

흑연로 원자흡수분광법에 의한 혈중 납분석시 매트릭스 변형제의 역할

유광식¹·권진기^{*}

울산대학교 자연과학대학 화학과

^{*}고려아연(주) 기술연구소

(1992.9.14 접수)

The role of matrix modifier for the determination of Lead(Pb) in blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry

Kwang-Sik Yoo¹, Jin-Kee Kwon^{*}

Department of Chemistry, Ulsan University, Ulsan 680-749, Korea

^{*}Research and Development Center, Korea Zinc Co., Onsan 505, Korea

(Received Sept. 14, 1992)

요약. 본 연구에서는 흑연로 원자흡수분광법을 이용하여 혈액을 1% Triton X-100으로 5배 희석시킨 다음 납 함량을 직접 측정하였다. 혈액내 방해 성분을 제거하기 위하여 매트릭스 변형제를 사용하여 최적의 분석 조건을 조사하였다. 매트릭스 변형제로서 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 사용하고 700도에서 회화시키거나 혹은 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 와 0.1% PdCl_2 를 같이 사용하고 700도에서 회화시켰을 때에, 일본 비교 분석 프로그램에 의해 제공된 혈중 납 함량에 대한 정도관리용 표준시료(우혈)의 공인값과 비교적 잘 일치하였다. 이 실험에서 얻은 표준편차는 $31\mu\text{gPb/l}$ 에서 $624\mu\text{gPb/l}$ 범위에서는 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 및 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 와 0.1% PdCl_2 를 매트릭스 변형제로서 사용했을 경우 각각 2.2~6.3%, 3.1~9.1%였다.

Abstracts. The direct determination of lead in the whole-blood by graphite furnace atomic absorption spectrometric analysis was carried out by using the sample which was diluted five-fold with 1% Triton X-100. Matrix modification was tried to remove the interferences of blood matrix and also to get the optimum analytical condition. Good agreement with certificated values in reference materials(bovine blood) supplied by comparison program in Japan was obtained when 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ as matrix modifier and ashing temperature, 700°C were used or 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 0.1% PdCl_2 as matrix modifier and ashed at 700°C. Standard deviations were appeared as 2.2~6.3% for 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 3.1~9.1% for 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 0.1% PdCl_2 in the range of $31\sim 624\mu\text{gPb/l}$.

Key Words : Lead, blood, graphite furnace AAS

1. 서 론

납은 가장 광범위하게 사용되는 비철금속으로서, 축전지용으로 많이 사용되고 이밖에 녹을 방지하는 방청도료, 도자기용 유약, 도료, PVC 안정제, 유리에 사용될 뿐만 아니라, 전자공업 등 많은 분야에서 납백재료 및 자동차용 연료의 첨가제 등에 사용되어 왔다. 따라서 지속적인 대기 환경오염을 유발시키므로 지난 수십년 동안 인간에 해로운 공해 물질로서 영향을 끼쳐 현재까지도 가장 관심이 고조되고 있는 독성 금속 중의 하나이다^{1,2}. 이런 관계로 혈액 중의 납의 측정, 납의 중독이 의심되는 환자의 진단과 산업현장 혹은 주위환경으로부터 오염이 염려되는 사람들에 대하여 중요한 검진 항목 중의 하나로서 많은 측정기관에서 수십년 동안 다양한 분석 방법으로 측정되어 왔다. 그러나 이들 방법은 다량의 시료가 필요하고, 검출한계 및 불충분한 회수율 등의 문제점 등으로 인하여 요즘에는 국내외 대부분의 분석기관에서는 시료의 전처리 과정을 단순화시켜서 분석과정에서 발생할 수 있는 오차를 줄일 수 있으며, 또한 검출한계가 $1\mu\text{g/l}$ 이하인 흑연로를 이용한 원자흡수분광법(GFAAS)으로 점차 전환되고 있는 실정이다^{3,4}.

GFAAS를 이용하여 전혈(Whole Blood)에 함유된 납의 분석은 1975년 Fernandez⁵가 Triton X-100(Tx-100)으로 희석하여 직접 분석한 이래로 많은 연구자들이 혈액 분석시에 발생하는 문제점을 제거하고자 수 많은 노력을 해왔다. 납이 비교적 휘발성인 원소인 관계로 GFAAS를 이용한 분석시, 회화 온도를 일정 온도 이상으로 높일 수 없기 때문에 시료에 함유된 유기성분의 제거가 불완전하여 원자화 단계까지도 이들 성분이 잔존하여 넓고 높은 바탕선이 나타나게 된다. 이와 같은 분광학적인 방해의 경우는 기기 자체에 부착된 자동바탕보정장치(D₂ Arc나 Zeeman background correction)나 피이크 높이 측정 방법으로 대부분 보정시킬 수 있다⁶. 또한 화학적인 방해의 제거와 회화 과정에서의 목적성분의 손실을 최소화시키기 위한 두 가지 특별한 방법이 사용되고 있다.

첫째는 다량의 방해물질로부터 분석 성분만을 분리하는 경우(킬레이션-추출, 산분해에 의한 유기물질의 파괴)와 둘째로는 납의 휘발을 최소로 하면서 회화 온도를 높여 방해 성분을 효율적으로 제거시킬 수 있는

매트릭스 변형시약의 첨가 기법이 사용되고 있는데, 대다수의 분석자들은 후자의 방법을 선호한다⁷. Manning과 Slavin⁸은 매트릭스 변형제로서 NH₄NO₃와 Platform을, Subramanian 등⁹은 Pyrolytic Coated 흑연튜브에 매트릭스 변형제, (NH₄)₂HPO₄를, Pruszkowska 등¹⁰은 NH₄H₂PO₄, Mg(NO₃)₂ 및 HNO₃의 혼합 변형제를 Platform에 사용하여 방해물 감소시킬 수 있다고 보고하였다. 인산암모늄을 가하면 공존하는 염화물이 암모니아성 염화물 등의 휘발되기 쉬운 물질로 변환됨으로써 분석성분과 공존물질간의 휘발을 선택적으로 조절해 주기 때문에 많이 사용하는 변형제 중의 하나이다⁵.

또한 매트릭스 변형제로서 Pt와 Pd에 대하여 관심이 증대되고 있는데, 1981년 Weibust 등¹¹은 Ni, Cu 이외에 15개 금속을 사용하여 텔루르를 분석하였는데, 이 중에 Pt와 Pd가 가장 효과가 있다고 하였다. Micheal¹²은 Pd를 사용함으로써 분석성분과 Pd간에 결합이 형성되어 상당히 높은 회화온도에서도 Pb가 열적으로 안정됨으로써 회화와 원자화 온도를 보다 높일 수 있으므로 매트릭스 성분이 쉽게 제거되어 원자화시의 화학적 방해 및 바탕흡광도를 감소시킬 수 있다고 보고하였다.

그러나 국내의 경우 이 분야에 관하여 산업체 및 일반인을 대상으로 한 분석결과 보고는 많은 편이나 정밀도와 정확도를 평가할 수 있는 측정방법 자체에 대한 연구는 부진한 실정이다. 특히 GFAAS를 이용한 측정시 매트릭스 영향에 의한 방해로 바탕선 흡수가 비교적 높아 재현성이 떨어지고 정확한 결과 산출에 많은 측정기관들이 어려움을 겪고 있는 실정이다. 또한 지금까지 분석기관들은 측정결과의 산출 목적에만 치중한 관계로 국내 검사 기관간에 동일 시료의 결과가 서로 10배 내지 100배까지도 차이가 발생하고 있는 실정이다. 이와 같은 이유 등으로 선진국에서는 오래 전부터 기관간의 비교 분석을 통하여 자체적인 내부 정도관리를 해오고 있다. 최근에는 한 걸음 나가서 국내 및 국외의 수백 개 측정 기관이 참여하는 대규모의 다국적 외부 정도관리 프로그램(External Quality Control Program, EQCP)을 운영하여 일정 수준의 시료를 조제하여 우송한 후 접수된 분석결과를 통계 처리하여 정확한 값을 산출하고 이를 공인된 시료(Certified Reference Material, CRM)에 대한 공인

결과로서 통보해 주면서 해당 기관의 정밀도와 정확도를 평가해 주는 제도를 실시해 오고 있다^{13,14}. 그러나 아직 국내에서는 자체의 내부 정도관리를 실시하고 있는 기관조차도 몇몇에 불과한 실정에 있으며 그동안 기관간의 공동비교 분석이 필요함에는 공감을 하였지만 여러 가지 여건상 아직 실시되지 못하고 있는 실정이다.

이런 관계로 본 연구는 200여 개 이상의 측정기관이 참여하고 있는 일본의 사단법인 전국 노동위생단체연합회(전위련)의 종합 정도관리 프로그램에 국내에서는 처음으로 가입을 하여 전위련에서 제공된 혈액(Bovine blood)을 GFAAS로 분석하였다. 분광학적인 방해와 Pb의 열적인 불안정성을 극복하고자 D₂ 바탕보정 장치와 Platform이 삽입된 흑연 튜브를 사용하였으며 국내 대다수의 분석기관이 적용하고 있는 혈액을 단지 Tx-100으로만 희석하여 분석하는 방법과 매트릭스 변형제로서 (NH₄)₂HPO₄ 및 PdCl₂를 동시에 또는 개별적으로 사용하여 표준시료를 분석하였을 때 나타나는 결과 등을 공인된 값과 비교 검토해 보려 하였다. 또한 표준시료의 분석에서 나타난 최적의 조건에서 전혈(Whole blood)시료를 분석하였다.

2. 실험

2.1. 기기

분석에 사용한 기기는 흑연로 원자흡수 분광기(GFAAS) (Perkin Elmer, 1100B Model)이며 내부에 D₂ 바탕보정장치가 장착되어 있다. HGA-700 Graphite Furnace Atomizer와 AS-70 Autosampler가 부착된 기기로 Table 1의 조건에서 사용하였으며 Uncoated Graphite Tube에 L'vov Platform을 끼워서 Table 2의 온도 조건에서 혈액 중의 Pb를 측정하

Table 1. Instrument Setting for the GFAAS(Blood Pb)

Wavelength	228.8 nm
Slit width	0.7 nm
Replicates	3
Background correction	D ₂
Lamp current	10 mA
Intergration time	3.0 sec.
Signal processing	Peak Height

Table 2. Graphite Furnace Condition

Step	Temp/°C	Time/sec.		Ar gas flow m ³ /min.	Reading sec.
		Ramp	Hold		
Dry 1	90	10	25	300	
Dry 2	120	5	20	300	
Ash 1	400	15	15	300	
Ash 2	550~800	20	15	300	
Atomization	1800~1900	0 ¹⁾	3	0	-1.0
Cleaning	2500	1	3	300	

¹⁾ Maximum heating power

였다. 변형제 용액의 주입은 시료 10μl 가 Platform에 주입되기 전 또는 후에 5μl 씩 자동적으로 들어가도록 하였다.

2.2. 시약

표준용액은 시판용 1000mgPb/l (Spex, U. S. A)를 희석하여 사용하였으며 모든 분석에 사용된 염산과 질산은 전자급시약(Sumitomo, Japan)들을 사용하였다. (NH₄)₂HPO₄, PdCl₂ 및 Triton X-100(Tx-100)은 고순도 시약(Merck, Germany)을 사용하였으며, 초순수는 18MΩ 이상의 탈 이온수를 사용하였다.

2.3. 용기

혈액은 항응고제인 Na-Heparin이 들어 있는 살균된 원심분리용 유리관(Vacutainer Glass Tube) (Becton Dickinson, Rutherford, New Jersey)을 이용하여 채혈하였다. 표준용액 및 시약조제에는 PMP (Nalgene, USA) 재질의 용량플라스크(100ml)를 사용하였으며 사용된 모든 기구는 질산(1:1)에 24시간 이상 담가 두고 다시 초순수에 24시간 담근 후 사용 직전에 초순수로 세척하여 사용하였다.

2.4. 용액 조제

2.4.1. 매트릭스 변형제

혈액 희석제인 1% Tx-100 용액은 250ml 용량 플라스크에 이 시약 2.5g을 넣고 초순수로 표선을 맞추었다. 매트릭스 변형제; 1% Ammonium Hydrogen phosphate 용액: (NH₄)₂HPO₄ 1.0g을 질산 1.0ml와 초순수에 녹여서 100ml로 하였다. 0.1% PdCl₂용액: 100mg의 PdCl₂를 conc.-HCl 1.0ml와 초순수

로 녹여 100ml 로 하였다.

2.4.2. 시료 및 표준용액

검정곡선 작성에 사용된 표준용액은 1000mgPb/l로부터 단계적으로 분취하여 2ml /l의 질산이 포함된 2차 표준용액 (0, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0, 15.0 mgPb/l)을 조제하였다. 이들 2차 표준용액에서 각각 마이크로 피펫으로 100 μ l씩을 분취하여 2.0ml 용량의 용기 (polystyrene cuvette)에 넣은 다음 1% Tx-100 700 μ l를 가하고 혈액 200 μ l를 마이크로 피펫으로 취한 다음 피펫 끝에 묻은 혈액을 닦고 피펫내의 벽에 묻어 있는 혈액을 용기에 들어 있는 Tx-100용액으로 씻어 내리면서 혼합하여 총액량이 1ml인 검정곡선 제작용 용액 (0, 100, 300, 500, 1000, 1500ngPb/ml)을 조제하였다. 측정용 혈액시료의 조제는 먼저 1% Tx-100 800 μ l를 용기에 넣은 후에 혈액 200 μ l를 가하여 표준용액 조제시와 동일한 방법으로 5배 희석된 분석용 시료를 만들었다.

2.5. 표준시료

분석의 정확성을 기하기 위해 우혈 (Bovine Blood)에 단계적으로 Pb가 함유되어 있는 표준시료 (31~624 μ gPb/l 범위)를 사용하여 분석하였다. 이 표준시료는 외부 정도관리 프로그램 (External Quality Control Program, EQCP)을 운영하고 있는 일본의 전국 노동위생단체연합회 (전위련)의 91년 10월에 실시한 프로그램 (총 238개 기관이 참여)에 의해 냉동 포장되어 제공된 8개로 구성되어 있는 시료이다.

2.6. 실험조건

2.6.1. 회화온도의 결정

혈액 시료의 분석시 회화 온도 변화에 따른 흡광도 변화는 비교적 낮은 농도 (117 μ gPb/l)에 대하여 Fig. 1과 같이 나타났다. 변형제를 사용하지 않고 Tx-100으로 5배 희석시에는 흡광도가 600도 이상에서는 감소되나 1%(NH₄)₂HPO₄를 5 μ l씩 (실주입량: 50 μ g) 주입하였을 때는 회화 온도가 800도까지 증가하여도 흡광도가 감소되지 않고 또 PdCl₂ 5 μ l (실주입량: 5 μ g)를 가했을 때는 900도까지 안정해짐을 볼 수 있으나 이 두 시약을 동시에 가했을 경우에는 800도까지 Pb가 열적으로 안정함을 보여 준다. 그러므로 분석시의 회화온도를 각각 700도{(NH₄)₂HPO₄,

(NH₄)₂HPO₄+PdCl₂}, 800도 (PdCl₂)로 설정한 후 분석하였다. 한편, 변형제를 사용하지 않았을 때의 측정은 Pb 손실이 가장 적고 바탕 흡광도가 비료적 낮은 500도에서 측정하였다. 이 온도는 Navarro와 Romero 등¹⁵의 0.6% (NH₄)₂HPO₄와 0.15% Mg(NO₃)₂를 변형제로 사용했을 때의 회화온도 800도 및 Mishitsuji와 Akio¹⁶의 1% Tx-100과 0.1% PdCl₂ 또는 (NH₄)₂HPO₄를 각각 사용했던 600~800도와 유사한 온도이나, Fernandez⁶의 변형제를 사용하지 않고 혈액을 HNO₃로만 희석하였을 경우의 550~575도와 Nice 등²의 1% Tx-100과 0.01몰의 HNO₃를 사용하였을 때의 550~700도보다는 비교적 높은 온도까지도 열적으로 안정함을 보여 주었다.

2.6.2. 원자화 온도의 결정

변형제 사용 여부에 따른 원자화 온도에서 Pb의 열적 안정도는 Tx-100으로 희석시는 1900도 이상의 온도에서는 흡광도가 감소하나, 변형제로 (NH₄)₂HPO₄를 주입하였을 때에는 온도가 2100도까지 증가하여도 감소되지 않고 또 PdCl₂를 함께 가하면 2200도까지도 안정해짐을 알 수 있었다. Mishitsuji 등¹⁷이 1% Tx-100 사용시의 1200~1400도나 1.0% NH₄H₂PO₄를 함께 사용했을 경우의 1800도보다는 약간 높은 온도지만 1% Tx-100과 0.2~0.01% PdCl₂를 함께 사용한 경우에 2200도까지 안정함을 보여 주는 결과와 유사함을 보였다. 분석시의 원자화 온도는 바탕흡광도가 비교적 낮고, 온도에 대한 안정성이 좋은 1800도와 1900도에서 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 표준시료 (Bovine Blood)의 분석

3.1.1. (NH₄)₂HPO₄ 변형제의 영향

1) 저농도 (300 μ g/l 이하) 시료의 경우

8개 표준시료 중에서 비교적 낮은 농도인 300 μ g/l 이하인 시료 4개 중에서 117 μ g/l 시료를 매트릭스 변형제를 가하지 않고 단지 1% Tx-100으로 5배 희석 한 후 원자화 온도를 1800도로 설정하고 10 μ l씩 연속 주입하면서 회화온도 변화에 따른 흡광도를 비교하면 Fig. 1과 같았다. 400도에서 800도까지 온도를 증가 시킴에 따라 흡광도는 서서히 감소하고 그 이후의 온도에서는 급격히 떨어짐을 알 수 있었다. 그리고 동일

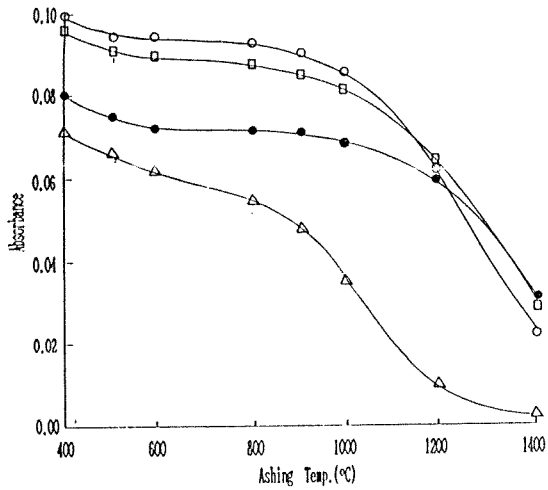


Figure 1. Relation between Absorbance and Ashing Temperature of Lead in Bovine Blood (117µgPb/l).

- △-△- : no matrix modifier
- : in 1% (NH₄)₂HPO₄
- : in 0.1% PdCl₂
- : in 1% (NH₄)₂HPO₄ and 0.1% PdCl₂

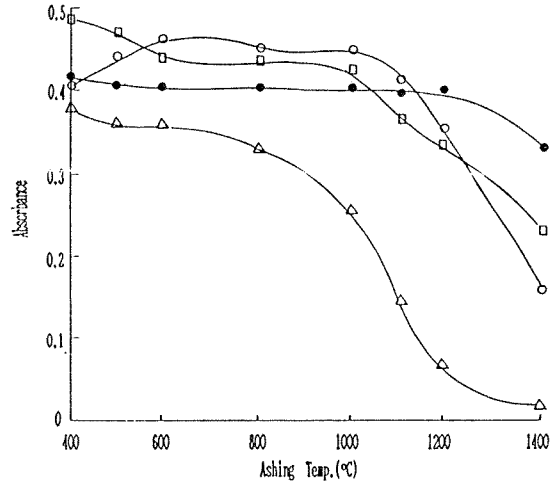


Figure 2. Relation between Absorbance and Ashing Temperature of Lead in Bovine Blood (624µgPb/l).

- △-△- : no matrix modifier
- : in 1% (NH₄)₂HPO₄
- : in 0.1% PdCl₂
- : in 1% (NH₄)₂HPO₄ and 0.1% PdCl₂

조건에서 변형제를 첨가하지 않거나 가해 주었을 경우 각 온도변화에 따른 바탕흡광도의 변화를 Fig. 3에 나타냈다. 변형제를 사용하지 않고 시료를 단지 회석만 하여 측정할 경우에는 400도 및 500도의 낮은 온도에서는 방해성분의 제거가 불충분한 이유 등으로 바탕흡광도가 상당히 높음(0.6 Abs. 이상)을 알 수 있었다. 이후 온도의 증가에 따라서 600도에서 0.4 Abs.로 급격히 감소된 후 그 이상의 온도로 상승시키게 되면 점차 감소되다가 1000도에서 비교적 낮은 바탕흡광도 값인 0.2 Abs.로 낮아짐을 Fig. 3으로부터 알 수 있었다.

그리고 Fig. 4는 Fig. 1과 같은 조건에서 회화 온도 증가에 따른 회수율의 변화를 나타냈다. 표준시료 No. 2의 공인값 117µg/l 을 100%로 정했을 경우 Tx-100으로 5배 희석시 회화 온도 400도에서는 113%로 공인값보다 높게 나왔는데, 이는 바탕값이 D₂ 바탕흡광도 보정장치의 한계치인 0.6 Abs.를 넘기 때문인

것으로 여겨진다. 반대로 500도 정도에서는 102%로 공인값과 비교적 유사하게 측정되었지만 600도 이상의 온도에서는 90% 미만, 그리고 그 이상의 온도에서는 회수율이 상당히 낮아져 800도 이상에서는 80% 정도로 20%가 손실됨을 보여 준다.

그리고 표준시료 31µg/l, 206µg/l 및 286µg/l 의 경우도 117µg/l (Fig. 1)과 같이 회화 온도 변화에 따른 손실율이 유사함을 나타냈다. 그러나 5배 희석된 시료 10µl 에 매트릭스 변형제로서 1% (NH₄)₂HPO₄ 를 5µl 씩 가한 것을 단지 Tx-100으로 희석했을 경우와 비교하면 흡광도값이 30% 이상 상승되는데, 이는 인산염 변형제가 납을 열적으로 보다 안정한 화합물인 납-인산화합물(Pb₂P₂O₇)로 전환시킴으로써 보다 높은 회화온도에서도 납원자의 휘발을 어느 정도 억제해주는 것으로 생각된다¹⁵.

Fig. 4의 회수율을 비교하면 (NH₄)₂HPO₄를 가해 주면서 1000도까지 회화온도를 상승시켜도 회화 과정

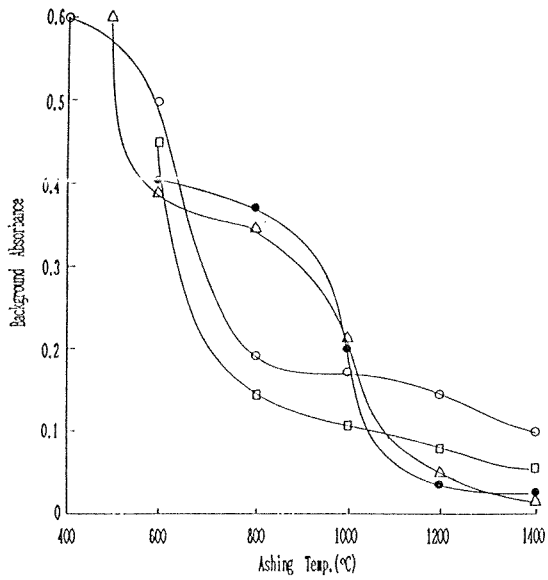


Figure 3. Relation between Background Absorbance and Ashing Temperature of Lead in Bovine Blood (117 $\mu\text{g/l}$).

- $\Delta \Delta$: no matrix modifier
- $\circ \circ$: in 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- $\bullet \bullet$: in 0.1% PdCl_2
- $\square \square$: in 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 0.1% PdCl_2

동안에 시료가 손실되지 않으므로 공인값의 95% 정도 회수율을 보여 준다. 또한 바탕흡광도 (Fig. 3)의 경우 매트릭스 변형제를 가해 주게 되면 낮은 회화온도 영역인 600도 이하에서는 변형제를 가해 주지 않았을 경우와 비교하면 그 값이 유사하나 그 이상의 높은 온도 (700~1000도)의 경우에는 목적 성분이 휘발되지 않으면서 동시에 0.25~0.18 Abs. 정도의 비교적 낮은 바탕흡광도를 나타낸다. 1000도 이상의 높은 온도로 상승시키게 되면 바탕흡광도는 변형제를 사용하지 않았을 경우보다 서서히 감소됨을 알 수 있다.

따라서 시료의 흡광도와 바탕흡광도 및 회수율을 종합해 볼 때 대다수 정상인의 혈중 Pb 농도인 30~290 $\mu\text{g/l}$ 의 시료농도에서는 Tx-100으로 회석만 하고 변형제를 사용하지 않을 때에는 회화 온도를 500도 정도에서 충분히 회화시켜 바탕흡광도를 0.5 Abs. 이

하로 낮추면서 방해물질을 제거한다면 비교적 정확한 결과가 나온다고 판단된다. 그러나 온도를 600도 이상으로 증가시키면 10% 정도 손실되어 낮게 평가되고 그 이상의 온도에서는 20% 이상 정확성 및 재현성이 떨어질 수 있다. 또 500도 이하의 온도에서 회화시키면 표준값으로부터 10% 이상 높게 평가되고 표준 편차값도 10~20%로 상승되는데, 이는 방해성분의 제거가 완전치 못함으로 인하여 바탕흡광도가 상당히 높아지므로 비록 유사한 값이 나온다 하더라도 신빙성이 없다고 하겠다.

2) 고농도 (300~630 $\mu\text{g/l}$) 시료의 경우

정상인의 혈중 농도보다 높거나 혹은 납과 연관된 산업체에서 오염될 수 있는 작업자의 인체 허용범위 (400 $\mu\text{g/l}$ 이하) 이상인 시료들 중에서 가장 높은 농도의 표준시료 624 $\mu\text{g/l}$ (No. 8)에서도 저농도 시료 분석시와 동일한 조건에서 회화온도 변화에 따른 흡광도의 상관 관계를 Fig. 2에 나타냈다. 변형제를 사용

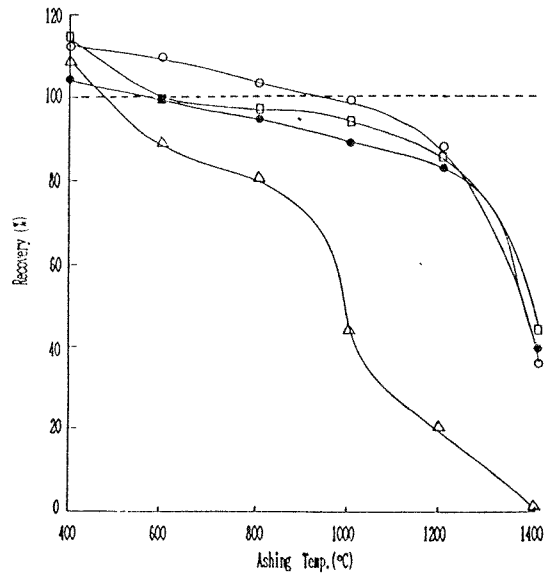


Figure 4. Effect of Matrix Modifier on the Lead Recovery in Bovine Blood Sample (117 $\mu\text{gPb/l}$).

- $\Delta \Delta$: no matrix modifier
- $\circ \circ$: in 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- $\bullet \bullet$: in 0.1% PdCl_2
- $\square \square$: in 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 0.1% PdCl_2

하지 않았을 경우에는 Fig.1과 유사하게 온도 증가에 따라 흡광도가 손실됨을 보여 준다.

그러나 변형제로서 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 첨가했을 때는 전반적으로 흡광도가 상승되는 Fig.1($117\mu\text{g/l}$)의 경우와는 다르게 600도까지 흡광도가 서서히 증가한 후 1000도까지 안정함을 보여 준다. 이는 변형제 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 의 첨가가 저농도보다는 고농도의 시료 측정시 열적인 안정성이 우수함을 말해 준다.

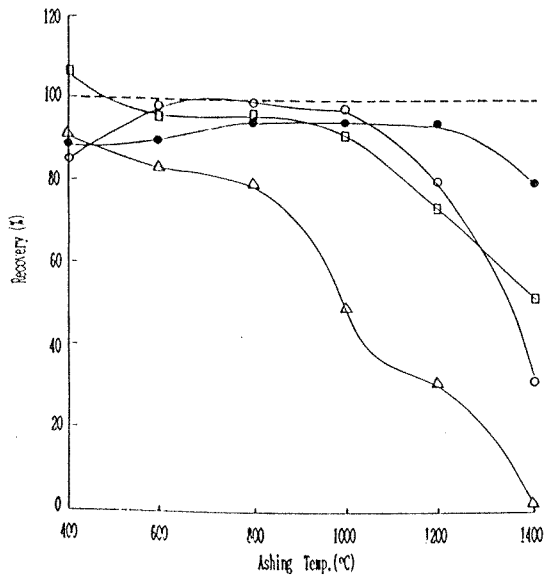


Figure 5. Effect of Matrix Modifier on the Lead Recovery in Bovine Blood Sample ($624\mu\text{Pb/l}$).

- Δ Δ : no matrix modifier
- ○ : in 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- ● : in 0.1% PdCl_2
- □ : in 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ and 0.1% PdCl_2

Fig.5는 1800도의 원자화 온도와 각 시료를 $10\mu\text{l}$ 씩 주입하여 분석하는 경우에 표준시료 No.8의 공인값 $624\mu\text{g/l}$ 를 100%로 설정하고 단지 1% Tx-100으로 5배 희석하여 주입했을 때와 여기에 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ $5\mu\text{l}$ 를 첨가하여 측정시 회화온도 변화에 따른 회수율의 변화곡선이다. Tx-100으로 희석시에는 저농도의 경우(Fig.4)과 비교하면 전 온도영역에서 전반

적으로 공인값보다 낮음을 보여 주는 것은 유사하나 보다 낮은 회화 온도(400~500도)에서도 90%를 넘지 않음을 나타낸다. 이것은 변형제를 사용하지 않고 400~600도 영역의 회화온도에서 측정한다면 정확한 결과보다 약 10% 내지는 20%까지 낮게 평가될 수 있음을 뜻하며 또한 낮은 온도로 인하여 바탕흡광도값이 비교적 높아 재현성이 낮아지게 된다. 그러나 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 $5\mu\text{l}$ 만 첨가했을 경우에는 600도와 1000도 사이의 온도에서 공인값 $624\mu\text{g/l}$ 에 일치되는 정확한 값에 접근됨을 알 수 있었다.

3.1.2. PdCl_2 변형제의 영향

Fig.1, 2 및 3은 원자화 온도 1800도에서 Tx-100으로 5배 희석된 우혈 시료($117\mu\text{g/l}$, $624\mu\text{g/l}$) $10\mu\text{l}$ 에 변형제로서 0.1% PdCl_2 $5\mu\text{l}$ 만 첨가시키거나 0.1% PdCl_2 와 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 각각 $5\mu\text{l}$ 씩 동시에 첨가해 주었을 때 회화온도 변화에 따른 흡광도와 바탕흡광도의 변화 관계를 보여 준다. 그리고 Fig.4와 5는 동일 조건에서 각 표준시료의 공인값을 100%로 했을 경우 변형제 PdCl_2 를 단독 또는 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 와 함께 첨가했을 때 회화온도 상승에 따른 손실률을 보여 준다.

1% PdCl_2 $5\mu\text{l}$ 를 Tx-100으로 5배 희석한 저농도 표준시료 $10\mu\text{l}$ 에 첨가했을 경우에는 변형제를 전혀 사용하지 않았을 때보다 흡광도가 20% 정도 상승되었고 900도까지 회화온도를 상승시켜도 흡광도가 감소되지 않음을 Fig.1로부터 알 수 있었다. 이는 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 변형제를 사용할 경우보다는 감도가 떨어지나 온도에 대한 안정성은 우수함을 보여 준다. 이것은 Mishitsuji 등^{16,17}이 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 보다는 PdCl_2 를 사용하면 흡광도가 30% 이상 상승한다고 보고한 결과와는 다른 현상을 보이는 것이다.

그러나 희석된 $10\mu\text{l}$ 의 시료가 주입된 후에 두 개의 변형제를 동시에 각각 $5\mu\text{l}$ 씩 가했을 때에는 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 를 단독으로 사용했을 경우보다 흡광도는 약간 떨어지지만 온도에 대한 안정성은 우수하다(Fig.1). 특히 Fig.2의 경우와 같이 고농도 시료($624\mu\text{g/l}$)의 경우에는 PdCl_2 를 첨가해 주면 상당히 높은 온도인 1200도까지 안정함을 보여 주지만 두 변형제를 동시에 가했을 때에는 저농도의 경우와 유사하게 1% $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 만을 단독으로 사용했을 때보다 열적 안정성 및 흡광도가 떨어짐을 알 수 있었다.

Table 3. Effect of Matrix Modifier on the determination of Pb in bovine-blood reference materials.

Sample No.	Recommended value ¹⁾	Experimental value (Mean \pm SD), $\mu\text{g/l}$			
		modifier			
		without ²⁾	with (AHP) ³⁾	with (Pd) ⁴⁾	with (AHP+Pd) ⁵⁾
1	31	30 \pm 3	32 \pm 2	29 \pm 3	33 \pm 3
2	117	122 \pm 12	118 \pm 5	119 \pm 8	112 \pm 7
3	206	209 \pm 14	206 \pm 7	197 \pm 12	210 \pm 9
4	286	275 \pm 15	282 \pm 8	266 \pm 12	280 \pm 13
5	375	352 \pm 23	377 \pm 9	365 \pm 16	380 \pm 16
6	458	425 \pm 24	460 \pm 12	442 \pm 18	454 \pm 14
7	542	480 \pm 28	540 \pm 12	500 \pm 22	538 \pm 17
8	624	543 \pm 35	630 \pm 15	574 \pm 25	618 \pm 20

¹⁾ certified reference material (bovine blood, Japan)

²⁾ 5-fold dilution with 1% Tx-100

³⁾ 5 μl 1% (NH₄)₂HPO₄ (AHP) as matrix modifier added to (2).

⁴⁾ 5 μl 0.1% PdCl₂ (Pd) as matrix modifier added to (3).

⁵⁾ mixture of (3) and (4).

그리고 PdCl₂를 변형제로서 첨가해 주면 저농도보다는 고농도 시료의 경우에 비교적 높은 온도인 700~900도에서도 공인값(624 $\mu\text{g/l}$)과 거의 일치된 값이 얻어짐을 Fig. 4와 5로부터 알 수 있었다. 그러나 PdCl₂만을 변형제로 사용했을 때는 회화 및 원자화 온도에 대한 안정성은 가장 우수하지만 바탕흡광도값(Fig. 3)이 (NH₄)₂HPO₄를 사용했을 때보다 상승되어 결과의 재현성은 다소 떨어진다. 두 변형제를 동시에 사용했을 때에는 단독으로 사용했을 때보다 열적인 안정성이 다소 감소되고 감도도 약간 저하되지만 비교적 정확한 결과를 얻을 수 있었다.

Table 3은 저농도로부터 고농도의 8개 표준물질을 원자화 온도 1800도에서, 그리고 PdCl₂가 첨가된 시료는 1900도에서 각각 측정하여 얻은 결과이다. Tx-100으로 시료를 5배 희석한 후 10 μl 를 Platform에 주입하고 회화온도 대 흡광도 변화 형태(Fig. 1과 2)를 구하고 이로부터 최적 회화 온도 및 회화 시간을 결정하였다. 매트릭스 변형제를 사용하지 않고 단지 희석된 시료 10 μl 를 주입한 경우에는 회화온도 500도, 원자화온도 1800도를 적용 {Table 3의 (2)}하였고, 희석 시료 10 μl 에 변형제 1% (NH₄)₂HPO₄ 5 μl 를 첨가하여 총액량이 15 μl 가 되게 한 것은 회화온

도 700도, 원자화온도 1800도를 적용(3)하였으며, 변형제를 (NH₄)₂HPO₄ 대신에 0.1% PdCl₂를 5 μl 주입한 경우에는 800도에서 회화시키고, 원자화 온도 1900도에서 측정(4)하였다. 그리고 두 개의 변형제를 동시에 5 μl 씩 첨가하여 총액량이 20 μl 가 되게 한 경우(5)는 회화온도 700도와 원자화 온도 1900도에서 각각 측정된 결과들을 나타낸 것이다.

변형제를 가하지 않은 (2)의 조건에서 300 $\mu\text{g/l}$ 보다 낮은 농도의 시료는 공인값과 비교적 유사하게 나왔으나 No. 4의 286 $\mu\text{g/l}$ 농도부터는 공인값보다 낮은 결과를 보이기 시작하며 고농도에서는 공인값으로부터 6% 내지 15% 정도 낮은 측정값이 얻어졌다. 이것은 회화온도 500도에서는 바탕흡광도(Fig. 3)가 높은데도 불구하고 낮은 농도의 시료는 회수율이 공인값에 접근되나 고농도 시료는 회수율이 90%를 넘지 않기 때문인 것으로 여겨진다(Fig. 4, 5).

1% (NH₄)₂HPO₄를 변형제로서 첨가한 결과 (3)은 전반적으로 정확한 값으로 측정되었으나 (4)의 경우는 공인값으로부터 전체적으로 약 5% 정도 낮게 평가되었다. 그러나 (2)의 결과와 비교하면 고농도의 부분에서 상당히 개선된 것으로 보여지지만 표준편차는 (3)의 경우보다 상당히 높은 것으로 나타났다. 이것은

PdCl₂ 변형제를 단독으로 사용하는 경우에는 온도에 대한 Pb의 열적 안정성은 뛰어나나 바탕흡광도값이 상당히 상승된 것에 원인이 있는 것으로 생각된다.

두 개의 변형제를 동시에 사용한 경우인 (5)의 결과는 (4)의 결과보다는 공인값에 접근되었으며 (NH₄)₂HPO₄만을 첨가해 준 (3)의 결과와 유사하게 정확한 값이 산출되었다. 그리고 표준편차는 (3)의 조건에서 측정된 값보다는 높은 편이나, 두 변형제를 동시에 가해 주면 혈액시료를 연속 분석시 흑연튜브나 L'vov Platform내에 연소 잔유물이 계속 남아서 시료가 흑연튜브 내에 일정하게 주입되는 형태를 방해하는 연소 생성물의 축적이 억제됨을 알 수 있었다. 특히 PdCl₂ 용액은 희석된 혈액시료가 흑연관에 주입되기 전에 주입하면 그 효과가 커짐을 알 수 있었다.

3.2. 전혈시료(Whole blood)의 분석

우혈 표준시료를 분석시 공인값과 가장 유사하게 나타난 조건인 회화 온도 700도와 원자화 온도 1800도에서 1% (NH₄)₂HPO₄를 매트릭스 변형제로 가하면서 낮은 농도 및 높은 농도의 전혈을 같은 조건에서 동시에 분석하였다. 또한 이 시료를 회화온도 700도와 1900도에서 0.1% PdCl₂와 1% (NH₄)₂HPO₄를 매트릭스 변형제로 동시에 사용했을 경우 각각의 회수율을 Table 4에 수록하였다. (NH₄)₂HPO₄를 사용하면 (1) 회수율이 97~102%였으며 PdCl₂와 (NH₄)₂HPO₄를 동시에 첨가해 주면 (2) 96~98%로 비교적 정확한 값이 얻어졌다.

Table 4. Recovery of lead added to three Whole Blood samples. *)

Concentration of Pb (μg/l)			Recovery, %	
Added	Real value	Experimental value	1)	2)
50	120	116	97	98
100	260	258	99	96
200	600	609	102	96

1) 1% (NH₄)₂HPO₄, 5μl

2) 1% (NH₄)₂HPO₄, 5μl + 0.1% PdCl₂, 5μl

* Three analyses of each sample were performed.

5. 결 론

본 연구에서는 혈중 납의 분석을 흑연로 원자흡광법(GFASS)으로 정량하는 분석방법을 확립하고자 매트릭스 변형제{(NH₄)₂HPO₄, PdCl₂}를 사용하고 회화 온도를 변화시켰을 경우에 나타나는 측정치의 재현성으로부터 최적 분석조건을 조사하여 다음과 같은 결론을 내렸다. 그리고 결과의 정확성을 확인하기 위해 외부 정도관리 제도(External Quality Control Program, EQCP)를 시행하고 있는 일본의 전국 노동위생단체연합회 종합정도관리위원회 산하 생체시료 전문위원회로부터 제공된 표준시료(Bovine blood) 8개를 사용하여 분석하였다.

1. 혈액을 단지 Tx-100으로만 5배 희석하여 회화온도 400~500도 영역에서 측정할 경우에는 낮은 농도(30~290μg/l)의 시료는 비교적 정확한 값이 얻어졌으나 고농도의 시료(370~620μg/l)에서는 공인값보다 6% 내지 13% 정도 낮은 결과를 얻었다.
2. 시료를 Tx-100으로 희석한 후 매트릭스 변형제로서 1% (NH₄)₂HPO₄ 5μl를 첨가한 후 회화온도 700도에서 측정하면 바탕흡광도값이 변형제를 첨가하지 않았을 때보다 낮아지고 (<0.2 Abs.) 30~620μg/l 농도 범위 시료에서 공인값과 비교적 잘 일치하였다. 이때 변동계수는 6.3~2.3%로서 (NH₄)₂HPO₄를 가해 주지 않았을 때인 10~6.4%보다 낮게 나타났다.
3. (NH₄)₂HPO₄ 대신에 PdCl₂를 매트릭스 변형제로서 사용하면 변형제를 사용하지 않았을 때보다 상당히 높은 900도에서도 휘발되지 않고 열적으로 안정하지만 200μg/l 이상의 농도에서는 공인값보다 8% 정도 낮게 측정되었다.
4. 두 가지의 매트릭스 변형제를 동시에 사용하면 공인 값과 유사한 결과가 얻어졌지만 표준편차값은 (NH₄)₂HPO₄를 단독으로 첨가하였을 때보다 약간 높았다. 그러나 PdCl₂를 첨가해 주면 측정시 흑연튜브에 축적되는 연소 생성물의 생성을 억제해주는 효과가 있었다.
5. 혈액 시료 중 납의 정확한 측정을 위해서는 매트릭스 변형제로서 (NH₄)₂HPO₄ 또는 (NH₄)₂HPO₄와 PdCl₂를 함께 사용하고 700도 및 800도에서 회화, 1800도 및 1900도에서 각각 원자화시켜 측정

했을 때 표준편차는 각각 4.3%(117 μ gPb/l), 2.4%(624 μ gPb/l)와 6.0%(117 μ gPb/l), 3.2%(624 μ gPb/l)였다.

6. 표준시료 분석의 최적 조건에서 사람의 혈액(Whole Blood)를 측정할 결과 회수율은 매트릭스 변형제로서 (NH₄)₂HPO₄를 사용한 경우에는 97~102%였고 (NH₄)₂HPO₄와 PdCl₂를 동시에 사용한 경우에는 96~98%로 비교적 정확한 결과를 얻을 수 있었다.

참고문헌

1. J. R. Behari, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **10**, 149(1981).
2. G. Nice, O. Vesterberg, *Clinica Chimica Acta*, **84**, 129(1978).
3. J. D. Osterloh, D. S. Sharp, *J. of Anal. Toxicology*, **14**, 8(1990).
4. D. J. Hodges, D. Skelding, *Analyst*, **108**, 813(1983).
5. S. C. Girl, C. K. Shields, *Analyst*, **108**, 244(1983).
6. F. J. Fernandez, *Clin. Chem.*, **21**, 558(1975).
7. P. C. D'Haese, L. V. Lambert, L. L. Flank, *Clin. Chem.*, **37**, 1583(1991).
8. D. C. Manning, W. Slavin, *Anal. Chem.*, **50**, 1234(1978).
9. K. S. Subramanaan, J. C. Meranger, *Clin. Chem.*, **27**, 1866(1981).
10. E. C. Pruszkowska, G. R. Carnrick, W. Slavin, *At. Spectrosc.*, **4**, 59(1983).
11. G. Weibust, F. J. Langmyhr, *Anal. Chim. Acta.*, **128**, 23(1981).
12. K. Michael, "Selenium Determination in Blood using Zeeman Background Correction And Palladium/Ascorbic Acid Chemical Modification" *Varian Instrument at work*. AA-70(1987).
13. J. T. Anglov, J. M. Christensen, *Analyst*, **117**, 419(1992).
14. D. G. Bullock, N. J. Smith, *Clin. Chem.*, **32**, 1884(1986).
15. J. A. Navarro, V. A. Granadillo, O. E. Parra, *J. Anal. Atomic Spectro.*, **4**, 401(1989).
16. H. Mishitsuji, A. Ohara, M. Kohga, "Determination of Whole Blood" *Matsushida Sci. Center Industrial Hygiene*, **24**, 133(1985).
17. H. Mishitsuji, A. Ohara, A. Kanetaka, *Matsushida Sci. Center Industrial Hygiene*, **23**, 176(1984).