

Smith-Hieftje(SH) 및 D₂ 바탕보정장치가 부착된 흑연로 원자흡수분광법을 이용한 혈액 중 카드뮴 분석

李錫基 · 金豊作 · 鄭昌雄[†]

동일교역(주) 부설연구소

[†]순천향대학교 자연과학대학 화학과

(1995. 10. 2 접수)

Analysis of Cadmium in Blood using SH(Smith-Hieftje) and D₂ Arc Background Correction Methods by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer

Seokki Lee, Poongzag Kim, and Changung Joung[†]

R&D Center, Dong-il Commerce & Co., Ltd., Seoul 135-010, Korea

[†]Department of Chemistry, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

(Received October 2, 1995)

요 약. 혈액 중 미량 카드뮴 분석에 전기로 장치가 부착된 원자 흡수 분광광도계(GFAAS)를 사용하였다. 시료를 1% Triton X-100으로 10배 희석시킨 다음 회화 온도 500 °C에서 Fork platform 흑연 튜브를 사용하여 분석하였으며, 결과 처리는 피크 면적법과 피크높이법으로 비교하였다. 양쪽 모두 우수한 값을 얻을 수 있었으며 SH 바탕보정법과 D₂ 바탕보정법에 의하여 얻은 검출 한계는 각각 0.02 ng/mL와 0.01 ng/mL이고 상대 표준편차는 1.0 ng/mL 농도에서 5%이내였다. 분석의 정확성을 평가하기 위하여 노르웨이 Nycomed Pharma사의 Seronorm(Trace Elements Whole Blood)을 분석, 비교 검토하였다.

ABSTRACT. The analysis of trace cadmium in blood by using 10 folds diluted samples with 1% Triton X-100 and Fork platform tube at the ashing temperature of 500 °C has been performed by GFAAS. In this study, good analytical results were obtained from peak area and peak height methods. The detection limits of SH and D₂ arc background correction are 0.02 ng/mL and 0.01 ng/mL, respectively. Relative standard deviation is within 5% at the level of 1.0 ng/mL.

서 론

카드뮴은 녹는점이 321 °C이며, 끓는점이 765 °C인 은백색의 연한 금속으로, 지각에 0.1~0.2 ppm 정도 포함되어 있고 아연광 중에 0.1~0.5% 정도 들어 있는 희유원소로 내식성이 크기 때문에 전기 도금, 페인트나 플라스틱 안정제, 합금, 니켈-카드뮴 전지 제조 등, 산업 분야에 광범위하게 이용된다.¹ 특히 Cd¹¹³은 중성자 흡수 능력이 커서 원자로의 차폐재나 조절 봉으로 사용되는 등 그 수요가 증가되고 있다. 카드뮴은 분진이나 증기 상태로 발생되어 작업장에서 근로자들의 인체에 영향을 주는 등 카드뮴에 독

로되는 일이 점차 증가하고 있으며 직업병으로서의 카드뮴 중독을 일으키기도 한다. 또한 일반인도 토양, 수질 오염과 같은 환경 요인과 흡연, 식품 등을 통해서 카드뮴에 노출되기도 한다.²

카드뮴은 생리적 반감기가 10~30년으로 공기, 식품, 음료수, 흡연 등을 통하여 체내로 들어오며 주로 간장과 신장에 축적되어 신장과 폐의 역기능, 뼈의 손상, 빈혈 등의 건강 장애를 나타낸다.³ 카드뮴은 자연계에 널리 분포되어 생태계에 크게 영향을 미치므로 분석화학, 환경화학, 토양학, 생화학, 임상 의학 등 여러 분야에서 이 원소의 작용, 분리, 농축

및 정량에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

카드뮴은 휘발성 원소로 흑연로 원자흡수분광법으로 분석할 때 회화 온도를 지나치게 높이면 거의 전량이 손실될 우려가 있다. 흑연로 온도 프로그램은 기본적으로는 건조, 회화, 원자화 상단계로 구별되며 이중 원자화 효율에 직접 영향을 주는 것은 회화 온도다 할 수 있다. 혈액 시료의 매트릭스는 주로 유기물과 알칼리, 알칼리토금속, 할로겐화합물로 되어 있어서 회화시 연기가 발생하고 원자화 과정까지 이들 성분이 잔존해서 높은 바탕선이 나타나게 된다.⁴ 이런 문제점을 해결하고자 회화 단계를 늘리고 회화 시간을 늘려주고 있으며, 흡광도와 바탕흡광도가 회화 단계에서 특성을 보이는 것으로 보고되어 있다. 카드뮴의 휘발을 최소화하면서 회화 온도를 높여 방해 성분을 효율적으로 제거시킬 수 있는 매트릭스 개선제를 사용하기도 하나⁵ 개선제 종류에 따라서 회화 온도를 일정 온도 이하에서 사용해야 하므로 회화 온도가 개선되지는 않는다고 보고되어 있다.⁶ 이러한 문제점을 해결하기 위하여 다양한 온도 프로그래밍(회화 조건의 안정화, 최적화, 최대 가열비, 가스공급 등)과 적절한 보정(매트릭스 일치, 표준물 첨가, 피크 넓이 보정) 등이 필요하다. 현재 흑연로를 이용하여 혈액중 카드뮴을 분석하고 있는 국내 특수 건강 진단 기관간에도 동일 시료의 분석 결과가 서로 상당한 차이를 보일 때도 있다.⁷ 이런 이유로 우리나라도 생체 시료의 분석을 위한 정도 관리 제도가 도입되어야 한다는 주장이 팽배하고 있다. 따라서 노동부는 작업환경 측정 기관(노동부, 1992)과 특수 건강 진단 기관(노동부, 1992)들에 대한 정도 관리를 실시하여 오고 있다.^{8,9} 현재 우리 나라의 특수 건강 진단 기관들이 혈액중 카드뮴 분석을 하였을 때 그 결과에 어느 정도 신뢰성을 줄 수 있는지는 정도 관리를 실시하여 온 기관에서 발표한 바 없어 전혀 추정이 불가능하다. 따라서 분석 기종 및 기관간의 측정치 차이를 줄이기 위하여 상호 비교 분석 및 교환 분석과 같은 방법이 요구된다.¹⁰ 이런 이유에서 국내 일부 기관들은 자신의 실험실에서 분석하였던 시료를 그들이 믿을 수 있다고 생각되는 타 기관에 보내어 분석한 결과를 받아 본 후 부분적으로 자신들의 결과를 수정하던가, 또는 일본 및 구미에서의 정도 관리 시료를 개인적으로 구입하여 비교하여 본

것이 고작이다.

따라서 본 연구에서는 대다수의 분석 기관들이 보유하고 있는 D₂ 자동보정 장치와 근래에 개발된 새로운 SH(Smith-Hieftje) 바탕보정장치간에 차이가 있는가를 확인하며, 카드뮴의 손실을 감소시키면서 보다 높은 감도를 얻을 수 있는 Fork platform 흑연 튜브를 이용하여 혈액중 미량 카드뮴 분석이 간편하고 신속한 분석법을 개발하고자 시도하였다.

실 험

기 기. 분석에 사용한 기기는 내부에 D₂ 및 SH 바탕 보정 장치가 장착되어 있는 흑연로 원자 흡수 분광 광도계(GFAAS) Shimadzu AA-6501S model 이며, 전기로는 온도 조절 기능이 부착된 GFA-6500 (graphite furnace atomizer)에 가열 코팅된 Fork platform 흑연 튜브와 자동 시료 주입 장치 ASC-6500(auto sampler)이 부착된 기기로 혈액 중의 카드뮴을 Table 1과 2의 조건으로 표준물첨가법(standard addition)에 의해 분석하였다.

말이온수. 일본 Yamato제 Autostill Model WA 33을 사용했으며 이때 conductivity는 0.05 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$

Table 1. Instrumental setting conditions for the GFAAS

Wavelength	228.8 nm
Slit width	0.5 nm
Replicates	5
Background correction	D ₂ /SH
Lamp current	8/8(L)100(H)mA
Graphite tube	Pyrocoated fork platform
Signal processing	Peak height, Peak area

Table 2. GFA-6000 operating parameters

Step	Temp/ °C	Ramp/ Step	Time (sec)	Gas (L/min)
1. Dry	120	O	15	0.5
2. Dry 2	250	O	10	1.0
3. ASH 1	500	O	10	1.0
4. ASH 2	500	O	7	1.0
5. ASH 3	500	O	3	0.0 H ^a
6. Atomize	1800	O	2	0.0 H ^a
7. Clean	2300	O	2	1.5

^a0.0 H: High sensitivity.

이었다.

시 약. 표준 용액은 시판용 Cd stock solution (Wako YLJ9093, Japan) 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 를 단계적으로 분취 희석해서 사용하였으며, Triton X-100은 Sigma (U.S.A) 제품을 사용하였고 모든 분석에 사용된 산은 전자급시약(EI grade, 동우반도체)을 사용하였다.

분석방법. 분석에 필요한 모든 초차 기구는 다른 중금속으로부터 오염을 방지하기 위해서 20% 묽은 질산에 24시간 담근 후 탈이온수로 여러 번 세척한 것을 완전히 건조하여 사용하였으며, 혈액은 항응고제인 Heparin이 들어 있는 vacutainer를 이용하여 채혈하였다. 채혈된 혈액 100 μL 를 1% TX-100으로 10배 희석하여 이 시료 5 μL 를 자동 시료 주입 장치로 주입하여 분석하였다.

실험조건. 혈액 중 카드뮴 분석의 경우 시료를 회화시키는 과정에서 카드뮴의 손실을 최소화하면서 매트릭스에 의한 방해 영향을 감소시키고자 온도 제어장치가 부착된 전기로를 이용하여 회화 온도를 300~700 $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시켰을 때 흡광도 및 바탕흡광도의 변화 값으로부터 최적 온도 조건을 구하여 실험하였다.

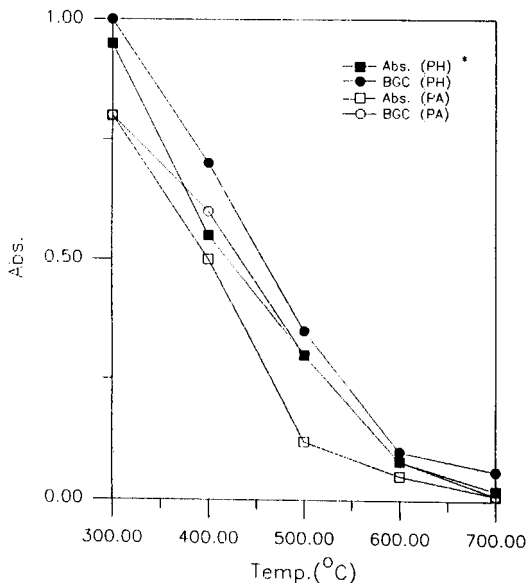


Fig. 1. Relationships between absorbance (Abs.) and background correction (BGC) vs. ashing temperature of cadmium in blood (20 ng/mL) by SH method. *(PH): Peak-Height, (PA): Peak-Area.

결과 및 고찰

회화 온도 변화에 따른 흡광도 및 바탕흡광도값의 변화는 Fig. 1, 2와 같이 나타나며, 이때의 시료주입량은 5 μL 이다. 낮은 회화 온도 300 $^{\circ}\text{C}$ 에서 400 $^{\circ}\text{C}$ 까지는 방해성분 제거가 불충분하여 유기물이 원자화되는 과정에까지 잔존하여 연기 등이 발생하였으나 회화 온도 500 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 유기물의 회화가 비교적 잘되어 D₂형 바탕 보정 장치에서 바탕 보정 한계 값인 0.8 Abs 이하 값을 얻을 수 있으며, 500 $^{\circ}\text{C}$ 이상에서는 카드뮴이 일부 휘발되는 것을 알 수 있었다. 회화 온도가 적절하지 못할 때에는 혈액 성분중 유기성분의 제거가 불충분하여 방해 성분들이 원자화 과정에서 방출되는 분자 흡수띠 및 자외선의 영향을 받아 바탕흡광도가 증가되는 것으로 생각된다. 이런 이유로 흑연로 원자 흡수 분광법으로 분석할 때 자동 바탕 보정 장치 [D₂ Arc, Smith-Hieftje(SH),¹¹ Zeeman background correction]가 부착된 GFAAS를 사용하여 바탕 보정을 수행하여 왔으나 혈액 분석시 회화 과정 및 원자화 과정에서 회전 또는 진동, 변이에 의하여 구조 바탕값이 나타나기 때문에 비원자화 상호간섭, 부가성 상호간섭, 화학적 상호간섭은

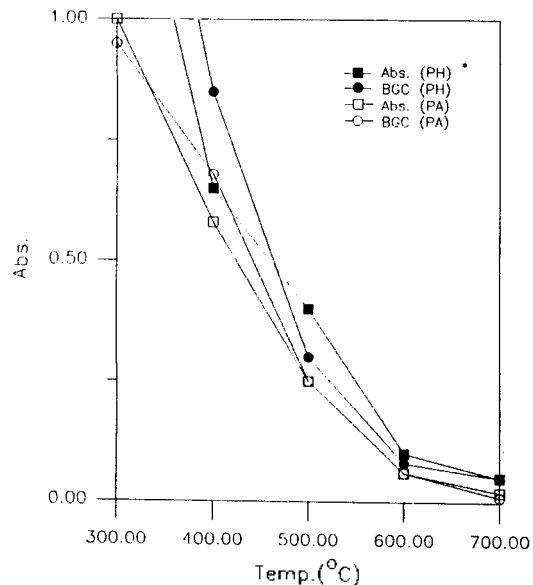


Fig. 2. Relationships between absorbance (Abs.) and background correction (BGC) vs. ashing temperature of cadmium in blood (20 ng/mL) by D₂ method. *(PH): Peak-Height, (PA): Peak-Area.

바탕 보정 장치로 모두 해결할 수 없으나, 비원자와 상호간섭 및 부가성 상호간섭 바탕값은 Zeeman 바탕보정장치나 SH 바탕보정장치로 쉽게 해결할 수 있다.¹²

흑연로를 이용한 카드뮴의 측정에 있어 유기 및 무기 매트릭스 성분들은 각기 다른 상대적 휘발성을 갖기 때문에 회화 과정에서 완전히 제거하기 위해서 회화온도를 높이는 방법이 있으나 온도를 높이면 분석성분도 손실되기 때문에 방해성분인 유기물만을 제거하기 위해서 매트릭스 개선제를 사용하는 방법을 이용하기도 하며 주로 사용되는 개선제로는 인산암모니움, 팔라듐 등이 있으며 이런 개선제를 사용하여 회화 온도를 높여줌으로서 매트릭스에 의한 방해 성분을 제거할 수 있다.

Patrick 등은(1991) L'vov 프래트폼에 몰리브덴을 코팅하고 매트릭스 변형제 사용기법과 post-atomization 냉각 단계를 개발하여 좋은 결과를 얻었으나 준비 절차가 복잡하고 전처리 과정이 복잡하여 일반 분석자들이 간편하게 분석하기는 어렵다. 또한 그들은 자동 바탕 보정 장치(D₂ Arc, Zeeman)로 혈중 카드뮴을 분석했을 때 기울기가 $Y=1.07X-0.16$ ($r=0.999$)인 직선 관계를 보여주었다.¹³ Zeeman-AAS는 피크 면적으로 측정값을 처리하며, D₂-AAS는 피크 높이로 처리한다. 이중 피크 높이로 측정값을 처리하는 방법은 바탕선에서 보정되지 않은 작은 변화에 큰 영향을 받지 않기 때문에 주로 이용된다.¹⁴

Haleem(1979)은 1% 질산과 1% 과산화수소를 사용하여 회화 온도 500℃에서 깨끗한 신호값을 얻을 수 있었다고 보고하였다.¹⁵ Pruszkowska(1983)는 Zeeman 바탕보정장치를 이용하여 매트릭스 개선제로 인산암모니움과 소금을 함께 사용하고 L'vov 프래트폼 튜브를 사용하여 회화 온도 400~900℃에서 우수한 흡광도를 얻었다고 보고하였고,¹⁶ 이것은 본 연구에서 매트릭스 개선제를 사용하지 않고 얻은 결과와도 거의 같았다. 본 연구에서 300℃에서 700℃까지 회화온도를 변화시켰을 때 D₂ 보정법에 의한 흡광도가 SH보정법에 의한 흡광도보다 높게 나타났으며, 바탕 흡광도에 있어서는 피크면적에서 SH 보정법이 높았으나 피크높이에서는 흡광도(Abs)와 같은 경향을 얻을 수 있었으며, D₂바탕 보정 장치에 비하여 직선성 범위가 넓고 바탕 보정 능력이 우수

Table 3. Analytical results of cadmium added into whole blood samples (unit: µg/L)

Method Spike: Conc.	D ₂ Peak height	D ₂ Peak area	SH Peak height	SH Peak area
5.0	5.2	5.4	5.6	5.5
	5.6	5.2	5.4	5.7
	5.0	5.0	5.6	5.9
	5.0	4.9	5.9	5.3
	5.4	5.1	6.1	5.6
	5.4	5.6	6.1	6.3
	5.8	5.4	6.0	5.5
	5.6	4.8	5.9	5.4
	5.4	5.5	5.4	5.4
	5.4	5.3	5.8	5.6
	A.V	5.4	5.2	5.8
10.0	10.4	10.7	11.5	9.3
	12.8	10.4	10.7	10.8
	11.3	9.8	9.9	10.7
	10.9	10.2	12.4	9.4
	11.8	10.8	12.0	10.7
	12.5	10.3	12.0	11.4
	11.8	9.6	10.1	11.7
	10.7	9.5	12.1	10.8
	10.9	9.6	10.8	10.5
	11.2	10.7	12.6	12.4
	A.V	11.4	10.2	11.4
20.0	19.1	18.9	21.8	20.2
	21.5	21.0	23.3	22.8
	20.8	19.0	22.1	22.4
	22.5	21.5	23.9	21.4
	21.7	19.8	22.9	22.3
	21.4	20.3	23.3	21.7
	21.3	20.2	22.4	22.0
	21.7	19.2	23.1	20.5
	21.6	20.7	22.9	23.5
	21.0	19.6	23.6	19.2
	A.V	21.3	20.0	23.7
30.0	31.8	29.0	31.2	30.4
	36.2	34.3	32.2	32.8
	28.5	27.8	31.8	31.5
	29.6	28.8	32.1	32.3
	30.5	27.6	32.4	33.7
	31.7	29.3	31.5	32.6
	38.5	34.0	31.7	33.1
	29.5	29.0	31.8	32.5
	32.0	31.0	32.0	31.5
	33.6	31.6	31.7	32.5
	A.V	32.2	30.2	31.8

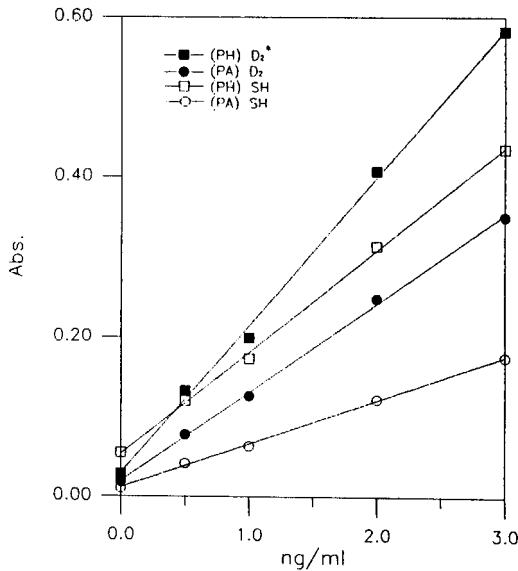


Fig. 3. Calibration curves for D₂ and SH methods. *(PH): Peak-Height, (PA) Peak-Area.

하다고 알려진 SH 바탕보정법과 D₂ 바탕보정법을 Table 1과 2의 분석 조건을 사용하여 혈액 중 카드뮴을 분석 비교했을 때 Table 3의 결과를 얻을 수 있었다. 이 결과는 Stoeplere 등이 매트릭스 개선제를 사용하지 않고 1M HNO₃를 첨가하고 혈액을 Deproteinization한 후 적용한 350~500 °C와는 거의 같으나 이 방법에서는 혈액내 방해성분을 미리 감소시키는 복잡한 전처리 과정을 필요로 한다.¹⁷ 본 연구에서는 시료를 단지 회석하여 Fork platform 혹은 튜브를 이용하여 회화온도를 조정하여 방해성분의 감소시키는 본 분석방법이 보다 간편하고 신속하게 카드뮴을 정량할 수 있을 것으로 생각된다. D₂ 바탕보정법과 SH 바탕보정법에 의하여 얻은 결과 (농도 vs. 피크 높이 또는 면적)의 기울기는 피크 높이로 측정하여 얻은 값을 처리하였을 때 D₂ 보정법에 의한 결과는 $Y=1.059X+0.036(r=1.000)$, SH 보정법에 의한 결과는 $Y=1.057X+0.101(r=0.996)$ 이고, 피크 넓이로 측정하여 얻은 값을 처리하였을 때 D₂ 보정법에 의한 결과는 $Y=0.998X+0.018(r=1.000)$, SH 보정법에 의한 결과는 $Y=1.070X+0.019(r=1.000)$ 이므로, 피크 높이나 피크 넓이 중 어느 것으로 측정값을 처리하여도 두 바탕 보정 장치간의 큰 차이는 없다고 생각된다. 이때 얻어진 Fig. 3의

Table 4. Analytical results of seronorm samples (unit: µg/L)

시료번호	D ₂	D ₂	SH	SH	Nycomed pharma	
	Peak height	Peak area	Peak height	Peak area	추천값	첨가량
205052	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9	0.0
203056	6.1	6.2	5.9	6.0	6.2	5.0
205053	12.5	11.9	11.8	11.8	12.4	10.0

검량선을 이용하여 정도 관리용 샘플인 노르웨이 Nycomed Pharma사의 Seronorm(Trace Elements Whole Blood)을 3회 분석하여 평균한 값은 Table 4와 같다. 이 결과를 정리하면 0.9~6.2 ppb 농도 범위에서 5% 이내의 표준편차를 얻을 수 있었으며 다소 높은 12.4 ppb 농도 범위에서는 3% 이내의 표준편차를 얻었으며 D₂ 바탕보정법이 SH 바탕보정법보다 농도값이 약간 높게 측정되었다.

결론

1. 혈중 카드뮴 분석시 특별한 전처리 과정 즉 매트릭스개선제를 사용하지 않고도 자동 온도보정 장치 전기로에 Fork platform 혹은 튜브를 사용하고 자동 시료 주입 장치를 이용하여 회화 온도를 적절히 선택하면 바탕 흡광도를 감소시키면서 보다 높은 흡광도를 얻을 수 있었다.

2. 매트릭스가 복잡한 혈중 카드뮴 분석시에 영향을 주는 비원자화 흡광도의 보정 및 구조 바탕(structural background)값을 보정하기 위하여 D₂ 또는 SH 바탕 보정 장치 중 어느 것을 사용하여도 좋은 분석 결과를 얻을 수 있었다.

3. 가열 코팅된 Fork platform 혹은 튜브의 사용으로 복잡한 전처리 과정없이 분석할 때, 피크 높이 또는 피크면적중 어느 방법을 택하여도 동일한 결과를 얻을 수 있었으며, 전자식 전기로 사용으로(광 온도 제어와 전류 제어) 최적의 원자화 시간을 설정하기가 용이하여 tailing 현상이 감소되며 감도가 증가하여 재현성이 매우 우수하였다.

4. 본 실험에서 얻은 상대 표준편차는 1.0~10.0 ng/mL 농도 범위에서 5% 이내였으며, 검출 한계값은 D₂ 바탕보정법에서는 0.01 ng/mL이었고 SH법에서는 0.02 ng/mL였다.

인용문헌

1. Zenz, C. *Occupational Medicine, Principles and Practical Applications*; Year Book Medical Publishers, Inc.: Chicago, 1988; Vol. 2, pp 547~582.
2. 예방의학과 공중보건, 계축문화사: 1989; pp 3~11, 234~235.
3. Tsalev, D. L.; Zaprianov, Z. L. *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice, Analytical Aspects and Health Significance*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1983; Vol. I, pp 105~112.
4. Tsalev, D. L. *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice; Determination of individual Elements*, CRC Press: Boca Raton, FL, 1984; Vol. II, pp 39~49.
5. Shuttler, I. L.; Delves, H. T. *J. Anal. Atom. Spectrosc.* **1987**, *2*, 171.
6. Manning, D. C.; Slavin, W. *Anal. Chem.* **1978**, *50*, 1234~1238.
7. 김 현, 조수현. *대한산업의학회지* **1992**, *3(1)*, 76~88.
8. 노동부, 노동부 고시 92-9호, 근로자 건강진단 실시기준, 노동부, 1992.
9. 노동부, 노동부 고시 92-18호, 작업환경측정에 관한 정도관리 규정, 노동부, 1992.
10. Herber, R. F. *et al. Fresenius J. Anal. Chem.* **1990**, *338*, 269.
11. Smith, B. Jr.; Hieftje, G. M. *APPI. Spectrosc.* **1983**, *37*, 47.
12. Fernandez, F. J.; Hilligoss, D. *Atom. Spectrosc.* **1982**, *3*, 130~131.
13. Patrick, C. D.; Haese; Ludwig, V. L.; Lian, L.; Frank, L.; Van de Vyver; Marc, E.; De Broe *Clin. Chem.* **1991**, *37(9)*, 1583~1589.
14. Slavin, W.; Carnrick, G. R.; Manning, D. C.; Pruszkowska, E. *At Spectrosc.* **1983**, *4*, 69~86.
15. Haleem, J. *Issaq. Anal. Chem.* **1979**, *51*, 657~659.
16. Pruszkowska, E.; Carnrick, G. R.; Slavin, W. *Clin Chem.* **1983**, *29*, 477~480.
17. Steoppler, M.; Brandt, K. *Z. Anal. Chem.* **1980**, *300*, 372.