

# Application News

No.SSK-AAS-2001

## AAS Atomic Absorption Spectrometer

GFA-7000/AA-7000을 이용한 혈액 및 소변 중 중금속 분석  
(Determination of Heavy Metal in Whole blood and Urine Using GFA-7000/AA-7000)

### ■ 시험 개요

산업안전보건법에서는 유해인자 노출 가능성이 있는 작업환경의 측정과 더불어 근로자 개개인 차이에 따른 노출 정도를 실질적으로 파악하고 관리하기 위해 생물학적 노출 지표검사를 시행하고 있다. 생물학적 노출 지표검사란 근로자가 작업환경으로부터 노출되는 유해물질의 체내흡수 정도를 정확히 측정하기 위하여 혈액 및 소변 등의 시료로부터 유해물질 자체, 그 대사산물 또는 그로 인한 생화학적 변화산물을 분석하는 검사를 말하며, 일주일에 40시간 작업하는 근로자가 고용노동부고시에서 제시하는 작업환경 노출기준 수준의 농도에 노출될 때 혈액 및 소변 중에서 검출되는 수치를 생물학적 노출기준 값이라 한다.

특수건강진단제도에서는 생물학적 노출지표 물질을 건강진단의 1차 항목에 포함되어 있어 반드시 실시하여야 하는 1차 노출지표물질과 2차 항목 검사 시 필요하다고 인정되는 경우에 실시할 수 있는 2차 노출지표물질로 구분하고 있다. 이 중 1차 노출지표물질에는 유기화합물 14종 9항목, 금속류 4종 3항목, 가스 상태 물질류 1종 2항목으로 모두 19종 14항목이 규정되어 있다.<sup>1),2)</sup>

혈액과 소변에 대한 검사는 샘플링 시점이 결과에 중요한 영향을 미침에도 불구하고 충분한 시료량을 확보하기 어렵고, 단백질, 무기염류, 지방질 등 다양한 성분을 포함하고 있어 정확한 시료의 전처리가 요구된다. 최근에는 microwave와 같은 고효율의 전처리 장치와 ICP-MS와 같은 고감도 분석기기의 보급으로 인해 보다 정밀하고 정확도가 높은 시험방법을 사용할 수 있지만, 장비가 고가이고 복잡한 유기물 분해 과정을 요구하기 때문에 현장에서는 간단한 시료 전처리로 수 ppb 수준의 분석이 가능한 전기가열 방식의 흑연로 원자흡수분광법(Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer: 이하 GFAAS)을 주로 적용하고 있으며, 이 시험법에서 권장되는 항목과 노출기준은 아래 <표 1>과 같다.

이에 이 뉴스레터에서는 GFAAS를 이용하여 혈액 중 Pb, Cd, Mn과 소변 중 Cd을 시험하기 위한 시료 조제 방법, 온도 조건, 시험 결과를 소개하고자 한다.

<표 1> 금속류의 생물학적 노출지표의 노출기준 값 (국내, GFAAS 분석 권장 항목)<sup>2)</sup>

구분	시료	지표물질명	검사값		표시단위
			일반인	노출기준	
1차	혈액	납 (Pb)	1.7	30	µg/dL
		카드뮴 (Cd)	0.9	5	µg/L
2차	소변	납 (Pb)	-	150	µg/L
		니켈 (Ni)	5	80	µg/L
		비소 (As)	100	220	µg/L
		카드뮴 (Cd)	2	5	µg/g creatinine
		크롬 (Cr)	-	30	µg/g creatinine
권장	혈액	망간 (Mn)	8	36	µg/L

■ 시료 조제

원소별 표준용액은 1 % 질산으로 희석하여 아래 (표 2)와 같이 조제하였으며, 정제수로 희석한 1 % Triton X-100 용액은 표준물첨가법 시험용액 조제용 희석액으로 준비하였다. 또, GFAAS 흑연로 내 회화 단계에서의 분석 원소 휘발 방지를 위한 matrix modifier로 질산팔라듐 [Palladium nitrate, Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] 100 mg/L 용액을 준비하였으며, 혈액 및 소변 시료는 응고 및 침전 방지를 위해 롤러믹서(Roller mixer)를 이용해 섞어주었다.

표 2. 표준용액 조제

원소	조제 농도
Pb	(0, 100, 300, 500, 700) µg/L
Cd	(0, 2, 4, 6, 8, 10) µg/L
Mn	(0, 10, 30, 50, 70) µg/L

혈액 및 소변 시료는 복잡한 매질로부터의 간섭을 줄이기 위해 표준물 첨가법을 이용한 정량 분석이 요구됨에 따라,<sup>3)</sup> 아래 (표 3)과 같이 시료와 표준용액을 혼합한 시험용액을 준비하였으며, 이 때 사용된 혈액 및 소변 시료는 일반인의 것을 이용하였다. 시험 대상 시료는 표준물질로써 ClinCheck®-Control(RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, Germany)의 'Whole Blood Control, Level II(이하 QC-1)' 과 'Urine Control, Level I(이하 QC-3)', Bio-Rad의 'Lyphochek Whole Blood Control(이하 QC-2)'을 사용하였으며, (표 3)의 MSA\_0과 같은 방법으로 조제하였다.

표 3. 표준물 첨가법 시험용액 조제

용액	Volume (mL)						
	Blank	MSA_0	MSA_1	MSA_2	MSA_3	MSA_4	MSA_5
1 % Triton X-100	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
정제수	0.1	0.1	-	-	-	-	-
표준용액	-	-	(STD-1) 0.1	(STD-2) 0.1	(STD-3) 0.1	(STD-4) 0.1	(STD-5) 0.1
시료 (혈액, 뇨)	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Total	1						

■ 분석 조건

준비된 시료의 분석은 (표 4)의 GFAAS 분석 조건에 따라 수행하였으며, 흑연로의 세부 온도 조건은 (그림 1)과 같다. 혈액 중 Cd의 경우, blank와 matrix modifier로부터의 background 간섭을 줄이기 위해 회화 및 원자화 온도를 낮추고, 분광간섭 제거를 위해 SR법으로 측정하였다.

표 4. GFAAS 기기 분석 조건

Elements		Pb	Cd	Mn
Instrument		AA-7000 with GFA-7000		
Wavelength (nm)		283.3	228.8	279.5
Lamp current (mA)		10	8/100	10
Slit width (nm)		0.7	0.7	0.2
Background correction*		D <sub>2</sub>	SR	D <sub>2</sub>
Graphite tube		Pyrolytic coating graphite tube		
Injection volume (μL)	Sample	5	7	7
	Matrix modifier (Palladium nitrate)	10	(3 ~ 5)	0

\* 바탕선 보정법: 중수소(D<sub>2</sub>: Deuterium) 램프에 의한 방법과 자기반전방식(SR: Self-Reversal)에 의한 방법

Pb		Pb (혈액)					
	Temp.	Time (sec)	Heat Mode	Sensitivity	Gas Type	Flow Rate	
1	60	5	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.20	
2	120	20	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
3	250	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
4	900	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
5	900	7	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
6	900	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
7	2000	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
8	2600	2	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.50	
9	20	10	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.00	

Cd		Cd (혈액)					
	Temp.	Time (sec)	Heat Mode	Sensitivity	Gas Type	Flow Rate	
1	60	3	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.20	
2	120	20	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
3	250	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
4	500	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
5	500	7	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
6	500	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
7	900	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
8	2000	2	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.00	
9	2500	2	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.50	
10	20	10	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.00	

Mn		Mn (혈액)					
	Temp.	Time (sec)	Heat Mode	Sensitivity	Gas Type	Flow Rate	
1	60	5	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.20	
2	120	20	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
3	250	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
4	950	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
5	950	10	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
6	950	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
7	2200	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
8	2500	2	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.00	
9	20	10	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	

Cd		Cd (소변)					
	Temp.	Time (sec)	Heat Mode	Sensitivity	Gas Type	Flow Rate	
1	60	3	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.20	
2	120	20	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
3	250	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
4	600	10	RAMP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
5	600	7	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	0.50	
6	600	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
7	2000	3	STEP	<input checked="" type="checkbox"/>	#1	0.00	
8	2500	2	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.50	
9	20	10	STEP	<input type="checkbox"/>	#1	1.00	

그림 1. 흑연로 내 승온 조건

## ■ 시험 결과

표준물첨가법에 의해 작성된 각 원소의 표준검정곡선을 <그림 2>에 나타내었으며, 혈액 중 Pb, Cd, Mn, 소변 중 Cd에 대해 측정된 표준용액과 QC 시료에 대한 peak profile을 <그림 3>에 나타내었다.

혈액 및 소변 시료의 경우, 지속적인 GFAAS 방식의 측정에서 불충분한 회화나 잔류 회분의 영향으로 불규칙적인 background spectrum을 나타내는 경우가 많은데, 이 시험에서는 (5 ~ 7) μL의 적은 시료 주입량과 회화 및 원자화 온도 조건의 조절을 통해 <그림 3>과 같이 안정적인 background spectrum을 확보하여 정확하고 정밀한 결과를 확인할 수 있었다.

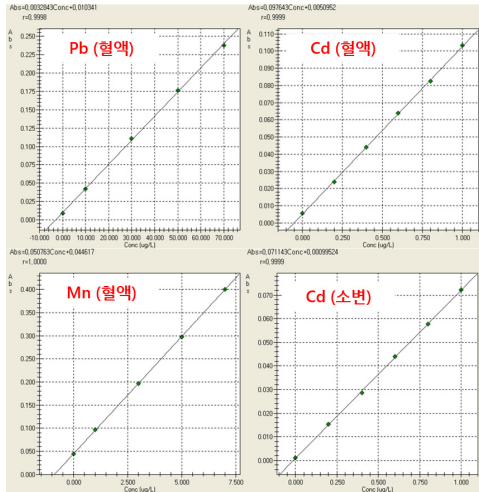


그림 2. 표준물 첨가법에 의한 혈액 및 소변 매질의 표준검정곡선

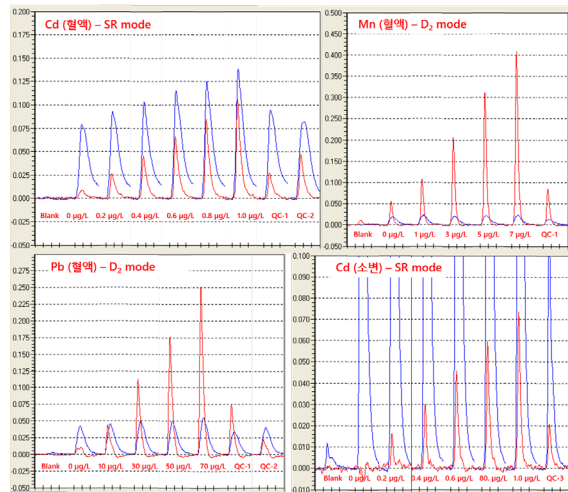


그림 3. 각 금속의 혈액 및 소변 첨가표준용액과 QC 시료의 Peak profile

시료 분석 결과는 <표 5>에서 보는 것과 같이 3 개 시료 모두 측정값이 control range 내에 있는 것을 확인할 수 있었으며, 상대표준편차(RSD)는 5 % 미만인 것으로 나타났다.

표 5. 시험 결과

Sample name	Result (µg/L)			
	Pb	Cd	Mn	
QC-1 (혈액)	Mean value (Control range)	224 (179 ~ 269)	3.03 (2.42 ~ 3.64)	13.7 (11.0 ~ 16.4)
	Measuring value	229	2.69	14.74
	RSD (n=3)	2.4 %	3.5 %	1.0 %
QC-2 (혈액-2)	Mean value (Control range)	60.4 (48.4 ~ 72.5)	4.78 (3.82 ~ 5.74)	-
	Measuring value	64.5	4.72	-
	RSD (n=3)	3.8 %	4.4 %	-
QC-3 (소변)	Mean value (Control range)	-	2.46 (1.97 ~ 2.95)	-
	Measuring value	-	2.77	-
	RSD (n=3)	-	3.3 %	-

## ■ 결론

혈액 및 소변 중 중금속의 생물학적 노출기준은 (수 ~ 수백) ppb 수준의 낮은 농도인데 반해 유기 성분과 금속염 등 복잡한 매질로 구성되어 있어 시료의 회화가 가능한 GFAAS에 의한 분석법을 흔히 사용하고 있다. 이 뉴스레터에서는 Matrix modifier로서 질산팔라듐 용액을 이용하고, 온도 조건을 개선하여 시험을 진행하였으며, 이를 통해 보다 정확하고 정밀한 결과를 얻을 수 있음을 확인하였다.

또, 시험에 사용된 시료는 모두 국내 생물학적 노출기준 이내의 QC 시료로서 GFA-7000/AA-7000을 이용한 본 시험 조건이 특수건강진단의 노출 기준 평가에 적용 가능함을 확인할 수 있었다.

## ■ 참고 문헌

- 1) 산업안전보건법 시행규칙 제206조(특수건강진단 등의 검사항목 및 실시방법 등), 고용노동부령 제272호, 2019.12.26 전부개정
- 2) 근로자 건강진단 실무지침 제1권 특수건강진단의 개요(2018-연구원-904), 산업안전보건연구원, 2018.12
- 3) 납의 생물학적 노출지표물질 분석에 관한 기술지침, 한국산업안전보건공단, KOSHA Guide, H-21-2017, 2017.10