, 0.1N 질산수용액을 사용하여 정량 10ml로 만들었다.

### 3. 불꽃원자흡수분광기의 측정조건

원자흡수분광기(Model A 5100 Baird Atomic, Ltd.)의 여러가지 기기조건 상태를 변화시켜가며 카드뮴 표준용액 0.05, 0.1 및 0.2ppm에 대한 흡광도를 측정하여 최적기기조건을 선택하였다.

이 때 파장은 228.2nm에서 229.2nm 범위내에서 0.2nm 간격으로 흡광도를 측정하였으며, 카드뮴 lamp 전류는 1, 2, 3 및 4mA으로, slit는 position No. 1, 2, 3, 4, 5 및 6에서, 버너높이는 Iosition No. 5~10 범위내에서 0.5간격으로, 아세틸렌과 공기의 흐름속도는 공기의 흐름속도를 flowmeter 4.5(actual consumption 8.6 l/min)로 일정하게 한 후, 시료가 수용액 상태일 때는 아세틸렌을 flowmeter(=actual consumption 1/min) 2(2 l/min), 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.6, 2.8, 3.0 및 3.5로, 한편 시료가 MIBK 유기용매일 때는 flowmeter 1.8 (1.8 l/min), 2.0, 2.2, 2.4 및 2.6으로 변화시켜가며 카드뮴의 최적흡광도를 선택하였다.

카드뮴의 최적조건은 파장 228.8nm, lamp 전류 2mA, slit position No. 2(width 0.05mm & band pass 0.15 nm), 버너높이 position No. 8.5, 아세틸렌과 공기의 흐름속도는 시료가 수용액일 때 flowmeter 2.2 : 4.5 (2.2 : 8.6 l/min), 그리고 MIBK 유기용매는 flowmeter 1.8 : 4.5 (1.8 : 8.6 l/min)이었으며 calibration expansion은 5( $\times$ 2.5)로 하였다. 그러므로 이러한 기기의 지적조건하에서 모든 실험을 하였다.

### 4. 측정방법

(i) 표준물 첨가법에 의한 카드뮴의 농도 결정

질산으로 회화시켜 10배 농축된 요 10ml에 카드뮴의 표준용액 0, 0.25, 0.5 및 1 $\mu$ g을 각각 1ml씩 첨가시킨 후, 0.1N 질산수용액, 25% (W/V) sodium potassium tartarate 5ml, 황산암모늄의 포화용액 10ml, BPB지시약 2~3방울 및 1:1암모니아수 소량을 가하여 pH가 4~4.5되게 하여, 2% APDC용액 2ml를 첨가시킨 후, 수용액의 총부피를 55ml로 하였으며, 10ml MIBK으로 카드뮴을 추출하였다.

이 때 각각 첨가된 카드뮴의 표준용액 0, 0.25, 0.5 및 1 $\mu$ g/10ml MIBK을 x축에, 그리고 카드뮴의 흡광도를 y축으로 하여 표준점광곡선을 그렸을 때, y=0일때의 x값이 표준물 첨가법에 의한 요의 카드뮴 측정값

로 계산하였다.

(ii) 표준검량곡선에 의한 카드뮴의 농도결정

카드뮴양을 0, 0.25, 0.5 및 1 $\mu$ g씩을 써서 위와 같은 조작을 하여 얻은 흡광도를, 표준용액 중에 들어 있는 카드뮴량에 대한 1차회귀직선을 표준검량곡선으로 하였으며, 카드뮴 표준용액과 같이 요에 포함된 카드뮴 흡광도를 측정하여, 표준검량곡선에 의해 카드뮴량을 계산하였다.

(iii) 변이계수(Coefficient of variation): 3번 반복 측정하여 다음과 같이 계산하였다.

$$C.V. = \frac{S.D.}{\bar{x}} \times 100$$

S.D.: 표준편차

$\bar{x}$  : 평균값

(iv) 회수율(Recovery)

$$\text{Recovery}(\%) = \frac{C_1 - C_0}{C_2} \times 100$$

C<sub>0</sub>: 시료

C<sub>1</sub>: 시료+첨가된 카드뮴량

C<sub>2</sub>: 첨가된 카드뮴량

(v) 감도(Sensitivity)

0.0044 absorbance unit를 나타내는 원소의 무게로 정의하였다.

(vi) 검출한계(Detection Limits)

Back ground noisy의 표준편차 2배 값으로 정의하였다( $\pm 2$  S.D.).

### III. 결과 및 고찰

A. 카드뮴 표준용액을 이용한 카드뮴의 유기용매 추출에 의한 분석

1. MIBK와 수용액 부피의 비에 의한 영향

일정량의 카드뮴(1 $\mu$ g, 2 $\mu$ g)에 0.1N 질산용액, 황산암모늄 포화용액 10ml, 25%(W/V) sod. pot. tartarate 5ml, BTB 지시약 2~3방울 및 1:1 암모니아수 소량

을 가하여 pH 범위가 8~9가 되게 하여, 총량 50ml에 1% DDTC용액 5ml를 첨가하였다. 이때 10ml 포화된 MIBK 용매로 카드뮴을 추출하였다. 일정량 10ml MIBK에 대하여 수용액 상태를 위와 같이 조성하여, 수용액의 부피를 각각 11, 33, 55, 77, 110, 165 및 220ml로 하여 카드뮴의 흡광도를 측정하였다(Table 1).

용매추출시 MIBK 용해도(1.91%)로 말미암아 측정된 카드뮴의 흡광도는 수용액 부피가 증가할수록 높았다. 그러나 10ml당 MIBK양으로 환산하였을 때 수용액 부피가 55ml일 때에 표준용액 0.1 및 0.2ppm의 흡광도는 0.1372 및 0.2354으로 최대치를 나타내었다.

그러므로 유기용매추출시 표준용액 및 시료에 있어서 수용액과 MIBK량은 항상 일정하게 해야만 하겠다. 특히 이 문제는 여러학자들에 따라 의견차이가 있었지만 이 실험결과는 堤忠-(1972)<sup>26)</sup>과 장성길(1984)<sup>28)</sup> 등의 방법과 동일하였다.

#### 2. pH의 영향

Group 1은 카드뮴 1 $\mu$ g을 포함한 0.1N 질산용액에 25%(W/V) sod. pot. tartarate 5ml, 황산암모늄 포화용액 10ml 및 1% DDTC 5ml를 넣은 후, 질산 및 암모니아수로 pH를 0~10.5로 조절하였으며, 수용액의 총부피는 55ml로 하였다. Group 2는 완충용액을 사용하지 않고 0.1N질산용액에 질산 및 암모니아수로 pH를 0~10으로 조절하였으며, 수용액의 총부피는 Group 1과 같이 55ml로 하였다. 또한 Group 3은 Group 1과 같이 완충용액을 첨가하였으며 2% APDC 2ml를 넣은 후, 수용액의 pH는 0~11로 조절하였으며, 총부피는 55ml로 하였다. 그리고 Group 1, 2 및 3모두 10ml MIBK용매로 추출하고 카드뮴 함량을 측정하였다(Fig. 1).

Group 1에서는 카드뮴은 pH4이하에서 전혀 측정되지 않았으며 pH 7~10 범위내에서 감도가 높았다. Group 2에서는 Group 1에 비하여 pH의 영향이 더 컸으며 감도도 낮았다.

**Table 1.** Comparison of measured absorbance with corrected absorbance (O.D./10ml MIBK) according to volume of aqueous solutions for determination of cadmium (0.1, 0.2ppm).

Acid volume(ml)		11	33	55	77	110	165	220
MIBK reduced volume(ml)		0.21	0.63	1.05	1.47	2.1	3.15	4.2
MIBK residual volume(ml)		9.79	9.37	8.95	8.53	7.9	6.85	5.8
Measured O.D.	0.1ppm	0.119	0.1457	0.1533	0.1587	0.1730	0.18	0.1907
	0.2ppm	0.2167	0.2453	0.2630	0.2693	0.2857	0.3077	0.3157
Corrected	0.1ppm	0.1165	0.1365	0.1372	0.1354	0.1367	0.1233	0.1106
O.D./10ml MIBK	0.2ppm	0.2121	0.2299	0.2354	0.2297	0.2257	0.2108	0.1831

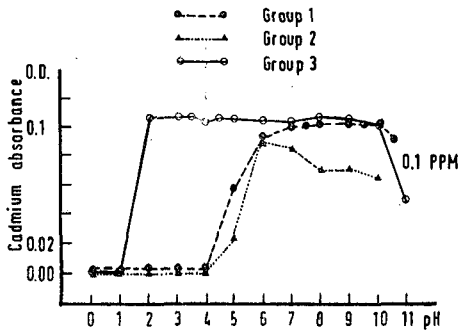


Fig. 1. Changes in absorbance of cadmium according to pH of aqueous solution. Group 1 (acidic solution+buffer solution+DDTC-MIBK), Group 2 (acidic solution+DDTC-MIBK), Group 3 (acidic solution+buffer solution+APDC-MIBK).

堀忠一(1972)<sup>26)</sup>은 DDTC-MIBK용매추출시 시료용액이 0.5M이상의 황산암모늄용액이 필요하므로, 황산암모늄 포화용액 10ml를 첨가하는 것이 좋다고 하였다. Group 1과 Group 2에서 pH에 따라 흡광도가 다른 것은 이와 같이 포화된 황산암모늄용액의  $\text{NH}_4^+$  이온농도에 대한 카드뮴 DDTC 킬레이트화물의 안정성 여부를 보여주었다고 할 수 있겠다.

또한 Group 1에서와 같이  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 첨가한 것도 pH4 이하에서 카드뮴이 전혀 측정되지 않았을 뿐 아니라 Group 2에서도 pH 5 이상에서부터 카드뮴의 흡광현상이 나타나게 된 것은 서론에서와 같이 산성용액에서 1)과 같이 DDTC가 분해되는 것으로 생각된다 즉 Cd-DDTC를 사용한 카드뮴의 정량에서는  $\text{NH}_4^+$  이온농도에 대한 Cd-DDTC 안정성보다도 pH에 대한 의존도가 크다는 것을 알 수 있다.

반면에 Group 3은 pH 2~10인 범위내에서 카드뮴 흡광도는 비교적 안정하였으며, 감도가 높았다. 서론에서와 같이 Bode(1954)<sup>4)</sup>는 APDC 용액의 반감기는 pH 3일 때 270분이라 하였다. 그러므로 산성용액에서 APDC가 DDTC에 비하여 매우 안정한 카드뮴 킬레이트화물을 형성하는 것으로 생각된다.

그러므로 DDTC-MIBK 용매추출시는 시료에 황산암모늄 포화용액을 넣어 Cd-DDTC의 킬레이트 화합물의 안정화를 도모함과 동시에 BTB 지시약을 사용하였을 때 변색범위가 6.0~7.6인 녹색상태보다 약간 짙은 청자색 상태로 pH 8~9로 조절시키며, APDC-MIBK 용매추출시는堀忠一(1972)<sup>26)</sup>과 같이 시료에 BPB 지시약을 사용하여 pH 4~4.5로 조절하는 것이 타당한 pH 범위라고 생각된다.

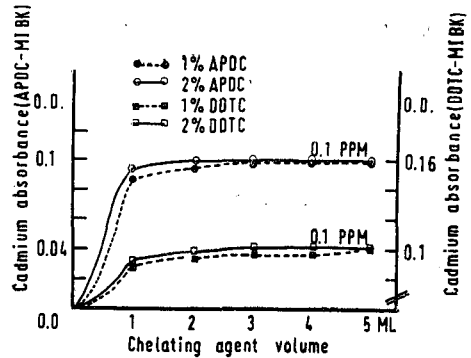


Fig. 2. Cadmium absorbance as a function of amount of APDC solution and DDTC solution.

### 3. APDC 및 DDTC 킬레이트시약의 영향

APDC 및 DDTC의 농도(1%, 2%) 및 부피(1, 2, 3, 4 및 5ml)에 따른 카드뮴의 흡광도를 측정된 결과는 그림 2와 같다(Fig. 2).

수용액의 총부피는 모두 55ml로 하였으며 APDC에서는 pH 4~4.5로, DDTC에서는 pH 8~9로 하였다.

0.1ppm 카드뮴 측정에 있어서 1% APDC 3, 4, 5ml 및 2% 2, 3, 4, 5ml에 대한 흡광도의 평균값( $\bar{x} \pm s$ ) 및 변이계수(c.v.%)는 각각 0.0996 $\pm$ 0.0031 및 3.11%이었으며, 2% DDTC 3, 4, 5 및 1% DDTC 5ml에 대한 흡광도의 평균값( $\bar{x} \pm s$ ) 및 변이계수(c.v.%)는 각각 0.105 $\pm$ 0.01 및 9.52%이었다. 그러므로 2% APDC 2ml 그리고 1% DDTC 5ml로 킬레이트시약의 농도는 충분하였다.

이것은 Amore (1974)<sup>2)</sup>의 2% DDTC 5% Triton X-100 1ml를 사용한 것과는 달리 Koizumi et al. (1977)<sup>9)</sup>과 장성길(1983)<sup>28)</sup> 등의 방법에서와 같이 1% DDTC 5ml를, 그리고堀忠一(1972)<sup>26)</sup>이 1% DDTC

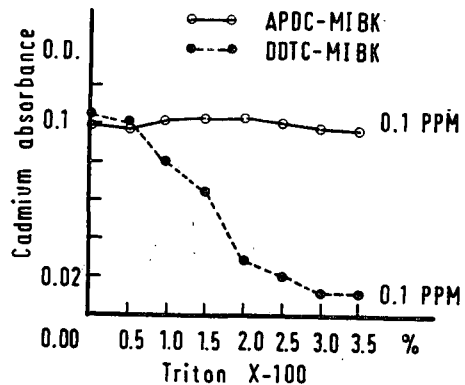


Fig. 3. Effect of Triton X-100 on absorbance for APDC-MIBK and DDTC-MIBK extraction of cadmium (0.1ppm).

5ml 또는 2% APDC 2ml를 사용한 측정치와는 거의 일치하였다.

#### 4. Triton X-100의 영향

APDC 및 DDTC용액의 농도는 각각 2% 2ml 및 1% 5ml로 하였으며 위의 지적조건하에 Triton X-100의 농도(%)에 따라 5ml씩 첨가시켜 수용액의 총부피는 55ml로 하였다(Fig. 3).

APDC-MIBK 용매추출은 Triton X-100의 농도(%)에 따라 카드뮴 흡광도에 별로 영향이 없었지만, DDTC-MIBK 용매추출은 Triton X-100의 농도(%)가 증가할수록 점차 감소되었다. 이것은 용매추출시 Triton X-100은 카드뮴 DDTC 킬레이트화물에 방해작용을 하였으며, 카드뮴 APDC 킬레이트화물에는 영향이 없는 것으로 생각된다.

Amore(1974)<sup>2)</sup>의 2% DDTC 5% Triton X-100 1ml를 사용한 카드뮴의 측정방법과는 달리 Triton X-100은 카드뮴의 흡광도에 영향이 없거나 낮아졌으므로 첨가하지 않는 것이 좋겠다.

#### 5. APDC-MIBK, DDTC-MIBK 및 0.1N 질산수용액에 의한 카드뮴의 표준검량곡선

앞에서와 같이 APDC-MIBK 및 DDTC-MIBK에 대한 지적조건하에서 각각 5번 반복 측정하여 카드뮴량에 대한 흡광도의 변화를 1차회귀직선으로 표시하여 0.1N질산수용액의 표준검량곡선과 비교하여 보았다(Fig. 4). 또한 Table 2에 카드뮴 농도에 대한 흡광도 변이계수, 감도 및 검출한계를 비교하였다.

APDC-MIBK, DDTC-MIBK 및 0.1N 질산수용액에서 전반적으로 카드뮴의 흡광도가 낮아질수록 측정치의 변이계수는 컸으며, APDC와 DDTC-MIBK 용매추출의 측정감도는 각각 0.0038ppm 및 0.0022ppm으로, 0.1N 질산 수용액 상태의 측정감도인 0.0132ppm

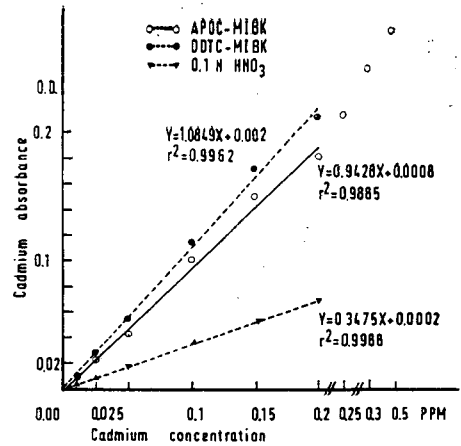


Fig. 4. Standard calibration curves for cadmium determination by the extraction methods of APDC-MIBK, DDTC-MIBK and 0.1N HNO<sub>3</sub> acidic solution.

보다 약 3배 정도 높았다.

그리고 APDC-MIBK 용매추출시 카드뮴 0.25, 0.3 및 0.5ppm에 대하여 흡광도는 각각 0.213±0.011, 0.247±0.0084, 0.277±0.0084로 직선회귀방정식 및 결정계수는 각각  $y=0.8790x+0.0042$   $r^2=0.9816$ ,  $y=0.8367x+0.0073$   $r^2=0.9824$ ,  $y=0.5949x+0.0334$   $r^2=0.8859$ 로 차차 카드뮴이 MIBK 용매에 포화되어 1차회귀직선의 결편값이 높아져가며 결정계수값은 점차 떨어졌다.

그러므로 수용액 55ml를 10ml MIBK 용매로 추출하는 최저부피의 비에 대하여 카드뮴량은 0.2ppm 이상 되지 않도록 하는 것이 좋겠다.

#### B. 요 중 카드뮴 배설량의 분석

Table 2. Changes in absorbance and precision for determination of cadmium contents according to extraction methods of APDC-MIBK, DDTC-MIBK, and 0.1N HNO<sub>3</sub> acidic solution.

Solution	ppm	0.01	0.025	0.05	0.1	0.15	0.2	Sensitivity	Detection limits
APDC $\bar{X}$		0.0096	0.0218	0.0424	0.102	0.1504	0.1800	0.0038	0.0102
MIBK±S		±0.0009	±0.005	±0.0025	±0.0057	±0.0088	±0.0071		
C.V.		9.38	14.22	5.90	5.59	5.85	3.94		
DDTC $\bar{X}$		0.0104	0.028	0.0558	0.1144	0.1721	0.2120	0.0022	0.0116
MIBK±S		±0.0009	±0.0027	±0.0037	±0.0051	±0.0088	±0.0119		
C.V.		8.65	9.64	6.63	4.46	5.11	5.61		
0.1N $\bar{X}$		0.0028	0.0096	0.0168	0.0334	0.053	0.069	0.0132	0.0034
HNO <sub>3</sub> ±S		±0.001	±0.0018	±0.0015	±0.0027	±0.0035	±0.001		
C.V.		35.71	18.75	8.93	8.08	6.60	1.45		

**Table 3.** Comparison of atomic absorption spectrophotometry of A.A. mode and B.C. mode ( $D_2$  back ground correction) for determination of Cd in urine

Subject	A.A. Mode (Cd=2mA)		B.C. Mode (Cd=4 mA, $D_2=20mA$ )	
	Absorbance O.D.	Concentration ppb	Absorbance O.D.	Concentration ppb
1	0.0266	1.79	0.008	0.55
2	0.0314	2.30	0.02	1.76
3	0.0566	5.02	0.0434	4.11
4	0.040	3.23	0.0226	2.02
5	0.0566	5.02	0.0486	4.63

A.A. mode standard calibration curve:  $y=0.9286x+0.01$ ,  $r^2=0.9279$

B.C. mode standard calibration curve:  $y=0.9952x+0.0025$ ,  $r^2=0.9937$  ( $x$ : ppb,  $y$ : O.D.)

Paired t-test:  $t=5.0 > t_{(1-0.05)}=2.1318$ ,  $p < 0.05$

1. 카드뮴 측정에서 A.A. (Cd=2mA) Mode와 B.C. (Cd=4mA,  $D_2=20mA$ ) Mode의 비교

질산으로 회화시켜 10배 농축된 요 10ml에, APDC-MIBK 용매추출시 저저조건인 0.1N질산수용액, 25% (W/V) sod. pot. tartarate 5ml, 황산암모늄 포화용액 10ml, BPB 지시약 2~3방울 및 1:1 암모니아수를 소량 가하여 pH범위가 4~4.5되게 하여 2% 2ml APDC 용액을 첨가시킨 후, 수용액의 총량이 55ml로 하였으며, 10ml MIBK로 카드뮴을 추출하였다.

원자흡수분광기의 A.A. Mode는 카드뮴 lamp 전류를 2mA로 하여 측정한 방법이었으며, B.D. Mode는  $D_2$  lamp의 바탕보정에 의한 방법으로 카드뮴 lamp 전류 4mA,  $D_2$  lamp 전류는 20mA로 하였으며, 5명의 건강한 성인남자의 요 배설량을 각각 A.A. Mode와 B.C. Mode에서 측정하였다.

Table 3에서와 같이 A.A. Mode와 B.C. Mode에서 동일한 시료에 대한 카드뮴 측정치를 paired t-test<sup>29)</sup> 한 결과 차이가 있었다( $t=5.0 > t_{(1-0.05)}=2.1328$ ,  $p < 0.05$ ).

Akiyama et al. (1971)<sup>1)</sup>, Koizumi et al. (1977)<sup>9)</sup>, Mishima et al. (1973)<sup>11)</sup> 등은 시료를 용매추출하여 카드뮴 hollow cathode lamp (A.A. Mode)하에 실험하였다.

그러나 본인의 실험결과 두 방법에 대한 요 중 카드뮴 측정치가 차이가 있는 것으로 ( $p < 0.05$ ), APDC-MIBK 용매추출로 인한 시료의 정제된 전처리 작용에 있어서도  $D_2$  lamp의 바탕보정이 필요한 결과이었다.

2. 표준물 첨가법과 표준점량곡선에 의한 농도결정 및 회수율 비교

카드뮴에 폭로되지 않은 20~30세 5명의 성인남자들의 요를 표준물 첨가법과 표준점량곡선에 대하여 농도결정 및 회수율(%)를 B.C. Mode에서 비교하였다 (Table 4).

표준점량선에 의한 5명의 카드뮴 측정값은 각각 0.0055, 0.0176, 0.0411, 0.0202 및 0.0463 $\mu\text{g}/10\text{ml}$  urine이었으며, 표준물 첨가법에 의한 측정값은 각각 0.0035, 0.0156, 0.0392, 0.0140 및 0.0349 $\mu\text{g}/10\text{ml}$  urine으로, 두 방법에 대한 측정값을 paired t-test 한 결과 차이가 없었다( $t=1.5862 < t_{(1-0.05)}=2.1318$ ,  $p > 0.05$ ). 평균회수율은 각각 94.83 $\pm$ 22.00% 및 93.48 $\pm$ 11.77%이었다.

이것은 요에 포함된 유기물질의 바탕(back ground)과 산란(scattering)이 MIBK 용매추출에 의해 정제되었으며, Deuterium lamp에 의해 바탕보정이 된 결과로 두 방법에 대한 농도결정 및 회수율은 차이가 없었다.

그러나 특별히 번거로운 표준물 첨가법에 의한 측

**Table 4.** Determination of cadmium ( $\mu\text{g}/10\text{ml}$  urine) and recovery according to method of standard additions and standard calibration curve method in 24-hour urine collected from 5 healthy subjects free from cadmium exposure.

Subject	1					
	Added st. solution (ppm)	Absorbance O.D.	St. cal. method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %	St. addition method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %
	+0	0.008	0.0055		0.0035	
	+0.025	0.0299	0.0275	88	0.0245	84
	+0.05	0.0651	0.0629	114.8	0.0533	99.6
	+0.1	0.1276	0.1257	120.2	0.1046	101.1
St. curve equation			$y=0.9952X+0.0025$	$r^2=0.9937$	$y=1.2203X+0.0043$	$r^2=0.9952$

Subject		2			
Added st. solution (ppm)	Absorbance O.D.	St. cal. method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %	St. addition method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %
+0	0.0200	0.0176		0.0156	
+0.025	0.043	0.0407	92.4	0.0383	90.8
+0.05	0.0276	0.0704	105.6	0.0646	98
+0.1	0.1310	0.1291	111.5	0.1167	101.1
St. curve equation					$y=1.123X+0.0175 \quad r^2=0.9978$

Subject		3			
Added st. solution (ppm)	Absorbance O.D.	St. cal. method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %	St. addition method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %
+0	0.0434	0.0411		0.0392	
+0.025	0.0668	0.0666	102	0.0648	102.4
+0.05	0.0851	0.083	83.8	0.0825	86.66
+0.1	0.1468	0.1450	103.9	0.1424	103.2
St. curve equation					$y=1.031X+0.0404 \quad r^2=0.9886$

Subject		4			
Added st. solution (ppm)	Absorbance O.D.	St. cal. method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %	St. addition method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %
+0	0.0226	0.0202		0.0140	
+0.025	0.0326	0.0302	40	0.0302	64.8
+0.05	0.0683	0.0661	91.8	0.0632	98.4
+0.1	0.1259	0.1240	103.8	0.1165	102.5
St. curve equation					$y=1.0805X+0.0151 \quad r^2=0.963$

Subject		5			
Added st. solution (ppm)	Absorbance O.D.	St. cal. method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %	St. addition method Conc. $\mu\text{g}$	Recovery %
+0	0.0486	0.0463		0.0349	
+0.025	0.0623	0.0601	55.2	0.0531	72.8
+0.05	0.0960	0.0940	95.4	0.0818	93.8
+0.01	0.1620	0.1603	114	0.1380	103.1
St. curve equation					$y=1.1730X+0.0409 \quad r^2=0.9806$

정법이 필요없었다.

### 3. 불꽃원자흡수분광법에 의한 측정의 정확성

불꽃원자흡수분광법에 대한 측정의 정확성을 알기 위하여 5명의 요 A, B, C, D 및 E를 B.C. Mode에서 표준점량곡선에 의해 3회 분석하였고, 1회마다 3번 반복 측정하여 분산분석법(Armitage, 1973)<sup>3)</sup>으로 각 시료간 및 측정시 마다의 카드뮴량의 균일성을 검정하였다 (Table 5).

동일한 시료를 가지고 반복 측정하였을 때의 분산비는  $F=2.2621 < F_{30(0.05)}^2=3.32$ 로써 반복측정에 대한 차이는 인정할 수 없었다( $P>0.05$ ). 그러나 요 중카드뮴 배설량은 각 개인마다 유의차가 인정되었다( $F=21.7015 > F_{30(0.05)}^4=2.69 \quad P<0.05$ ).

### 4. 불꽃원자흡수분광법 및 dithizone 비색법에 의한 측정치의 비교

5명의 피검자에 대하여 동일한 시료를 불꽃원자흡수



**Table 5.** Excretion of cadmium in 24-hour urine (ppb) collected from 5 healthy subjects free from cadmium exposure, and variance analysis identifying interindividual and within measurement variation.

Measurement	Subject	A	B	C	D	E
	1		0.00	4.31	4.31	2.15
		0.00	2.15	4.31	2.15	1.08
		1.08	3.23	3.25	2.15	2.15
2		0.00	1.08	3.25	2.15	4.31
		0.00	1.51	4.31	4.31	4.31
		2.15	1.08	4.31	2.15	3.25
3		0.00	0.00	4.31	3.23	4.31
		1.08	0.00	4.31	0.00	2.15
		0.00	1.08	4.31	0.00	3.25
Total		4.31	14.44	36.67	18.29	26.96
$\bar{X}$		0.4789	1.6044	4.0744	2.0322	2.9956
$\pm S$		$\pm 0.7819$	$\pm 1.4247$	$\pm 0.4674$	$\pm 1.3671$	$\pm 1.1794$

$\bar{X} \pm S$ : Geometric mean and standard deviation

ANOVA Table

Factor	Sum of squares	Degree of freedom	Mean squares	F
Between individuals	67.3616	4	16.8404	21.7015**
Within measurements	3.5107	2	1.7554	2.2621
Interaction	22.1705	8	2.7713	3.5713**
Subtotal variation	93.0428	14		
Residual variation	23.2797	30	0.7760	
Total variation	116.3225	44		

\*\*p < 0.05

**Table 6.** Comparison of flame atomic absorption spectrophotometry and dithizone colorimetry for determination of Cd in urine.

Subject	Measurement	Flame A.A. spectrophotometry ppb					Dithizone colorimetry ppb				
		A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
Experiment											
1		0.36	3.24	3.94	2.16	1.78	0.22	3.06	3.06	2.34	3.06
2		0.72	1.22	3.94	2.86	3.94	0.92	2.34	3.76	3.06	4.48
3		0.36	0.36	4.3	1.08	3.24	0.22	2.34	3.76	1.64	3.06
$\bar{X}$		0.48	1.61	4.06	2.03	2.99	0.45	2.58	3.53	2.35	3.53
$\pm S$		$\pm 0.21$	$\pm 1.48$	$\pm 0.21$	$\pm 0.90$	$\pm 1.10$	$\pm 0.40$	$\pm 0.42$	$\pm 0.40$	$\pm 0.71$	$\pm 0.82$
C.V.(%)		43.75	91.83	5.17	44.33	36.79	88.89	16.18	11.33	30.21	23.23

분광법과 dithizone 비색법에 의해 3번 반복측정시 평균값 및 변이계수에 대하여 표시하였다(Table 6).

두 방법에 대한 측정값의 차이는 0.030~0.54ppb의

범위이었으며, 측정감도는 각각 3.8ppb 및 14.7ppb으로, 불꽃원자흡수분광법이 3배정도 높았다.

그러나 Fig. 5에서와 같이 불꽃원자흡수분광법과

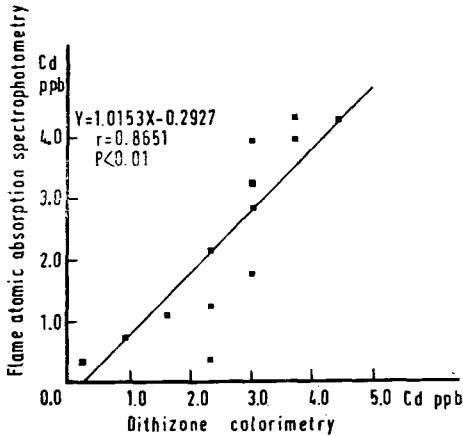


Fig. 5. Relationship of cadmium contents determined by the two different methods of flame atomic absorption spectrophotometry and dithizone colorimetry.

dithizone 비색법의 카드뮴량에 대한 상관관계를 보면 매우 유의적인 상관관계가 있었다( $y=1.0153x-0.2927$ ,  $x=Cd$  by D.C.,  $y=Cd$  by A.A.S.,  $r=0.8651$ ,  $p<0.01$ ). 또한 변이계수는 각각 5.17~91.93% 및 11.33~88.89%로 최대한도 2배 정도의 오차를 포함하고 있었다. 이것은 요에 포함된 미량의 카드뮴을 측정하는데 따르는 실측치의 변이계수라 하겠다.

#### IV. 결 론

불꽃원자흡수분광법에 의해 카드뮴 0.2ppm 이하를 정량하는데 최적기조건은 파장 228.8nm, lamp 전류 2mA, silt position No. 2, 버너높이 position No. 8.5 및 아세틸렌과 공기의 흐름속도는 수용액일 때 flowmeter 2.2 : 4.5 MIBK 용매는 flowmeter 1.8 : 4.5로 하였다.

이러한 기기의 조건하에서 카드뮴의 유기용매추출에 대한 지적조건은 다음과 같았다.

1. MIBK 10ml에 대하여 수용액의 총부피는 55ml 이었다.
2. APDC-MIBK 용매추출시 수용액의 지적 pH는 2~10이었으며, DDTC-MIBK는 pH 7~10이었다.
3. 킬레이트시약인 APDC 및 DDTC 용액의 농도는 각각 2% 2ml 및 1% 5ml로 충분하였다.
4. 카드뮴 APDC 및 DDTC 킬레이트화물에 있어서는, Triton X-100의 농도에 따라 카드뮴의 흡광도는 각각 영향이 없었거나 점차 감소되었다.

5. APDC와 DDTC-MIBK 용매추출에 의한 카드뮴 측정감도는 각각 0.0038ppm 및 0.0022ppm으로, 0.1N 질산수용액상태의 측정감도인 0.0312ppm보다 약 3배 정도 높았다.

이러한 APDC-MIBK 용매추출에 의한 지적조건하에서, 요 중 카드뮴 배설량 측정을 하였다.

1. A.A. Mode(Cd=2mA)와 B.C. Mode(Cd=4mA,  $D_2=20mA$ )에 의한 바탕보정을 하였을 때, 두방법에 의한 카드뮴 측정치는 차이가 있었다( $P<0.05$ ).

2. 표준물첨가법과 표준검량곡선에 의한 농도결정 및 회수율을 비교하였을 때 차이가 없었으므로( $P<0.05$ ,  $93.48\pm 11.77\%$ ,  $94.83\pm 22.00\%$ ), 특별히 표준물첨가법에 의한 측정법이 필요없다.

3. 불꽃원자흡수분광법에 의한 측정법의 정확성을 알기 위하여, 동일한 시료를 가지고 반복측정하였을 때 측정값의 차이는 인정할 수 없었으며 ( $P>0.05$ ), 각 개인간에는 유의한 차이가 있었다( $P<0.05$ ).

4. 불꽃원자흡수분광법 및 dithizone 비색법에 의한 측정치의 비교에서, 두 방법에 의한 측정값의 차이는 0.03~0.54ppb 이었으며, 측정감도는 각각 3.8ppb 및 14.7 ppb으로 원자흡수분광법이 3배 정도 높았다. 그러나 두방법에 대한 상관관계를 보면 매우 유의적인 상관관계가 있었다( $y=1.0153x-0.2927$ ,  $x=Cd$  by D.C.,  $y=Cd$  by A.A.S.,  $r=0.8651$ ,  $p<0.01$ ).

(끝으로 본 논문이 완성되기까지 지도하여 주신 문병렬 교수님께 진심으로 감사를 드리며, 연구실에서 지도와 편달을 아끼지 않고 도와주신 여러 교수님께 깊은 사의를 표합니다.

그리고 믿음과 사랑으로 키워주신 부모님께 이 작은 결실을 드립니다.)

#### 참 고 문 헌

1. Akiyama, K., Takahashi, R., Ikeda S., Nagashima, C., Fujitani K., Yagyu H., Nagasaki, M., Udo, R., and Kizuka, T.; *Cadmium contents of urine sampled from the residents in Tama district. Dep. of Environ. Hyg.*, 283-286. 1971.
2. Amore, F.; *Determination of cadmium, Lead, Thallium, and Nickel in Blood by Atomic Absorption Spectrometry. Anal. Chem. Vol. 46*, 1597-1599. 1974.
3. Armitage, P.; *Statistical methods in medical research. pp.217-225, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Blackwell Scientific Publications. 1973.*

4. Bode, H. (1954); *Cited from Sandell E.B., Colorimetric determination of trace of metals, Vol. 3, New York, Interscience Publishers.* 1959.
5. Fuwa, C., Pulido P., McKay R., and Vallee B.L.; *Determination of zinc in biological materials by atomic absorption spectrophotometry. Anal. Chem.* 36, 2407-2411. 1964.
6. Horwitz, W.; *Official methods of the association of official analytical chemists. 12th ed., pp. 389.* 1959.
7. Ikebe K., Tanaka, R., and Kunita, N.; *Simultaneous determination of official analytical chemists. 12th ed., pp. 389.* 1959.
7. Ikebe K., Tanaka, R., and Kunita, N.; *Simultaneous determination of manganese, copper, lead, zinc and cadmium in unpolished rice by atomic absorption spectrophotometry. 食衛誌* 13. 195-204. 1972.
8. Kagi, J.H.R. and Vallee, B.L.; *Determination of zinc by direct extraction from urine with diphenylthiocarbazone. Anal. Chem.* 30, 1951-1954. 1958.
9. Koizumi, S., Suzuki, S., Yamanobe, H., Amemiya, T., Ohsawa, E., and Totani, T.; *Hygienic chemical studies on harmful elements. Tokyo Metropolitan Resear Laboratory of Public Health* 제 4 보, 101-109. 1977.
10. Mansell, R.E.; *Notes on the extraction of manganese with chelating agents and MIBK. Atomic Absorption Newsletter* 4, 276-277. 1965.
11. Mishima, M., Hoshiai, T., and Suzuki, T.; *The concentration of several metals and their relationship in whole blood. 公衆衛生院研究報告* 22권 1호, 9-15. 1973.
12. Parkar, M.M., Humoller, F.L., and Mahler, D.J.; *Determination of of copper and zinc in biological materials. Clin. Chem.* 13, 40-48. 1967.
13. Pulido, P., Fuwa, K., and Vallee, B.L.; *Determination of cadmium in biological materials by atomic absorption spectrophotometry. Anal. Biochem.* 14, 393-404. 1966.
14. Price, W.J.; *Spectrochemical analysis by atomic absorption. London Philadelphia Rheine, Heyden & Son Ltd.* 1979.
15. Sandell, E.B.; *Colorimetric determination of trace of metals, vol. 3, New York, Interscience Publishers.* 1959.
16. Selander, S. and Cramer, K.; *Determination of lead in urine by atomic absorption spectrophotometry. Brit J. Industr. Med.* 25, 139-208. 1968.
17. Slavin, W. and Sprague, S.; *The determination of trace metals in blood and urine by atomic absorption spectrophotometry. Perkin-Elmer Corp., Norwalk Conn.* 17, Jan. 1-6. 1964.
18. Snell, F.D. and Snell, C.T.; *Colorimetric methods of analysis. vol. 3, New York, Van Nostrand.* 1959a.
19. Sprague, S. and Slavin, W.; *Determination of iron, copper, and zinc in blood serum by an atomic absorption method requiring only diluton. Atomic Absorption Newsletter* 4, 228-233. 1965.
20. Sprague, S. and Slavin, W.; *A simple method for the determination of lead in blood. Atomic Absorption Newsletter* 5, 9-10. 1966.
21. Taylor, D.G.; *General procedure for metals. Method No.: P & CAM* 173. In: *NIOSH Monitoring Methods, Vol. 1, 173-1-173-8 Cincinnati, NIOSH, U.S., Dept. H.E.W.* 1977.
22. Taylor, D.G.; *Lead in blood and urine, Method No.: P & CAM* 262. In: *NIOSH Monitoring Methods, Vol. 1, 262-1-262-4 Cincinnati, Niosh, U.S., Dept. H.E.W.* 1977.
23. Trudeau, D.L. and Freier, E.F.; *Determination of calcium in urine and serum by atomic absorption spectrophotometry. Clin. Chem.* 13, 101-114. 1967.
24. Willis, J.B.; *Determination of lead and other heavy metals in urine by atomic absorption spectroscopy. Anal. Chem.* 34, 614-617. 1962.
25. 高島英伍, 葛原由章; *Daily variation of cadmium excretion in urine. 國立公衆衛生藥學部,* 1972. 23-26.
26. 堤忠一; *公害分析指針* 7권 1-a, 1-49. 1972.
27. 中原武利, 宗森信, 武者宗; *原子吸光分析法によるバナジウム定量 日本化學雜誌* 90, 697-703. 1969.
28. 장성길, 문병렬 그리고 정규철; *한국인의 각 장기 조직중의 미량중금속원소분포: 납, 카드뮴 및 구리의 정량, 예방의학회지* Vol. 15, No. 1, 95-110. 1983.
29. 정규철; *지역사회보건학, 제 VII 권. 보건통계, 서울 수문사.* 1977.