= 단 신 =

흑연로 원자흡수분광광도법에 의한 뇨시료 중 흔적량 원소의 정량

최종문 · 최희선* · 박창준** · 김영상†

†고려대학교 화학과

*수원대학교 이과대학 화학과

**한국 표준과학연구소 무기분석실

(1994. 11. 2. 접수)

Determination of Trace Elements in Urine Samples by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry

Chong-Moon Choi, Hee-Seon Choi*, Chang Joon Park and Young-Sang Kim†**

Department of Chemistry, Korea University, Jochiwon, Choongnam 339-700, Korea

**Department of Chemistry, University, of Suwon, Suwon 445-743, Korea*

***Inorganic Analysis Laboratory, Korea Standard & Science Research Institute, Dae Jeon 302-340, Korea*

(Received Nov. 2, 1994)

보편적으로 지금까지 중금속에 피폭된 인체로부터 분석자가 얻을 수 있는 시료로는 혈액, 피부조직, 뇨 등이 있지만 분석하기 위해 채취할 수 있는 양은 모두 소량으로 한정이 되어 있다는 문제가 있다. 또한 인체 외부로 나오는 유해 중금속은 화학적 형태가 유기금속성이고, 인체로 유입된 양의 10% 정도만이 유출된다는 보고[1]에 의해 시료에 포함된 농도 또한 흔적량이 될 것은 분명하다. 따라서 비교적 많은 양의 시료를 필요로 하는 착화제를 이용한 용매추출[2], 이온교환법[3], 그리고 부선법[4]으로 분석하는 데는 어려움이 있다. 지금까지는 생체시료를 이용한 분석에 흑연로 원자흡수분광법을 이용한 직접 정량법이 이용되고 있다.[5~8] 그리고 서두에서 밝혔듯이 인체로부터 얻을 수 있는 시료의 대부분이 알칼리나 알칼리토금속, 그리고 유기물이 과량 존재하므로 인해 바탕흡수가 높아서 검출한계가 높고, 재현성도 낮다. 그리고 1970년대 중반부터 널리 이용되고 있는 매트릭스 개선기술이 현재까지는 유용하게 사용되고 있는데, 바탕을 제거하기 위해 회화온도를 과다하게 높여야 하고 지속시간을 길게 하여 기기 자체에 무리를 주거나 흑연로의 소모가 빨라지는 단점을 가지고 있다.[8] 또한 사용하는 개선제의 보편성이 없다는 문제도 있다.[9]

본 연구에서는 일체의 개선제를 사용하지도 않고 간단한 방법을 이용하여, 냉동 건조된 한정된 양의 뇨시료로부터 카드뮴, 크롬, 구리 및 납을 신속하고 정확히 분석할 수 있도록 흑연로 원자흡수분광법에서의 최적조건을 검토하였다. 정상적인 뇨시료에 일정량의 분석원소를 첨가한 뇨시료를 분석하여 본 방법의 유용성을 검토하였다. 또 본 연구실에서 인공 뇨에 분석원소를 가하여 만든 것과 한국표준과학연구원에서 만든 증류수에 준비한 것 두 가지 표준용액을 사용하여 분석결과를 얻어 상호 비교하였다.

실 험

본 실험에서 사용한 모든 시약은 일급 이상의 순도를 가진 것을 사용하였고, 물은 1차 증류수를 Mill-Q system으로 처리하여 사용하였다. 실험에 이용한 기구는 염산과 질산으로 된 10% 혼합산에 하루를 담가 두었다가 물로 깨끗이 세척하고, 탈염수로 3번 이상 세

척하여 사용하였다.

Cd 표준용액 : 스위스 Fluka사의 분석급 시약 granulated Cd를 이용하였다.

Cr 표준용액 : 미국 Mallinckrodt사의 분석급 시약 $Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$를 이용하였다.

Cu 표준용액 : 일본 Wako사 특급시약 $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$를 이용하였다.

Pb 표준용액 : 일본 Shinyo사 특급시약 $Pb(NO_3)_2$를 이용하였다.

모든 표준용액은 1000μg/mL 용액을 제조하여 필요할 때마다 탈염수로 희석하여 사용하였다.

기기조건을 최적화시키고 검정곡선을 도시하기 위한 표준용액을 준비하기 위하여 인공 뇨를 만들었다. 알칼리 및 알칼리토금속, 유기물을 *Table* 1에서와 같이 탈염수 1.0L에 가하였다.

Table 1. Composition of synthetic urine

Reagent	Grade	Amount
NaCl	GR.	9.4045 g
$MgSO_4$	GR.	2.4114 g
KCl	GR.	3.7148 g
KH_2PO_4	EP.	2.7011 g
$CaCl_2$	GR.	1.1062 g
Urea	EP.	15.0200 g
Na-citrate	GR.	1.4988 g
Creatinine	GR.	1.5012 g

사용한 원자흡수분광기는 model HGA-400 전열 원자화기가 장치된 Perkin-Elmer model 2380이었다. 또한 사용한 등은 Perkin-Elmer사 제품을 사용하였다. 각 분석원소를 정량하기 위해 사용하는 기기 조건은 *Table* 2, 3과 같다. 흑연로는 Perkin-Elmer사의 uncoated tube를 사용하였고, 시료는 Pipetman(Gilson사, P-100)을 이용하여 10μL씩 수동으로 주입하였다.

Table 2. Instrumental parameters

	Cd	Cr	Cu	Pb
Wavelength	228.8 nm	357.9 nm	324.7 nm	283.3 nm
Slitwidth	0.7 nm	0.7 nm	0.7 nm	0.7 nm
Lamp current	4mA	25mA	15mA	10mA

표준 검정곡선을 두 가지 작성하였는데, 한 가지는 한국표준과학연구원에서 증류수에 일정량의 각 원소를 첨가하여 만든 표준용액으로, 그리고 다른 한 가지는 미리 제조한 인공 뇨에 일정량의 원소를 첨가하여 만든 표준용액을 증류수로 1 : 1 되게 희석시킨 용액을 사용하여 작성하였다.

냉동 건조된 뇨시료(정상 및 첨가된 시료)에 4mL의 증류수와 1mL의 질산을 가하여 완전히 녹인다. 녹인 뇨시료 1mL와 증류수 1mL를 vial에 정확히 취하여 완전히 혼합하였다. 위에서 주어진 기기 조건으로 흡광도를 측정하여 검정곡선으로부터 함량을 정량하였다.

Table 3. HGA-400 operating parameters

Step \ Elements	Cd	Cr	Cu	Pb
Dry	100℃	110℃	110℃	100℃
Ramp/Hold(s)	3/3	5/5	5/5	5/5
Ash	600℃	1300℃	1000℃	600℃
Ramp/Hold(s)	3/3	5/5	5/10	2/2
Atomization	2000℃	2700℃	2700℃	2200℃
Ramp/Hold(s)	1/2	1/2	1/2	1/2
Read/B. L.*(s)	1/0	1/0	1/0	1/0
Clean-out	2700℃	2750℃	2750℃	2700℃
Ramp/Hold(s)	3/3	5/5	5/5	3/3

결과 및 고찰

흑연로 원자흡수분광법으로 분석하는 단계에서 가장 문제가 되고 있는 것은 각 원소의 가열 프로그램에서의 회화단계 온도와 이때까지 올리는 시간 및 지속시간이다. 이 중 원자화 효율에 직접 영향을 주는 것은 회화온도라고 할 수 있다.[9] 시료의 매트릭스가 유기물과 알칼리 및 알칼리토금속으로 되어 있어서 800~900℃에서 연기가 발생되어 과다한 바탕흡수를 야기할 수 있다. 따라서 이런 온도 영역은 가급적 피하는 것이 바람직하다. 이전에 이미 발표되었던 문헌이나 본 연구실에서 이제까지 연구되었던 내용으로 보아 대부분의 경우 극단적인 차이만 없다면 원자화 온도에 의한 흡광도 변화는 잘 관찰되지 않는다.[10, 11]

따라서 본 연구에서는 회화온도까지 올리는 시간, 지속시간 및 원자화 온도는 제조 회사가 권장하는 원자화 온도나 본 연구실에서 이미 검토하였던 자료에 근거하여 설정하고, 회화온도에 따른 영향만을 고찰하였다.

카드뮴 : 본 연구에서 검토하는 분석원소 중에서 가장 휘발성이 강한 원소이다. 따라서 카드뮴을 분석할 때 지나치게 회화온도가 높을 경우 거의 전량 손실될 우려가 있다. 또한 이전의 문헌에 의하면 카드뮴은 회화온도가 높을 경우 겉보기 흡광도와 함께 바탕흡수도 증가하는 특이한 회화단계의 특성을 보이고 있는 것으로 보고되어 있다.[6] 원소 자체의 휘발성이 문제가 되어 매트릭스 개선제를 이용한 연구에서도 과다한 개선제의 양이 필요할 뿐만 아니라 회화온도의 개선 역시 뚜렷하게 나타나지도 않는다고 보고되어 있다.

이런 전체적인 경향을 종합해 볼 때 카드뮴은 가급적 회화단계까지 올리는 시간이나 지속시간이 짧을수록 합리적인 것으로 판단된다. 그래서 회화단계까지 올리는 시간과 회화단계의 지속시간을 각각 3초로 고정하였다. *Fig.* 1에서도 이같은 경향이 뚜렷하게 관찰되었다. 따라서 뇨 중 흔적량이 포함된 카드뮴을 정확하게 정량하기 위해서는 회화단계의 온도를 낮게 잡아야 하는 문제가 있다. 그러나 알칼리나 알카리토금속에 의해 발생되는 연기로 인한 흡광도 측정시 방해는 HGA-400의 가열 프로그램에서 알 수 있듯이 원자화 단계에 도달하는 순간에 자동적으로 흡광도가 영이 되도록 하였으므로 문제를 야기하지는 않았다. 따라서 카드뮴을 분석하기 위한 회화단계의 온도는 600℃로

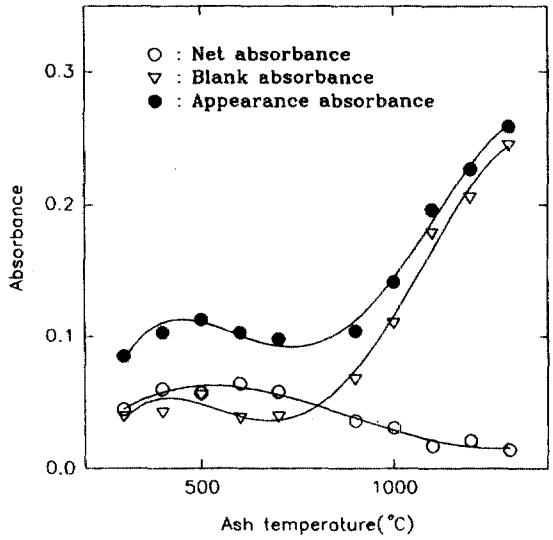

Fig. 1. Ash temperature curves for 2 ng/mL cadmium measured at atomization temperature of 2000℃.

고정하였다.

구리 : 카드뮴과는 달리 구리의 경우는 매트릭스 개선제로도 널리 사용된 예를 흔히 볼 수 있었던 것으로 휘발성은 그다지 심각할 정도는 아니다. 따라서 회화단계까지 올리는 시간과 회화단계에서 지속시간을 각각 5초와 10초로 고정하고 자동 영점처리(auto zero)

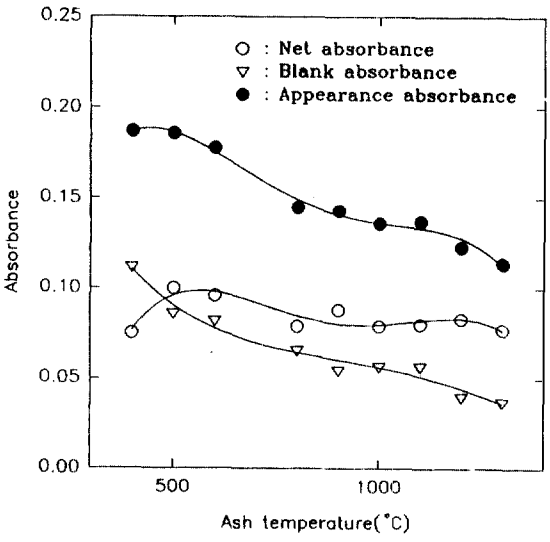

Fig. 2. Ash temperature curves for 100 ng/mL copper measured at atomization temperature of 2700℃.

를 원자화단계에 들어서는 순간으로 하여 온도에 따른 영향을 고찰하였다. *Fig.* 2에서와 같이 온도가 증가할수록 겉보기 흡광도와 바탕흡수가 함께 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 카드뮴의 경우와는 반대 현상으로 예상했던 만큼 구리는 내화성은 아닌 것으로 생각할 수 있다. 카드뮴과 같이 알짜 흡광도의 최대값을 얻기 위해서 500이나 600℃의 회화온도를 선택하기에는 바탕흡수도 컸을 뿐만 아니라 흡광도도 불안정하였다. 이런 현상으로 인해 검출한계를 상대적으로 확장시킬 수 없는 문제가 있어서 비교적 고온이고, 흡광도도 안정한 1000℃로 회화온도를 고정시켜 실험하였다.

크롬 : Schlemmer 등[9]의 보고에 의하면 크롬은 흑연로를 부식시키는 경향이 있다고 하였다. 이는 두 가지 가능성이 있다고 볼 수 있다. 즉, 내화성이 커서 흑연로 내부에 잔류하여 이들을 제거하기 위해 지나치게 높은 온도가 필요하고, 흑연로의 격자 사이로 크롬이 확산되어 다음 분석 단계에 겹쳐져 흡광도를 증가시키므로 이를 제거하는 단계가 별도로 필요하기 때문이다. 다른 원소의 경우와 같이 회화온도까지 올리는 시간과 회화단계의 지속시간을 비교적 짧게 각각 5초로 고정하고, 회화온도에 따른 영향을 고찰하였다.

Fig. 3에서 볼 수 있듯이 이것 역시 구리의 경우와 비슷하게 온도가 증가함에 따라 겉보기 흡광도와 바탕흡수가 감소함을 볼 수 있었다. 그러나 겉보기 흡광도는 대략 1000℃ 정도에서부터 일정하게 나타낸 반면 바탕흡수는 급격히 감소하였다. 겉보기 흡광도에서 바탕흡수를 빼준 알짜 흡광도는 1500℃에서부터 일정하였다. 그러나 앞에서 밝혔듯이 지나치게 높은 회화온도는 흑연로의 소모를 촉진시키므로 비교적 고온이고, 흡광도도 안정한 1300℃를 회화온도로 설정하였다.

납 : 납은 카드뮴과 함께 휘발성이 큰 원소로 재현성도 좋지 않고, 검출한계도 높아서 분석하기가 까다롭다고 할 수 있다.[11] 또 납은 높은 회화온도를 선택하면 휘발로 인해 손실이 발생하므로 낮은 온도를 선택해야 한다. 그리고 시료의 매트릭스로 인한 과다한 바탕흡수 제거를 원자화단계까지 상승시키는 시간에 포함시키고 자동 영점 설정을 원자화 시작 단계에서 하였다. 따라서 회화온도까지 올리는 시간과 회화단계의 지속시간을 각각 5초로 정하고 회화온도에 따른 납의 흡광도 변화를 고찰하였다.

Fig. 4에서 볼 수 있듯이 겉보기 흡광도와 바탕흡수는 카드뮴과 비슷하게 회화온도가 증가함에 따라 함께 증가하지만 700℃ 이상의 온도에서는 알짜 흡광도가 일정하게 나타났다. 그러나 700℃에서 회화온도를 선택하면 바탕흡수가 커서 검출한계가 높아지며 납이 휘발하여 원자화의 재현성이 저하되어 흡광도가 불안정하였다. 따라서 바탕흡수가 적고, 안정한 흡광도를 주는 600℃를 회화온도로 선택하였다.

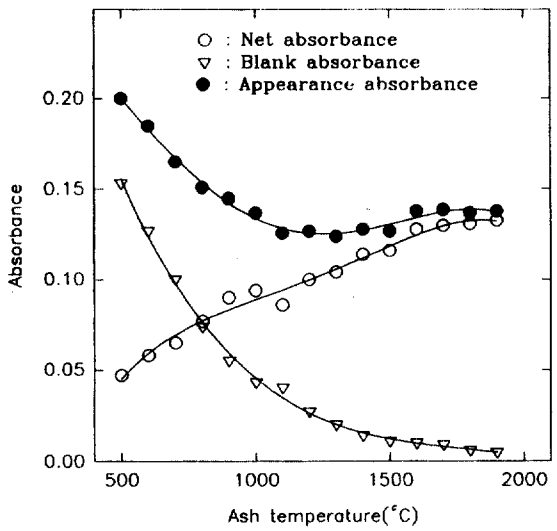

Fig. 3. Ash temperature curves for 100 ng/mL chromium measured at atomization temperature of 2700℃.

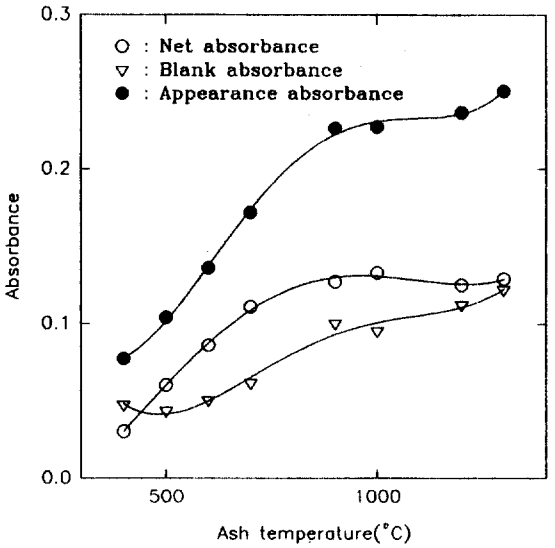

Fig. 4. Ash temperature curves for 100 ng/mL lead measured at atomization temperature of 2200℃.

검정곡선 및 분석결과 : 이상에서 검토한 각각의 회화온도를 선택하여 뇨시료 중 흔적량 원소들을 정량하였는데, 두 가지 표준용액을 사용하여 검정곡선을 작성하여 보았다. *Fig.* 5에서 볼 수 있듯이 네 가지 원소 모두 99% 이상의 좋은 직선성을 나타내었다.

그런데 검정곡선으로부터 알 수 있듯이 카드뮴과 납에서는 인공 뇨 매트릭스에서 더 큰 흡광도를 보여 주었는데, 첨가해 준 물질 중 매트릭스 개선 역할을 하는 것이 있는 데 기인하는 영향으로 생각된다. 한편, 크롬과 구리의 경우 휘발성이 적기 때문에 같은 경향성을 나타내지 않은 것으로 생각된다.

서론에서 언급하였듯이, 섭취된 중금속의 약 10% 정도만이 체외로 배출되므로 어떤 뇨에는 검출한계 이하의 적은 양이 포함되어 있는 것도 있다. 따라서 일정

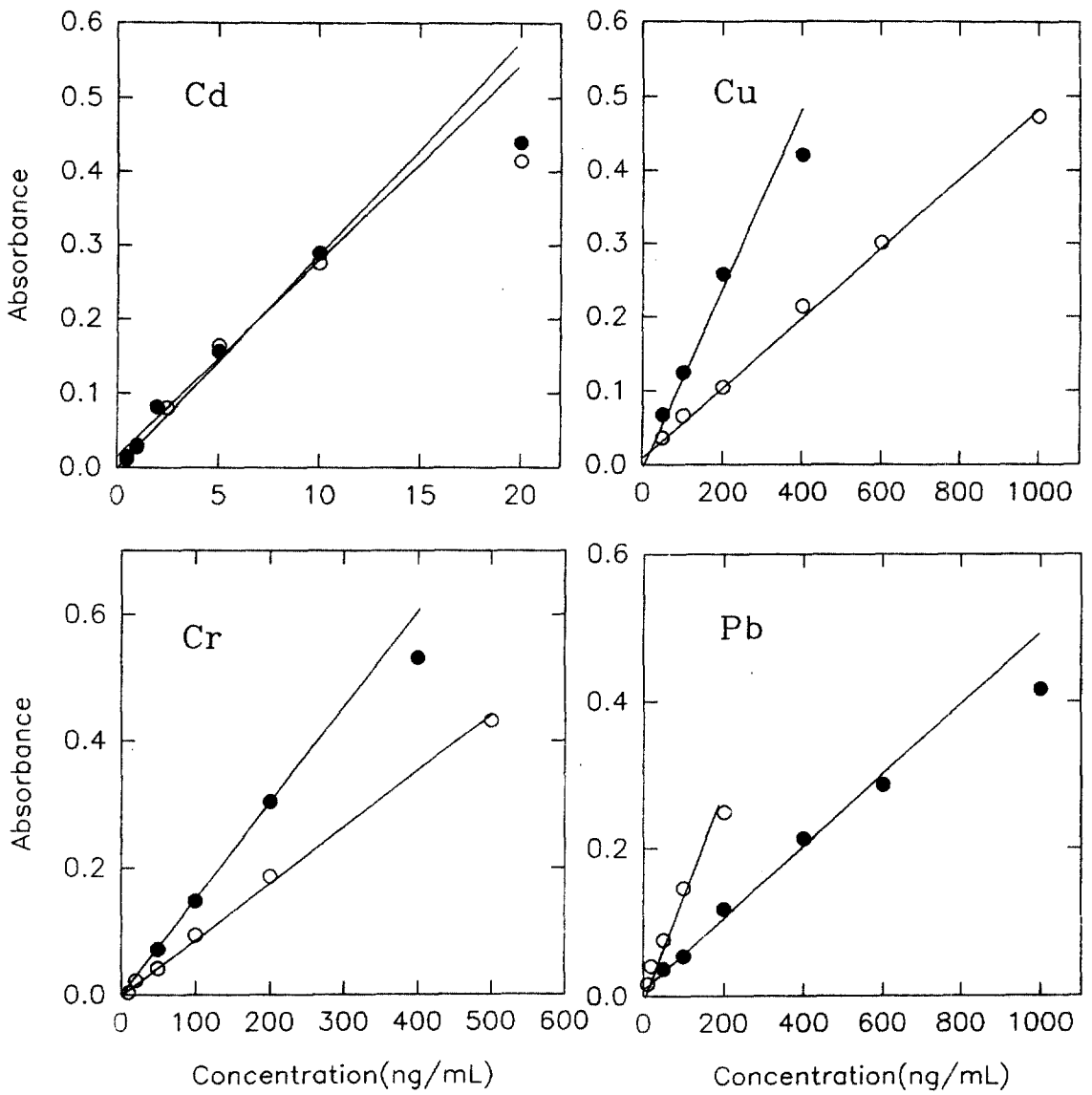

Fig. 5. Calibration of curves.
○ : synthetic urine
● : aqueous solution

Table 4. Analytical results of freeze dryed urine samples(Unit : ng/mL)

Elements	Sample	Spiked	with synthetic urine standards			with aqueous standards		
			Found	Recovered	Recovery(%)	Found	Recovered	Recovery(%)
Cd	US-1	0	0.09			0.10		
		90	90.8	90.8	101	122.5	120.6	134
	US-2	0	N. D			1.53		
		90	87.1	87.1	97	110.3	108.5	121
	US-3	0	1.37			1.53		
		90	81.7	80.3	89	120.4	118.9	132
	US-4	0	2.51			2.72		
		90	90.5	87.5	98	111.0	108.3	120
Cu	US-1	0	136.7			186.4		
		250	509.1	372.4	149	453.7	267.3	107
	US-2	0	N. D			158.7		
		250	266.6	266.6	107	420.0	261.3	105
	US-3	0	N. D			129.0		
		250	255.8	255.8	102	396.3	267.3	107
	US-4	0	N. D			182.5		
		250	266.6	266.6	107	479.4	296.9	119
Cr	US-1	0	48.0			73.3		
		85	130.4	82.4	97	156.0	82.7	97
	US-2	0	36.7			50.3		
		85	100.9	64.2	75	119.2	68.9	81
	US-3	0	43.8			41.1		
		85	126.2	82.4	97	139.1	98.0	115
	US-4	0	86.1			47.2		
		85	166.4	80.3	94	159.8	112.6	132
Pb	US-1	0	225.3			948.5		
		105	153.9	–	–	621.5	–	–
	US-2	0	58.0			467.8		
		105	164.1	106.1	101	532.3	64.4	61
	US-3	0	74.3			497.6		
		105	188.6	114.3	109	601.6	104.0	99
	US-4	0	96.7			393.5		
		105	206.9	110.2	105	522.4	128.9	123

량의 분석원소를 첨가한 뇨시료를 함께 분석하여 정확도를 검토하였다. 냉동 건조된 실제 뇨시료를 실험에서와 같이 처리하여 흑연로 원자흡수분광광도법으로 분석한 결과를 *Table* 4에 수록하였다.

이상과 같이 검토한 최적 조건으로 냉동건조된 뇨시료를 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다: 지금까지의 가열 프로그램 조건이 까다롭던 것과 달리 비교적 낮은 온도 조건으로 ng/mL 수준의 흔적량 원소를 쉽게 분석할 수 있었다. 또 회수율을 비교하여 보면, 실제 뇨시료와 비슷한 표준용액을 사용한 경우가 증류수에 제조한 경우에 비해 분석결과가 더 정확함을 알 수 있다.

감사의 말씀

본 연구는 한국표준과학연구원의 위탁으로 이루어졌음을 밝히며, 연구비 지원에 감사드린다.

참고문헌

1. S. Piomelli, L. Corash and M. B. Corash, *Science*, **210**, 1135(1980).
2. J. B. Willis, *Anal. Chem.*, **34(6)**, 615(1962).
3. V. V. Lidums, *At. Absorpt. Newsl.*, **18**, 71(1979).
4. K-S Lee, H-S Choi and Y-S Kim, *Anal. Sci. & Tech.*, **3(3)**, 419(1990).
5. I. Atsuya, K. Aryu and Q. Zhang, *Anal. Sci.*, **8**, 433(1992).
6. G. D. Carmack and M. A. Evenson, *Anal. Chem.*, **51(7)**, 907(1979).
7. R. Kobayashi and K. Imaizumi, *Anal. Sci.*, **7**, 1197(1991).
8. J. N. Marks and M. A. White, *At Spectro.*, **9(3)**, 73(1988).
9. G. Schlemmer and B. Welz, *Spectrochim. Acta.*, **41B**, 1157(1986).
10. J-M Choi, H-S Choi and Y-S Kim, *J. Kor. Chem. Soc.*, **31(11)**, 1161(1992).
11. Y-S Kim and J-M Choi, *J. Inst. Sci. & Tech.*, **1**, 11(1993).

Abstract : A method was described for the graphite furnace atomic absorption spectrophotometric determination of trace cadmium, copper, chromium and lead in urine samples. The elements were directly determined without any other treatments. The ash temperature was intensively optimized to improve the large background by the removal of organic materials and alkali and alkali earth metals in urine samples. Two kinds of standard solutions were used to plot calibration curves. From the recovery data, it could be confirmed that the analytical results with the synthetic urine matrix similar to real urine were more accurate than with a deionized water matrix.

Key words : Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry, Urine, Trace Elements